

## Frequência de anticorpos da classe IgG anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica\*

Matheus Dias Cordeiro<sup>1</sup>, Vanessa de Almeida Raia<sup>2</sup>, Jaqueline Rodrigues de Almeida Valim<sup>3</sup>, Gustavo Nunes de Santana Castro<sup>4</sup>, Celso Eduardo de Souza<sup>5</sup> e Aivaldo Henrique da Fonseca<sup>6+</sup>

**ABSTRACT.** Cordeiro M.D., Raia V.A., Valim J.R.A., Castro G.N.S., Souza C.E. & Fonseca A.H. [Frequency of antibodies class IgG anti-*Rickettsia rickettsii* in horses of Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica campus.] Frequência de anticorpos da classe IgG anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(1):78-82, 2015. Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica, BR 465, Km7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: aivaldo@ufrj.br

The aim of this study was to verify, through the indirect immunofluorescence assay (IFA), the frequency of anti-*Rickettsia rickettsii* antibodies in horses at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) Seropédica campus, state of Rio de Janeiro. We analyzed serum samples from 42 horses from Department of Breeding Equine of UFRRJ. All samples were tested using fixed slides with antigens for *R. rickettsii*, *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia parkeri*. We observed an overall prevalence of *Rickettsia* spp. 83.33% (35/42). For the agent *R. rickettsii* revealed a prevalence of 66.67% (28/42), still being categorized in titers of 1:64 (19/28) and 1:128 (9/28). Nine of the 28 positives horses for *R. rickettsii* (21.43%) were no reactive to other agents, with titers 1:64 (8/9) and 1:128 (1/9). The only tick species found parasitizing horses on the campus of UFRRJ during the collection period were *Amblyomma cajennense* and *Dermacentor nitens*. The UFRRJ presents an environment that provides a ideal epidemiological niche for the permanence of *Rickettsia* bacteria. The high prevalence found in this study indicates that attention to epidemiological agent of Brazilian Spotted Fever in the study area is of utmost importance. The aim of this study was to verify, through the indirect immunofluorescence assay (IFA), the frequency of anti-*R. rickettsii* antibodies in horses at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) Seropédica campus, state of Rio de Janeiro. We analyzed serum samples from 42 horses Department Breeding Equine of UFRRJ. All samples were

---

\* Recebido em 7 de dezembro de 2012.

Aceito para publicação em 9 de março de 2014.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, M.Cs Vs. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: mathcordeiro@hotmail.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária, D.CsVs. Laboratório de Doenças Parasitárias (LDP), Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública (DESP), IV, UFRRJ, BR 465, Km7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: vanessaraiaufrj@gmail.com

<sup>3</sup> Médica-veterinária, CPGCV, DPA, IV, UFRRJ, BR 465, Km7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: jaquevalim@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Graduando em Medicina Veterinária, LDP, DESP, IV, UFRRJ, BR 465, Km7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: gnscaastro@hotmail.com - bolsista de Iniciação científica CNPq.

<sup>5</sup> Médico-veterinário, M.Cs.Vs., Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo, Rua Afonso Pessini, 86, Mogi Guaçu, SP 13845-206, Brasil. E-mail: celsoesouza@gmail.com

<sup>6</sup> Médico-veterinário, Dr. Med. Vet. Parasitol. Vet., LD, DESP, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000. \*Autor para correspondência, E-mail: aivaldo@ufrj.br - bolsista CNPq.

tested using fixed slides with antigens for *R. rickettsii*, *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia parkeri*. We observed an overall prevalence of *Rickettsia* spp. 83.33% (35/42). For the agent *R. rickettsii* revealed a prevalence of 66.67% (28/42), still being categorized in titers of 1:64 (19/28) and 1:128 (9/28). Nine of the 28 positives horses for *R. rickettsii* (21.43%) were no reactive to other agents, with titers 1:64 (8/9) and 1:128 (1/9). The only tick species found parasitizing horses on the campus of UFRRJ during the collection period were *Amblyomma cajennense* and *Dermacentor nitens*. The UFRRJ presents an environment that provides an ideal epidemiological niche for the circulation of rickettsia bacteria. The high prevalence found in this study indicates a probable circulation of *Rickettsia* spp., having thus risk for human infection in the study area.

