

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

Emília de Carvalho Nunes Grillo

Dinâmica ecológica de potenciais vetores de riquétsias e aspectos de vulnerabilidade para Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, Brasil

Juiz de Fora
2021

Emília de Carvalho Nunes Grillo

Dinâmica ecológica de potenciais vetores de riquetsias e aspectos de vulnerabilidade para Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, Brasil.

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

Orientador: Dr. Gilberto Salles Gazeta

Coorientador: Dr. Flávio Luis de Mello

Juiz de Fora

2021

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

de Carvalho Nunes Grillo, Emília de Carvalho Nunes Grillo.

Dinâmica ecológica de potenciais vetores de riquetsias e aspectos de vulnerabilidade para Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, Brasil. / Emília de Carvalho Nunes Grillo de Carvalho Nunes Grillo. -- 2021.

78 p. : il.

Orientador: Gilberto Salles Gazêta

Coorientador: Flávio Luis de Mello

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2021.

1. Febre Maculosa. 2. Epidemiologia. 3. Carrapato. 4. Vigilância epidemiológica. 5. Riquetsioses. I. Salles Gazêta, Gilberto, orient. II. de Mello, Flávio Luis, coorient. III. Título.

Emília de Carvalho Nunes Grillo

Dinâmica ecológica de potenciais vetores de riquetsias e aspectos de vulnerabilidade para Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, Brasil.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito a obtenção do Grau de doutora em Biodiversidade e Conservação da Natureza.

Aprovado em 31 de maio de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ



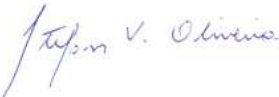
Prof. Dr. Flávio Luís de Mello
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ



Dra. Nicole Oliveira de Moura Martiniano
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ



Dra. Myrian Morato Duarte
Fundação Ezequiel Dias – FUNED



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



Prof. Dr. Ralph Maturano Pinheiro
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Aos meus pais, pelo apoio e amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Uma tese de doutorado, apesar de registrar somente um autor, só é possível através da cooperação e empenho de inúmeras pessoas e instituições. Durante essa longa jornada, essa cooperação se faz presente de inúmeras maneiras: intelectual, técnica, emocional e financeira. Cada um de vocês foram indispensáveis para construir cada degrau dessa realização, e mesmo correndo o risco de esquecer de alguém, reservei este espaço para agradecer-los - sem vocês, este trabalho nunca teria sido possível.

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais, por sempre me mostrarem a importância da educação na formação do ser humano e por me incentivarem a seguir em frente e atravessar todos os obstáculos de cabeça erguida e com muita determinação. A eles dedico todos esses anos de trabalho.

À Dona Adelaide, que com a fragilidade de seus oitenta e tantos anos sempre me deu força e amor necessários nas longas horas de conversa pelo telefone nos meus momentos de fraqueza e de procura de colo. Sem a doçura do olhar de vó, a caminhada teria sido muito mais dura.

À minha madrinha pela amizade e apoio durante toda a vida.

À Marilda e a todos os membros da família que direta e indiretamente apoiaram a minha caminhada o meu muito obrigada.

Ao Rodrigo, me faltam palavras para expressar todo o amor e gratidão pelo companheirismo, força, e por me fazer rir nas horas mais difíceis. No seu silêncio e presença constante você foi meu oxigênio.

Ao meu orientador, professor Gilberto, obrigada por todos esses anos de companheirismo, amizade e ensinamentos, que se iniciaram lá no mestrado, 9 anos atrás. Obrigada por sempre me apoiar, me fazer acreditar que eu era capaz e por me mostrar que tinha uma luz no fim da caminhada.

Ao meu coorientador, professor Flávio, pela gentileza e presença quando precisei.

À doutora Nicole, por tudo e por tanto. Você facilitou e tornou mais leve parte do processo.

A todos os companheiros da FUNED, que gentilmente facilitaram meu acesso à instituição e ao material necessário, sempre me recebendo de braços abertos e sorriso largo: Ana, Felipe, Gabriela e Myriam, muito obrigada.

Aos meus amigos, que fazem parte de quem me tornei e trazem leveza, sorriso e amor à minha vida e que em conversas profundas ou regadas a besteiras me ajudaram a chegar ao fim da jornada: Stess, Laís, Iza (Laiza pelas revisões), Jovi, Isabela, Rogéria, Carol e Thaiz - cada uma de vocês carrega um tijolinho desse trabalho.

Aos meus companheiros de trabalho na Faculdade de Serviço Social, por me ouvirem, facilitarem meu trabalho e por vezes o executarem para que eu pudesse frequentar as aulas.

Finalmente agradeço todos os profissionais que trabalharam nas coletas da vigilância, a Universidade Federal de Juiz de Fora, a Fiocruz, a Funed e ao curso de Pós - Graduação por todo apoio e suporte e um agradecimento especial às secretárias do curso, pois sem a força de trabalho dos técnicos da Universidade, as engrenagens não funcionam.

“Gosto de ser gente porque, inacabado, sei que sou um ser condicionado, mas, consciente do inacabamento, sei que posso ir mais além dele.” (FREIRE, P., 2004, p. 28).

RESUMO

A Febre Maculosa (FM) é uma doença causada por bactérias do gênero *Rickettsia*, transmitidas principalmente por carrapatos. Com cenários ecoepidemiológicos variados no país, é a principal doença transmitida por carrapatos para humanos no Brasil e o Estado de Minas Gerais é o terceiro em números de casos da doença. Conhecer os aspectos de transmissão da doença no Estado, auxilia no entendimento do seu comportamento e traz melhores estratégias de prevenção, controle e conscientização da população, gerando melhores estratégias preventivas ao serviço de saúde. Com o objetivo de aprofundar a interpretação das informações epidemiológicas dos casos de FM em MG à luz dos registros ocorridos entre 2007 e 2019, foi realizado um estudo epidemiológico descritivo a partir de dados presentes no SINAN. A análise de dados foi realizada utilizando linguagem de programação Python, biblioteca Pandas e confecção de mapas pelo Qgis. Foram realizadas análises moleculares para identificação do bioagente em amostras biológicas coletadas pelo Sistema de Vigilância Epidemiológica de MG, resultante de investigação de caso. Dos 298 casos confirmados de FM em MG, 98 evoluíram para óbito, o número de casos aumentou a partir de 2011 e o cenário da doença apresentou uma letalidade de 32,8 %. Do total de casos, 207 (69,4 %) eram do sexo masculino, e entre homens e mulheres a letalidade foi maior no grupo masculino 60,46%. A faixa etária mais atingida é a de 30 à 59 anos e a maior parte dos pacientes relatou ter tido contato com animais como carrapato, capivara e animais domésticos. Não foram observados óbitos na região de Cerrado do Estado e os casos estão concentrados em áreas com cobertura artificial do solo, caracterizando a urbanização da doença. Os resultados corroboram com estudos em áreas de casos graves no Brasil. Apesar dos relatos de casos de FM para o Bioma Cerrado em MG, as análises evidenciam que os casos graves ocorrem em áreas antropizadas dos biomas Mata Atlântica e em área de transição entre este e o Cerrado. Estudos multidisciplinares complexos, longitudinais, associados à ecoepidemiologia, devem ser realizados na busca da construção de algoritmos capazes de prever, no tempo e espaço, os fatores de riscos associados aos casos graves e óbitos por FM, buscando evitar sua ampliação.

Palavras-chave: Carrapatos. Domínios morfoclimáticos Epidemiologia. Febre Maculosa.

ABSTRACT

Spotted Fever (SF) is a disease caused by bacteria of the genus *Rickettsia*, transmitted mainly by ticks. With varied eco-epidemiological scenarios in the country, it is the main disease transmitted by ticks to humans in Brazil and the State of Minas Gerais is the third in numbers of cases of the disease. Knowing the transmission aspects of the disease in the State, helps to understand their behavior and brings better strategies for prevention, control and awareness of the population, generating better preventive strategies for the health service. In order to deepen the interpretation of the epidemiological information of FM cases in MG in the light of the records that occurred between 2007 and 2019, a descriptive epidemiological study was carried out using data from SINAN. Data analysis was performed using Python programming language, Pandas library and map making by Qgis. Molecular analyzes were performed to identify the bioagent in biological samples collected by the MG Epidemiological Surveillance System, resulting from a case investigation. Of the 298 confirmed cases of FM in MG, 98 evolved to death, the number of cases increased from 2011 and the disease scenario showed a 32.8% lethality. Of the total cases, 207 (69.4%) were male, and among men and women, lethality was higher in the male group, 60.46%. The age group most affected is 30 to 59 years old and most patients reported having had contact with animals such as ticks, capybara and domestic animals. No deaths were observed in the Cerrado region of the State and the cases are concentrated in areas with artificial soil cover, characterizing the urbanization of the disease. The results corroborate with studies in areas of severe cases in Brazil. Despite FM case reports for the Cerrado Biome in MG, the analyzes show that serious cases occur in anthropized areas of the Atlantic Forest biomes and in a transition area between this and the Cerrado. Complex, longitudinal multidisciplinary studies, associated with eco-epidemiology, should be carried out in the search for the construction of algorithms capable of predicting, in time and space, the risk factors associated with severe cases and deaths from FM, seeking to avoid their expansion.

Keywords: Ticks. Morphoclimatic domains. Epidemiology. Spotted fever

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Óbitos registrados no Brasil por Febre Maculosa no período de 2000-2019	18
Figura 2 - Casos registrados de Febre Maculosa no Brasil no período de 2000-2019	19
Figura 3 - Mapa de localização do Estado de Minas Gerais.....	27
Figura 4 - Domínios Morfoclimáticos presentes no Estado de Minas Gerais.....	28
Figura 5 - Municípios do Estado de Minas Gerais que registraram casos de FM entre os anos de 2007 e 2019	29
Figura 6 - Dinâmica epidemiológica da Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, 2007-2019 (novembro): (A) Número absoluto de casos relatados, óbitos, e taxa de letalidade por FM; (B) Distribuição mensal de casos de FM; (C) Sinais Clínicos e sintomas x evolução da doença	36
Figura 7 - Relato de contato com animal x evolução da doença	37
Figura 8 - (A) Municípios de Minas Gerais com registros de casos de óbito por Febre Maculosa. (B) Municípios de Minas Gerais com registros de amostras positivas para <i>R.rickettsii</i>	58
Figura 9 - (A) Distribuição de amostras positivas para <i>R. rickettsii</i> no Estado de Minas Gerais em relação ao SCC de Thornthwaite; (B) Distribuição dos óbitos confirmados por FM no Estado de Minas Gerais em relação ao SCC deThornthwaite.....	59

- Figura 10 - Uso e Cobertura da terra x casos de FM no Estado de Minas Gerais entre 2007 e 2019.....61
- Figura 11 - Inferências filogenéticas da comparação das sequências parciais concatenadas dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* (de 1106, 491 e 704 pb, respectivamente) de sangue de pacientes humanos, provenientes de casos suspeitos de Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, do período de 2017 a 2018, pelo método de máxima verossimilhança de 1.000 árvores replicadas.....62

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Primer utilizado para desenvolvimento da PCR qualitativo para Riquetsia do grupo Febre Maculosa.....31
- Tabela 2 - Oligonucleotídeos utilizados para identificação genotípica de espécies de riquetsias.....32
- Tabela 3 - Número absoluto e percentual de casos e óbitos confirmados de Febre Maculosa, segundo variáveis individuais, demográficas e epidemiológicas entre 2007 e 2019 no Estado de Minas Gerais, Brasil.....38
- Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de MinasGerais durante Vigilância de ambiente.....41
- Tabela 5 - Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 e 2018.....49
- Tabela 6 - Tipos climáticos e subtipos do fator hídrico da classificação climática de Thornthwaite.....60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BLASTN	Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide
°C	Graus Celsius
DNA	Desoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucléico)
DNAg	Genomic Desoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucléico Genômico)
DNases	Desoxirribonuclease
DATASUS	Departamento de Informática do SUS
EUA	Estados Unidos da América
e.g.	exempli gratia - por exemplo
et al.	E colaboradores
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FM	Febre Maculosa
FMB	Febre Maculosa Brasileira
FNI	Formulário de Notificação e Investigação
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GFM	Grupo da Febre Maculosa
hab/km ²	Habitantes por quilômetro quadrado
HCl	Ácido clorídrico
Ia	Índice de aridez
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ih	Índice hídrico
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
Iu	Índice de umidade
km ²	Quilômetro quadrado

LPI	Local Provável de Infecção
LIRN	Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses
MG	Minas Gerais
MS	Ministério da Saúde
µm	Micrômetro
NaCl	Cloreto de Sódio
nº	Número
P. A	para análise
pb	pares de base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RGFM	Riquetsias Grupo da Febre Maculosa
RJ	Rio de Janeiro
RNase	Ribonuclease
SCC	Sistema de Classificação Climática
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
SP	São Paulo
sp.	Espécie
spp.	Espécies
UF	Unidade Federativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	HISTÓRICO DA FEBRE MACULOSA.....	15
1.2	POTENCIAIS VETORES.....	20
1.3	AGENTE ETIOLÓGICO DA FM.....	20
1.4	HOSPEDEIROS E RESERVATÓRIOS.....	23
1.5	VIGILÂNCIA.....	24
1.6	JUSTIFICATIVA.....	25
2	OBJETIVO	26
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	ÁREA DE ESTUDO.....	27
3.2	COLETA DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	28
3.3	DADOS DE POTENCIAIS VETORES DE FM.....	30
3.3.1	Coleta de potenciais vetores	30
3.3.2	Identificação taxonômica dos artrópodes	30
3.4	REAÇÃO EM CADEIRA DE POLIMERASE (PCR) EM TEMPO REAL (REAL TIME).....	31
3.5	REAÇÃO EM CADEIRA DE POLIMERASE (PCR) CONVENCIONAL.....	33
3.6	SEQUENCIAMENTO.....	33
3.7	EDIÇÃO E ALINHAMENTO DE SEQUÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS.....	33
3.8	ANÁLISES FILOGENÉTICAS.....	34
4	RESULTADOS	35
5	DISCUSSÃO	63
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO DA FEBRE MACULOSA

As riquetsioses são zoonoses presentes em quase todos os continentes (exceto a Antártida), de caráter emergentes e reemergentes, potencialmente fatais, causadas por bactérias gram-negativas, intracelulares, que fazem parte da família *Rickettsiaceae*, ordem *Rickettsiales*, transmitidas através da picada de ectoparasitos hematófagos e ápteros. Atingem animais domésticos, o que favorece a extensão cíclica da cadeia de infecção, e podem estar presentes em focos naturais ou em áreas com casos permanentes (endêmicas), afetando a saúde humana com seus ciclos epidêmicos. Em alguns casos, suas altas taxas de letalidade causam prejuízos significativos à saúde pública e às atividades econômicas (PINTER et al., 2011; HORTA et al., 2004).

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 (CDC, 2006). Os diferentes agentes etiológicos da ordem *Rickettsiales* causam variadas doenças nos seres humanos, podendo ser agrupadas da seguinte forma: (a) febres tíficas, como tifo epidêmico, tifo murino, tifo das malezas, febre quintana e doença de Brill- Zinsser; e (b) febres exantemáticas ou manchadas, entre as mais conhecidas estão a febre botonosa, febre mediterrânea, febre quintana e a febre maculosa (FM).

Com característica endêmica nas Américas, a FM ganha relevância nos Estados Unidos (EUA), como febre maculosa das montanhas rochosas (RICKETTS, 1906); na Colômbia, como febre de Tobia (CAMARGO et al., 2006); e, no Brasil, como febre maculosa brasileira (FMB), causada pela *R. rickettsii* (MONTEIRO, 1932).

