

1

Genes de *Rickettsia rickettsii*: localización geográfica, vectores y huéspedes asociados

Jessica Mateus-Anzola¹, Diego Soler-Tovar²
y Arlen Patricia Gómez³

Resumen

Introducción: *Rickettsia rickettsii* es un cocobacilo con un genoma altamente conservado que infecta gran variedad de huéspedes incluyendo mamíferos silvestres y domésticos. Estos últimos, junto con las garrapatas, desempeñan un papel importante en la transmisión a humanos de la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas.

-
1. MV, MSc. Semillero de Investigación Una Salud, Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Correo: jmateus39@unisalle.edu.co
 2. MV, MSc. Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Correo: diegosoler@unisalle.edu.co
 3. MV, PhD. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Correo: apgomezr@unal.edu.co

Objetivo: identificar las secuencias de genes y genomas completos de *R. rickettsii* así como su lugar de detección, vectores y huéspedes asociados.

Materiales y métodos: se realizó la recopilación y análisis de información contenida en el NCBI Nucleotide/GenBank y en bases de datos comerciales.

Resultados: se encontraron 500 secuencias de nucleótidos, 19 genomas completos y 119 secuencias de genes, siendo los más reportados: *gltA* (conservado en todas las especies de *Rickettsia*), *tRNA* (implicado en codificación de proteínas) y *ompA/ompB* (involucrado en adhesión y virulencia). El principal lugar de detección en Latinoamérica fue Brasil (76.43%). Las garrapatas del género *Amblyomma* fueron los principales vectores y se identificaron en el 22,67% de los huéspedes, dentro de los cuales el 1,68% involucraron especies silvestres como chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*).

Conclusión: aunque la enfermedad causada por *R. rickettsii* es estudiada en humanos, caninos y otras especies domésticas, no se han tenido en cuenta huéspedes amplificadores silvestres en la dinámica de la enfermedad desde una perspectiva genómica y bioinformática. Debido a la importancia de su rol ecológico en las enfermedades transmitidas por garrapatas, se hace necesario el desarrollo de estudios para disminuir los vacíos en la información sobre aspectos eco-epidemiológicos y mejorar herramientas de diagnóstico, prevención y control mediante el análisis de secuencias consenso.

Palabras clave: ácidos nucleicos, genoma bacteriano, garrapatas, enfermedades transmisibles, Fiebre Maculosa de las Montañas Rocosas.

Introducción

La Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (RMSF), conocida también como la Fiebre maculosa brasileña (Brasil) o la Fiebre de Tobia (Colombia), es una enfermedad zoonótica de carácter febril y de alta letalidad. Fue descrita por primera vez en la región de las montañas rocosas de Estados Unidos y se distribuyó en Centroamérica y Sudamérica (1). Esta patología es ocasionada por *Rickettsia rickettsii* (2), un cocobacilo pleomórfico no móvil de aproximadamente 0.3 - 1.0 mm de longitud, Gram negativo e intracelular



obligado que posee un cromosoma bacteriano circular pequeño (1,25 Mpb) y altamente conservado. Cuenta con un repertorio de aproximadamente 1495 genes dentro de los cuales se han reportado las secuencias de *16S RNA*, *gltA*, *17kDa*, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *sca1* y *sca2* en estudios filogenéticos (3).

R. rickettsii es transmitida principalmente por garrapatas (2) y en América Latina los principales vectores reportados son: *Amblyomma mixtum* y *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* en México y Panamá (4-6); *Amblyomma mixtum* en Costa Rica (5), *Amblyomma platinoi* en Colombia (7) y el complejo de *Amblyomma cajennense* en Brasil y Argentina (8,9). *R. rickettsii* genera infección en una gran variedad de hospederos, entre ellos mamíferos silvestres y domésticos, los cuales desempeñan un papel importante en la transmisión a humanos, quienes son hospederos accidentales y pueden presentar manifestaciones clínicas como: fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular y erupciones cutáneas (1,10). Sus manifestaciones clínicas son similares a aquellas de otras enfermedades como dengue, leptospirosis, zika y chikungunya (6), por lo cual el diagnóstico basado en los signos clínicos puede llevar a un diagnóstico erróneo en muchos de los casos. De ahí, la necesidad de conocer a fondo las secuencias reportadas para identificar vacíos en la información y direccionamiento en investigación (tendencias) y para aportar a la eco-epidemiología de la enfermedad. Con base en lo anterior, el objetivo del presente artículo es identificar las secuencias de genes y los genomas completos de *R. rickettsii* reportados en las bases de datos, recopilando información relacionada con el lugar de detección, los vectores y los huéspedes asociados.