KEY WORDS. Rickettsiosis, ixodidae, bacteria.

**RESUMO.** O objetivo do presente estudo foi verificar, através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a frequência de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) *campus* Seropédica, estado do Rio de Janeiro. Foram analisadas amostras de soro de 42 equinos do Setor de Equinocultura da UFRRJ. Todas as amostras foram testadas utilizando lâminas fixadas com antígenos para *R. rickettsii*, *Rickettsia rhipicephali* e *Rickettsia parkeri*. Foi observada uma prevalência geral para *Rickettsia* spp. de 83,33% (35/42). Para o agente *R. rickettsii* observou-se uma soroprevalência de 66,67% (28/42), sendo ainda categorizados em títulos de 1:64 (19/28) e 1:128 (9/28). Nove dos 28 equinos positivos para *R. rickettsii* (21,43%) não foram reativos para os demais agentes, apresentando títulos de 1:64 (8/9) e 1:128 (1/9). As únicas espécies de carrapatos encontradas parasitando os equinos no *campus* da UFRRJ durante o período de coleta foram *Amblyomma cajennense* e *Dermacentor nitens*. O *campus* da UFRRJ apresenta um ambiente que propicia um nicho epidemiológico ideal para a circulação de bactérias do gênero *Rickettsia*. A alta prevalência encontrada no presente estudo indica uma provável circulação de *Rickettsia* spp., havendo assim, risco para infecção humana na área estudada.

PALAVRAS-CHAVE. Rickettsioses, ixodídeos, bactérias.

## INTRODUÇÃO

As Rickettsioses são enfermidades causadas por bactérias Gram-negativas estritamente intracelulares pertencentes à família *Rickettsiaceae* (Tavares et al. 2005), composta pelos gêneros *Rickettsia* e *Orientia* (Dumler et al. 2001), destaca-se *Rickettsia rickettsii*, pois a mesma é responsável pela Febre Maculosa Brasileira (FMB) (Lemos et al. 1996).

Considerada como uma doença de notificação obrigatória desde 2001, a FMB é transmitida ao homem por carrapatos, principalmente do gênero *Amblyomma*, destacando-se no Brasil a espécie *Amblyomma cajennense* (Dias et al. 1939, Estrada et al. 2006).

Os equinos são hospedeiros primários dos estágios parasitários do carrapato *A. cajennense*. Em situações de alta infestação deste carrapato, cavalos, cães e humanos são frequentemente parasitados. Sendo assim, é indicada a existência de um programa de análise sorológica desses animais em áreas onde humanos têm potencial de serem parasitados por essa espécie de carrapato (Labruna et al. 2002).

O teste considerado padrão ouro para diagnóstico das rickettsioses, recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), é a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) que utiliza antígenos espécie-específicos de *Rickettsia* (Galvão et al. 2005). Porém a RIFI não consegue distinguir infecções de diferentes espécies de rickettsias, devido à existência de reações heterólogas entre as diferentes espécies de bactérias do Grupo da Febre Maculosa (GFM) (Chen et al. 2008).

O objetivo deste trabalho foi verificar, através da RIFI, a frequência de anticorpos contra *R. rickettsii* em equinos do Setor de Equinocultura do *campus* de Seropédica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 42 equinos do Setor de Equinocultura da UFRRJ *campus* de Seropédica, localizado na região oeste da Baixada Fluminense, Mesorregião Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro. As coletas foram realizadas no período de julho de 2008 a junho de 2009, através de punção da veia jugular utilizando tubos estéreis à vácuo sem anticoagulante. Posteriormente, o sangue foi centrifugado e os soros obtidos foram acondicionados em frascos estéreis de polipropileno e mantidos a 20° Celsius negativo até o momento da

análise sorológica. Foram coletados alguns exemplares de carrapatos para efeito de identificação das espécies que infestavam equinos na área estudada. Os espécimes encontrados foram removidos manualmente ou com auxílio de pinça oftalmológica e acondicionados em frascos de polipropileno e identificados segundo a chave ixodológica de Barros-Battesti et al. (2006).