Após a ocorrência dos prováveis primeiros casos, em 1873, o primeiro relato de FM nas Américas é de 1899, nos EUA, no estado de Idaho, por Edward E. Maxey, que realiza uma descrição clínica de uma doença caracterizada por febre alta, acompanhada de erupções purpúreas na pele, que ocorrem primeiramente nos tornozelos, pulsos e testa, e depois espalha-se pelo corpo (MAXEY, 1899). Por ser inicialmente registrada em uma área cujo relevo era composto por cadeias de montanhas, foi denominada febre maculosa das montanhas rochosas (MAXEY, 1899;

PAROLA et al., 2005).

Sete anos após o primeiro relato da doença, Howard T. Ricketts consolidou o conceito de caráter infeccioso atribuído à recém-descrita doença, caracterizando a etiologia bacteriana, corroborou a possível transmissão vetorial por carrapatos e identificou o agente etiológico, posteriormente chamado de *Rickettsia rickettsii* (RICKETTS, 1906;1909). Por vários anos, essa espécie foi a única riquetsia associada à doença humana no hemisfério ocidental (PAROLA et al., 2005; PAROLA et al., 2013). Entre 1916 e 1919, Wolbach, pela primeira vez, visualiza o agente etiológico, no interior de células endoteliais humanas lesadas, e descreve a presença do agente em exemplares de carrapatos de todas as fases evolutivas, incluindo ovos (PAROLA et al., 2005;DANTAS-TORRES, 2007).

A partir de 1920, a febre maculosa das montanhas rochosas passou a ser notificada pelo sistema de vigilância em âmbito nacional nos EUA (PADDOCK et al., 1999).

Alguns anos depois, outras riquetsias foram detectadas e descritas na América do Norte: *R. parkeri*, em 1939; *R. montanensis*, em 1963; e *R. rhipicephalus*, em 1978 (RAOULT e ROUX, 1997; PAROLA e RAOULT, 2001; BROUQUI et al., 2007).

Nos continentes europeu e africano, durante algumas décadas, *R. conorii* foi considerada como a única riquetsia transmitida por carrapatos a humanos. Da mesma forma, *R. sibirica* foi por muito tempo a única riquetsia identificada na ex-União Soviética e na China como transmissíveis de carrapatos a humanos, assim como a *R. australis* na Austrália (RAOULT e ROUX, 1997; PAROLA et al., 2005; BROUQUI et al., 2007; PAROLA et al., 2009).

No Brasil, as primeiras descrições da febre maculosa, quando ainda era denominada “typho exanthemático de São Paulo”, se remetem ao ano de 1929, a partir da ocorrência de casos na capital paulista, em áreas que passavam por um processo de expansão urbana e que hoje corresponderiam aos bairros de Sumaré, Perdizes e Pinheiros (PIZA et al., 1932; LABRUNA, 2009).

Depois da primeira descrição, deixou de ser detectada por alguns anos, vindo a se tornar um problema de saúde pública em meados de 1980 nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, na região do Vale do Jequitinhonha, e em São Paulo, onde passou a ocorrer de maneira endêmica, sobretudo nos municípios localizados nas bacias hidrográficas dos rios Atibaia, Jaguari e Camanducaia, sendo os mais

importantes Pedreira e Jaguariúna, ambos na região de Campinas, interior do estado de São Paulo (GONÇALVES et al., 1981; LEMOS et al., 1996; DEL GUERCIO et al., 1997; LEMOS et al., 2001)

A partir do ano 2000, passou a ser registrada no Espírito Santo, nas regiões Sul, Centro-oeste e Nordeste e, em 2001, a doença passou a ser incluída na lista de agravos de notificação compulsória pelo Ministério da Saúde (MS). No ano de 2014, foi incluída pelo MS na lista de doença de notificação compulsória e imediata, com obrigatoriedade de todos os casos suspeitos e/ou confirmados serem relatados, no prazo de até 24 horas, às três esferas do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2014).

Atualmente, há casos confirmados da doença em, aproximadamente, 74,1% do território brasileiro (20 das 27 unidades federativas), com a maior parte das ocorrências registradas entre 2000 e 2019 na região Sudeste (73,1% dos casos e 98,82% dos óbitos), seguida pela região Sul, com 24% dos casos e 0,87% dos óbitos, sendo estes somente no estado do Paraná. (BRASIL, 2019) (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Óbitos registrados no Brasil por Febre Maculosa no período de 2000-2019¹.

Região e UF	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019*
Região Norte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	1
Rondônia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Acre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amazonas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Roraima	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Pará	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Amapá	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tocantins	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0
Região Nordeste	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	2	3	2	4	0	2	2	1
Maranhão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piauí	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceará	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	2	3	0	1	2	0
Rio Grande do Norte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paraíba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pernambuco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Alagoas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sergipe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bahia	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Região Sudeste	41	25	20	54	76	90	62	57	58	78	77	104	90	77	107	124	99	119	183	14
Minas Gerais	23	9	10	9	24	11	18	13	11	9	10	13	7	14	11	16	20	33	72	2
Espírito Santo	2	0	0	13	11	0	0	3	1	0	4	7	5	4	3	5	6	6	0	0
Rio de Janeiro	0	1	1	2	0	24	7	10	7	8	5	13	4	4	22	14	12	16	7	1
São Paulo	16	15	9	30	41	55	37	31	39	61	58	71	74	55	71	89	61	64	104	11
Região Sul	0	0	0	6	8	39	22	33	27	41	27	28	41	35	56	26	23	39	49	20
Paraná	0	0	0	0	0	0	1	2	2	1	3	2	4	2	4	6	1	9	3	7
Santa Catarina	0	0	0	6	8	36	21	29	25	38	24	25	37	31	51	20	22	28	43	13
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	3	0	2	0	2	0	1	0	2	1	0	0	2	3	0
Região Centro-Oeste	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	2	1	2	6	4	2	2	1
Mato Grosso do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	1	0
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	1
Goiás	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	4	1	2	1	0
Distrito Federal	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Brasil	41	25	20	60	84	130	85	91	85	121	106	132	135	116	167	162	128	165	237	37

Fonte: SINAN (2021).

¹ Dados atualizados em 13/06/2019 e sujeitos à revisão. O presente estudo se baseou em dados fornecidos pelo serviço de informação ao cidadão do Ministério da Saúde (demanda SIC 2578027).

Figura 2 - Casos registrados de Febre Maculosa no Brasil no período de 2000-2019¹.

Região e UF	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019*	
Região Norte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Roraima	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amazonas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rorainia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pará	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amapá	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tocantins	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Região Nordeste	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maranhão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piauí	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceará	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rio Grande do Norte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paraíba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pernambuco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alagoas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sergipe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bahia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Região Sudeste	15	13	6	18	20	26	25	16	21	30	26	45	52	37	65	63	50	58	87	2	2
Minas Gerais	11	1	1	1	9	6	8	6	5	4	1	5	4	5	4	4	6	17	23	1	1
Espírito Santo	2	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	1	5	1	0	3	2	4	0	0	0
Rio de Janeiro	0	1	1	1	0	4	5	2	2	3	1	4	2	1	7	2	7	6	6	0	0
São Paulo	2	11	4	12	11	16	12	8	14	23	24	35	41	30	54	54	35	31	58	1	1
Região Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
Paraná	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
Santa Catarina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Região Centro-Oeste	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Mato Grosso do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Goiás	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Distrito Federal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brasil	15	13	6	18	20	26	25	16	21	31	27	45	52	37	66	66	50	59	88	2	2

Fonte: SINAN (2021)

¹ Dados atualizados em 13/06/2019 e sujeitos à revisão. O presente estudo se baseou em dados fornecidos pelo serviço de informação ao cidadão do Ministério da Saúde (demanda SIC 2578027).

1.2 POTENCIAIS VETORES

Depois dos mosquitos, os carrapatos (também hematófagos) tem a maior capacidade de transmitir patógenos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) para animais, incluindo humanos (DOMINGOS et al., 2013). Carrapatos são parasitas obrigatórios e temporários de vertebrados terrestres, e apresentam ciclo de vida nos estágios de ovo, larva, ninfa e adulto. Na natureza, a manutenção do ciclo da *R. rickettsii* e demais bactérias do grupo febre maculosa (GFM) é garantida pela capacidade de os carrapatos atuarem como vetores, reservatórios e/ou amplificadores. Uma vez infectado, o carrapato pode permanecer infectado durante todo seu ciclo de vida (KLOMPEN et al., 1996; BARROS-BATTESTI et al., 2006; MEIRA et al., 2013).

Atualmente, são reconhecidas mais de 900 espécies de carrapatos no mundo, e, no Brasil, até o momento, foram registradas 70 espécies, sendo 47 pertencentes à família *Ixodidae* e 23 à família *Argasidae*. (MARTINS et al., 2014; MARTINS et al., 2016; NAVA et al., 2014; BARROS-BATTESTI et al., 2015).

No Brasil, a FM é a principal doença em humanos na qual os carrapatos atuam como vetores (SANTOS et al., 2012). Ela é adquirida pela picada do carrapato infectado com a riquetsia e, para que a transmissão ocorra, o carrapato deve permanecer aderido ao hospedeiro, sendo variável esse tempo de permanência (RAOULT et al., 1997). São poucas as espécies de carrapatos que conseguem atuar, de fato, como amplificadores e vetores, especialmente de Riquetsias do grupo Febre Maculosa (RGFM) (RAOULT et al., 1997; PAROLA et al., 2013; ROUX et al., 2000).

Cinco espécies de carrapatos foram consideradas carreadoras de *R. rickettsii* em áreas com casos de FM no Brasil: *A. aureolatum* (PINTER et al., 2006), *A. sculptum* (GUEDES et al., 2005; SANGIONI et al., 2005), *A. dubitatum* (MOURAMARTINIANO et al., 2014), *R. sanguineus s.l.* (CUNHA et al., 2009; GEHRKE et al., 2009) e *R. microplus* (MONTENEGRO et al., 2017). *A. ovale* foi identificada associada a *R. parkeri*, cepa Mata Atlântica, enquanto *A. sculptum* foi associada a casos de FM causada por *R. parkeri* (SZABÓ et al., 2013; SANGIONI et al., 2005).

1.3 AGENTE ETIOLÓGICO DA FM

A *R. rickettsii* é uma espiroqueta gram-negativa, de vida intracelular obrigatória, que circula na natureza por meio de carrapatos e infecta células endoteliais de animais e do homem, com complicações sistêmicas que podem ser fatais na ausência de tratamento (DUMLER, 2005; PAROLA et al., 2005).

Classicamente, as espécies do gênero *Rickettsia* estão subdivididas em três grupos: (1) grupo tifo, composto por *R. prowazekii* e *R. typhi*; (2) grupo ancestral, composto por *R. canadenses* e *R. belli*, com patogenicidade desconhecida; e (3) grupo febre maculosa, o de maior relevância epidemiológica nas Américas (ROUX et al., 1997; ROUX e RAOULT, 2000; PAROLA et al., 2005; PAROLA et al., 2009).

Há seis espécies de riquetsias consideradas patogênicas hoje (*Rickettsia africae*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia massilae*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia philipii* e *R. rickettsii*) e outras nove circulando em carrapatos, em áreas com casos de riquetsioses, cuja patogenicidade ainda é desconhecida (*Rickettsia amblyommatis*, *Candidatus Rickettsia andeanae*, *R. belli*, *R. canadensis*, *Candidatus Rickettsia cooleyi*, *Rickettsia montanensis*, *Rickettsia monteiroi*, *Rickettsia peacockii* e *Rickettsia rhipicephali*) (PAROLA et al., 2013).

No Brasil, a doença de maior importância médica causada por bioagente transmitido por carrapatos é a FMB, causada pela *Rickettsia rickettsii*, que gera os casos graves, presentes principalmente na região Sudeste e na porção setentrional do Paraná, sendo o *Amblyomma sculptum* (BERLESE, 1888) o principal vetor associado ao ciclo epidêmico (GUEDES et al., 2005; SANGIONI et al., 2005; ANGERAMI et al., 2006; NAVA et al., 2014).

R. rickettsii tem sido detectada em algumas espécies de mamíferos e aves silvestres como capivaras, gambás, coelhos, equinos, cães e outros animais domésticos e silvestres (JOANNITTI et al., 2014). É importante destacar o papel das capivaras, gambás e equinos na cadeia epidemiológica da FMB, pois além de transportarem os vetores para os domicílios, desempenham papel importante na exaltação da virulência, alimentando os carrapatos (TIRIBA, 1999; FONSECA e MARTINS, 2007).

A partir de 2010, uma *Rickettsia sp.* denominada cepa Mata Atlântica, espécie próxima a *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia parkeri* e *Rickettsia africae*, foi relacionada à ocorrência da FM em ambientes de Mata Atlântica, nos estados do Sul, Sudeste e Nordeste, com apresentação clínica mais branda (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVA et al., 2011; KRAWCZAK et al., 2016).

Outras espécies de riquetsias já foram detectadas em diferentes espécies de carrapatos e em pulgas no Brasil (*R. felis*, *R. rhipicephali*, *R. bellii*, *R. typhi*, *R. amblyommii*, *R. andeane* e *R. menteiroid*), cuja patogenicidade para humanos ainda é desconhecida (PAROLA et al., 2001; PAROLA et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; PAROLA et al., 2013; NUNES et al., 2015). A diversidade de vetores e hospedeiros de *Rickettsia sp.* em diferentes regiões do país tem apresentado a importância de várias espécies na manutenção dos ciclos epidêmicos e enzoóticos da doença, apresentando diferentes cenários ecoepidemiológicos.

Segundo o MS, são reconhecidos atualmente no Brasil três cenários da doença, detalhados a seguir.

1) No estado de São Paulo, na região metropolitana, em áreas urbanas limítrofes com fragmentos de Mata Atlântica, onde há trânsito de animais de estimação, principalmente cães e gatos, parasitados por estágios adultos de *A. aureolatum* associado com *R. rickettsii*, que têm livre acesso e podem carrear esses vetores para domicílios e peridomicílios, com risco de contato com os humanos. Essa estreita relação entre humanos e hospedeiros, principalmente cães, caracteriza-se como um dos principais fatores de exposição ao risco. Não existe um padrão específico na sazonalidade dos casos, que são relatados em ambos os sexos e em diversas faixas de idade, fato que parece estar relacionado à transmissão intradomiciliar. Suspeita-se que o *R. sanguineus* s.l. atue também como vetor nessas áreas, pois é encontrado infectado por *R. rickettsii* em áreas com presença do vetor primário, *A. aureolatum*.

2) Na região Sudeste, cavalos e capivaras (hospedeiros amplificadores natural de *R. rickettsii*) conservam as populações de carrapatos (*A. sculptum*) no ambiente. Durante atividades de lazer, de fazenda, ou qualquer outra na proximidade com capivaras, é quando ocorre o risco de infecção em humanos. Nesse cenário, o início das manifestações clínicas é abrupto e a sintomatologia inicial é inespecífica, com quadro febril súbito, cefaleia, mialgia intensa, mal-estar generalizado, náuseas, vômitos, com posterior erupção cutânea, hemorragia e evolução rápida, com casos de alta gravidade e elevada taxa de letalidade. A maioria dos casos concentram-se entre junho e novembro, coincidindo com o período de estágios imaturos de *A. sculptum*. Grande parte dos casos (>70%) tem sido notificada em homens adultos em atividades ocupacionais em áreas habitadas por capivaras.

3) Em áreas de Mata Atlântica, nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, nota-se *A.*

ovale associado a *R. parkeri* cepa Mata Atlântica. O contato com o carrapato infectado acontece quando o indivíduo entra em áreas de mata ou quando cães entram na mata e carregam o vetor para o ambiente peridomiciliar e domiciliar. Com manifestações clínicas menos severas comparadas àquelas causadas pela *R. rickettsii*, observa-se a presença de sinais característicos, como cicatriz de inoculação evidente e linfadenopatia, febre e erupção cutânea. Possui menos casos confirmados, sendo estes, normalmente, sem evolução grave e óbito associado. É uma riquetsiose que não apresenta padrão de sazonalidade específico e é também encontrada nos estados do Ceará, nos litorais de São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná, e nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.

