



Candidatus Rickettsia andeanae en Amblyomma parvum parasitando humanos en un refugio forestal de gran altitud dentro del bioma Caatinga, Brasil

Igor da C. L. Acosta¹ ; Socrates F. da Costa-Neto² ; Camila dos S. Lucio² ;
Caio P. Tavares³ ; Marcelo B. Labruna¹ ; Hermes R. Luz^{3*} .

¹University of São Paulo, Faculty of Veterinary Medicine, São Paulo, SP, Brazil.

²Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro state, Brazil.

³Federal University of Maranhão, Program in Biodiversity and Conservation, São Luis, Maranhão state, Brazil.

*Correspondence: hermesluz@globomail.com

Recibido: Noviembre 2021; Aceptado: Febrero 2022; Publicado: Mayo 2022.

RESUMEN

Objetivo. Este estudio reporta garrapatas *Amblyomma parvum* que parasitaron humanos en un bosque a gran altitud dentro del bioma Caatinga, Brasil, con nota de infección por rickettsias.

Materiales y métodos. El presente estudio se realizó en la Región Metropolitana de Sobral, en la Sierra de Meruoca, en el municipio de Meruoca ($3^{\circ} 32'20''S$; $40^{\circ} 26'56''W$; altitud 650 m), en la región noroeste del estado de Ceará, Brasil. Todas las garrapatas se identificaron morfológicamente con estereoscopio. Algunas de las garrapatas recolectadas se analizaron molecularmente para detectar la presencia de ADN de bacterias del género *Rickettsia*, con protocolos de PCR dirigidos a dos genes rickettsiales: el gen de la citrato sintasa (*gltA*) y el gen de la proteína de la membrana externa (*ompA*). **Resultados.** Se recolectaron un total de 78 garrapatas en humanos, identificadas como adultos de *Amblyomma parvum* (62 hembras y 16 machos). De estas, se analizaron 20 hembras, de las cuales 15 (75%) estaban infectadas con '*Candidatus Rickettsia andeanae*'. **Conclusiones.** El presente estudio confirma una zona adicional de riesgo humano para la picadura por garrapatas en Brasil, así como para la presencia de la especie de *Rickettsia* no patógena '*Ca. Rickettsia andeanae*'

Palabras clave: *Rickettsia*; fiebre maculosa; antropofilia; Nordeste; Brasil (Fuentes: DeCS, CAB, TGN).

ABSTRACT

Objective. This studied aimed to report *Amblyomma parvum* ticks parasitizing humans in a high-altitude forest within the Caatinga biome, Brazil, with notes on rickettsial infection. **Materials and methods.** The study was carried out in the Metropolitan Region of Sobral, in the Serra of Meruoca, within the Municipality of Meruoca ($3^{\circ} 32' 20''S$; $40^{\circ} 26' 56''W$; altitude 650 m), in the northwest region of the State of Ceará, Brazil. All ticks were identified morphologically under stereomicroscope.

Some of the collected ticks were tested molecularly for the presence of DNA of bacteria of the genus *Rickettsia*, with PCR protocols targeting two rickettsial genes: citrate synthase gene (*gltA*) and outer membrane protein gene (*ompA*). **Results.** A total of 78 ticks were collected on humans, identified

Como citar (Vancouver).

Acosta ICL, da Costa-Neto SF, Lucio C, Tavares CP, Labruna MB, Luz HR. *Candidatus Rickettsia andeanae en Amblyomma parvum parasitando humanos en un refugio forestal de gran altitud dentro del bioma Caatinga, Brasil*. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(2):e2598. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2598>

as adults of *Amblyomma parvum* (62 females and 16 males). Of these, 20 females were tested, of which 15 (75%) were infected by '*Candidatus Rickettsia andeanae*'. **Conclusions.** The present study confirms one more area at human risk for tick bites in Brazil, also for the non-pathogenic rickettsia '*Ca. Rickettsia andeanae*'

Keywords: *Rickettsia*; spotted fever; anthropophilic; Northeast; Brazil (Source: DeCS, CAB, TGN).

