

Febre maculosa Brasileira em Caratinga, Minas Gerais

Brazilian spotted fever in Caratinga, Minas Gerais

Márcio Antonio Moreira Galvão¹, Cláudio Lisias Mafrá de Siqueira², Renata Nascimento de Freitas³, Luciane Daniele Cardoso⁴, Amanda de Freitas Padilha⁵, Edvaldo Barros⁶

DOI: 10.5935/2238-3182.20140096

RESUMO

Introdução: a Ordem Rickettsiales abriga um grupo de parasitas intracelulares obrigatórios, responsáveis por causar doenças conhecidas como riquetsioses. No Brasil, a riquetsiose mais comum é a febre maculosa brasileira (FMB). **Objetivos:** determinar o nível de endemicidade para a FMB no município de Caratinga, Minas Gerais, em diferentes momentos epidemiológicos. **Métodos:** inquéritos epidemiológico e sorológico em moradores dos bairros mais afetados pelo surto de FMB de 1992 e sorológico em animais domésticos; além de sorológico em animais domésticos e reação em cadeia de polimerase em artrópodes vetores coletados em nova visita ao foco em 2002. **Resultados:** no primeiro inquérito epidemiológico realizado em 1992, 62,3% das famílias pesquisadas relataram contato com pastos. No inquérito sorológico em humanos, 2,1% das amostras testadas apresentaram reatividade para *Rickettsia rickettsii* à reação de imunofluorescência indireta (RIFI). No inquérito sorológico em animais, realizado em 1993, 53,4% dos equinos e 25,0% dos cães foram reativos para *R. Rickettsii* à RIFI. Em nova visita ao foco, no período de 2002-2003, 13,4% dos pools de DNA dos artrópodes examinados e 17,0% dos soros equinos demonstraram resultados positivos para *R. rickettsii*. **Conclusões:** o município de Caratinga pode ser considerado, no momento, área de baixa transmissão, permanecendo a recomendação de se manter ativo o sistema de vigilância epidemiológica e acarológica no local e região.

Palavras-chave: Febre Maculosa das Montanhas Rochosas; *Rickettsia rickettsii*; Carrapatos; Ácaros e Carrapatos; Vigilância Epidemiológica.

ABSTRACT

Introduction: The order Rickettsiales comprises a group of obligatory intracellular parasites, responsible for causing diseases known as rickettsial diseases. In Brazil, the most common rickettsial disease is the Brazilian spotted fever (FMB). **Objectives:** to determine the level of FMB endemicity in the city of Caratinga, Minas Gerais, in different epidemiological moments. **Methods:** epidemiological and serological surveys in residents from the most affected neighborhoods by the 1992 FMB outbreak and serological survey in domestic animals; in addition to serological survey in domestic animals and polymerase chain reaction in arthropod vectors collected in a new visit to the site in 2002. **Results:** in the first epidemiological survey carried out in 1992, 62.3% of the surveyed families reported contact with pastures. In the serological survey in humans, 2.1% of tested samples showed reactivity to *Rickettsia rickettsii* in the indirect immunofluorescence reaction (RIFI). In the serological survey on animals, conducted in 1993, 53.4% of equines and 25.0% of dogs were reactive for *R. Rickettsii* in RIFI. In a new visit to the site, over the period of 2002-2003, 13.4% of pools of DNA from examined arthropods and 17.0% of equine sera demonstrated positive results for *R. rickettsii*. **Conclusions:** the municipality of Caratinga can be considered, at the time, as a low transmission area remaining the recommendation to keep the epidemiological and acarological surveillance system active on the site and region.

Key words: Rocky Mountain Spotted Fever; *Rickettsia rickettsii*; Ticks; Acari; Health Surveillance.

¹ Médico. Doutor em Saúde Pública. Professor Titular da Escola de Medicina da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP. Ouro Preto, MG – Brasil.

² Médico Veterinário. Doutor em Bioquímica. Professor Associado do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Viçosa, MG – Brasil.

³ Nutricionista. Doutora em Bioquímica e Imunologia. Professora Associada da Escola de Nutrição e Coordenadora do Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas (NUPEB) da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP. Ouro Preto, MG – Brasil.