As amostras de soro foram encaminhadas para o Laboratório de Carrapatos da Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN-SP) localizado no município de Mogi Guaçu-SP. Todas as amostras foram testadas para *R. rickettsii*, *Rickettsia rhipicephali* e *Rickettsia parkeri*, utilizando lâminas de 10 ou 12 orifícios. As lâminas foram cedidas pelo Prof. Marcelo Bahia Labruna do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ/USP. Os soros-teste e controles foram diluídos utilizando 5 µL de soro em 635 µL de tampão salino fosfatado (PBS) (1:64). Assim, 20 µL dos soros-teste e dos controles diluídos foram dispostos em cada orifício das lâminas, que em seguida, foram armazenadas em câmara úmida em estufa bacteriológica a 37°C, durante meia hora. Após este período, as lâminas foram lavadas com solução salina de tampão fosfato (PBS) em imersão por período de 10 minutos no mesmo tampão e secas ao ar. Então, adicionou-se 20 µL de conjugado anti-IgG de equino ligado à Isotiocianato de fluoresceína diluído à 1:80 em PBS e as lâminas armazenadas sob as mesmas condições por mais 30 minutos. Posteriormente, foram lavadas duas vezes por imersão em tampão de lavagem acrescido de azul de evans (na proporção de 0,3 mL de azul de evans para cada 100 mL de tampão de lavagem) por 10 minutos em uma cuba coberta por papel alumínio para evitar a entrada de luz. Em seguida, as lâminas foram secas ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Para realizar a leitura, foram montadas com duas pequenas gotas de glicerina tampônada e cobertas por lamínula. Realizou-se a leitura das lâminas em microscópio de fluorescência à luz ultravioleta com aumento de 40 vezes. Os soros-teste que apresentaram reatividade ao antígeno de *R. rickettsii* foram diluídos até chegarem a sua titulação máxima. Para os antígenos de *R. rhipicephali* e *R. parkeri*, os soros foram testados apenas na titulação de 1:64.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada uma prevalência geral para *Rickettsia* spp. de 83,33% (35/42) (Tabela 1). Para o agente *R. rickettsii* observou-se uma soroprevalência de 66,67% (28/42), sendo ainda categorizados em títulos de 1:64 (19/28) e 1:128 (9/28). Nove dos 28 equinos positivos para *R. rickettsii* (21,43%) não foram reativos para os demais agentes testados, apresentando títulos de 1:64 (8/9) e 1:128 (1/9). As únicas espécies de carrapatos encontradas parasitando os equinos no campus da UFRRJ durante o período de coleta foram *A. cajennense* e *Dermacentor nitens*.

Resultados similares foram encontrados por Le-

Tabela 1. Resultados da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos contra três antígenos brutos de rickettsias: *Rickettsia rhipicephali*, *Rickettsia parkeri* e *Rickettsia rickettsii* em equinos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rickettsii</i>
Reativos	12 (28,57%)	21 (50%)	28 (66,67%)
Não reativos	30 (71,43%)	21 (50%)	14 (43,43%)
Total	42 (100%)	42 (100%)	42 (100%)

mos et al. (1996), no município de Pedreira, estado de São Paulo, onde 77,8% dos equinos coletados próximo à área onde estavam localizadas as notificações de casos de FMB foram positivos quando testados contra antígenos de *R. rickettsii*. Em contrapartida, apenas 27,3% dos equinos coletados de outras áreas do mesmo município se revelaram positivos. Além disso, apenas equinos da área endêmica apresentaram títulos acima de 1:1024.

Por mais que nossos resultados não comprovem que os animais tenham sido infectados por *R. rickettsii*, as amostras reativas apenas ao antígeno de *R. rickettsii*, podem ter sido estimuladas por anticorpos anti-*R. rickettsii* ou uma espécie filogeneticamente relacionada, considerando o fato de que o valor dos títulos foi pelo menos quatro vezes superior ao encontrado para outras espécies testadas. Fato semelhante foi reportado por Horta et al. (2004).