INTRODUCCIÓN

Las rickettsiosis transmitidas por garrapatas son infecciones causadas por bacterias intracelulares obligadas del género *Rickettsia* pertenecientes a la familia Rickettsiaceae (1). En Brasil, existen aproximadamente diecisésis especies y/o cepas de *Rickettsia* asociadas a garrapatas, de las cuales al menos dos especies pertenecen al grupo de las fiebres manchadas (GFM) y causan enfermedad en humanos: *Rickettsia rickettsii*, el agente de la fiebre manchada brasileña, una enfermedad aguda altamente letal, y *Rickettsia parkeri*, el agente de una rickettsiosis leve sin letalidad reportada a la fecha (1,2,3,4,5,6,7,8). La especie perteneciente al GFM, '*Candidatus Rickettsia andeanae*', se ha descrito infectando únicamente a las garrapatas, y nunca se ha demostrado su papel como patógeno humano (1,7). La mayoría de las infecciones por '*Ca. R. andeanae*' en garrapatas en Brasil se han descrito en *Amblyomma parvum* en el bioma del Pantanal (estado de Mato Grosso do Sul) y en caballos en el bioma del Cerrado (estado de Piauí) (8).

Amblyomma parvum tiene una amplia distribución en el Neotrópico, encontrándose principalmente en ambientes con humedad moderada y temperaturas relativamente altas (9). En Brasil, esta garrapata es endémica en los biomas Cerrado y Caatinga, y en diferentes ecosistemas del bioma Pantanal (10,11). Mientras que los estadios inmaduros parasitan roedores y aves silvestres, los adultos prefieren grandes mamíferos silvestres y domésticos (9). Curiosamente, *A. parvum* forma parte de un grupo de garrapatas que parasitan a los humanos en Sudamérica (12). Además, hay informes sobre su infección por *Coxiella burnetii*, y un agente similar a *Ehrlichia chaffeensis* (*Ehrlichia* sp. cepa San Luis) (13,14).

El bioma Caatinga se refiere a los ecosistemas semiáridos del noreste de Brasil, con baja precipitación y humedad (15). En este bioma, los registros de garrapatas y sus agentes

microbianos son más frecuentes en animales silvestres y domésticos, siendo escasos los asociados con humanos (11,16,17,18,19). Curiosamente, dentro del bioma Caatinga, existen áreas aisladas de bosque que se asemejan a la selva húmeda tropical atlántica a mayor altitud, generalmente >400 metros sobre el nivel del mar. Estas áreas de bosque contrastan con las áreas típicas de la Caatinga por tener una alta humedad y condiciones de temperatura discretas (20,21).

En uno de estos bosques de gran altitud del bioma Caatinga, llamado "Macizo de Baturité", (22) se ha reportado un total de 10 especies de garrapatas asociadas al entorno, a los seres humanos y a los animales domésticos y silvestres; además de tres agentes rickettsiales que infectan a estas garrapatas: *R. parkeri* cepa Atlantic rainforest, *Rickettsia bellii*, y '*Ca. R. andeanae*'. Con el propósito de generar información adicional, en el presente estudio, reportamos las garrapatas que infestaron a los humanos en otra región de bosque de gran altitud dentro del bioma Caatinga. Además, analizamos las garrapatas para detectar la presencia de rickettsias.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en la Región Metropolitana de Sobral, en la Sierra de Meruoca, dentro del Municipio de Meruoca ($3^{\circ} 32' 20''$ S; $40^{\circ} 26' 56''$ O; altitud 650 m), en la región noroeste del Estado de Ceará, Nordeste de Brasil. El paisaje se caracteriza por restos de bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios, conocidos como bosques de altura del bioma Caatinga. La temperatura media anual es de 20 a 26°C (22,23). Además, tiene una presencia constante de seres humanos (durante el verano, por consiguiente, debido a la mayor precipitación y formación de ríos intermitentes), relacionada a las actividades agrícolas y turísticas en busca de deportes extremos, balnearios y cascadas naturales.

