

Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em eqüinos do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP)

Jonas MORAES-FILHO¹
Maurício Claudio HORTA¹
Richard de Campos
PACHECO¹
Marly Matiko MAEDA²
Arquimedes GALANO²
Maria Lucia de OLIVEIRA²
Lucia Eiko Oishi YAI²
Marcelo Bahia LABRUNA¹

1 - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP
2 - Centro de Controle de Zoonoses, Prefeitura Municipal de São Paulo, São Paulo - SP

Resumo

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose transmitida por pelo menos duas espécies de carrapatos: *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma aureolatum*. Os eqüinos assumem um importante papel de sentinela da FMB em áreas onde o carrapato vetor é o *A. cajennense*, por ser considerado hospedeiro primário dessa espécie de carrapato. O *A. aureolatum*, cujos hospedeiros primários são aves, alguns roedores silvestres e canídeos, é incriminado como vetor da doença na região da Grande São Paulo. Este trabalho objetivou pesquisar a presença de anticorpos contra *Rickettsia rickettsii*, agente da FMB, em eqüinos encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP) no período de 2003 a 2005. Após coleta de sangue, o soro obtido pela centrifugação foi submetido à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e os animais foram considerados positivos quando as amostras de soro apresentaram títulos ≥ 64 . Durante os três anos, foram testados 363 amostras pela RIFI, sendo que 64 se mostraram reagentes: 6 (2003), 16 (2004) e 42 (2005). Os títulos finais variaram de 64 a 1.024. Os resultados obtidos demonstram uma baixa porcentagem de animais reagentes (17,6%) quando comparados com dados de literatura de áreas endêmicas para FMB onde o vetor é o *A. cajennense*, sugerindo não ser essa espécie responsável pela transmissão da doença na área de estudo.

Palavras-chave:

Rickettsia rickettsii.
Imunofluorescência Indireta.
Eqüinos.
São Paulo.

Correspondência para:

Marcelo Bahia Labruna, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Orlando Marques de Paiva 87, 05508-270, São Paulo, SP, Brasil.
E-mail: labruna@usp.br

Recebido para publicação: 13/11/2007
Aprovado para publicação: 28/08/2008

Introdução

Rickettsia spp são bactérias intracelulares obrigatórios, pertencentes à família *Rickettsiaceae* e à ordem *Rickettsiales*.¹ As espécies deste gênero estão classicamente divididas em dois grupos, baseados nos padrões antigênicos, moleculares e ecológicos: i. grupo do tifo (GT), composto pelas espécies *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, transmitidas por piolhos e pulgas, respectivamente; ii. grupo da febre maculosa (GFM), o qual está composto por mais de 23 espécies válidas, das quais há pelo menos doze espécies que comprovadamente causam infecções no homem. A transmissão da grande maioria

das espécies do GFM está associada a carrapatos, com exceção da *Rickettsia felis* e *Rickettsia akari*, associadas a pulgas e pequenos ácaros, respectivamente. Outras espécies de riquetsias, tais como *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis* não estão inseridas em nenhum destes dois grupos.²

No Brasil, a doença causada por riquetsias do GFM é denominada Febre Maculosa Brasileira (FMB) e a *Rickettsia rickettsii* tem sido incriminada como principal agente etiológico. Casos confirmados de FMB tem sido relatados em determinadas áreas dos estados da região Sudeste,^{3,4,5,6} além da Bahia⁷ e, mais recentemente, nos estados da região Sul, especialmente em Santa

Catarina, na região de Blumenau⁸. A FMB causada por *R. rickettsii* é considerada, indubitavelmente, como uma das doenças de maior letalidade no Estado de São Paulo.⁹

O carrapato *Amblyomma cajennense* é o vetor mais comum da FMB,^{10,11} sendo a principal espécie de carrapato que parasita seres humanos no centro sul brasileiro. Equínos, capivaras e antas são considerados os principais hospedeiros para todos os estágios parasitários do *A. cajennense* no Brasil.¹² Conseqüentemente, os equínos assumem um importante papel de sentinela da FMB em áreas onde o carrapato vetor é o *A. cajennense*.¹³ No entanto, na região da Grande São Paulo, onde 31 casos de FMB foram confirmados de 2003 a 2006¹⁴, o carrapato *Amblyomma aureolatum* tem sido incriminado como principal vetor da FMB^{15,16,17}. Este carrapato possui como hospedeiros primários: aves e pequenos roedores para larvas e ninfas; e canídeos (especialmente cães domésticos) para os carrapatos adultos.¹⁸ Desta forma, a ecologia da FMB na região metropolitana de São Paulo tem sido considerada distinta das demais regiões do estado, onde o vetor incriminado é *A. cajennense*.