Resultados com proporções menores que no presente estudo foram observados por Tamekuni et al. (2010) na cidade de Londrina, estado do Paraná, área considerada não endêmica para FMB. Segundo estes autores, 5,5% (15/273) dos equinos foram reativos à RIFI utilizando antígenos de *R. rickettsii*, com uma titulação variando entre 1:64 e 1:512. Porém, utilizando antígenos de *R. parkeri*, encontraram uma prevalência de 1,8% (5/273) de animais positivos, com isso, 11 animais positivos foram considerados homólogos para *R. rickettsii* ou uma espécie intimamente relacionada, por apresentarem títulos, pelo menos, quatro vezes maior que a espécie *R. parkeri*. Ainda no estado do Paraná, nas cidades de Umuarama, Douradina e Arapongas, Otomura et al. (2010) verificaram uma prevalência de 5,29% (15 de 284 amostras) para *R. rickettsii* em equinos. Das amostras positivas para a RIFI, oito (53,3%) apresentaram título de 1:64 para *R. rickettsii*, duas (13,3%) tiveram título de 1:128 para *R. rickettsii*, e cinco (33,3%) foram reagentes para *R. parkeri* e *R. rickettsii*, com títulos que variaram de 1:64 a 1:2048 e de 1:128 a 1:1024, respectivamente. O Estado do Paraná manteve-se sem registro dessa doença até 2005, quando houve o primeiro caso

humano no município de São José dos Pinhais (Ministério da Saúde 2006).

Em Minas Gerais, Cardoso et al. (2006) revisitaram um foco aparentemente silencioso, 12 anos após o último surto. De um total de 18 soros dos equinos testados para antígenos específicos de *R. rickettsii*, 17% (3/18) foram positivos, sendo inferior à positividade de 53% encontrada no ano em que ocorreu o surto, e nenhum dos 73 cães reagiu sorologicamente à RIFI, enquanto que, no ano de ocorrência do surto, 25% foram positivos para *R. rickettsii*.

Estudando gambás, gatos, cães, equinos e humanos, Horta et al. (2007) verificaram a prevalência de anticorpos contra *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *Rickettsia felis* e *Rickettsia belli* em cinco áreas do Estado de São Paulo, sendo quatro áreas endêmicas e uma área considerada não-endêmica para FMB. Avaliando os resultados, Horta et al. (2007) observaram uma prevalência geral para *Rickettsia* spp. de 72,9%. Os equinos estudados nessas cinco áreas serviram como excelentes sentinelas, principalmente, em áreas onde o principal vetor para FMB era *A. cajennense*, quando encontraram uma frequência de anticorpos anti-*R. rickettsii* de 85 a 90% em algumas áreas.

Dentre as espécies de carrapatos encontradas parasitando equinos no *campus* da UFRRJ, *A. cajennense* é a espécie que possui menor especificidade em estágios imaturos e que tem como hospedeiros primários equinos, antas e capivaras (Aragão 1936). *Amblyomma cajennense* é considerado um dos principais vetores da FMB (Lemos et al. 1997, Guedes et al. 2005). O carrapato *D. nitens*, conhecido vulgarmente como “carrapato da orelha dos equinos”, é frequentemente encontrado no meio rural e em áreas endêmicas para FMB, porém a importância desta espécie na epidemiologia desta enfermidade no Brasil ainda não foi esclarecida (Cardoso et al. 2006, Oliveira et al. 2008, Tamekuni et al. 2010).

O município de Seropédica bem como o *campus* da UFRRJ têm registrado casos esporádicos e suspeitos de Febre Maculosa Brasileira. A preocupação vai além da Saúde Pública, já que no município localiza-se um dos maiores *campus* universitários da América Latina. Por ela, transitam um grande número de pessoas, incluindo, estudantes de graduação de dezenas de cursos, professores, pesquisadores de várias regiões do Brasil e de outros países. O *campus* universitário da UFRRJ possui características de área rural, apresentando uma vegetação típica de Mata Atlântica com fragmentos florestais no interior onde grande parte está

caracterizada por vegetação secundária com grandes áreas campestres e áreas de pastagem para bovinos, caprinos, ovinos e equinos (Ferreira et al. 2010). Esse ambiente propicia o nicho epidemiológico ideal para a circulação das bactérias do gênero *Rickettsia*, pois estão presentes diversas espécies de animais silvestres, tais como gambás e capivaras, em contato direto com animais domésticos, como equinos e caninos, associando-se ainda a baixa especificidade do *A. cajennense*, vetor implicado em sua transmissão.