⁴ Nutricionista. Doutora em Ciências da Saúde. Professora Adjunta do Departamento de Farmácia e Nutrição da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Alegre, ES – Brasil.

⁵ Bióloga. Mestre em Bioquímica Estrutural e Fisiológica. Doutoranda pelo Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP. Ouro Preto, MG – Brasil.

⁶ Biólogo. Mestre em Bioquímica Agrícola. Técnico de Nível Superior da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Viçosa, MG – Brasil.

Recebido em: 22/01/2013

Aprovado em: 21/05/2014

Instituição:

Universidade Federal de Ouro Preto
Escola de Medicina. Laboratório de Zoonoses
Ouro Preto, MG – Brasil

Autor correspondente:

Márcio Antônio Moreira Galvão
E-mail: galvaomarcio@oi.com.br

INTRODUÇÃO

As riquetsioses são doenças causadas por bactérias da ordem Rickettsiales composta pelas famílias: (1) Rickettsiaceae, com os gêneros *Rickettsia* e *Orientia*, e (2) Anaplasmataceae, com os gêneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Wolbachia* e *Aegyptianella*.¹

As doenças causadas pelo gênero *Rickettsia* vêm despertando grande interesse científico nos últimos anos. O advento da biologia molecular proporcionou importantes esclarecimentos acerca de diversos aspectos anteriormente confusos desse grupo de microrganismos.²

O gênero *Rickettsia* é tradicionalmente dividido em três grupos baseados em características antigênicas e genéticas:

- o grupo do tifo (GT): que inclui as espécies *Rickettsia prowazekii*, o agente do tifo exantemático epidêmico, e *Rickettsia typhi*, agente causal do tifo murino;
- o grupo das febres maculosas (GFM): que inclui muitos sorotipos, como a *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa das Montanhas Rochosas e da febre maculosa brasileira; *Rickettsia conorii*, agente etiológico da febre do Mediterrâneo; *Rickettsia felis*, agente etiológico da riquetsiose felis; e *Rickettsia akari*, agente etiológico da riquetsialpox;
- o grupo ancestral (GA): composto pelas espécies *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis*. Foi proposto recentemente um quarto grupo, chamado grupo de transição, no qual estariam espécies anteriormente pertencentes ao GFM, como as espécies *R. akari*, *Rickettsia australis* e *R. Felis*, cuja validade desse grupo para essas espécies ainda está sendo debatida.³

No Brasil, entre as riquetsioses do GFM, a febre maculosa brasileira (FMB) destaca-se como a mais comum e letal. Seu etiológico é a bactéria *R. rickettsii* e o principal vetor o carrapato *Amblyomma cajennense*, espécie de ectoparasita altamente antropofílica.⁴

Em humanos, após a inoculação, a riquetsia se instala nas células endoteliais dos pequenos vasos e capilares sanguíneos, ocasionando lesões que levam à perda de integridade da parede dos vasos e capilares e possibilita a passagem de sangue para tecidos extravasculares. Desta maneira, ocorrem hemorragias intrateciduals, comumente observadas.⁵ Sua sintomatologia inespecífica como febre alta, mialgias e cefaleia torna seu diagnóstico de diferenciação com outras doenças febris e exantemáticas, especialmente com dengue, leptospirose, sarampo, febre tifoide, mononucleose infecciosa, febre amarela, hantavirose.

No Brasil, a primeira descrição da bactéria *R. rickettsii* foi realizada na cidade de São Paulo por Piza⁸, que a incriminou como agente da FMB, na época conhecida como tifo exantemático de São Paulo, sendo transmitida pelo carrapato *Amblyomma cajennense*.⁶ Piza demonstrou também sua similaridade com a febre das Montanhas Rochosas descrita por Ricketts⁹ nos Estados Unidos. Entre 1932 e 1952, pesquisadores como Monteiro¹⁰, Dias e Martins¹¹, Travassos¹² e Magalhães¹³ descreveram novos casos de riquetsioses em Minas Gerais e São Paulo.