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

1.4 HOSPEDEIROS E RESERVATÓRIOS

Parte do ciclo de vida dos carrapatos ocorre na superfície do corpo de hospedeiros, que podem ser animais silvestres, domésticos e, ocasionalmente, o homem (SZABÓ et al., 2013; EREMEEVA e DASCH, 2015).

Durante o processo evolutivo desses animais, o aparelho bucal sofreu alterações, assim como o desenvolvimento de substâncias bioquímicas, permitindo que diferentes estádios biológicos desenvolvessem a capacidade de se alimentar de hospedeiros vertebrados terrestres, principalmente mamíferos (HOOGSTRAAL, 1967;; KLOMPEN et al., 1996 MANS et al., 2004).

Algumas espécies de carrapatos possuem ciclo trioxeno, enquanto outras possuem ciclo monoxeno (VIEIRA et al., 2004). Os hospedeiros também podem atuar como amplificadores, participando do aumento da área de distribuição geográfica dos carrapatos (translocação de carrapatos) e/ou na amplificação de riquetsias, uma vez que, quando infectados e em riquetsemia, os hospedeiros têm potencial para infectar novas linhagens de carrapatos (SZABO et al., 2013a; EREMEEVA e DASCH, 2015).

O processo de alimentação dos carrapatos algumas vezes pode ter impacto

negativo nos hospedeiros, causando enfermidades (HOOGSTRAAL, 1967; HOOGSTRAAL et al., 1982). Assim, para que uma espécie de vertebrado seja considerada um bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, ela deve apresentar as seguintes características: alta taxa de renovação populacional; ser presente em abundância nas áreas endêmicas de FM; em condições naturais, ser um bom hospedeiro do carrapato-vetor; ser susceptível à infecção por *R. rickettsii* e ser capaz de mantê-la em níveis plasmáticos suficientes para infectar novos carrapatos que venham a parasitá-la (LABRUNA, 2009).

Eventualmente, animais associados a humanos, como animais domésticos, atuam como hospedeiros primários de carrapatos infectados antes presentes em ambientes silvestres, podendo estabelecer um novo foco epidêmico (BARBIERI et al., 2015; PINTER et al., 2004). Nesses cenários, os cães atuam como hospedeiros e amplificadores de *A. ovale* e *A. aureolatum* em focos da FM (PINTER et al., 2006; SZABÓ et al., 2013; BARBIERI et al., 2015). São considerados animais sentinelas em áreas de ciclos enzoóticos, uma vez que, ao se infectar por *R. rickettsii*, funcionam como reservatórios, podendo amplificar essas bactérias, porém adoecem e podem morrer por FM (PIRANDA et al., 2008; PIRANDA et al., 2008).

Diversas espécies de mamíferos e até mesmo de aves silvestres são comumente encontradas parasitadas por *A. sculptum* na natureza, porém observa-se que a manutenção efetiva desse carrapato em uma determinada área depende da existência de pelo menos um de seus hospedeiros primários (LABRUNA, 2009). *A. sculptum* e

A. dubitatum têm como principal hospedeiro a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (SOUZA et al., 2006; SOUZA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2011; BRITES-NETO et al., 2015). Em áreas endêmicas para FM, os cavalos podem atuar como hospedeiros de *A. sculptum* (DEL GUERCIO et al., 1997; LABRUNA et al., 2001; FREITAS et al., 2010; BATISTA et al., 2010; MEIRA et al., 2013).

1.5 VIGILÂNCIA

Segundo o Ministério da Saúde (MS), a vigilância para FM compreende a vigilância epidemiológica e ambiental.

Na última década, ações de saúde influenciaram o quadro epidemiológico da FM no país. Em 2001, por meio da Portaria nº 1.943, de 18/10/2001, a FM passou a

ser considerada pelo MS como doença de notificação compulsória (BRASIL, 2001) e, em 2007, a doença passou a ser parte integrante do SINAN (BRASIL, 2019). 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 (DE OLIVEIRA et al., 2015). E em 2014, por meio da Portaria nº 1.271, de 06/06/2014 (BRASIL, 2014), a FM e outras riquetsioses passaram a ser 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.

1.6 JUSTIFICATIVA

A FM é uma doença infecciosa aguda, potencialmente fatal, reconhecida como um problema emergente e reemergente de saúde pública no Brasil, principalmente no que se refere a áreas onde ocorrem os óbitos (estados da região Sudeste e Paraná). O estado de Minas Gerais é o terceiro em números de casos da doença, e conhecer os aspectos de sua transmissão auxilia no entendimento de seu comportamento e na criação de melhores estratégias de precaução, controle e conscientização da população, viabilizando programas de prevenção mais específicos e otimizados.

2 OBJETIVO

Analisar os fatores ecoepidemiológicos da FM no Estado de Minas Gerais entre 2007 e 2019.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

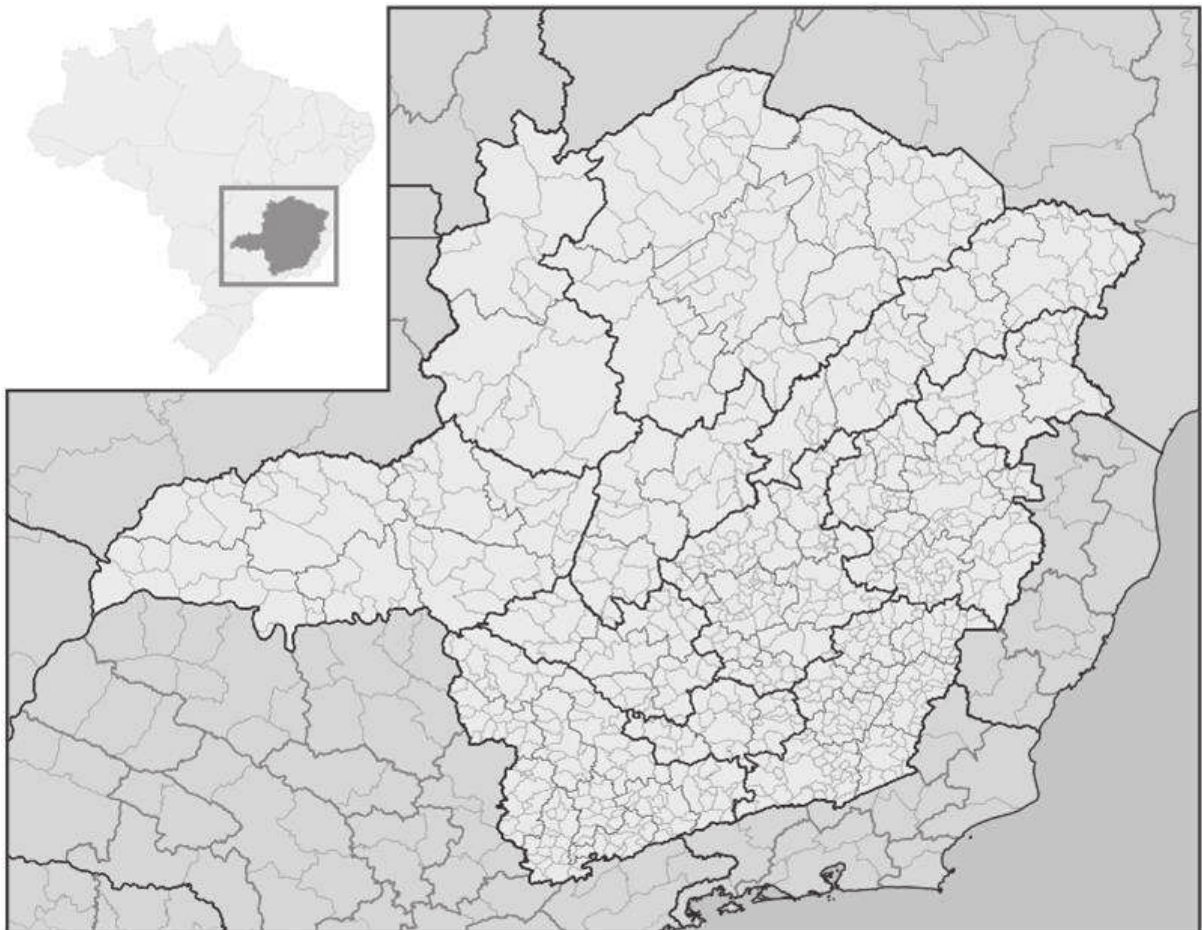
- Caracterizar o perfil do paciente de FM em Minas Gerais;
- Determinar a composição da fauna de ectoparasitos potencialmente vetores de riquétsias nas regiões estudadas;
- Analisar a área de circulação de riquétsias a partir dos casos investigados pela vigilância de ambientes;
- Associar a distribuição de casos e óbitos de acordo com os domínios morfoclimáticos do estado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O estado de Minas Gerais (Figura 3) constitui uma das 27 unidades federativas do Brasil, sendo o quarto estado com a maior área territorial (586.521,123 km²) e o segundo em quantidade de habitantes (21.292.666). Está localizado na região Sudeste do país e seu território é subdividido em 853 municípios, a maior quantidade entre os estados brasileiros (IBGE, 2021).

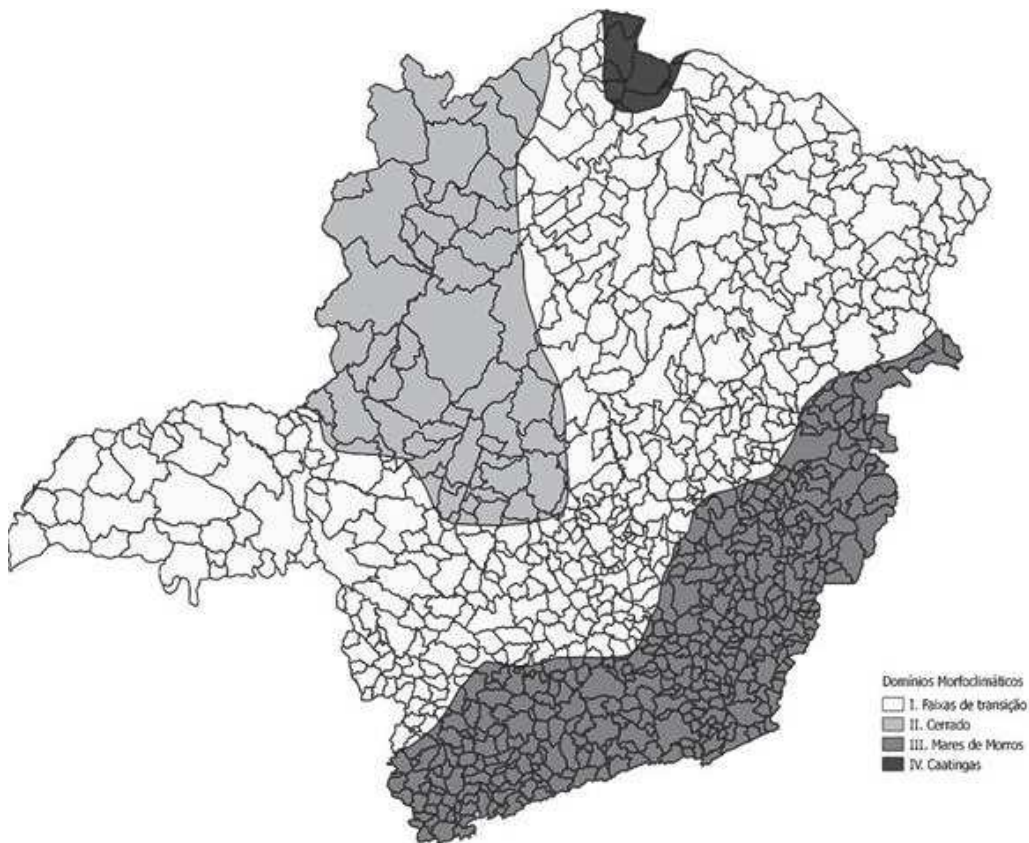
Figura 3 - Mapa de localização do Estado de Minas Gerais.



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

Apresenta três domínios morfoclimáticos em sua extensão. Na região leste do estado, uma faixa de mares de morros; no extremo norte, uma pequena área de Caatinga e, no noroeste, o Cerrado. Sua extensão central é formada por área de transição, entre o relevo de mares de morros e alguns chapadões florestados e entre o Cerrado (Figura 4). Para o clima atual, Minas Gerais apresenta cinco variações pela classificação climática de Köppen, sendo dois temperados quentes, um tropical e dois semiáridos; e 25 por Thornthwaite, sendo esse considerado o sistema mais sensível em detectar os tipos climáticos (MARTINS et al., 2018). Apresenta temperaturas médias anuais superiores a 18°C em todas as regiões, exceto nos planaltos elevados do centro-sul (região de transição), onde no inverno são registradas temperaturas médias inferiores a 18°C (INMET, 2020).

Figura 4 - Domínios Morfoclimáticos presentes no Estado de Minas Gerais.



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

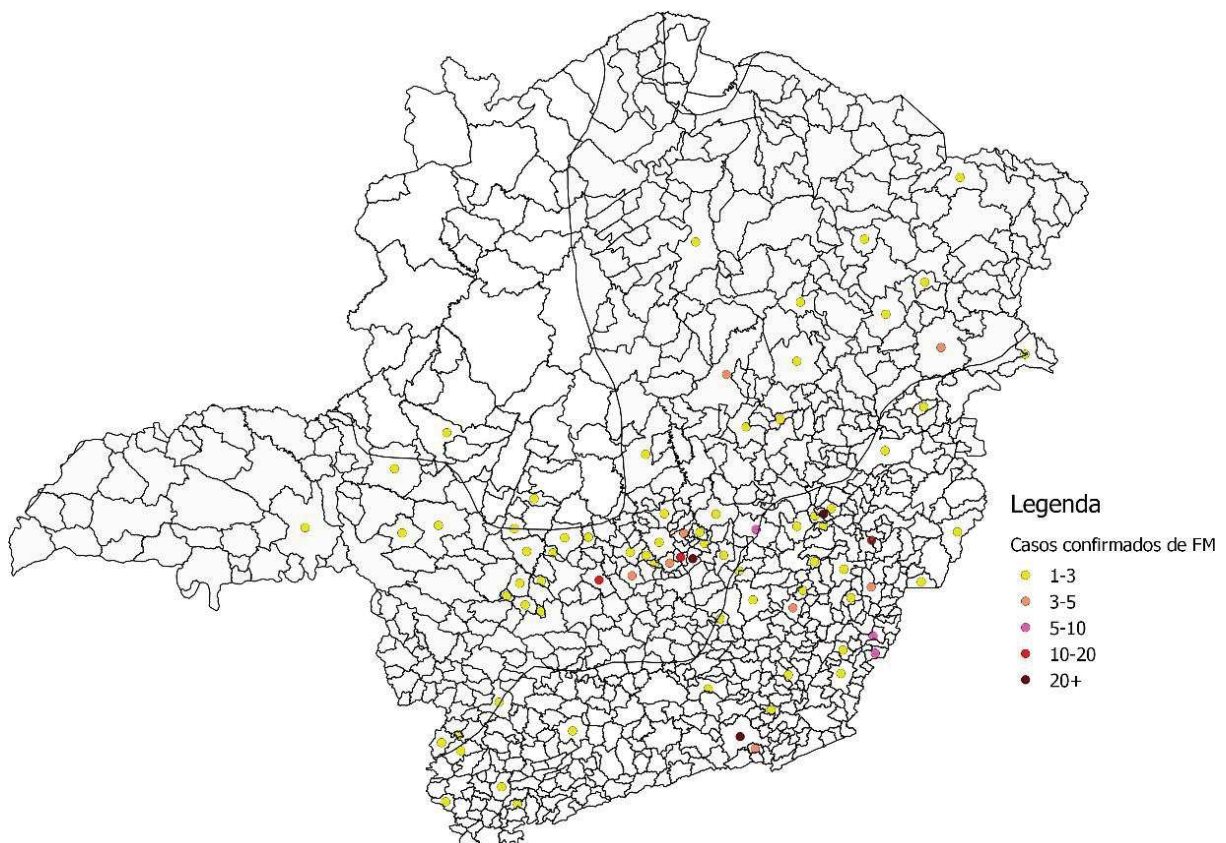
3.2 COLETA DE DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Foi realizado um estudo epidemiológico descritivo a partir de registros nas bases de dados de casos de FM notificados a partir de Formulários de Notificação e

Investigação (FNI), disponíveis no SINAN, e relatórios técnicos das investigações executadas pelas Vigilâncias Epidemiológicas das Secretarias Municipais de Saúde e Secretaria Estadual de Saúde.