Durante un estudio desarrollado en la región metropolitana de Sobral en junio de 2016, relacionado con los vectores de la enfermedad de Chagas y el *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos y silvestres, en el dia cuarto, los investigadores observaron la presencia de garrapatas en la ropa y/o picando diferentes regiones del cuerpo después de caminar por los senderos locales. Las garrapatas visualizadas fueron colectadas y almacenadas individualmente en microtubos con isopropanol absoluto, y luego enviadas al laboratorio para su identificación. Todas las garrapatas se identificaron morfológicamente mediante estereomicroscopio de acuerdo con Dantas-Torres et al (24).

Algunas de las garrapatas colectadas (20 hembras) fueron sometidas a pruebas moleculares para detectar la presencia de ADN de bacterias del género *Rickettsia*. Para ello, las garrapatas se sometieron individualmente a la extracción de ADN mediante la técnica de isotiocianato de guanidina y fenol/cloroformo (25), y se analizaron mediante un ensayo de PCR específico para el género con los cebadores CS-78 y CS-323, que amplifican un fragmento de 401 pb del gen de la citrato sintasa rickettsial (*gltA*) (26). Las muestras positivas en este ensayo se analizaron además mediante otro protocolo de PCR utilizando los cebadores Rr190.70p y Rr190.701n, que amplifican un fragmento de 631 pb del gen de la proteína de la membrana externa de 190 kDa (*ompA*), presente en la mayoría de las rickettsias del GFM (27). Para aumentar la sensibilidad de la PCR convencional, se utilizó 1 µl del producto de todas las muestras negativas para *ompA* o débilmente amplificadas en el ensayo anterior de *ompA*, como sustrato para un segundo ensayo de PCR (PCR semianidada) con los cebadores Rr190.70p y Rr190.602, dirigidos a un fragmento de 532 pb del gen *ompA* (28). Agua ultrapura y ADN de *R. parkeri* cepa NOD se incluyeron como controles negativos y positivos, respectivamente, en cada ejecución de la PCR. Se utilizó un gel de agarosa al 1,5% para visualizar los productos de la PCR bajo luz UV. Los productos de la PCR se trataron con ExoSap-IT (USB, Cleveland, Ohio, EE.UU.) y se secuenciaron en un secuenciador automático ABI (Applied Biosystems/Thermo Fisher Scientific, modelo ABI 3500 Genetic Analyzer, Foster City, California, EE.UU.) con los mismos cebadores utilizados para la PCR. Las secuencias obtenidas se ensamblaron con el software Geneious R9 y se sometieron a análisis BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast)

para inferir las identidades más cercanas a las secuencias disponibles en el GenBank.

RESULTADOS

Se colectaron un total de 78 garrapatas en 8 investigadores, con una intensidad media de infestación aproximada de 10 garrapatas por investigador. Todas las garrapatas fueron identificadas morfológicamente como adultos de *A. parvum* (62 hembras y 16 machos). De ellas, 40 (51,2%) garrapatas (9 machos y 31 hembras) se encontraron adheridas a la piel, especialmente en el abdomen y los muslos. Las 38 (48,8%) garrapatas restantes (12 machos, 26 hembras) no se encontraron adheridas; caminando sobre la ropa o la piel, especialmente entre las regiones de la cintura y las rodillas.

Debido a los limitados recursos del laboratorio, sólo las hembras que se encontraron parasitando a los humanos (n= 20 garrapatas) fueron sometidas a la extracción de ADN y analizadas para detectar la presencia de *Rickettsia*. De ellas, 15 (75%) especímenes presentaron amplicones mediante los ensayos de PCR dirigidos a los genes *gltA* y *ompA*. Los amplicones de *gltA* generaron una secuencia consenso de 350 pb 100% idéntica a las secuencias de *gltA* de '*Ca. R. andeanae*'(GenBank MG887826, KY402176). Del mismo modo, los amplicones de *ompA* generaron una secuencia consenso de 587 pb 100% idéntica a las secuencias de *ompA* de '*Ca. R. andeanae*'(GenBank KY628370, KX434737).