Os equínos são sentinelas para FMB em áreas com potencial de transmissão pelo *A. cajennense*. A região metropolitana de São Paulo possui um grande número de equínos em diversos locais, os quais estão na maioria das vezes, parasitados por *A. cajennense* (dados não publicados do CCZ/SP). Para avaliar a situação sorológica da FMB, este trabalho objetivou pesquisar a presença de anticorpos anti-*R. rickettsii* em amostras de soro de equínos encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP), no período de 2003 a 2005.

Material e Método

Local de Estudo: Este estudo foi realizado com equínos provenientes de 70 bairros do município de São Paulo, englobando todas as regiões geopolíticas do Município. Os animais foram encaminhados

ao CCZ/SP no período de 2003 a 2005.

Colheita de sangue: As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa, com auxílio de uma agulha e tubos de vidro estéreis, e transportadas em temperatura ambiente para o laboratório e, posteriormente centrifugadas (1.500 g por 10 minutos) para obtenção do soro, os quais foram alíquotados em microtubos, separados e congelados a - 20°C até serem testados.

Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI): A RIFI foi realizada segundo o protocolo descrito por Horta et al.¹⁹ e as amostras foram consideradas sororeagentes quando apresentavam títulos > 64. Os soros foram diluídos a partir de 1:64 em PBS (0,1 M, pH 7,2) e 20ml do soro diluído foi aplicado sobre cada pocinho das lâminas contendo antígenos brutos de *R. rickettsii* cepa Taiaçu, proveniente de isolado de carrapato *A. aureolatum*.²⁰ As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. As lâminas foram lavadas com solução de PBS (0,1 M, pH 7,2) e mantidas em uma cuba com a mesma solução durante 15 minutos, por duas vezes. Após secarem, foram incubadas a 37°C por 30 minutos com conjugado IgG coelho anti-IgG de equino (Sigma Diagnostics, St. Luis, Mo) acoplado com isotiocianato de fluoresceína na diluição de 1:100. As lâminas foram lavadas como descrito anteriormente e coradas em solução de PBS (0,1 M, pH 7,2), contendo 0,2% de azul de Evans. Após completamente secas, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada e lamínula para posterior leitura em microscópio equipado com luz ultravioleta (Olympus BX60, Japan) com objetiva de 40X.

Resultados

O presente trabalho avaliou soros de 363 equínos pela RIFI, sendo que 64 (17,6%) se mostraram reagentes a *R. rickettsii*: 6/77 (7,8%) em 2003, 16/110 (14,5%) em 2004 e 42/176 (23,9%) em 2005. Os títulos finais variaram de 64 a 1.024, sendo 11 amostras

de soro para o título final de 64; 12 amostras para 128; 15 amostras para 256; 14 amostras para 512 e 12 amostras para 1024.

Dos 70 bairros amostrados, 36 apresentaram pelo menos um animal reagente pela RIFI (Tabela 1). Não foram encontrados animais reagentes em 34 bairros: Água Rasa (n = 4 equinos testados), Aricanduva (3), Barra Funda (1), Belém (1), Brasilândia (4), Carrão (5), Casa Verde (1), Cidade Ademar (7), Itaim Paulista (2), Jabaquara (5), Jardim Helena (3), Lajeado (1), Lapa (1), Liberdade (1), Limão (1),

Mooca (1), Morumbi (4), Penha (3), Perus (2), Raposo Tavares (2), Rio Pequeno (6), Sacomã (2), São Mateus (1), Sapopemba (3), Socorro (4), Tatuapé (3), Tucuruvi (2), Vila Formosa (1), Vila Guilherme (1), Vila Jacuí (2), Vila Leopoldina (4), Vila Matilde (2), Vila Medeiros (3), Vila Sônia (2). A tabela 1 mostra os bairros do município que apresentam pelo menos um equino reativo ao antígeno de *R. rickettsii*, com títulos de anticorpos ≥ 64 pela RIFI, durante o período estudado.