Entre 1953 e 1980 houve em todo o Brasil um silêncio epidemiológico com a ausência de relatos de casos de FMB. Entretanto, a partir da década de 1980, novas descobertas revitalizaram o conhecimento científico sobre essa riquetsiose.¹²⁻¹⁴

Em outubro de 1992 a Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais foi notificada sobre a ocorrência de 15 óbitos no município de Caratinga, região leste do estado. Os casos ocorreram entre junho e outubro, sendo o diagnóstico de febre maculosa o mais provável para a explicação dos óbitos, baseando-se em critérios clínicos, epidemiológicos e sorológicos.

Os pacientes apresentavam em geral sintomatologia de febre alta de início súbito, cefaleia, mialgia, vômitos e diarreia. Alguns exibiam exantema maculopapular a partir do terceiro dia de doença. A evolução para septicemia e óbito ocorreu em menos de sete dias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados inquéritos epidemiológico e sorológico em 16/12/1992, 48 dias após a ocorrência do último caso suspeito, no bairro da Cadeia, área periurbana do município de Caratinga, Minas Gerais. A seleção desse bairro foi feita por se tratar da área onde houve maior concentração de casos no surto.

- inquérito epidemiológico: foi realizado inquérito epidemiológico por meio de questionário aplicado a 93 domicílios. As casas foram visitadas por entrevistadores que fizeram perguntas a respeito da localização da residência, dados pessoais e socioeconômicos do entrevistado, além da presença ou não de óbitos suspeitos para FMB na residência.
- inquérito sorológico: foram coletadas amostras de 10 mL de sangue venoso de 244 pessoas provenientes dos 93 domicílios visitados (aproximadamente 55,3% da população total da área visitada). O soro foi obtido por meio de centrifugação da

amostra de sangue e estocado a -20°C . Os soros foram posteriormente submetidos à RIFI para detecção de *R. rickettsii*, considerando-se como ponto de corte a titulação mínima de 1:64, de acordo com protocolo do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) de Atlanta (EUA).

- **inquérito de vetores:** a coleta de vetores foi realizada em equinos e cães nas proximidades dos locais de entrevista, por equipe devidamente treinada do escritório da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) do mesmo município. Os carrapatos foram coletados em 22 e 23/06/1993 por meio de busca e catação na superfície do corpo dos animais no domicílio e peridomicílio. Depois de coletados manualmente, os ectoparasitas foram acondicionados e identificados segundo local e animal de origem. Os artrópodes foram identificados taxonomicamente utilizando-se chave dicotômica e pictórica descrita por Aragão e Fonseca.¹⁵
- **monitoramento pós-epidemia:** o monitoramento pós-epidemia foi realizado por meio de levantamento de notificações suspeitas para FMB junto à Secretaria de Saúde da Prefeitura de Caratinga para a população de todo o município, no período de 1992 a 2002. Também foram levantados junto à Fundação Ezequiel Dias os resultados dos exames sorológicos realizados para a população selecionada no mesmo período. Foi realizado ainda, durante o período de maio de 2002 a abril de 2003, inquérito sorológico em equinos e cães da área afetada pela epidemia de 1992 e coleta de carrapatos e pulgas por meio de catação na superfície do corpo de animais domésticos da mesma área (cães e gatos). Foi providenciada identificação taxonômica para os carrapatos a partir de chave dicotômica e pictórica descrita por Aragão e Fonseca.¹⁵ As pulgas foram identificadas morfológicamente de acordo com Linardi e Guimarães.¹⁶
- **investigação molecular:** pulgas e carrapatos coletados dos animais foram submetidos à extração de DNA e PCR.

RESULTADOS

No inquérito epidemiológico, verificou-se que 60 dos 93 (64,52%) domicílios pesquisados apresentavam proximidade com pastos, o que expunha os moradores ao risco de contato com carrapatos. Os equídeos, os cães e os gatos foram encontrados em

três (3,23%), 30 (32,26%) e 26 (27,96%) dos domicílios pesquisados, respectivamente.

O contato com o pasto foi relatado por 58 famílias (62,37%); sendo que para 33 delas (56,80%) era praticamente diário, a fim de buscar lenha, água ou esterco; nove (15,52%), para recreação; seis (10,34%), para chegar ao local de trabalho; quatro (6,90%), para levar roupa para secar; três (5,17%), para levar e buscar animais; dois (3,45%), para descartar lixo; e um (1,72%), para trabalhar em desaterro próximo ao cemitério.