Los números de acceso relacionados a la secuencia de nucleótidos del GenBank para las secuencias parciales de *gltA* y *ompA* generadas en este estudio son OK050181 y OK050182, respectivamente.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, proporcionamos nuevos registros de *A. parvum* infestando a humanos en un bosque de gran altitud dentro del bioma Caatinga, en el estado de Ceará, al noreste de Brasil. Puntualmente, 15 (75%) de las 20 garrapatas hembras que se encontraron parasitando a los humanos estaban infectadas con '*Ca. R. andeanae*'. Estos registros muestran un aumento del riesgo de parasitismo de garrapatas en humanos y la posible transmisión de agentes rickettsiales en el área de estudio.

Aunque está ampliamente distribuida en el Neotrópico (de México a Argentina), *A. parvum* se encuentra con mayor frecuencia en ecorregiones con altas temperaturas y humedad baja a moderada, incluyendo los biomas de Cerrado y Caatinga, y en los ecosistemas Cerrado-Pantanal en Brasil (9,16,19). Es interesante destacar que existen registros de *A. parvum* parasitando fauna silvestre (Dasypodidae y Cervidae) en otra zona de bosque de altura del estado de Ceará, el "Macizo de Baturité" (22), que se encuentra a ≈ 200 Km de distancia de la presente área de estudio.

La mayoría de los registros de *A. parvum* en el bioma Caatinga han sido en las fitofisionomías más típicas del semiárido, donde los inmaduros (larvas y ninfas) de esta especie de garrapata parasitan principalmente a roedores, marsupiales y aves silvestres. En cambio, los adultos de *A. parvum* prefieren a los mamíferos domésticos y silvestres de tamaño medio y grande (por ejemplo, cabras, ovejas, perros, caballos, zorros) (11,18,19,29,30). Curiosamente, los adultos de *A. parvum* son bastante antropófilos y los registros en humanos en Brasil se concentran principalmente en los biomas Cerrado y Pantanal, con escasos registros en el bioma Caatinga (12,18,31,32). Esto refuerza la importancia del hallazgo de *A. parvum* parasitando humanos en el presente estudio.

La bacteria 'Ca. R. andeanae' ha sido reportada infectando diferentes especies de garrapatas del Nuevo Mundo, incluyendo *Amblyomma maculatum*, *Ixodes boliviensis* y *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato en Perú (33,34), *A. maculatum* en Estados Unidos (35,36), *A. parvum* y *Amblyomma pseudoconcolor* en Argentina (37,38), y *Amblyomma triste* en Chile (39). En Brasil, 'Ca. R. andeanae' fue reportado infectando garrapatas *A. parvum* en los biomas Pantanal y Cerrado (8,40). Además, en el bioma Caatinga, 'Ca. R. andeanae' se detectó en especímenes de *A. parvum* que parasitaban *Monodelphis domestica*, *Canis lupus familiaris* (18,19) y numerosas especies de aves silvestres (11). Además, en adultos de *A. parvum* en el bioma Caatinga se detectó una especie de *Rickettsia* previamente no caracterizado, relacionado con el GFM, identificada como *Rickettsia* sp. haplotipo ApBA1 y ApBA2 (19). Aunque hay informes de *A. parvum* en humanos en el bioma de la Caatinga (18), el presente estudio es el primero en informar de especímenes de *A. parvum* infectados con 'Ca. R. andeanae' parasitando humanos en este bioma.