Em relação à distribuição das amostras positivas por regiões do município,

Tabela 1 - Bairros do município de São Paulo que apresentaram pelo menos um equino reativo ao antígeno de *Rickettsia rickettsii*, com títulos de anticorpos ≥ 64 pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) no período de 2003 a 2005

Bairro	Região da Cidade	Nº de equinos reativos na RIFI / Nº de equinos testados			Total
		2003	2004	2005	
Cachoeirinha	NORTE	0/2	1/2	0/4	1/8
Freguesia do Ó		0/1	1/6	0/0	1/7
Jaraguá		1/3	0/4	0/4	1/11
Mandaqui		0/3	0/4	1/2	1/9
Pirituba		0/2	2/5	0/0	2/7
Santana		0/0	0/3	1/4	1/7
Tremembé		0/0	0/2	1/3	1/5
Campo Grande	SUL	1/3	0/0	0/1	1/4
Campo Limpo		0/0	0/5	4/8	4/13
Capão Redondo		1/1	0/6	0/3	1/10
Cidade Dutra		0/4	2/5	4/12	6/21
Cursino		1/2	0/1	0/0	1/3
Grajau		0/0	0/2	4/21	4/23
Ipiranga		0/0	1/4	1/2	2/6
Jardim Ângela		0/0	1/6	2/6	3/12
Jardim São Luiz		1/7	0/5	3/20	4/32
Parelheiros		0/0	2/7	3/10	5/17
Pedreira		0/0	0/1	2/4	2/5
Santo Amaro		0/1	2/2	0/1	2/4
Saúde		0/0	0/0	1/1	1/1
Vila Andrade		0/0	0/0	1/5	1/5
Vila Mariana		0/0	0/0	1/1	1/1
Cangaíba		LESTE	0/1	0/0	1/3
Cidade Líder	0/2		0/1	2/4	2/7
Cidade Tiradentes	0/2		0/0	2/6	2/8
Iguatemi	0/0		0/0	1/2	1/2
Itaquera	1/1		0/2	0/0	1/3
São Miguel	0/1		0/0	1/3	1/4
Alto de Pinheiros	OESTE	0/0	0/0	1/1	1/1
Butantã		0/2	2/4	0/0	2/6
Itaim Bibi		0/0	0/0	1/1	1/1
Jaguari		0/0	1/3	1/3	2/6
Jardim Paulista		0/0	0/0	1/4	1/4
Pinheiros		0/1	1/2	0/1	1/4
Brás	CENTRAL	0/0	0/0	1/1	1/1
República		0/0	0/0	1/1	1/1

destacam-se as regiões Sul e Oeste, com 21,2% e 20,0% de animais sororeagentes, respectivamente. Nas regiões Norte e Leste, as proporções de animais sororeagentes oscilaram entre 12,1% e 12,7%. Na região Central, a proporção de sororeagentes foi de 66,6% (Figura 1).

Discussão e Conclusões

Os resultados obtidos demonstram uma baixa porcentagem de animais reagentes à *R. rickettsii* pela RIFI (17,6%) quando comparados com dados observados por Lemos et al.²¹, Horta et al.¹⁹ e Horta et al.²² em áreas endêmicas para FMB do interior de São Paulo, onde foram encontrados 77,8%, 56,5% e 72,9% respectivamente, de equínos sororeagentes. Nestas localidades, o carrapato *A. cajennense* é incriminado como o principal vetor da FMB.^{19, 21, 22} Essas regiões têm apresentado um padrão soropidemiológico caracterizado por uma alta frequência de equínos sororeagentes, acompanhada de uma frequência baixa de cães soropositivos e uma baixa ou ausente presença de humanos sororeagentes.^{19,21} Os baixos títulos

observados no presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Cardoso et al.²³ em Minas Gerais, em uma região sem registro de casos de FMB nos últimos 12 anos, colocando o município em um nível de baixa transmissão, indicando uma infecção antiga pela *R. rickettsii* ou por outra riquetsia do GFM. Deve-se destacar também que embora os animais do presente estudo tenham sido resgatados ou encaminhados para o CCZ do município de São Paulo, a procedência desses animais não é totalmente conhecida, sendo que a maioria é constituída principalmente por animais errantes.