Em todos os domicílios em que ocorreram óbitos suspeitos de febre maculosa, o contato com os pastos em volta da cidade era constante (para buscar lenha ou para recreação). Em um desses domicílios houve um caso com sorologia positiva para febre maculosa durante o inquérito (Tabelas 1, 2 e 3).

O inquérito de vetores foi prejudicado em função

Tabela 1 - Reatividade à RIFI para *Rickettsia rickettsii* durante o inquérito sorológico na população do Bairro da Cadeia em Caratinga, Minas Gerais, 1992

Título	RIFI para <i>Rickettsia rickettsii</i> (n=232)
$\geq 1:64$	5 (2,16%)
$< 1:64$	17 (7,33%)
Total de amostras positivas	22 (9,49%)

Tabela 2 - Reatividade à RIFI para *Rickettsia rickettsii* em soros de equinos coletados em junho de 1993 no município de Caratinga, Minas Gerais

Amostras	RIFI	
	IgM	IgG
Total de amostras testadas	---	28
Total de amostras reativas (a)	---	15
Percentual (%) de amostras reativas	---	53,40

(a) Considere-se como reativos os soros com título $\geq 1:64$ à RIFI.

Tabela 3 - Reatividade à RIFI para *Rickettsia rickettsii* em soros de cães coletados em junho de 1993 no município de Caratinga, Minas Gerais

Amostras	RIFI	
	IgM	IgG
Total de amostras testadas	---	44
Total de amostras reativas com título $\geq 1:64$	---	11
Percentual (%) de amostras reativas	---	25,00

da implantação de medidas de controle aplicadas desde o início da epidemia pelo serviço de Vigilância Epidemiológica do município, como o uso de carrapaticidas. Apesar disso, foram coletados 172

carrapatos de 29 equinos e quatro cães entre os dias 22 e 23/06/1993. Esses ectoparasitos foram identificados como larvas, ninfas ou adultos de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma* spp (Tabela 4).

Foram notificados 116 casos suspeitos e 15 óbitos confirmados para FMB no ano do surto (1992). No período pós-surto (1993 a 2002), foram notificados 193 casos suspeitos para FMB em Caratinga, sendo a maior parte dessas notificações concentradas no segundo semestre de cada ano do referido período.

Foram realizadas análises sorológicas em 182 amostras coletadas de 193 casos suspeitos notificados de FMB a partir de 1993. A RIFI foi utilizada em 60 casos, a prova de ELISA em dois e as outras 120 amostras foram testadas pela reação de Weil Felix. Em dois casos constatou-se positividade com títulos altos à RIFI nos anos de 1994 (1:256) e 1996 (1:128) com clínica compatível com a FMB.

Verificaram-se, também em 1994, dois casos suspeitos de tifo murino com títulos de 1:800 e 1:600. Os dois casos tinham diagnósticos de suspeição inicial de febre maculosa, sendo um deles proveniente da zona rural e o outro do bairro Santa Cruz (Alto da Antena), área urbana já relatada próximo da área principal pesquisada e onde também se registraram casos de febre maculosa durante o surto de 1992.

Na reavaliação do foco de Caratinga no período de 2002 a 2003, foram coletados 2.620 ectoparasitas, sendo 2.241 carrapatos (85,5%) e 379 pulgas (14,5%). Os carrapatos foram encontrados nos três estádios de desenvolvimento (larvas, ninfas e adultos), sendo que as formas adultas (1.535 indivíduos) compuseram 68% do total. Na identificação taxonômica dos carrapatos adultos foram reconhecidas as espécies *A. cajennense* (73%), *R. sanguineus* (23%) e *Anocentor nitens* (4%) parasitando equinos e cães. As pulgas foram identificadas como pertencentes ao gênero *Ctenocephalides* e foram encontradas parasitando cães e gatos. Esses ectoparasitos foram reunidos em 119 pools. Foram feitas a extração de DNA e análise por meio de PCR. O resultado positivo para o

gênero *Rickettsia* foi encontrado em 16 pools, dos quais seis provinham de pulgas e 10 de carrapatos.