Foram analisados os casos confirmados da doença nesse período, ou seja, aqueles que tiveram a infecção por riquétsias do grupo febre maculosa confirmada. O estudo foi realizado por meio da análise dos casos ocorridos nos 82 municípios do estado que tiveram casos confirmados entre 2007 e novembro de 2019 (Figura 5), considerando-se que os municípios de residência e os locais prováveis de infecção dos casos confirmados de FM pertenciam a esses municípios.

Figura 5 - Municípios do Estado de Minas Gerais que registraram casos de FM entre os anos de 2007 e 2019.



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

A análise de dados foi realizada utilizando linguagem de programação Python 3.6.8, biblioteca Pandas 0.24.2 e a confecção de mapa de casos da doença e sua localização em domínios morfoclimáticos no estado pelo software Qgis® 2.18.11. Para o cálculo das características sociodemográficas, clínicas, assistenciais,

laboratoriais e epidemiológicas, valores nominais simples e relativos das ocorrências, utilizou-se o recurso de médias e desvios-padrões.

As variáveis de cada caso confirmado foram agrupadas, para fins de análise, dentro das seguintes classes: dados gerais da origem dos pacientes – município de notificação; dados individuais – idade, sexo e etnia; dados clínicos – principais e sintomas; dados epidemiológicos – relacionado especificamente às exposições de risco; dados conclusivos – evolução dos casos.

Para a coleta dos dados, neste estudo, foi respeitada a Resolução nº 466/2012, sendo garantido o sigilo das informações e a não divulgação dos dados individualizados dos pacientes.

3.3 DADOS DE POTENCIAIS VETORES DE FM

As informações foram obtidas do banco de dados da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), construído a partir de amostras recebidas e analisadas por meio do fluxo da Rede Nacional de Vigilância Ambiental para Febre Maculosa e Outras Riquetsioses do Ministério da Saúde.

3.3.1 Coleta de Potenciais Vetores

As coletas em ambiente foram realizadas por meio de arrasto de flanela (OLIVEIRA, 1998; OLIVEIRA et al., 2000) e, em vertebrados, por catação, 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. Todo o material coletado foi imediatamente fixado em álcool isopropílico P.A. e encaminhado, via fluxo da Rede Nacional de Vigilância de Ambiente para Febre Maculosa e Outras Riquetsioses, para a Funed, onde foi mantido em temperatura ambiente até o processamento.

3.3.2 Identificação Taxonômica dos Artrópodes

A identificação foi realizada na Funed, com o auxílio de um microscópio estereoscópio, utilizando-se as chaves taxonômicas Barros-Battesti et al. (2006) e de

Aragão e Fonseca (1961) para adultos e Martins et al. (2010) para ninfas.

3.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (PCR *real time*)

A realização da PCR em tempo real (quantitativa) foi feita no Laboratório de Biologia Molecular do Serviço de Virologia e Riquetsioses/DIOM na Fundação Ezequiel Dias em Belo Horizonte, Minas Gerais. Para realização da PCR *real time*, utilizou-se o SYBR® Green. O kit utilizado para amplificação foi o Kapa Syber fast e o equipamento Step one, da Applied Biosystems. Foram analisadas 210 amostras de possíveis vetores de FM e 575 amostras de pacientes com suspeita de FM. As amostras foram processadas utilizando-se oligonucleotídeos, grupo-específicos para detecção de riquetsias GFM (par de *primer* para detecção do gene *ompA*), pois esse é o *primer* usado na rotina do laboratório para separação das amostras (Tabela 1). Como controle positivo, foi utilizado DNAg de *R. parkeri* e, como controle negativo, água deionizada. Após os resultados da PCR quantitativa, selecionou-se as amostras positivas para a realização da técnica de PCR qualitativa para detecção de espécimes de vetores e amostras de sangue humano positivos para riquetsias do grupo febre maculosa.

Tabela 1- Primer utilizado para desenvolvimento da PCR quantitativo para Riquetsia do grupo Febre Maculosa.

Gene	Primer	Sequencia de nucleotídeos 5'>3'	Tamanho do fragmento
<i>ompA</i>	RR190.588F	GGA GCG AAT GCT GCA CTA AT	113
	RR190.701R	GTT CCG TTA ATG GCA GCA TCT	

Fonte: Eremeeva et al. (2003).

Tabela 2: Oligonucleotídeos utilizados para identificação genotípica de espécies de riquetsias.

Gene Alvo	Oligonucleotídeo Iniciador	Sequência 5'-3'	Tamanho do Fragmento
<i>gltA</i>	CS2.78 CS2.323	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	401 pb ^a
	CS4-239 CS4-1069	GCTCTTCTCATCCTATGGCTATTAT CAGGGTCTTCGTGCATTTCTT GTATCTGAATTAA	834 pb ^b
<i>sca4</i>	D1738F D2482R	GCAATGCG CTATAACAGGATTAACAGCG ATGGCGAATATT	744 ^c
<i>ompA</i>	<i>Rr</i> 190.70p <i>Rr</i> 190.602n	CTCCAAAAAGTGCAGCATTTCGCTCCCCCT	535 pb ^d

Fonte: ^aLABRUNA et al. (2004b); ^bLABRUNA et al. (2004a); ^cSEKEYOVA et al. (2001); ^dREGNERY et al. (1991)

3.5 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE CONVENCIONAL (PCR)

As amostras positivas nas reações de PCR quantitativa (qPCR) foram processadas na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando oligonucleotídeos gênero-específicos CS2, CS4 (gene *gltA*) e GeneD (gene *sca4*) para detecção de *Rickettsia* spp e oligonucleotídeos grupo-específicos para detecção de riquetsias grupo febre maculosa (gene *ompA*) (Tabela 2). O preparadas soluções e as condições das corridas de PCR foram adequados para cada tipo de gene pesquisado (LABRUNA et al., 2004 a, b; REGNERY et al., 1991; SEKEYOVA et al., 2001). Nas reações de PCR foram utilizados 10 µM de cada oligonucleotídeo; 200 µM de cada dNTP; 1X de tampão 10X (Tris-HCl 200 mM pH 8,4; KCl 500 mM); 1,5 mM MgCl₂; 1,25 U de *Taq* DNA polimerase *Platinum*TM (Invitrogen/ Life Technologies, Gaithersburg, EUA) e água ultrapura livre de DNase e RNase (qsp 25 µl). Como controle positivo, foram utilizados 300 ng de DNAg de *Rickettsia parkeri* e, como controle negativo, água ultrapura livre de DNase e RNase. As reações de PCR foram realizadas em termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems®, Carlsbad, EUA) e *T- Professional Gradient Thermocycler* (Biometra Ltd., Goettingen, Alemanha).

Para a visualização do fragmento de DNA amplificado, os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados por brometo de etídeo, observadas em luz de ultravioleta (SAMBROOK e RUSSEL, 2001) em scanner de gel *MiniBis Pro*[®] (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Jerusalém, Israel).

3.6. SEQUENCIAMENTO

O produto da PCR foi purificado utilizando o *Wizard*[®] *SV Gel and PCR Clean-Up*TM *System Protocol Kit* (Promega, Madison, EUA), seguindo as orientações do fabricante e submetido à reação de sequenciamento utilizando *Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1* (Applied Biosystems). As sequências nucleotídicas foram lidas por sequenciador automático *ABI 3730xl DNA analyzer* (Applied Biosystems) da Plataforma de Sequenciamento (PDTIS) da Fundação Oswaldo Cruz.

3.7 EDIÇÃO E ALINHAMENTO DE SEQUÊNCIAS NUCLEOTÍDICAS

As sequências obtidas foram editadas manualmente empregando-se o programa *SeqMan™ II, Expert Sequence Analysis Software 5.00© 1989-2001*, do pacote *DNA STAR Inc.* A avaliação da identidade das sequências de nucleotídeos foi obtida através da análise comparativa com as sequências existentes no banco de dados *GenBank* com o auxílio do programa *BLASTN* (NCBI, 2019). Para os alinhamentos, foram utilizadas sequências de espécies de riquetsias existentes no *GenBank*, realizados com o software *Clustal W* (THOMPSON et al., 1994), disponível no programa *MEGA 7.0* (KUMAR et al., 2016). Todos os alinhamentos foram inspecionados manualmente e, para os genes codificantes de proteína, foi realizada a tradução para sequência de aminoácidos [utilizando o algoritmo *BLASTX* (NCBI, 2019)] para verificar a existência de pseudogenes e confirmar a existência de homologia, onde nenhum códon de parada foi observado.

3.8 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Foram realizadas inferências filogenéticas de sequências concatenadas dos fragmentos obtidos (*gltA*, *ompA* e *sca4*). Os filodendogramas foram construídos por análise de máxima verossimilhança e com modelo evolutivo GTR+G+I, estimado através do *Bayesian Information Criterion* e indicado pelo programa *MEGA 7.0*, e os valores de suporte dos ramos internos foram calculados utilizando-se *bootstrap* de 1000 réplicas (FELSENSTEIN, 1985).

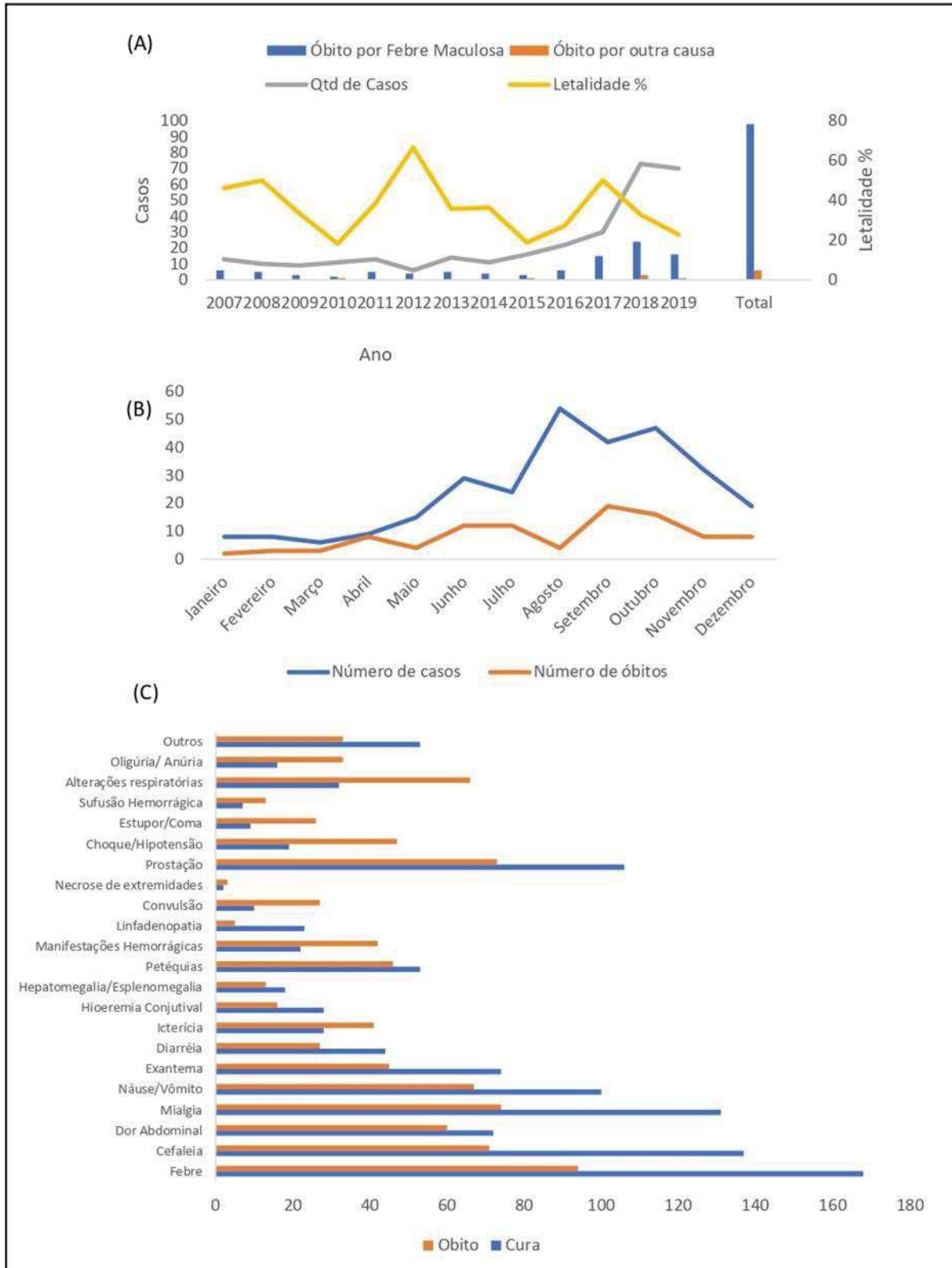
4 RESULTADOS

Entre os anos de 2007 e 2019 (novembro), foram confirmados 298 casos de FM no estado de Minas Gerais e, desses, 98 evoluíram para óbitos, totalizando uma taxa de letalidade de aproximadamente 32,9% no estado nesses 12 anos. O município de Belo Horizonte foi o que apresentou maior número de casos da doença (63), e o município de Juiz de Fora a maior taxa de letalidade: 48,1%. Foi observado um aumento do número de casos a partir do ano de 2011 (Figura 6).

Do total de casos registrados, 69,4% (207 casos) acometiam vítimas do sexo masculino. Também a letalidade foi maior nesse grupo: 78,8% (n=78). A média de idade dos casos que alcançaram a cura é de 31,6 anos, com desvio-padrão de 20,6, e o maior número de casos ocorreu entre os meses de agosto e novembro. Os casos mais graves evoluíram para óbito entre os meses de setembro e dezembro (Figura 6B). Os principais sintomas relatados foram febre, seguido de cefaleia, mialgia, prostração, náusea e vômito (Figura 6C).

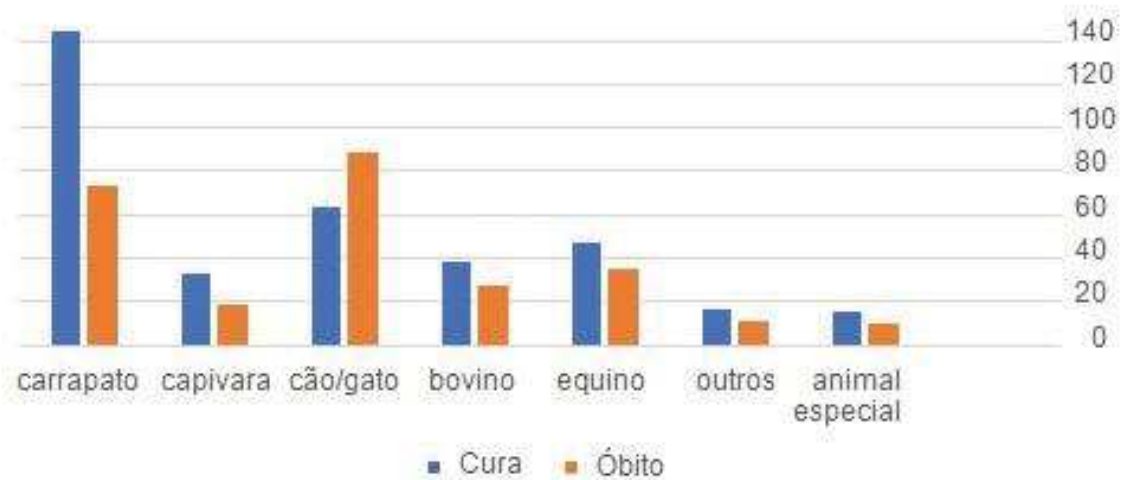
A maioria dos pacientes relatou ter tido contato com animais como carrapato, capivara e animais domésticos como cães e gatos. Nos casos que culminaram em óbito, o contato com cães e gatos demonstrou grande importância (89 casos), seguido pelo contato com carrapatos (74 casos) e equinos (35 casos). O contato com capivaras ocupa o último lugar em registros de contato, seja em circunstâncias onde há cura, seja quando a evolução é um óbito (Figura 7).