Analisando os resultados obtidos por bairros, os valores encontrados na periferia representam a maioria (61,1%) dos resultados positivos encontrados. Em relação à distribuição dos animais reagentes na cidade de São Paulo, destacam-se as regiões das Zonas Sul e Oeste, onde a presença de carrapatos em áreas verdes é maior, assim como o número de equínos utilizados para o trabalho e de animais errantes nesta área, contribuindo para a proliferação do vetor. Na região Central, a proporção de sororeagentes foi de 66,6%; no entanto,

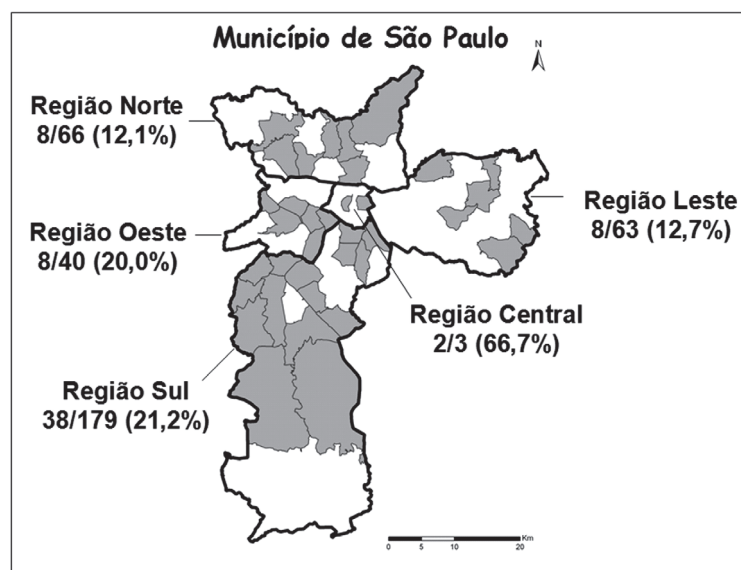


Figura 1 - Número de equínos encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses/SP, submetidos à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e que apresentaram anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii*, de acordo com as regiões do Município de São Paulo, no período de 2003 a 2005 [número de animais positivos / número de animais testados (%)]. Em destaque, os bairros onde foram encontrados pelo menos um equíno reagentes à RIFI

apenas três animais dessa região foram testados. No período de 2002 a 2005, foram confirmados cinco casos de FMB no Município de São Paulo¹⁴, sendo que os locais prováveis de infecção foram nos arredores do parque do Estado, na região Sul do município (Vera Pinto Arantes, comunicação pessoal, COVISA, Secretaria de Saúde do Município de São Paulo), área com presença de *A. aureolatum*.¹⁵ Além disso, a região Sul do município encontra-se próxima a outros municípios da Grande São Paulo onde ocorreram notificações de casos de FMB nos últimos anos.¹⁴ Nesses locais onde o *A. aureolatum* está incriminado como principal vetor, verifica-se uma baixa prevalência de equinos sororeagentes e uma alta prevalência de cães soropositivos. Desta forma, nessas áreas, os cães atuam como sentinelas da FMB.^{15,16,17}

Como o *A. aureolatum* não parasita equinos, o perfil sorológico desses animais para *R. rickettsii* está intimamente relacionado ao parasitismo por carrapatos *A. cajennense* infectados. Os resultados do presente trabalho indicam que há baixa circulação de *R. rickettsii*

entre carrapatos *A. cajennense* no Município de São Paulo, uma vez que a maioria dos animais foram não reativos em todas as regiões amostradas. Contudo, o parasitismo por carrapatos especificamente nos animais testados não foi avaliado. Alternativamente, os títulos anti-*R. rickettsii* observados nos equinos poderiam ser devido a reações cruzadas com outras espécies de *Rickettsia* do GFM, que por ventura infectaram os equinos, já que as reações sorológicas cruzadas entre *Rickettsia* spp do GFM é um bastante comum.^{1,2} A baixa porcentagem de equinos reagentes (17,6%) no município de São Paulo, quando comparados com equinos de áreas endêmicas para FMB onde o vetor é o *A. cajennense*, sugere não ser essa espécie responsável pela transmissão da doença na área de estudo.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento do trabalho.

Detection of antibodies against *Rickettsia rickettsii* in equines of the Zoonosis Control Center of São Paulo Municipality (CCZ/SP)

Abstract

Brazilian Spotter Fever (BSF) is a tick-borne zoonosis transmitted by at least two tick species: *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma aureolatum*. In areas where the tick vector is *A. cajennense*, equines are important for being considered primary hosts of this tick species. *A. aureolatum*, whose primary hosts include birds, some rodent species, and dogs, is incriminated as vector in the metropolitan region of São Paulo city. This work aimed to detect antibodies reactive to *Rickettsia rickettsii* in equines sent to the Zoonosis Control Center of São Paulo Municipality (CCZ/SP) during the period from 2003 to 2005. After blood collection, sera were obtained by centrifugation and tested by the indirect immunofluorescence assay (IFA) and animals were considered positive if sera presented titers ≥ 64 . During three years, 363 equine sera sent to CCZ/SP, were tested by IFA, and 64 showed reactive: 6 (2003), 16 (2004) and 42 (2005). The end-point titers varied from 64 to 1.024. The results demonstrate a low percentage (17.6%) of reactive animals, when compared with literature data from BSF-endemic areas where *A. cajennense* is the vector, suggesting that this tick is not a main vector in the study area.