Materiales y métodos

El presente estudio se realizó mediante la búsqueda de las secuencias de genes pertenecientes a *Rickettsia rickettsii* registrados en *The National Center for Biotechnology Information-NCBI: Nucleotide/Genbank*, a través del uso de los recursos Nucleotide, Gene y Genome. Los criterios de búsqueda fueron: secuencias de nucleótidos de *R. rickettsii* de cualquier especie hospedera en el continente americano, excluyendo en el análisis de resultados las secuencias patentadas así como las secuencias pertenecientes a otras especies de rickettsias. Igualmente se utilizaron bases de datos y buscadores

como: Science Direct y Pubmed, teniendo como criterios de búsqueda: Rocky Mountain Spotted Fever, *Rickettsia rickettsii*, Rickettsial infection in ticks, Brazilian Spotted Fever y Experimental infection with *Rickettsia rickettsii*. Posteriormente, se realizó un análisis descriptivo de huéspedes, lugares y vectores asociados.

Resultados

Descripción de genes y genoma

Se recopilaron un total de 500 secuencias de genes de *R. Rickettsii* en el continente americano, de las cuales existe un total de 19 genomas completos, dos de ellos identificados en Latinoamérica con las cepas: Colombia (11) y Brasil (12) de 1'255.681 a 1'270.083 pares de bases (pb) (cuadro 1). Asimismo, se identificaron 119 secuencias de genes específicos dentro de los cuales las menos reportadas (una sola secuencia) fueron: *fmt*, *himA*, *htrB*, *lpxK*, *lig*, *bcp*, *lpxA*, *firA*, *dksA*, *gabD*, *ftsY*, *ftsZ*, *atpA*, *rpoB*, *tuf*, *rpsJ*, *fusA* y *secE*; seguidas de *groEL*, *groES*, *17kDa*, *tmRNA*, entre otras; finalmente, las secuencias más reportadas fueron *gltA*, *tRNA*, *ompA* y *ompB* (cuadro 2).

Cuadro 1. Genomas completos de *Rickettsia rickettsii* registrados en el NCBI-GenBank.

<i>R. rickettsii</i>	Nº acceso Genbank	Tamaño (pb)	Referencia
str. Hlp#2	CP003311.1, N°C_016915.1	1270751	(83)
str. Sheila Smith	CP000848.1, NC_009882.1	1257710	(84)
str. Iowa	CP000766.3, NC_010263.3	1268201	(70,85)
str. R	CP006009.1,NZ_CP006009.1	1257005	(85)
str. Morgan	CP006010.1, NZ_CP006010.1	1269809	(85)
str. Colombia	CP003306.1, NC_016908.1	1270083	(11)
str. Hino	CP003309.1, NC_016914.1	1269837	(86)
str. Brazil	NC_016913.1	1255681	(12)
str. Hauke	CP003318.1, NC_016911.1	1269774	(87)
str. Arizona	CP003307.1, NC_016909.1	1267197	(88)

Fuente: elaboración propia a partir de datos de The National Center for Biotechnology Information-NCBI: Nucleotide/Genbank.

Cuadro 2. Principales genes de *Rickettsia rickettsii* registrados en el NCBI-GenBank.