La presente tasa de infección del 75%, respecto a 'Ca. R. andeanae' en *A. parvum*, está en consonancia con los estudios anteriores que han informado el hecho de que la mayoría de las garrapatas *A. parvum* de Argentina (69,2%) y Brasil (63,5% en el bioma del Pantanal; 66,7% en el bioma del Cerrado) estaban infectadas por 'Ca. R. andeanae' (8). Independientemente de ello, el papel de 'Ca. R. andeanae' como patógeno humano aún es desconocido. Dado que *A. parvum* es una garrapata que parasita frecuentemente a los humanos en Sudamérica (12), se necesitan más estudios para evaluar la competencia vectorial de *A. parvum* para 'Ca. R. andeanae' y su patogenicidad para el ser humano u otros huéspedes vertebrados. En nuestro estudio, ninguno de los humanos infestados reportó síntomas compatibles con la infección por rickettsias (por ejemplo, fiebre, mialgia, vómitos o petequias) durante los 14 días posteriores a la infestación por garrapatas infectadas con 'Ca. R. andeanae'. Es posible especular sobre tres posibles escenarios: (i) la garrapata no permaneció adherida durante el periodo mínimo requerido para la transmisión de la rickettsia; (ii) se produjo la infección humana, pero los síntomas fueron imperceptibles debido a la escasa o nula patogenicidad; o (iii) 'Ca. R. andeanae' no se transmite por garrapatas; siendo sólo un endosimbionte de la garrapata.

Por último, varios aspectos ecológicos y de comportamiento de las garrapatas o de los hospedadores pueden favorecer o restringir los encuentros con el ser humano y, por tanto, la picadura de la garrapata y la transmisión del agente patógeno. En este sentido, las preferencias de las especies de garrapatas por determinados hospedadores, así como el solapamiento espacial y temporal del parásito y el hospedador, son características clave para la epidemiología de las enfermedades transmitidas por garrapatas (32). La Sierra de Meruoca cuenta con una rica biodiversidad e innumerables paisajes naturales, que atraen a miles de turistas a lo largo del año. De esta manera, sumado a los registros del presente estudio, la Sierra de Meruoca entra en el grupo de áreas prioritarias para futuras investigaciones relacionadas a la transmisión de agentes patógenos por garrapatas a animales y humanos.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(4):657-702. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00032-13>.
2. Labruna M, Mattar VS, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Rev MVZ Córdoba.* 2011; 16(2):2435-2457. <https://doi.org/10.21897/rmvz.282>.
3. Silva AB, Vizzoni VF, Costa AP, Costa FB, Moraes-Filho J, Labruna MB, et al. First report of a *Rickettsia asemboensis* related infecting fleas in Brazil. *Acta Trop.* 2017; 172:44-49. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.04.004>.
4. Luz HR, Silva-Santos E, Costa-Campos CE, Acosta I, Martins TF, Muñoz-Leal S, et al. Detection of *Rickettsia* spp. in ticks parasitizing toads (*Rhinella marina*) in the northern Brazilian Amazon. *Exp Appl Acarol.* 2018; 75(3):309-318. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0270-y>.
5. Luz HR, Muñoz-Leal S, de Carvalho WD, Castro IJ, Xavier BS, Toledo JJ, et al. Detection of "Candidatus Rickettsia wissemanni" in ticks parasitizing bats (Mammalia: Chiroptera) in the northern Brazilian Amazon. *Parasitol Res.* 2019; 118(11):3185-3189. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06442-3>.
6. Peixoto MP, Luz HR, de Abreu DPB, Faccini JLH, McIntosh D. Detection of *Rickettsia* sp. strain Itinguçu in *Ornithodoros fuscipennis* (Acari: Argasidae) parasitizing the toad *Rhinella ornata* (Anura: Bufonidae) in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12(3):101680. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101680>.
7. Jiang J, Blair PJ, Felices V, Moron C, Cespedes M, Anaya E, et al. Phylogenetic analysis of a novel molecular isolate of spotted fever group Rickettsiae from northern Peru: *Candidatus Rickettsia andeanae*. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1063:337-342. <https://doi.org/10.1196/annals.1355.054>.
8. Nieri-Bastos FA, Lopes MG, Cançado PH, Rossa GA, Faccini JL, Gennari SM, et al. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109(2):259-261. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140283>.
9. Nava S, Venzal JM, Acuña DG, Martins TF, Guglielmone AA. Ticks of the southern cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press: London: 2017.
10. Szabó MP, Olegário MM, Santos AL. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. *Exp Appl Acarol.* 2007; 43(1):73-84. <https://doi.org/10.1007/s10493-007-9096-8>.
11. Lugarini C, Martins TF, Ogrzewalska M, de Vasconcelos NC, Ellis VA, de Oliveira JB, et al. Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6(3):364-375. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.02.011>.
12. Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 2006; 40(2):83-100. <https://doi.org/10.1007/s10493-006-9027-0>.
13. Pacheco RC, Echaide IE, Alves RN, Beletti ME, Nava S, Labruna MB. *Coxiella burnetii* in ticks, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19(2):344-346. <https://doi.org/10.3201/eid1902.120362>.
14. Monje LD, Fernandez C, Percara A. Detection of *Ehrlichia* sp. strain San Luis and *Candidatus Rickettsia andeanae* in *Amblyomma parvum* ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(1):111-114. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.09.008>.