Key words:

Rickettsia rickettsii.
Indirect immunofluorescence assay.
Equine.
São Paulo.

Referências

- 1 RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.
- 2 YU, X. J.; WALKER, D. H. The order Rickettsiales. In: DWORKIN, M. (Ed.). **The Prokaryotes**: an evolving electronic resource for the microbiology community. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2003. Disponível em: <<http://link.springer-ny.com/link/service/books/10125>>. Acesso em: 17 abr. 2004.
- 3 GALVÃO, M. A. M.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MAFRA, S. C. L.; CESARINO FILHO, G.; OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 479-481, 2003.
- 4 LEMOS, E. R. S.; ALVARENGA, F. B. F.; CINTRA, M. L.; RAMOS, M. C.; PADDOCK, C. D.; FEREBEE, T. L.; ZAKI, S. R.; FERREIRA, F. C. C.; RAVAGNANI, R. C.; MACHADO, R. D.; GUIMARÃES, M. A. A. M.; COURA, J. R. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 4, p. 329-334, 2001.
- 5 ROZENTAL, T.; BUSTAMANTE, M. C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; LEMOS, E. R. S. Evidence of spotted fever group rickettsiae in state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 3, p. 155-158, 2002.
- 6 SEXTON, D. J.; MUNIZ, M.; COREY, G. R.; BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; DÜMLER, S.; WALKER, D. H.; PEÇANHA, P. M.; DIETZE, R. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 2, p. 222-226, 1993.
- 7 PLANK, S. J.; TEIXEIRA, R. S.; MILANESI, M. L. Febre maculosa em Salvador: descrição de um caso. **Revista Médica da Bahia**, v. 25, p. 330-334, 1979.
- 8 MADEIRA, A.; WEISBRICH, J. Surto de Febre maculosa no Estado de Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 8.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto, MG. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p. 364.
- 9 ANGERAMI, R. N.; RESENDE, M. R.; FELTRIN, A. F. C.; KATZ, G.; NASCIMENTO, E. M.; STUCCHI, R. S. B.; SILVA, L. J. Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil - clinical aspects. **Annals of New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 252-254, 2006.
- 10 DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 19, p. 103-108, 1939.
- 11 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**, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.
- 12 LABRUNA, M. B.; KASAI, N.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L. H.; GENNARI, S. M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 1, p. 65-77, 2002.
- 13 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. 265-270, 2005.
- 14 CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Distribuição dos casos confirmados de febre maculosa segundo município provável de infecção no estado de São Paulo: 1985-2006**. Disponível em <http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/zoo/fm_d9803.htm>. Acesso em: 21 jul. 2008.
- 15 VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; MAYO, R. C.; SOUZA, S. S. A. L.; CAMARGO-NEVES, V. L. F.; LIMA, V. L. C. **Febre maculosa**. manual técnico. Disponível em <<http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/index.htm>>. Acesso em: 21 jul. 2008.
- 16 MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; GUTMANN, T. B.; BARBOSA, S. O.; GONZÁLES, M. A.; MURARO, M. A.; CECÍLIO, S. R.; LABRUNA, M. B. New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 9, n. 1, p. 73-78, 2009.
- 17 PINTER, A.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 247-252, 2008.
- 18 GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; MARTINS, J. R.; VENZAL, J. M.; ARZUA, M.; KEIRANS, J. E. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Kock, 1844: hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 3/4, p. 273-288, 2003.
- 19 HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T. T. S.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted Fever-Endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group Rickettsia. **American Journal of**

Tropical Medicine and Hygiene, v. 71, n. 1, p. 93-97, 2004.

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

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

22 HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793-801, 2007.

23 CARDOSO, L. D.; FREITAS, R. N.; MAFRA, C. L.; NEVES, C. V. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Caracterização de *Rickettsia* spp circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 495-501, 2006.