Figura 6 - Dinâmica epidemiológica da Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, 2007-2019(novembro): (A) Número absoluto de casos relatados, óbitos, e taxa de letalidade por FM; (B) Distribuição mensal de casos de FM; (C) Sinais Clínicos e sintomas x evolução da doença.



Fonte: Elaborado pela autora (2021)

Figura 7 - Relato de contato com animal x evolução da doença.



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

A faixa etária mais atingida é a de 30 a 59 anos, e a média de idade dos casos que foram a óbito é de 39 anos, com desvio-padrão de 18.7. Os grupos étnicos mais acometidos foram pardos, seguido de brancos (Tabela 3). Entre os casos confirmados, 241 pacientes foram hospitalizados, dos quais 99 foram a óbito. O maior número de notificações, tanto de casos suspeitos e confirmados quanto de óbitos confirmados, foi na zona urbana, com 59,18% dos óbitos da doença ocorrendo nessa região.

Tabela 3 - Número absoluto e percentual de casos e óbitos confirmados de Febre Maculosa, segundo variáveis individuais, demográficas e epidemiológicas entre 2007 e 2019 no Estado de Minas Gerais, Brasil (continua).

Feminino				
Idade	N casos	%	N óbitos	%
<1	2	0,66	0	0
1 a 5	7	2,3	0	0
6 a 10	4	1,33	0	0
11 a 15	4	1,33	2	2,04
16 a 20	3	1,0	1	1,02
21 a 29	8	2,67	3	3,06
30 a 39	1	3,67	5	5,1
40 a 49	9	3,01	5	5,1
50 a 59	8	2,67	4	4,08
60 a 69	7	2,34	1	1,02
70 a 79	6	2,0	0	0
>80	1	0,33	0	0
Masculino				
Idade	N casos	%	N óbitos	%
<1	2	0,66	0	0
1 a 5	14	4,68	6	6,122
6 a 10	22	7,35	4	4,08
11 a 15	117	5,68	3	3,06
16 a 20	15	5,01	4	4,08
21 a 29	20	6,68	9	9,18
30 a 39	25	8,36	4	4,08
40 a 49	40	13,37	20	20,4
50 a 59	33	11,03	15	15,3
60 a 69	14	4,68	6	6,12
70 a 79	1	0,33	2	2,04
>80	4	1,33	4	4,08

Tabela 3 - Número absoluto e percentual de casos e óbitos confirmados de Febre Maculosa, segundo variáveis individuais, demográficas e epidemiológicas entre 2007e 2019 no Estado de Minas Gerais, Brasil (continua).

Grupo étnico	N casos	%	N óbitos	%
Branco	97	32,55	29	30,58
Preto	28	9,39	11	11,22
Amarelo	1	0,33	0	0
Pardo	117	39,26	45	45,91
Indígena	0	0	0	0
Informação em	25	8,38	12	12,24
Branco Ignorado (9)	21	7,04	2	2,04
Escolaridade				
Analfabeto	2	0,67	0	0
1a à4a série	15	5,03	5	5,10
4a completa	16	5,36	8	8,16
5a a 8a incompleto	31	10,40	10	10,20
Fundamental completo	11	3,69	2	2,04
Médio Incompleto	15	5,03	9	9,18
Médio Completo	23	7,71	8	8,16
Superior Incompleto	3	1,00	0	0
Superior Completo	5	1,67	0	0
Ignorado	89	29,86	39	39,79
Em Branco	39	13,08	13	13,26
Não se Aplica	28	9,39	5	5,10

Tabela 3 - Número absoluto e percentual de casos e óbitos confirmados de Febre Maculosa, segundo variáveis individuais, demográficas e epidemiológicas entre 2007 e 2019 no Estado de Minas Gerais, Brasil.

Área provável de infecção	N casos	%	N óbitos	%
Urbana	192	62,31	58	59,18
Rural	64	23,10	29	29,59
Perirubana	5	1,8	3	3,06
Ignorado	4	1,44	4	4,08
Em branco	12	4,33	5	5,10

Foram coletadas 210 amostras de possíveis vetores de *Rickettsia* spp, sendo 175 coletadas em ambiente, pela técnica de arrasto, 20 amostras em capivaras, 14 em equinos e uma em bovino (Tabela 4).

Foram analisadas 785 amostras para detecção de *Rickettsia* spp nas triagens de PCR, sendo 575 amostras de sangue humano e 210 amostras de possíveis vetores (todos carrapatos). Um total de 99 amostras foram positivas para presença de *Rickettsia* spp nas triagens da qPCR e, posteriormente, foram submetidas a PCR convencional para pesquisa de genes riquetsiais. Desse conjunto, 85 amostras foram positivas para pelo menos um dos genes pesquisados, sendo possível obter sequência nucleotídica parcial do gene *gltA* em 85 amostras (**MT957958-MT958042**), do gene *ompA* em 66 amostras (**MT958043-MT958108**) e do gene *sca4* em 56 amostras (**MT958109-MT958164**)(Tabela 5).

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

Espécie	Local de coleta	Sexo	Município	Data da Coleta
<i>A. sculptum</i>	A	M	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	17/07/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Coronel Pacheco	17/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Coronel Pacheco	17/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Piracema	29/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Jaboticatubas	07/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	03/07/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	22/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A.	M	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	São Gonsalo do Rio Preto	09/07/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Lagoa Santa	03/02/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	28/04/2015
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracual	08/11/2017

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE – Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F – Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

<i>Dermacentor nitens</i>	PAE	F	Pedro Leopoldo	30/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	30/04/2017
Pool de ninfas- s/ identificação espécie				
	E	I	Belo Horizonte	10/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Contagem	18/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Sarzedo	06/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	15/04/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Sao Goncalo do Rio Preto	09/07/2015
<i>A. sculptum</i>	A	M	Aracuai	07/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Aracuai	08/11/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Florestal	13/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A.	M	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Rio Novo	16/10/2017
<i>Rhipicephalus</i>				
<i>(Boophilus) microplus</i>	B	M	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Contagem	18/04/2017
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Pedro Leopoldo	30/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Jaboticatubas	07/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	19/10/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	29/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	26/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	26/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/04/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
Pool Arrasto Larva	A		Pará de Minas	18/07/2018
Pool Arrasto Larva	A		Itauna	19/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A		Belo Horizonte	14/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	14/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	15/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	15/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo HorizontE	21/08/2018
<i>A. sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	27/04/2018
<i>A. sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	04/05/2018
<i>A. sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	07/05/2018
<i>A. sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	17/05/2018
<i>A. sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	17/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	22/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	13/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	18/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	21/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	26/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Varginha	15/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Poços de Calda	04/01/2018
<i>A. sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	02/02/2018
<i>A. sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	01/02/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

<i>A. sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	15/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Poços de Caldas	25/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	29/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	18/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	14/05/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	26/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	26/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	26/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	18/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itabirito	04/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	24/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	02/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	02/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	14/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Poços de Caldas	20/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Poços de Caldas	20/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Poços de Caldas	25/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Poços de Caldas	15/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Poços de Caldas	15/07/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

<i>A. sculptum</i>	A	M	Pará de Minas	18/07/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Divinópolis	27/07/2018
Pool Larva	A		Itauna	10/08/2018
Pool Larva	A		Itauna	10/08/2018
Pool Larva	A		Itauna	13/08/2018
Pool Larva	A		Itauna	13/08/2018
Pool Larva	A		Itauna	13/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	14/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itauna	21/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itauna	27/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itauna	27/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Itauna	29/08/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itauna	14/09/2018
Ninfa	A		Itauna	14/09/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	M	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	M	Teófilo Otoni	30/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Teófilo Otoni	29/08/2018
<i>Dermacentor nitens</i>	E	M	Pedro Leopoldo	27/12/2017
<i>Dermacentor nitens</i>	E	M	Pedro Leopoldo	27/12/2017
<i>Dermacentor nitens</i>	E	F	Pedro Leopoldo	27/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	28/02/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	06/03/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Caratinga	29/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A	M	Pocos de Caldas	28/12/2017
<i>A. sculptum</i>	A	F	Pocos de Caldas	04/01/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua).

<i>A. sculptum</i>	A	M	Pocos de Caldas	04/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Pocos de Caldas	04/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Belo Horizonte	04/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Pocos de Caldas	08/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Pocos de Caldas	08/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Pocos de Caldas	08/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	04/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	06/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	13/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Sarzedo	14/03/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Sarzedo	11/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Itabirito	06/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Araçuaí	16/04/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes (continua)

<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	F	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Araçuai	16/04/2018
<i>A.sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	19/04/2018
<i>A.sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	27/04/2018
<i>A.sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	27/04/2018
<i>A.sculptum</i>	C	F	Belo Horizonte	19/01/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	25/01/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	31/01/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	31/01/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	01/02/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	10/05/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Sarzedo	11/05/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	17/05/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	17/05/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	23/05/2018
<i>A.sculptum</i>	C	M	Belo Horizonte	23/05/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A.sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 4 - Possíveis vetores de *Rickettsia* sp. Coletados no Estado de Minas Gerais durante Vigilância de ambientes.

<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Congonhas do Norte	12/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	F	Lagoa Santa	19/06/2018
<i>A. sculptum</i>	A	M	Belo Horizonte	19/06/208

Legenda: A - Ambiente; B - Bovino; C- Capivara; E - Equino; PAE - Pavilhão Auricular Equino; I- Indefinido; M - Macho; F - Fêmea.

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 e 2018 (continua).

Localidade	Tipo Sangue	Amostra		
		Código	Gene	Número de acesso
Antônio Peçanha	Humano	1724/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958040 MT958091 MT958150
Belo Horizonte	Humano	556/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957959 MT958046 MT958112
Belo Horizonte	Humano	825/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957961 MT958047 MT958113
Alvinópolis	Humano	849/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957986 MT958048 MT958114
Belo Horizonte	Humano	851/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957987 MT958049 MT958115
Belo Horizonte	Humano	979/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958025 MT958043 MT958142
Belo Horizonte	Humano	1327/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958011 MT958050 MT958116
Belo Horizonte	Humano	1636/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958023 MT958144
Belo Horizonte	Humano	1637/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958030 MT958081

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018 (continua).

Belo Horizonte	Humano	1638/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958031 MT958082
Belo Horizonte	Humano	1640/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958032 MT958083
Belo Horizonte	Humano	1641/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958033 MT958084
Belo Horizonte	Humano	1642/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958034 MT958085 MT958145
Belo Horizonte	Humano	1647/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958027 MT958146
Belo Horizonte	Humano	1648/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958028 MT958147
Belo Horizonte	Humano	1649/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958029 MT958086
Belo Horizonte	Humano	1853/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958036 MT958044 MT958153
Belo Horizonte	Humano	1884/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958035 MT958045 MT958154
Betim	Humano	1200/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958006 MT958051
Betim	Humano	1201/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958007 MT958052 MT958118

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018
(continua).

Caratinga	Humano	1243/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957976 MT958053 MT958119
Contagem	Humano	846/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957962 MT958054 MT958120
Contagem	Humano	968/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957963 MT958055 MT958121
Divinópolis	Humano	961/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957993 MT958056 MT958122
Divinópolis	Humano	1139/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958005 MT958057 MT958123
Divinópolis	Humano	1217/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958008 MT958058 MT958124
Florestal	Humano	982/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957965 MT958059
Ibiá	Humano	1736/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958041 MT958092 MT958151
Ipatinga	Humano	1684/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958038 MT958089
Ipatinga	Humano	1786/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958042 MT958093 MT958152

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018 (continua).

Itamarandiba	Humano	1106B1/17	<i>gltA</i>	MT957970
			<i>ompA</i>	MT958060
			<i>sca4</i>	MT958125
Itamarandiba	Humano	1106B2/17	<i>gltA</i>	MT957971
			<i>ompA</i>	MT958061
			<i>sca4</i>	MT958126
Itamarandiba	Humano	1106C/17	<i>gltA</i>	MT957972
			<i>ompA</i>	MT958062
			<i>sca4</i>	MT958127
Itaúna	Humano	858/18	<i>gltA</i>	MT957988
			<i>ompA</i>	MT958063
			<i>sca4</i>	MT958128
Itaúna	Humano	1027/18	<i>gltA</i>	MT957994
			<i>ompA</i>	MT958064
			<i>sca4</i>	MT958129
Itaúna	Humano	1028/18	<i>gltA</i>	MT957995
			<i>ompA</i>	MT958065
			<i>sca4</i>	MT958130
Itaúna	Humano	1663/18	<i>gltA</i>	MT958037
			<i>ompA</i>	MT958087
			<i>sca4</i>	MT958148
Itaúna	Humano	1664/18	<i>gltA</i>	MT958026
			<i>ompA</i>	MT958088
			<i>sca4</i>	MT958149
Jaguaraçu	Humano	1420/18	<i>gltA</i>	MT958017
			<i>ompA</i>	MT958066
			<i>sca4</i>	MT958131

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018
(continua).

Juiz de Fora	Humano	1601/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958021 MT958079
Juiz de Fora	Humano	1631/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958022 MT958080
Juiz de Fora	Humano	1714/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958039 MT958090
Matozinhos	Humano	979/17	<i>gltA</i>	MT957964
Matozinhos	Humano	1020/17	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957966 MT958132
Miradouro	Humano	1366/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958012 MT958067 MT958133
Pedro Leopoldo	Humano	536/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957958 MT958068
Pedro Leopoldo	Humano	1259/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957977 MT958069 MT958134
Ponte Nova	Humano	1460/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958019 MT958070 MT958135
Rio Casca	Humano	1196/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957975 MT958071 MT958136
Ribeirão das Neves	Humano	1242/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958009 MT958072 MT958137

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018 (continua).

Santa Cruz do Escalvado	Humano	1471/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT958020 MT958073 MT958138
São Gonçalo do Rio Abaixo	Humano	1129A/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957973 MT958074 MT958139
São Gonçalo do Rio Abaixo	Humano	1129B/17	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957974 MT958140
São Gonçalo do Rio Abaixo	Humano	1269/17	<i>gltA</i>	MT957978
São José do Jacuri	Humano	584/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957960 MT958075 MT958141
Ubá	Humano	489/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958024 MT958076
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	674/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957980 MT958155
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	688/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957982 MT958098
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	778/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957983 MT958156
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	779/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957984 MT958157
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	783/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957985 MT958158
Belo Horizonte	Tecido vetor (<i>A. sculptum</i>)	884/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957989 MT958159

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018
(continua).

Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	921/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957990 MT958099
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	922/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957991 MT958100
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	924/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957992 MT958101
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1107/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957996 MT958102
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1108/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957997 MT958103
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1110/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957998 MT958104 MT958160
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1114/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT957999 MT958105
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1118/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958000 MT958106
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1120/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958001 MT958161
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1122/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958002 MT958162
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1248/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958010 MT958163
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1377/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958013 MT958107
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1378/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958014 MT958108

Tabela 5- Espécies de *Rickettsia* detectadas por análise de sequências nucleotídicas parciais dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* de amostras de sangue (humano) e de tecido de carrapato (*Amblyomma sculptum*) provenientes de áreas de casos suspeitos de Febre Maculosa no estado de Minas Gerais, durante os anos de 2017 a 2018.

Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1380/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958015 MT958094
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1381/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958016 MT958095
Belo Horizonte	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1442/18	<i>gltA</i> <i>ompA</i>	MT958018 MT958096
Contagem	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1068.2/17	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT957967 MT958109
Contagem	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1068.3/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957968 MT958077 MT958110
Contagem	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1068.7/17	<i>gltA</i> <i>ompA</i> <i>sca4</i>	MT957969 MT958078 MT958111
Coronel Pacheco	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	003/17	<i>gltA</i>	MT957979
Itabirito	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1124/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958003 MT958143
Itabirito	Tecido Vetor (<i>A.sculptum</i>)	1130/18	<i>gltA</i> <i>sca4</i>	MT958004 MT958164

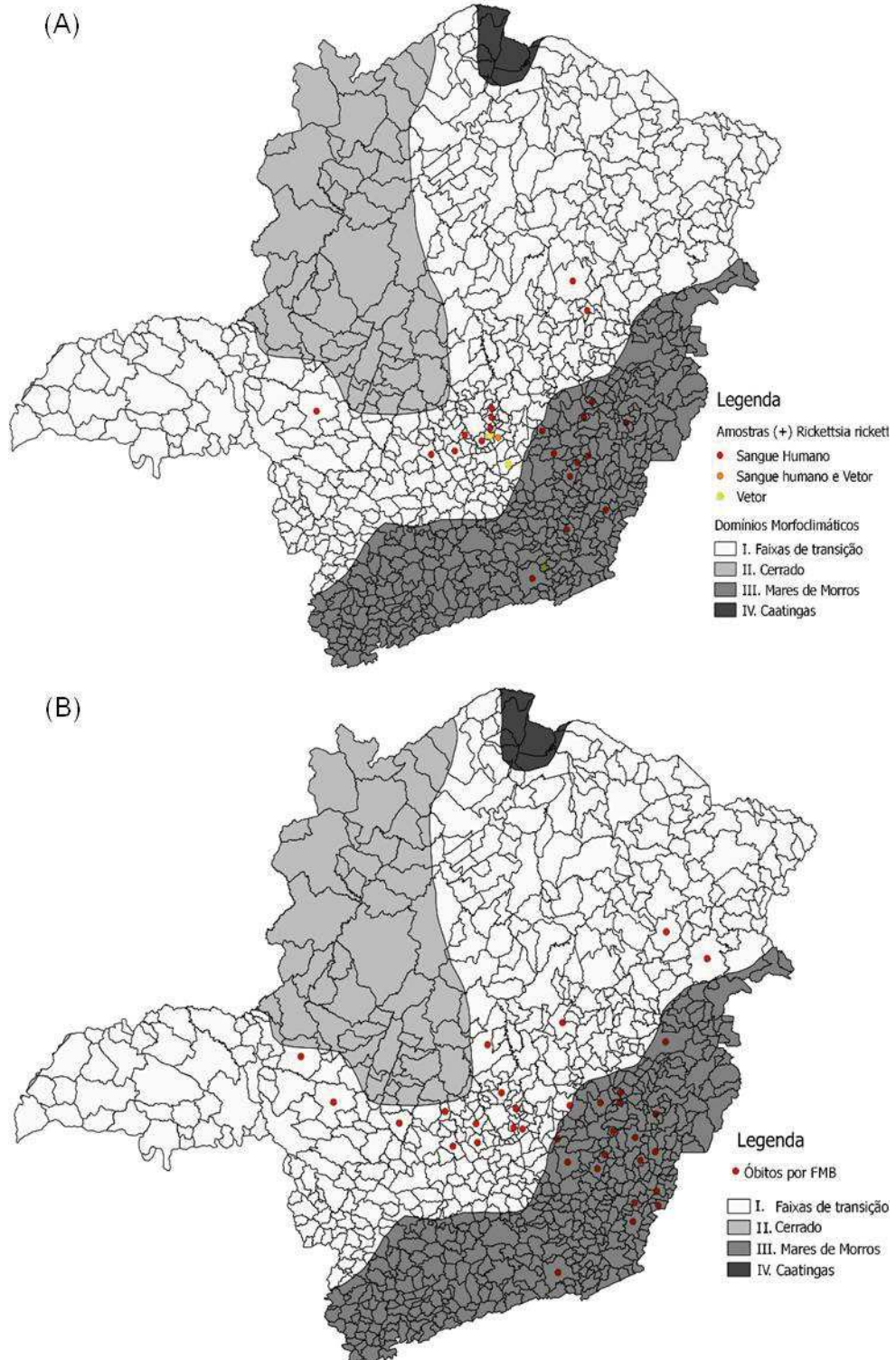
Nenhum dos óbitos registrados por FM e nenhuma das amostras positivas para presença de *Rickettsia* spp pertenciam ao bioma Cerrado (Figura 8).

Os óbitos registrados por FM no estado, assim como as amostras positivas para *R. rickettsii*, concentram-se em áreas de clima úmido e subúmido, que não apresentam deficiência hídrica relevante no inverno (Figura 9).

Com relação ao uso do solo, observa-se a ocorrência da maior parte dos casos da doença em áreas com forte antropização, com cobertura artificial do solo (Figura 10).

As análises de BLAST evidenciaram que todas as sequências obtidas neste estudo foram idênticas e apresentaram 100% de identidade com sequências de *R. rickettsii* cepa Brasil (CP003305), bem como outras cepas dessa espécie, disponíveis no Genbank. Dessa forma, foram selecionadas sequências de três amostras para a reconstrução filogenética gerada a partir da comparação das sequências parciais concatenadas dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* (de 1106, 491 e 704 pb, respectivamente), demonstrando que as sequências de Minas Gerais aqui obtidas são filogeneticamente relacionadas ao grupo *R. rickettsii* (Figura 11).

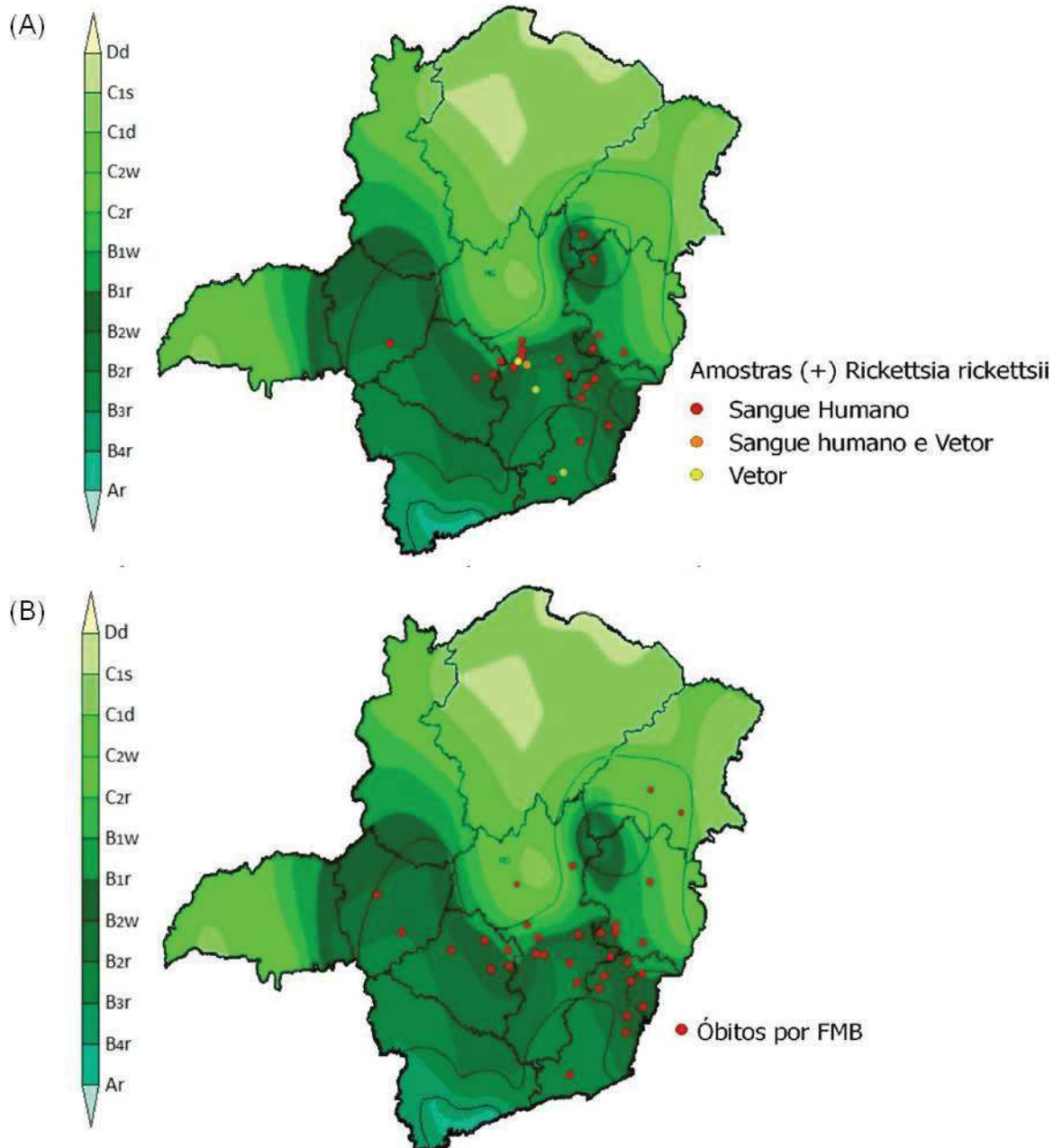
Figura 8 - (A) Municípios de Minas Gerais com registros de casos de óbito por Febre Maculosa. (B) Municípios de Minas Gerais com registros de amostras positivas para *R.rickettsii*.



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Figura 9 - (A) Distribuição de amostras positivas para *R. rickettsii* no Estado de Minas Gerais em relação ao SCC de Thornthwaite.; (B) Distribuição dos óbitos confirmados por FM no Estado de Minas Gerais em relação ao SCC de Thornthwaite. (Legenda:

Tabela 6)



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Tabela 6 - Tipos climáticos e subtipos do fator hídrico da classificação climática de Thornthwaite.

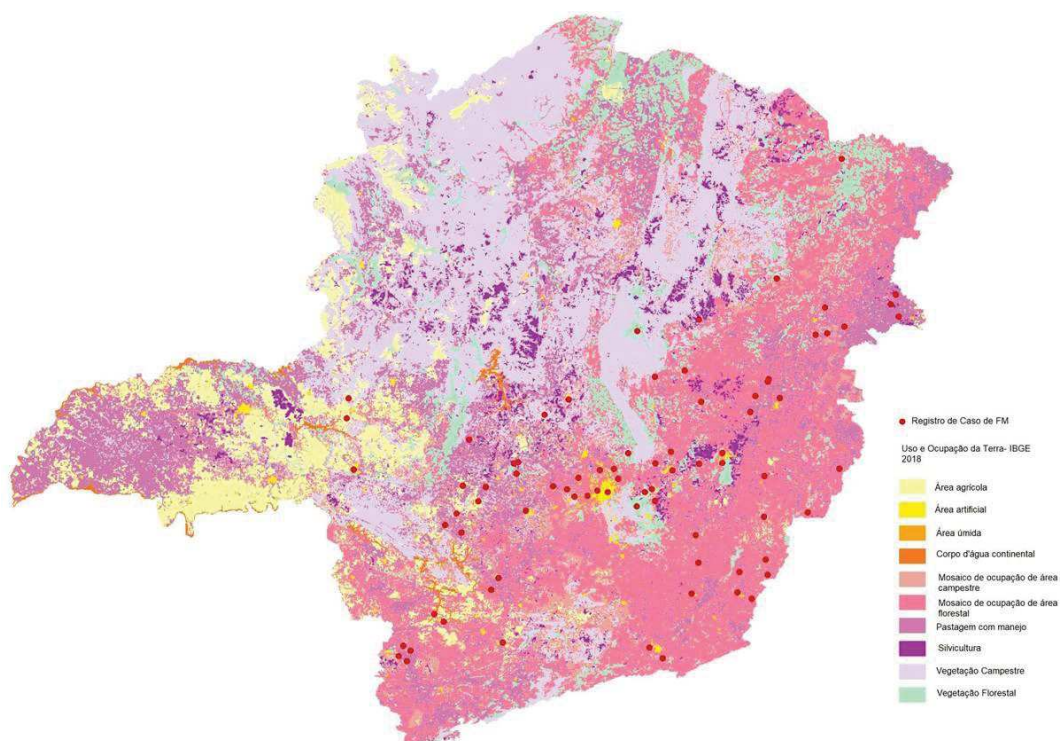
Tipo Climático hídrico	Símbolo	Classificação
Superúmido	A	$lu \geq 100$
Úmido	B4	$80 \leq lu < 100$
Úmido	B3	$60 \leq lu < 80$
Úmido	B2	$40 \leq lu < 60$
Úmido	B1	$20 \leq lu < 40$
Subúmido	C2	$0 \leq lu < 20$
Subúmido seco	C1	$-20 \leq lu < 0$
Semiárido	D	$-40 \leq lu < -20$
Árido	E	$-60 \leq lu < -40$

Para climas úmidos (A, B, C2) – utilizar o la		
Subtipo climático hídrico	Símbolo	Índice de aridez (la)
Sem ou com pequena deficiência hídrica	r	$0 \leq la < 16,7$
Deficiência hídrica moderada no verão	s	$16,7 \leq la < 33,3$
Deficiência hídrica moderada no inverno	w	$16,7 \leq la < 33,3$
Grande deficiência hídrica no verão	s2	$la \geq 33,3$
Grande deficiência hídrica no inverno	w2	$la \geq 33,3$

Para climas secos (C1, D E) – utilizar o lh		
Subtipo climático hídrico	Símbolo	Índice hídrico (lh)
Excedente hídrico pequeno ou nulo	d	$0 \leq lh < 10$
Excedente hídrico moderado no verão	s	$10 \leq lh < 20$
Excedente hídrico moderado no inverno	w	$10 \leq lh < 20$
Grande excedente hídrico no verão	s2	$lh \geq 20$
Grande excedente hídrico no inverno	w2	$lh \geq 20$

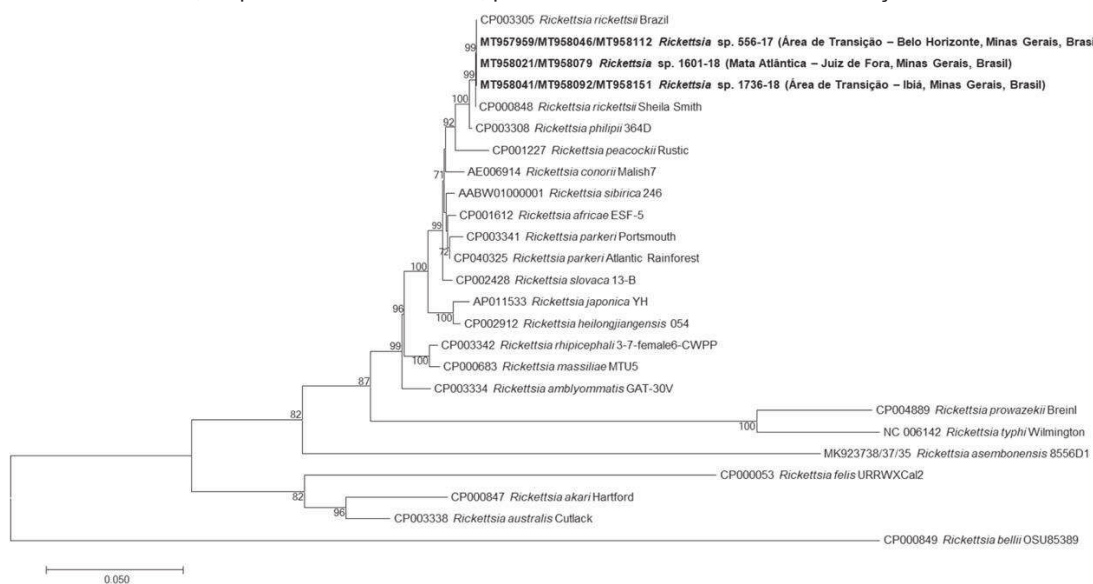
Fonte: Martins et al. (2018).