15. Costa RC, Araújo FS, Lima-Verde LW. Flora and life-form spectrum in an area of deciduous thorn woodland (caatinga) in northeastern, Brazil. *J Arid Environ.* 2007; 68:237-247. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.06.003>.
16. Horta MC, Nascimento GF, Martins TF, Labruna MB, Machado LCP, Nicola PA (2011) Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing free-living wild animals in the Caatinga biome in the State of Pernambuco, north eastern Brazil. *Syst Appl Acarol.* 2011; 16:207-211. <https://doi.org/10.11158/saa.16.3.3>.
17. Luz HR, Muñoz-Leal S, Almeida JC, Faccini JL, Labruna MB. Ticks parasitizing bats (Mammalia: Chiroptera) in the Caatinga Biome, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2016; 25(4):484-491. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120160083>.
18. de Oliveira GMB, da Silva IWG, da Cruz Ferreira Evaristo AM, de Azevedo Serpa MC, Silva Campos AN, et al. Tick-borne pathogens in dogs, wild small mammals and their ectoparasites in the semi-arid Caatinga biome, northeastern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(4):101409. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101409>.
19. Maia MO, Koppe VC, Muñoz-Leal S, Martins TF, Marcili A, Labruna MB, et al. Detection of *Rickettsia* spp. in ticks associated to wild mammals in Northeastern Brazil, with notes on an undetermined *Ornithodoros* sp. collected from marsupials. *Exp Appl Acarol.* 2018; 76(4):523-535. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0323-2>.
20. Santos FLA, Medeiros EM, Souza MJN. Contexto Hodroclimático do Enclave úmido do Maciço de Baturité' – Ceará: Potencialidades e Limitações ao Uso da Terra. *Rev. Geon.* 2012; 2(5):1056-1065. <https://www.periodicos.ufam.edu.br/index.php/revista-geonorte/article/view/2562>
21. Queiroz LP, Cardoso D, Fernandes MF, Moro MF. Diversity and Evolution of Flowering Plants of the Caatinga Domain. Springer: Switzerland; 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68339-3_2.
22. Moerbeck L, Vizzoni VF, Machado-Ferreira E, Cavalcante RC, Oliveira SV, Soares CA, et al. *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) vector biodiversity in highaltitude atlantic forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted-fever in Brazil. *J. Med. Entomol.* 2016; 53(6):1458-1466. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw121>
23. Ab'sáber AN. O domínio morfoclimático semi-árido das Caatingas brasileiras. *Geomorfologia.* Universidade São Paulo: Brasil; 1974. <https://acervo.socioambiental.org/sites/default/files/documents/11D00001.pdf>
24. Dantas-Torres F, Fernandes Martins T, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(6):101252. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.012>.
25. Sangioni LA, Horta MC, Vianna MC, Gennari SM, Soares RM, Galvão MA, et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(2):265-270. <https://doi.org/10.3201/eid1102.040656>.
26. Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride J, Camargo LM, Camargo EP, et al. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommiae* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *J Med Entomol.* 2004; 41(6):1073-1081. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.6.1073>.
27. Eremeeva ME, Klemt RM, Santucci-Domotor LA, Silverman DJ, Dasch GA. Genetic analysis of isolates of *Rickettsia rickettsii* that differ in virulence. *Ann NY Acad Sci.* 2003; 990:717-722. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07449.x>.
28. Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol.* 1991; 173(5):1576-1589. <https://doi.org/10.1128/jb.173.5.1576-1589.1991>.