Foi realizado também inquérito sorológico para cães e equinos. Nenhum dos soros dos cães analisados (n= 73) apresentou resultado positivo à RIFI, enquanto que três dos 18 soros de equinos (17%) mostraram-se positivos nos títulos 1:64 (n= 1) e 1:128 (n= 2).

DISCUSSÃO

Pulgas do gênero *Ctenocephalides* infectadas com *R. felis*, detectadas por meio de PCR, constituem evidência de que a *R. felis* pode ser espécie de importância epidemiológica na região estudada, indicando a possibilidade do surgimento de outras riquetsioses humanas na região, além de atestar a potencialidade das pulgas como vetores na transmissão das riquetsioses.

O *A. cajennense*, espécie de carrapato identificada na região estudada, é considerado o principal vetor da febre maculosa.¹⁷ Carrapatos da espécie *R. sanguineus* infectados por *R. felis* constituem-se fato inédito na literatura. A presença de *R. felis* em carrapatos da espécie *A. cajennense* já havia sido descrita anteriormente.¹⁸ Esses últimos achados são de elevada importância, já que não havia, até então, sido descrita a mesma bactéria em mais de um vetor.

A espécie *R. sanguineus* foi encontrada em cães e equinos, o que alerta para a possibilidade de participação desses animais na epidemiologia das riquetsioses na região e por serem animais que mantêm contato próximo com o homem, podendo ter importante papel na cadeia epidemiológica da febre maculosa.

A ausência de sorologia positiva nos cães avaliados, associada à ausência de casos humanos diagnosticados no local no momento epidemiológico avaliado (nova visita ao foco em 2002) parece importante para a caracterização de foco silencioso. No entanto, a sorreatividade em cavalos, conside-

Tabela 4 - Carrapatos coletados em cães e equinos do Bairro da Cadeia em Caratinga, Minas Gerais, no período de 22 e 23.06.1993

Animal	Quantidade (n)	Espécie	Estádio de Desenvolvimento	Quantidade (n)
Cães	04	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Larvas	18
			Ninfas	12
			Adultos	15
Equinos	29	<i>Amblyomma</i> spp.	Larvas	35
			Ninfas	13
			Adultos	79

rando o papel desses animais como sentinelas da doença, e a detecção molecular de riquetsias patogênicas em artrópodes vetores indicam a necessidade de se manter um sistema de vigilância epidemiológica e acarológica no local, bem como na região.

Apesar da detecção sorológica e molecular de riquetsias patogênicas em animais domésticos e seus ectoparasitos, não houve registro sistemático de casos de febre maculosa na região nos 13 anos anteriores ao término desse trabalho ocorrido em 2004. O foco comportou-se como silencioso após 1996, com a maior parte dos casos suspeitos registrados nos anos de 1993, 1994 e 1995, anos próximos da epidemia. Considerando a negatividade sorológica de grande parte dos casos ocorridos nesses anos pós-epidemia, pode-se concluir que o resultado observado reflete o estado de alarme em que se encontrava a população local frente à epidemia de 1992 com sua alta letalidade.

O município de Caratinga pode ser avaliado até esse momento como área de baixa transmissão, tendo, no entanto, a recomendação da manutenção do sistema de vigilância epidemiológica e acarológica.

CONCLUSÃO

A detecção de riquetsias em novos vetores, como a *R. felis* em carrapatos da espécie *A. cajennense* e *R. sanguineus*, volta-se para uma nova realidade epidemiológica em que cai por terra a especificidade do tipo de riquetsia envolvida por determinado vetor, ou seja, riquetsias anteriormente relatadas como transmitidas por pulgas e piolhos poderiam ser transmitidas também por carrapatos.¹⁸⁻²⁰ Essa nova realidade trazida à luz pela biologia molecular emoldura novo cenário e traz novos atores ao universo das riquetsioses. A questão de hospedeiros vertebrados e reservatórios das riquetsioses também se impõe como discussão dominante em que se questiona o papel de animais silvestres como capivaras, roedores e marsupiais no ciclo epidemiológico das riquetsioses.²¹⁻²³