Figura 10: Uso e Cobertura da terra x casos de FM no Estado de Minas Gerais entre 2007 e 2019.



Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Figura 11 - Inferências filogenéticas da comparação das seqüências parciais concatenadas dos genes *gltA*, *ompA* e *sca4* (de 1106, 491 e 704 pb, respectivamente) de sangue de pacientes humanos, provenientes de casos suspeitos de Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais, do período de 2017 a 2018, pelo método de máxima verossimilhança de 1.000 árvores replicadas.



Legenda Como modelo evolutivo foi utilizado o algoritmo GTR+G+I e os valores de *bootstrap* superiores a 70% estão demonstrados nos ramos. As seqüências obtidas neste estudo estão destacadas em negrito, precedidas pelos respectivos números de acesso ao *GenBank* e seguidas pelas informações da localidade da ocorrência do caso.

5 DISCUSSÃO

Em 2007, a FM passou a integrar o SINAN. Já em 2011, iniciou-se o programa de capacitação em vigilância de ambiente das riquetsioses e a incorporação de técnicas de diagnóstico molecular, que possibilitaram a identificação de óbitos pela doença, o que pode explicar o aumento das taxas de letalidade após 2011, demonstrado no presente estudo (BRASIL, 2014).

Observou-se um aumento considerável do número de casos de FM no estado de Minas Gerais a partir de 2014, ano em que a doença e outras riquetsioses passaram a ser de notificação compulsória e imediata em até 24 horas, em cumprimento à Portaria nº 1.271, de junho de 2014 (BRASIL, 2014). Essa alta no volume de notificações foi resultado de esforços promovidos pelo SUS, que desenvolveu e desenvolve processos de formação contínua e de melhoria da rede de vigilância epidemiológica (OLIVEIRA et al., 2015). O crescimento da letalidade da FM no estado nos últimos anos, como apontado neste estudo, evidencia a gravidade dos casos (Figura 4A). O presente trabalho demonstrou, ainda, que as vítimas de FM em Minas Gerais durante o período analisado, tendo sido ou não fatais, foram majoritariamente do sexo masculino, em semelhança aos dados da doença no restante do Brasil e também àqueles contemplados em relatórios internacionais (OLIVEIRA et al., 2016; CDC, 2016). O grupo étnico mais acometido foi o pardo, seguido do branco. Importante ressaltar, no entanto, que o exantema pode não ser facilmente identificado na pele negra, o que tende a comprometer o diagnóstico da doença na parcela da população que possui esse fenótipo (FAVACHO et al., 2011).

Em Minas Gerais, a parcela da população mais acometida pela doença é aquela cujo nível de escolaridade tende a ser mais baixo, chegando até o ensino fundamental incompleto. A relação entre a FM e áreas agrícolas, pode ser justificada nos casos onde observa-se a presença de bandos de capivaras, amplificador da *R. rickettsii*. (SOUZA et al., 2008; FORTES et al., 2011). As capivaras ocorrem nos mais variados tipos de ambiente, inclusive em áreas urbanas de MG, podendo ser citadas as cidades de Juiz de Fora, com trânsito livre destes animais em seu centro urbano, e em área de parques em Belo Horizonte. No presente estudo, o contato com capivaras não se apresentou como fator relevante na suspeita de FM, tanto em casos brandos, como nos casos que evoluíram para óbito, como também notado no RJ e no Paraná (MONTENEGRO et al., 2017; Durães et al., 2021).

A influência da antropização nos padrões de uso e cobertura do solo, podem gerar modificações na dinâmica populacional de vetores de FM, pois associadas às anomalias climáticas tem gerado preocupações sobre o aumento da área de incidência de doenças transmitidas por artrópodes, porém, é de suma importância ressaltar que são inúmeros os fatores (ambientais, sociodemográficos e biológicos) que atuam nesta mudança (BARCELLOS et al., 2009). Neste estudo, notou-se também que os casos se concentram em áreas urbanas, com cobertura artificial do solo e antropizadas (Figura 10), corroborando constatações de estudos anteriores, que apontam esse mesmo cenário em várias regiões do país. Essa suposta urbanização da doença, que parece vir se espalhando para regiões que até então não eram consideradas de risco para transmissão, sugere fortemente que cada vez mais a FM não se restringe a áreas rurais e de mata, ocorrendo em áreas periurbanas e urbanas, inclusive em parques públicos (SOUZA et al., 2004; AMÂNCIO et al., 2011) (Tabela 3).

O maior número de casos foi notificado entre os meses de agosto e novembro, período de maior densidade de ninfas de carrapato (LABRUNA et al., 2002). Tal ocorrência faz sentido na medida em que a picada das ninfas é consideravelmente menos dolorosa que a do indivíduo adulto, por vezes até mesmo imperceptível, podendo, sim, estar associada a uma alta de transmissão para humanos. De acordo com os resultados obtidos, pode-se afirmar que é entre o fim do inverno e o início do verão que ocorre a maior incidência da doença no estado, o que também é observado para outras áreas endêmicas da doença no país (GALVÃO, 1996; LEMOS et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2016; DURÃES et al., 2021). A maioria dos casos confirmados usou como critério diagnóstico a sorologia, método usado também em outros estados do Brasil (OLIVEIRA et al., 2016). A sorologia, apesar de um recurso diagnóstico eficiente, não fornece, entretanto, dados sobre a espécie do bioagente, e o resultado deve ser correlacionado com o contexto clínico e epidemiológico, pois o contato com carrapatos é de extrema importância para a suspeita de FM (LEMOS et al., 2001; LEMOS et al., 2002; ANGERAMI et al., 2006; MONTENEGRO et al., 2017).

Considerando-se a complexidade dos contextos de transmissão de FM no país e as lacunas de conhecimento sobre eles, há dificuldade de uma efetiva análise comparativa de resultados que possam ser direcionados à saúde pública. As circunstâncias epidemiológicas da FM são diversas no Brasil, envolvendo diferentes

espécies de vetores e riquetsias, com casos variando de moderados a graves, ocorrendo ou não óbitos.

Os casos brandos e moderados, com manifestações clínicas de febre, escara de inoculação, linfadenopatia e erupção cutânea (SPOLIDORIO et al., 2010; KRAWCZAK et al., 2016a), tendem a ser menos graves do que os causados por *R. rickettsii* e geralmente são registrados onde o LPI é o ambiente rural ou urbano, em área de mata ou borda de Mata Atlântica das regiões Nordeste, Sudeste e Sul do país, principalmente aquelas próximas ao litoral, com o ciclo epidêmico envolvendo a transmissão de *R. parkeri* cepa Mata Atlântica tendo o *A. ovale* como vetor competente (KRAWCZAK et al., 2016b). Nesses cenários, a infecção ocorre quando o indivíduo entra 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).

Na região Sul, esse cenário é observado na região litorânea e sul do Paraná, onde há relatos de *A. ovale* infectado por *R. parkeri* cepa Mata Atlântica em áreas de mata próximas ao ambiente urbano (BITENCOURTH et al., 2019; DURÃES et al., 2021). Em Santa Catarina, não há relatos de FMB, porém há casos de FM na região litorânea, onde há circulação de *R. parkeri* (ANGERAMI et al., 2009). No bioma Pampa, há evidências de que *A. tigrinum* pode participar da transmissão de *R. parkeri* (WECK et al., 2016). Na região Nordeste do país, há relatos do ciclo da doença envolvendo a transmissão de *Rickettsia* sp. Cepa Mata Atlântica por *Amblyomma ovale*. (MOERBECK et al., 2016).

Na região Sudeste e parte da região Sul (norte do estado do Paraná), ocorre a forma mais grave da doença, podendo haver, no ciclo epidêmico, o envolvimento de *R. rickettsii*, *A. sculptum*, capivaras e equinos, em áreas antropizadas do bioma Mata Atlântica, especialmente em ambiente rural ou periurbano.

Sendo assim, a região Sudeste apresenta casos graves e casos brandos com diferentes particularidades em cada estado. Em São Paulo, na região metropolitana, o ciclo da doença envolve *A. aureolatum* associado com *R. rickettsii*, sendo levado por cães que têm livre acesso à região de mata e que podem carrear esses vetores para regiões de domicílio e peridomicílio, com risco de contato com os humanos. Essa estreita relação entre humanos e hospedeiros, principalmente cães, caracteriza-se como um dos principais fatores de exposição ao risco. Não existe um padrão

específico na sazonalidade das ocorrências, e os casos são confirmados em ambos os sexos e em diversas faixas etárias, fato que parece estar relacionado à transmissão intradomiciliar. Suspeita-se que o *R. sanguineus* s.l. atue também como vetor nessas áreas, pois é encontrado infectado por *R. rickettsii* em áreas com presença do vetor primário, *A. aureolatum* (OLIVEIRA et al., 2016; SZABÓ et al., 2013; PINTER et al., 2016; MONTENEGRO et al., 2017).

No Rio de Janeiro, estado considerado endêmico para a doença, observa-se a ocorrência de FMB envolvendo *R. rickettsii* em *A. sculptum*, *A. dubitatum*, *R. sanguineus* e na pulga *Ctenocephalides felis*; casos de FM envolvendo *Rickettsia belli* em *A. dubitatum*, *Rickettsia felis* em *C. felis* e *R. parkeri* em casos brandos na Costa Verde do estado (Paraty e Mangaratiba) (GEHRKE et al., 2009; MONTENEGRO et al., 2017; MOURA-MARTINIANO et al., 2014; LABRUNA 2009; SINAN, 2021).

No Espírito Santo, há relato de caso de FMB, com confirmação do agente etiológico, porém sem correlação com espécie de vetor (FACCINI, et al., 2018).

Minas Gerais, por sua vez, caracteriza-se por ter casos graves e óbitos dispersos por uma grande área do estado, envolvendo os biomas Cerrado e Mata Atlântica. Entretanto, a análise da distribuição espacial, segundo os domínios morfoclimáticos, evidencia a presença de óbitos somente na área do bioma Mata Atlântica e na área de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, não havendo registro de óbitos para a porção típica de bioma Cerrado no estado (Figura 6B).

A relação do clima de Minas Gerais com a distribuição espacial das amostras positivas para *R. rickettsii* e dos óbitos por FMB no estado foi feita levando em consideração o SCC de Thornthwaite. Apesar de menos utilizado do que o SCC de Köppen, sistema adotado pelo IBGE, o SCC de Thornthwaite é baseado em médias climatológicas mensais do extrato do balanço hídrico climatológico (BHC), temperatura do ar e precipitação (ROLIM et al., 2007; NÓBREGA, 2010). A vantagem de sua utilização neste trabalho, comparado ao modelo de Köppen, é a precisão na definição dos limites climáticos, pois possui maior sensibilidade na detecção de pequenas variações espaciais (CUNHA; MARTINS, 2009).

A análise da distribuição dos óbitos por FMB e das amostras positivas para *R. rickettsii*, sejam elas de vetores ou de sangue humano, demonstra a presença da bactéria em áreas do estado com clima úmido e sem deficiência hídrica significativa no inverno, estação mais seca no país.

Não estão plenamente esclarecidos os fatores associados à ausência de registros de casos graves e de óbitos na região típica do Cerrado mineiro. De fato, é incomum o registro de *R. rickettsii* em áreas típicas desse bioma. Entretanto, *A. sculptum*, considerado seu principal vetor, é encontrado por toda a região do Cerrado e não possui estruturação genética própria para sua população nessa região (NAVA et al., 2014; BITENCOURTH et al., 2017; MACHADO et al., 2018). Além disso, equinos e capivaras, considerados os principais vertebrados envolvidos no ciclo epidêmico da febre maculosa brasileira, estão tradicionalmente presentes nesse bioma. Logo, fatores bióticos predisponentes ao ciclo enzoótico e epidêmico estão presentes no Cerrado, não havendo, contudo, a circulação de *R. rickettsii*, fator determinante aos ciclos. De outra forma, notam-se manifestações clínicas particulares nas ocorrências da doença no Cerrado (OLIVEIRA et al., 2016), sinalizando a possibilidade do envolvimento de outra espécie de riquetsia nesse ambiente.

É possível que fatores ecológicos estejam influenciando a distribuição espacial de *R. rickettsii* e, conseqüentemente, restringindo os casos graves e óbitos à área mais densamente povoada do estado de Minas Gerais, onde deve haver maior atenção dos serviços de saúde à captação dos casos, controle e prevenção da febre maculosa, buscando inverter seu coeficiente de letalidade. Além disso, é nítida a necessidade de estudos multidisciplinares complexos, longitudinais, associados à ecoepidemiologia, a serem realizados com vistas à busca da construção de algoritmos capazes de prever, no tempo e no espaço, os fatores de risco associados aos casos graves e óbitos por febre maculosa, de forma a evitar sua ampliação.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo sobre a biodiversidade de potenciais vetores de riquetsias e aspectos de vulnerabilidade da FMB no estado de MG permitiu concluir que:

- O Estado de MG apresenta um perfil epidemiológico único, grave, evidenciando a importância do *A. sculptum* na transmissão de *R. rickettsii* em áreas de Mata Atlântica e em área de transição entre estebioma e o Cerrado, destacando a ausência de óbitos e de amostras positivas para *R.rickettsii* no cerrado.
- No Estado, a doença afeta principalmente a população economicamente ativa, ocorrendo em área urbana, e em áreas de cobertura artificial do solo e antropizadas, o que demonstra uma suposta urbanização da doença, que vem ocorrendo em regiões que até então não eram consideradas de risco para transmissão, sugerindo que cada vez mais a doença não mais se restringe às áreas rurais e de mata, ocorrendo em áreas periurbanas e urbanas, inclusive em parques públicos.
- 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 em Minas Gerais.
- Nos casos que evoluíram para óbito, o contato com cães e gatos demonstrou grande impacto (89 casos), o que pode demonstrar a importância destes animais na participação do ciclo da doença, levando o carrapato infectado até o paciente.
- Utilização de monitoramento sorológico em animais sentinelas para identificação de áreas de risco de transmissão e monitoramento de áreas com transmissão já estabelecida.
- A implantação de um sistema para controle de carrapato é fundamental para se obter uma diminuição do número de casos e conseqüentemente uma diminuição do número de óbitos pela doença no Estado.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. P.; CUNHA, L. M.; BELLO, A. C.; CUNHA, A. P.; DOMINGUES, L. N.; LEITE, R. C.; LABRUNA, M. B. A novel Rickettsia infecting Amblyomma dubitatum ticks in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 2, n. 4, p. 209-212, Dec. 2011.
- ANGERAMI, R. N.; RESENDE, M. R.; FELTRIN, A. F.; KATZ, G.; NASCIMENTO E. M.; STUCCHI, R. S.; SILVA, L. J. Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil: epidemiological aspects. **Annals of New York Academy of Science**, v. 1078, p.170-172, Oct. 2006.
- ANGERAMI, R. N.; SILVA, A. M.; NASCIMENTO, E. M.; COLOMBO, S.; WADA M. Y.; SANTOS, F. C, MANCINI, D. M.; OLIVEIRA, R. C.; KATZ, G.; MARTINS, E. C.; SILVA, L. J. Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, p. 207-208, Dec. 2009. Supl. 2.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de ixodologia. VIII Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto OswaldoCruz**, v. 59, n. 2, p. 115-129, Jul. 1961.
- BARBIERI, A. R. M.; FILHO, J. M; NIERI-BASTOS, F. A.; SOUZA Jr, J. C.; SZABÓ, M. P.; LABRUNA, M. B. Epidemiology of Rickettsia sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 848-853, Oct. 2014.
- BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; BRUHN, F. R. P.; CARDOSO, D. L.; PINTER, A. Altitudinal assessment of *Amblyomma aureolatum* and *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), vectors of spotted fever group rickettsiosis in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 52, n. 5, p. 1170-1174, Sep. 2015.
- BARCELLOS, C. MONTEIRO, A. M. V.; CORVALÁN, C.; GURGEL, H. C.; CARVALHO, M. S.; ARTAXO, P.; HACON, S.; RAGONI, V. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 285-304, Jul/Set. 2009.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA. M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical**: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006.
- 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, n. 268, p. 1-11, May. 2015.
- BATISTA, F. G.; SILVA, D. M.; GREEN, K. T.; TEZZA, L. B.; VASCONCELOS, S. P.; CARVALHO, S. G.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J. LABRUNA, M. B.; FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Serological survey of Rickettsia sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19,

n. 4, p. 205-209, Dec. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 1.943, de 18 de outubro de 2001. Brasília, 2001. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/Pm_1943_2001.pdf. Acesso em: 13 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria nº 1.271, de 6 de junho de 2014**. Brasília, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271_06_06_2014.html . Acesso em: 13 jan. 2021

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan**. 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/14/Casos-de-FebreMaculosa.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BRITES-NETO, J.; BRASIL, J.; DUARTE, K. M. R. Epidemiological surveillance of capybaras and ticks on warning area for Brazilian spotted fever. **Veterinary World**, v. 8, n. 9, p. 1143-1149, Sep. 2015.