29. Bezerra ADS, Ahid SMM, Vieira LS, Soares HS. Ectoparasitos em caprinos e ovinos no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Ciência Animal Brasileira, 2010; 11(1):110-116. <https://doi.org/10.5216/cab.v11i1.3800>.
30. Nava S, Szabó MP, Mangold AJ, Guglielmone AA. Distribution, hosts, 16S rDNA sequences and phylogenetic position of the Neotropical tick *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). Ann Trop Med Parasitol. 2008; 102(5):409-425. <https://doi.org/10.1179/136485908X278883>.
31. Ramos VN, Osava CF, Piovezan U, Szabó MP. Ticks on humans in the Pantanal wetlands, Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 2014; 5(5):497-499. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.004>.
32. Szabó MPJ, Martins TF, Barbieri ARM, Costa FB, Soares HS, Tolesano-Pascoli GV, et al. Ticks biting humans in the Brazilian savannah: Attachment sites and exposure risk in relation to species, life stage and season. Ticks Tick Borne Dis. 2020; 11(2):101328. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101328>.
33. Blair PJ, Jiang J, Schoeler GB, Moron C, Anaya E, Cespedes M, et al. Characterization of spotted fever group rickettsiae in flea and tick specimens from northern Peru. J Clin Microbiol. 2004; 42(11):4961-4967. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.4961-4967.2004>.
34. Flores-Mendoza C, Florin D, Felices V, Pozo EJ, Graf PC, Burrus RG, et al. Detection of *Rickettsia parkeri* from within Piura, Peru, and the first reported presence of *Candidatus Rickettsia andeanae* in the tick *Rhipicephalus sanguineus*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013; 13(7):505-508. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1028>.
35. Paddock CD, Fournier PE, Sumner JW, Goddard J, Elshenawy Y, Metcalfe MG, et al. Isolation of *Rickettsia parkeri* and identification of a novel spotted fever group *Rickettsia* sp. from Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) in the United States. Appl Environ Microbiol. 2010; 76(9):2689-2696. <https://doi.org/10.1128/AEM.02737-09>.
36. Luce-Fedrow A, Wright C, Gaff HD, Sonenshine DE, Hynes WL, Richards AL. In vitro propagation of *Candidatus Rickettsia andeanae* isolated from *Amblyomma maculatum*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012; 64(1):74-81. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00905.x>.
37. Pacheco RC, Moraes-Filho J, Nava S, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Detection of a novel spotted fever group rickettsia in *Amblyomma parvum* ticks (Acari: Ixodidae) from Argentina. Exp Appl Acarol. 2007; 43(1):63-71. <https://doi.org/10.1007/s10493-007-9099-5>.
38. Tomassone L, Nuñez P, Ceballos LA, Gürtler RE, Kitron U, Farber M. Detection of "Candidatus Rickettsia sp. strain Argentina" and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina. Exp Appl Acarol. 2010; 52(1):93-100. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9339-y>.
39. Abarca K, López J, Acosta-Jamett G, Lepe P, Soares JF, Labruna MB. A third *Amblyomma* species and the first tick-borne rickettsia in Chile. J Med Entomol. 2012; 49(1):219-222. <https://doi.org/10.1603/me11147>.
40. Barbieri ARM, Szabó MPJ, Costa FB, Martins TF, Soares HS, Pascoli G, et al. Species richness and seasonal dynamics of ticks with notes on rickettsial infection in a Natural Park of the Cerrado biome in Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 2019; 10(2):442-453. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.12.010>.