Gen	Función	Nº de reportes	Referencias Secuencias
<i>gltA</i>	Codifica para enzima citrato sintasa, conservada en todas las especies de rickettsias	91	(7,13,14,16–19,21,22,29,32,36,41,60)
<i>tRNA</i>	Encargado de portar el anti-codón en la codificación de las proteínas	67	(61)
<i>ompA</i>	Codifica para la proteína (190 Kda) de membrana, mediadora de unión a células mamíferas (adhesión). Provee inmunidad protectora	56	(7,14,15,17–19,22,25,26,29,30,32,36–38,41,42,42,43,60,62–66)
<i>ompB</i>	Codifica para la proteína de membrana (Sca5) implicada en la virulencia bacteriana, interactuando con receptores de mamíferos (Ku70)	34	(7,14,17–19,19,22,24,25,36–38,62,67,68)
<i>tmRNA</i>	Soluciona problemas de ribosomas estancados	24	(69)
<i>16S</i>	ARN ribosomal	14	(7,32,41,60,70–72)
<i>17 kDa</i>	Codifica para la proteína antígeno de superficie de membrana	10	(17,17,21–23,25,41,73,74)
<i>secA</i>	Codifica para la proteína translocasa, que permite el acoplamiento de la hidrólisis del ATP a la transferencia de proteínas en la membrana celular	9	(47,75)
<i>groES</i>	Se une a la Cpn60 y suprime la actividad de la ATPasa	9	(47,76)
<i>secB</i>	Codifica la proteína chaperona exportadora de pre-proteínas fuera del citoplasma celular	8	(47)
<i>ntrY</i>	Codifica la proteína reguladora del nitrógeno, la cual se une al ATP y cataliza la fosforilación de residuos de histidina	8	(47)
<i>FabZ</i>	Codifica la proteína transportadora de acilo (interviene en la síntesis de ácidos grasos insaturados)	8	(47)
<i>23S</i>	ARN ribosomal	8	(39,70,71,77–79)
<i>5S</i>	ARN ribosomal	7	(39,71,77,78)
<i>bioY</i>	Codifica proteína con actividad transportadora de biotina	7	(47)
<i>yqjX</i>	Codifica proteína con actividad transportadora de aminoácidos	7	(47)

<i>tlc</i>	1, 2 y 3: codifica proteína transportadora de ATP/ADP (intercambio de ADP bacteriano y ATP en célula huésped). 4: transporte de CTP, UTP y GDP y 5: transporte de GDP y GTP	5	(80)
<i>Sca</i>	1, 2 y 4: antígenos de superficie celular	5	(81,82)
<i>VirB</i>	4: codifica proteína de unión e interacción con ATP. 11 proteína involucrada en la patogénesis y el transporte. 8,9 y 10 proteína putativa de membrana	5	(77)
<i>groEL</i>	Codifica proteína 60kDa que evita el mal plegamiento y promueve el ensamblaje adecuado de los péptidos bajo condiciones de estrés	2	(67,76)

*Funciones adaptadas de Uniprot. <https://www.uniprot.org/>

Fuente: elaboración propia a partir de datos de The National Center for Biotechnology Information-NCBI: Nucleotide/Genbank.

Origen geográfico de las secuencias

El 78,8% (394/500) de las secuencias de *R. rickettsii* reportadas en el continente americano indican su origen, de ellas, el 60,16% (237/394) fueron reportes de Estados Unidos principalmente de los estados de Colorado, Kansas, Missouri, Maryland, Montana, Carolina del Norte, California, Georgia, Ohio, Alabama y Texas. El 39,84% (157/394) restantes fueron identificadas en Latinoamérica donde Brasil consolidó el mayor número de secuencias reportadas con un 76.43% (120/157) (8,13-20) concentradas especialmente en el sudeste del país (Minas Gerais, São Paulo y Río de Janeiro); le sigue México (Yucatán y Mexicali) con 15.28 % (24/157) (21-26), Colombia (Cundinamarca y Antioquia) con 5,73% (9/157) (7,27,28) y por último Panamá con el menor número de secuencias reportadas a nivel latinoamericano con el 2.54% (4/157) (4,29,30) (figura 1).

Huéspedes asociados con las secuencias

De las 500 secuencias reportadas se desconoce la fuente o el origen de la detección molecular de *R. rickettsii* en 322 (64,6%). El porcentaje restante se distribuye de la siguiente manera: 53,37% (14) asociado a estudios rea-