## CONCLUSÕES

A alta soroprevalência encontrada para anticorpos anti-*rickettsia* demonstra que a área estudada deve ser considerada como de risco para a ocorrência de casos da FMB.

## REFERÊNCIAS

- Aragão H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 31:759-844, 1936.
- Barros-Battesti D.M., Arzua M. & Bechara G.H. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. *Vox/ICTTD-3/Butantan*, São Paulo, 2006. 223p.
- Batista F.G., Silva D.M., Green K.T., Tezza L.B.L., Vasconcelos S.P., Carvalho S.G.S., Silveira I., Moraes-Filho J., Labruna M.B., Fortes F.S. & Molento M.B. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in an non-endemic area in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 19:205-209, 2010.
- 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. *Cad. Saúde Pública*, 22:495-501, 2006.
- Dias E. & Martins A.V. Spotted fever in Brazil. A summary. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 19:103-108, 1939.
- Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P.J., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C., Rikihisa Y. & Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘HGE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51:2145-2165, 2001.
- Estrada D.A., Schumaker T.T.S. & Souza C.E. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 39:68-71, 2006.
- Ferreira I., Ventura P.E.C. & Luz H.R. *Aves no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*. Editora EDUR, Seropédica, 2010. 255p.
- Galvão M.A.M., Silva L.J., Nascimento E.M.M., Calic S.B., De Souza R. & Bacellar F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. *Rev. Saúde Pública*, 39:850-856, 2005.
- Guedes E., Leite R.C., Prata M.C.A., Pacheco R.C., Walker D.C. & Labruna M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100:841-845, 2005.
- Horta M.C., Labruna M.B., Pinter A., Linardi P.M. & Schumaker T.T.S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 107:793-801, 2007.

- 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. *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71:93-97, 2004.
- Labruna M.B., Kasai N., Ferreira F., Faccini J.L. & Gennari S.M. Seasonal dynamics of ticks (Acari:Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brasil. *Vet. Parasitol.*, 105:65-77, 2002.
- La Scola B. & Raoult D.L. Laboratory diagnosis of Rickettsioses: Current approaches diagnosis of old and new Rickettsial Diseases. *J. Clin. Microbiol.* 35:2715-2727, 1997.
- Lemos E.R.S. Rickettsial diseases in Brazil. *Virus Rev. Res.*, 7:7-16, 2002.
- Lemos E.R.S., Melles H.H.B., Colombo S., Machado R.D., Coura J.R., Guimarães A.A., Sanseverino S.R. & Moura A. Primary isolation of spotted fever group from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91:273-275, 1996.
- Lemos E.R.S., Machado R.D., Pires F.D.A., Machado S.L., Costa L.M.C. & Coura J.R. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of Spotted Fever in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 92:477-481, 1997.
- Ministério da Saúde. Brasil. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Paraná / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. MS, Brasília, 2006.
- Oliveira K.A., Oliveira L.S., Dias C.C.A., Silva Jr A., Almeida M.R., Almada G., Bouyer D.H., Galvão M.A.M. & Mafra C.L. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 103:191-194, 2008.
- Otomura F.H., Sangioni L.A., Pacheco R.C., Labruna M.B., Galhardo J.A., Ribeiro M.G. & Teodoro U. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 62:761-764, 2010.
- Pacheco R.C., Moraes-Filho J., Guedes E., Silveira I., Richtzenhain L.J., Leite R.C. & Labruna M.B. Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Med. Vet. Entomol.*, 25:148-155, 2011.
- Tamekuni K., Toledo R.S., Filho M.F.S., Haydu V.B., Pacheco R.C., Cavicchioli J.H., Labruna M.B., Dumler J.S. & Vidotto O. Serosurvey of antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp. in horse farms in Northern Paraná, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 19:259-261, 2010.
- Tavares W., Marinho L.A.C. *Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias*. Editora Atheneu, São Paulo, 2005. 1206p.