BROUQUI, P.; PAROLA, P.; FOURNIER, P. E.; RAOULT, D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 49, n.1, p. 2-12, Feb. 2007.

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. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/6709> . Acesso em: 14 jan. 2021.

CUNHA, N. C.; FONSECA, A. H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J. D.; MASSARD, C. L.; LEMOS, E. R. S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 105-108, Feb. 2009.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2009.

DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 11, p. 724-732, nov, 2007.

DEL GUERCIO, V. M. F.; ROCHA, M. M. M.; MELLES, H. H. B.; LIMA, V. C.L.; Pignatti M. G. Febre Vigilância de ambientes da febre maculosa brasileira e outras riquetsioses: a etapa inicial de uma proposta para a formação de rede maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 1, p.47-52, Feb. 1997.

DOMINGOS, A.; ANTUNES, S.; BORGES, L.; ROSÁRIO, V. E. Approaches towards

tick and tick-borne diseases control. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 3, p. 265-269, Jun. 2013.

DUMLER, J.; STEOHEN, W. D. H. Rickettsiales. *In*: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R. **Systematic Bacteriology**. 2 ed. Michigan: Springer, 2005. p. 96-114

EREMEEVA, M. E.; DASCH, G. A.; SILVERMAN, D. J. Evaluation of a PCR Assay for quantitation of *Rickettsia rickettsii* and closely related spotted fever group Rickettsiae. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5466-5472, Dec. 2003.

EREMEEVA, M. E.; DASCH, G. A. Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. **Front Public Health**, v. 21, n. 3, p.55, Apr. 2015.

FACCINI-MARTÍNEZ, A. A.; MUÑOZ-LEAL, S.; ACOSTA, I. C. L.; OLIVEIRA, S. V.; DURÉ, A. I. L.; CERUTTI JR., C.; LABRUNA, M. B. Confirming *Rickettsia rickettsii* as the etiological agent of lethal spotted fever group rickettsiosis in human patients from Espírito Santo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, n. 3, p. 496-499, Mar. 2018.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the comparative method. **The American Naturalist**, v. 125, n. 1, p. 1-15, 1985.

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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 11, p.1014-1018, Nov. 2011.

FREIRE, P. **Pedagogia da autonomia: saberes necessários a prática educativa**. São Paulo: Paz e Terra, 2004.

FREITAS, M. C.; GRYCAJUK, M.; MOLENTO, M. B.; BONACIN, J.; LABRUNA, M. B.; 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. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 130-131, Jun. 2010.

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.

GEHRKE, F. S.; GAZETA, G. S.; SOUZA, E. R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M. T.; SCHUMAKER, T. T. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia sp.* infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 2, p. 267-268, Dec. 2009.

GONÇALVES, A. J. R.; LOPES, P. F. A.; MELO, J. C. P.; PEREIRA, A. A. PINTO, A. M. M.; LAZERA, M. S. Rickettsioses - a propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa brasileira. **Folha Médica**, v. 82,

p. 127-134, 1981.

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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, p. 841-845, Dec. 2005.

HOOGSTRAAL, H. Ticks in Relation To Human Diseases. **Annual Review of Entomology**, v. 12, p. 377-420, Jan. 1967.

HOOGSTRAAL, H.; AESCHLIMANN, A. Tick-host specificity. **Bulletin de la Société Entomologique Suisse**, v. 55, p. 5–32, 1982.

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

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Página inicial, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 14 jan. 2021.

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Página inicial, 2021. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/>. Acesso em: 14 jan. 2021.

JOANNITTI, L. H. L.; SILVA, N. R.; D'AURIA, S. R. N.; CAMARGO, M. C. G. O.; VICTORIA, C.; BABBONI, S. D.; FCOSTA, H.; FERREIRA, B. L. S.; MODOLO, J. R. Estimativa de positividade da febre maculosa em cães para a vigilância e o seu monitoramento no município de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 3, p. 451-461, 2014.

KLOMPEN, J. S.; BLACK, W. C.; KEIRANS, J. E.; OLIVER JR., J. H. Evolution of ticks. **Annual Review of Entomology**, v. 41, p. 141-61, 1996.

KRAWCZAK, F. S.; MUÑOZ-LEAL, S.; GUZTZAZKY, A. C.; OLIVEIRA, S. V.; SANTOS, F. C. P.; ANGERAMI, R. N.; MORAES-FILHO, J.; SOUZA, J. C.; 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. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 1-14, 2001.

KRAWCZAK, F. S.; MUNOZ-LEAL, S.; GUZTZAZKY, A. C.; OLIVEIRA, S. V.; SANTOS, F. C. P.; ANGERAMI, R. N.; MORAES-FILHO, J.; SOUZA, J. C.; Jr.; LABRUNA, M. B. Rickettsia sp. Strain Atlantic Rainforest Infection in a Patient from a Spotted Fever-Endemic Area in Southern Brazil, **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 3, p. 551-553, 2016a.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, Jul. 2016.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUVER, 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. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 533-537, May. 2004a.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUVER, 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. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 90-98, Jan. 2004b.

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

LABRUNA, M. B.; MATTAR, S.; NAVA, S.; BERMUDEZ, S.; VENZAL, J. M.; DOLZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUZA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, May/Aug. 2011.

LABRUNA, M. B. Case report: *Rickettsia* sp. strain Atlantic Rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, p. 551-553, Sep. 2016.

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 area of spotted fever in state of Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 477-481, Jul/Aug 1997.

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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, Nov/Dec. 1996

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. The **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 4, p. 329-334, Oct. 2001.

MANZ, B. J.; NEITZ, A. W. H. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 1-17, Jan. 2004

MARTINS, M. E. P. Febre Maculosa: Revisão-Atualização, situação brasileira e Goiana. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 5, p. 15-23, 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, n. 1, p. 121-128, Jan 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 & Vectors**, v. 31, n. 9, p.186, Mar. 2016.

MARTINS, F. B.; GONZAGA, G.; SANTOS, D. F.; REBOITA, M. S. Classificação Climática de Koppen e de Thornthwaite para Minas Gerais: Cenário atual e projeções futuras. **Revista Brasileira de Climatologia**, p. 129-156, Nov. 2018. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/revistaabclima/article/view/60896/36669> . Acesso em: 15 jan. 2021

MAXEY, E. E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. **Medical Sentinel**, Kutaisi, v.7, p.433-438, 1899.

MEIRA AM, COOPER M, FERRAZ KMPMB, MONTI JA, CAMEZ RB, DELITTI WBC. (org.). **Febre maculosa: dinâmica da doença, hospedeiros e vetores**. [S.l: s.n.], 2013. Disponível em: <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/vbz.2009.0250>. Acesso em: 20 jan. 2021

MONTEIRO LJ. Typho exanthemas de S. Paulo: Rickettsiose e seu conceito pluralista. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 16, p. 361–2, 1932.

MONTENEGRO, D. C.; BITENCOURTH, K.; OLIVEIRA, S. V.; BORSOI, A. P.; CARDOSO K. M.; SOUSA, M. S. B.; GIORDANO-DIAS, C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; GAZÊTA, G. S.; AND BRAZIL, R. P. Spotted fever: epidemiology and vector-rickettsia-host relationship in Rio de Janeiro state. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 505, Mar. 2017.

MOORE, J. J. Time Relationships of the Wood-Tick in the Transmission of Rocky Mountain Spotted. **Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 339–347, Jul. 1911.

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. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 3, p. 498-500, Mar. 2014.

NACIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **BLAST Assembled RefSeq Genomes**. Nucleotide Blast. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 06 out. 2019.

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 Diseases**, v. 5, n. 3, p. 252-276, Apr. 2014.

NÓBREGA, R. S. Um pensamento crítico sobre classificações climáticas: de Köppen até Strahler. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 3, p. 18-22, Aug. 2010.

NUNES, E. C.; VIZZONI, V. F.; NAVARRO, D. L.; IANI, F. C. M.; DURÃES, L. S.; DAEMON, E.; SOARES, C. A. G.; GAZETA, G. S. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 8, p. 1058-1061, Dec. 2015.

OLIVEIRA, P.R. ***Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae):** Avaliação de técnicas para o estudo de dinâmica populacional e biotecnologia. 1998. 97f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Curso de Pósgraduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais 1998.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L. M.; LOPES, C. M.; 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. **Veterinary Parasitology**, v.92, n.4, p. 295- 301, Oct. 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: explorando as áreas silenciosas do Brasil.** **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 1, p. 67-71, 2015.

OLIVEIRA, S. V.; GUIMARÃES, J. N.; RECKZIEGEL, G. C.; NEVES, 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. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 22, n. 22, p. 1-8, 2016.

PADDOCK, C. D.; GREER, P. W.; FEREBEE, T. L.; SINGLETON JR., J. McKECHNIE, D. B.; TREADWELL, T. A.; KREBS, J. W.; CLARKE, M. J.; HOLMAN, R. C.; OLSON, J. G.; CHILDS, J. E.; ZAKI, S. R. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fetal, serologically unconfirmed disease. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 179, n. 6, p. 469-476, Jun. 1999.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans : An Emerging Infectious Threat. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 6, p. 897-928, Mar. 2001.

PAROLA, P. PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. **Clinical Microbiology**

Reviews, v. 18, n. 4, p.719-756, Oct. 2005.

PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: Unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Report**, v. 11, n.1, p. 40-50, Jan. 2009.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M. B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M. Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P. E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, p. 657-702, Oct. 2013.

PINTER, A.; DIAS, R. A.; GENNARIA, S. M.; LABRUNA, M. B. Study of the Seasonal Dynamics, Life Cycle, and Host Specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari:Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 324–332. May. 2004.

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of New York Academy of Science**, v. 1078, p. 523- 529, Oct. 2006.

PINTER, A.; FRANÇA, A. C.; SOUZA, C. E.; SABBÓ, C.; NASCIMENTO, E. M. M.; SANTOS, F. C. P.; BAHIA G. K. M.; LABRUNA, M. M.; ALVES, M. J. C. P.; HORTA, M. C. M. M.; MAYO, R. C.; ANGERAMI, R. N.; BRASIL, R. A.; SAVINA, R. M. L.; APARECIDA, S. L. SOUZA, COLOMBO S.; OLIVEIRA, V. L. M.. Febre Maculosa Brasileira. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 8, n. 1, p. 3-31, 2011.

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L. H.; PINTER, A.; SAITO, T. B.; PACHECO, R. C.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: Clinical and laboratory findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 7, p. 696–701, Nov. 2008.

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; CANÇADO, P. H.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of *Rhipicephalus sanguineus* ticks with the bacterium *Rickettsia rickettsii*, using experimentally infected dogs. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11 n. 1, p.29-36, Jan. 2011.

PIZA J, SALLES-GOMES L, MEYER J, FLEURY JP, CASTRO O, RODRIGUES C, LIMA, H. R. O typho exanthematico em São Paulo. **Revista de Biologia e Higiene**, v. 2, n.3-4, p. 206. 1931.

PIZA, J. T. Considerações epidemiológicas e clínicas sobre o Tifo Exantemático de São Paulo. In: PIZA, J. T.; MEYER, J. R.; SALLES, G. L.; (Eds) **Tifo Exantemático de São Paulo**. São Paulo: Sociedade Imprensa Paulista, 1932. p. 11-119

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

REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 5, p. 1576-1589, Mar. 1991.

RICKETTS, H. T. The study of “Rocky Mountain Spotted Fever” (tick fever?) by means of animal inoculations. **JAMA**, v. 47, n. 1, p. 33–36, Jul. 1906.

RICKETTS, H. T. The transmission of Rocky Mountain spotted fever by the bite of the wood tick (*Dermacentor occidentalis*). **JAMA**, v. 47, p. 458, 1906.

RICKETTS, H. T. Some aspects of Rocky Mountain spotted fever as shown by recent investigations. 1909. **Research and Reviews of Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. 1227-1240, 1991.

ROLIM, G. S.; CAMARGO, M. B. P.; LANIA, D. G.; MORAES, J. F. L. Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite e sua aplicabilidade na determinação de zonas agroclimáticas para o estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 711- 720, Jan. 2007.

ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (OmpB). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1449-1455, Jul. 2000.

SAMBROOK, J; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 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. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 265-70, Feb. 2005.

SANTOS, F. C. P.; NASCIMENTO, E. M. M.; KATZ, G.; ANGERAMI, R. N.; COLOMBO, S.; SOUZA, E. R.; LABRUNA, M. B.; SILVA, M.V. Brazilian spotted fever: Real-time PCR for diagnosis of fatal cases. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 3, n. 5-6, p. 311-313, Dec. 2012.

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. 1353-60, Jul. 2001.

SILVA, N.; EREMEEVA, M. E.; ROZENTAL, T.; RIBEIRO, G. S.; PADDOCK, C. D.; RAMOS, E. A. G.; FAVACHO, A. R. M.; REISA, M. G.; DASCH, G. A.; LEMOS, E. R. S. KO, A. I. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 275-8, Feb. 2011.

SILVA, A. B.; CARDOSO, K. M.; OLIVEIRA, S. V.; COSTA, R. M. F.; OLIVEIRA, G.; AMORIM, M.; ALVES, L. C.; MONTEIRO, M. F. M.; GAZETA, G. S. *Rickettsia amblyommatis* infecting *Amblyomma pseudoconcolor* in area of new focus of spotted fever in northeast Brazil. **Acta Tropica**, v. 182, p. 305-308, Jun. 2018.

SOUZA, S. S. A. L.; SOUZA, C. E.; NETO, E. J. R.; PRADO, A. P. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre

maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 887- 891, Jun. 2006.

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, Sept. 2008.

SPOLIDORIO, M. G.; LABRUNA, M. B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P. E.; RICHTZENHAIN, L. J.; YOSHINARI, N. H. Novel spotted fever group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 521-523, Mar. 2010.

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

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, Nov. 1994.

TIRIBA, A. S. Doenças causadas por rickettsias. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R.; organizadores. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 528-529.

VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; MAYO, R. C.; SOUZA, S. S. L.; CAMARGO-NEVES, V. L. F. **Manual de Vigilância Acarológica do Estado de São Paulo, Brasil**. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN, São Paulo : A Secretaria, 2004. 62 p. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/sucen/homepage/downloads/arquivos-de-febre-maculosa/manual_de_vigilancia_acarologica_2004.pdf. Acesso em: 06 out. 2019.

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. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n.11, p. 2014-2016, Nov. 2016.