REFERÊNCIAS

- Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51:2145-65.
- La Scola B, Raoult D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(27):15-27.
- Hun L, Troyo A. An update of the detection and treatment of *Rickettsia felis*. *Res Rep Trop Med.* 2012 Jun; 3:47-55.
- Dantas-Torres F. Rocky mountain spotted fever. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7:724-32.
- Azad AF, Beard CB. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. *Emerg Infect Dis.* 1998; 4:179-86.
- Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet.* 1997; 350:112-13.
- Roux V, Fournier PE, Rydkina E, Raoult D. Phylogenetic study of the Rickettsiaceae. In: *Rickettsia and Rickettsial Diseases*. Bratislava: Veda; 1996. p. 34-42.
- Piza JT. Considerações epidemiológicas e clínicas sobre o Tifo Exantemático de São Paulo. *Soc Imp Paulista.* 1932; 1:11-119.
- Ricketts HT. Some aspects of Rocky Mountain spotted fever as shown by recent investigations. *Med Record.* 1909; 76:843-55.
- Monteiro JL, Fonseca F. Typho exantemático de São Paulo. XII. Sobre um "vírus" isolados de ratos da zona urbana da cidade e suas relações com o typho exantemático de S. Paulo. *Brasil-Médico.* 1932; 46:1029-33.
- Dias E, Martins AV. Spotted fever in Brazil - a summary. *Am J Trop Med Hyg.* 1939; 19:103-8.
- Travassos J, Rodrigues PM, Carrijo LN. Tifo murino em São Paulo. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano. *Mem Inst Butantã.* 1949; 1:77-106.
- Magalhães O. Contribuição ao conhecimento das doenças do grupo exantemático. Brasília: Imprensa Nacional; 1952.
- Gonçalves AJR, Lopes PFA, Melo JCP, Pereira AA, Pinto AMM, Lazera MS, et al. Rickettsioses – A propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa brasileira. *Folha Médica.* 1981; 82(2):127-34.
- Galvão MAM, Mendonça EF, Teixeira RI, Dutra AJL, Host HH, Costa PRR. Relato de investigação epidemiológica de um provável surto de rickettsiose em Grão Mogol, Minas Gerais. *Cad Internato Rural.* 1983; 2(1):61-79.
- Melles HHB, Colombo S, Silva MV. Febre maculosa: isolamento de *Rickettsia* em amostra de biópsia de pele. *Rev Inst Méd Trop São Paulo.* 1992; 34(1):37-41.
- Aragão HB, Fonseca F. Notas de Ixodologia VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1961; 59:115-29.
- Linardi PM, Guimarães LR. Sifonápteros do Brasil. São Paulo: Museu de Zoologia Universidade de São Paulo/ FAPESP; 2000. 291p.
- Galvão MAM, Ribeiro JGL, Machado-Pinto J. Rickettsioses. In: Tonelli E, Freire LMS. Doenças infecciosas na infância e na adolescência. Rio de Janeiro: MEDSI; 2000.
- Galvão MAM, Bouyer DH, Olano JP, Cerqueira R, Walker DH. *Rickettsia felis* in *Amblyomma cajennense* ticks, Brazil. *Proceedings of 3th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases*. Slovenia: Ljubljana; 2002. p.103.

21. Cardoso LD, Galvão MAM, Freitas RN, Mafra CL, Neves CVB, Bacellar FC, *et al.* Caracterização de *Rickettsia* spp. Circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(3):495-501.
 22. Sanchez-Medina A, Bouyer DH, Mafra CL, Zavala-Castro J, Whithworth T, Popov VL, *et al.* Discovery of a typhus group *Rickettsia* in *Amblyomma* ticks in the state of Nuevo Leon, Mexico. *Proceedings of 4th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases, Spain: Logroño; 2005. p.53.*
 23. Galvão MAM, Cardoso LD, Mafra CL, Walker DH. Revisiting Brazilian spotted fever focus of Caratinga, Minas Gerais state. *Proceedings of 4th International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Spain: Logroño; 2005. p.162.*
-