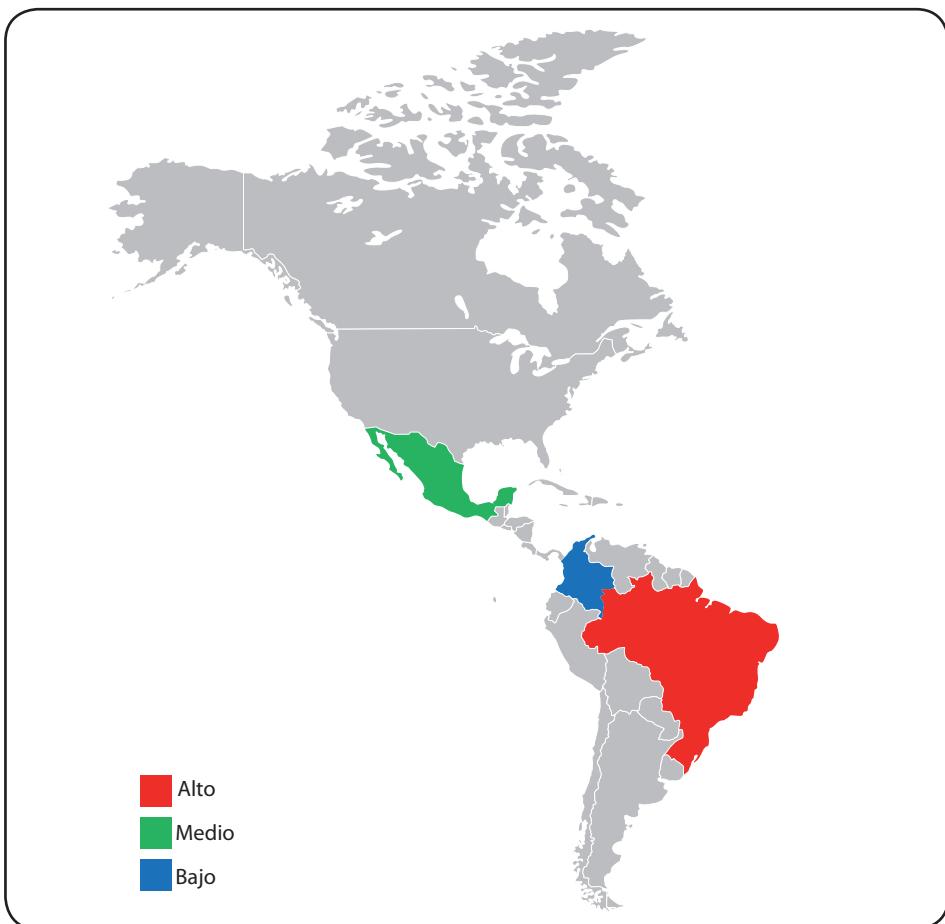


Figura 1. Reporte de secuencias de genes de *R. rickettsii* en el continente americano.

Fuente: mapa elaborado con Free Editable Worldmap for Powerpoint.

lizados en múltiples especies no especificadas (vector, humano y animal); al ambiente con garrapatas presentes en la vegetación (12,92%) (22,31); a humanos (11,79%) (20,23,29); a perros y humanos (8,98%) (32); a perros domésticos (3,93%) (14,33); a caballos (1,68%) (14,31); a perros asociados con caballos (0,56%) (34,35) y, finalmente, a ganado (4,49%) (7,14). Asimismo, la única especie silvestre en la que se encontró un reporte fue en capibaras o chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) con un 1,68% (18) (figuras 2 y 3).

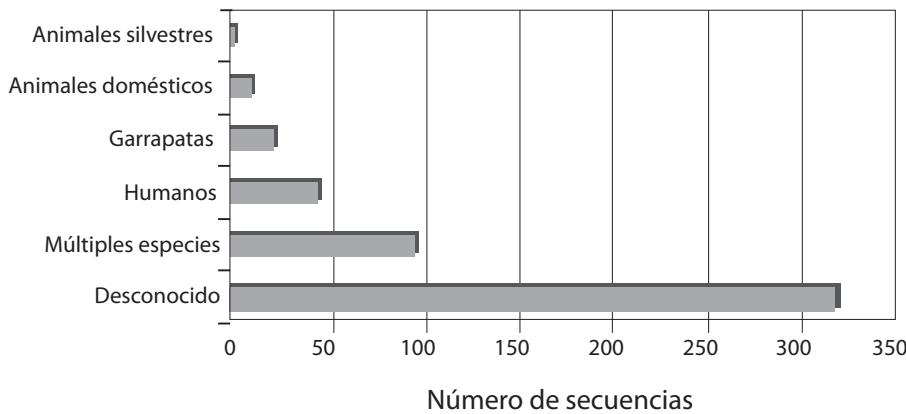


Figura 2. Fuentes de origen de muestras de *Rickettsia rickettsii*.

Fuente: elaboración propia.

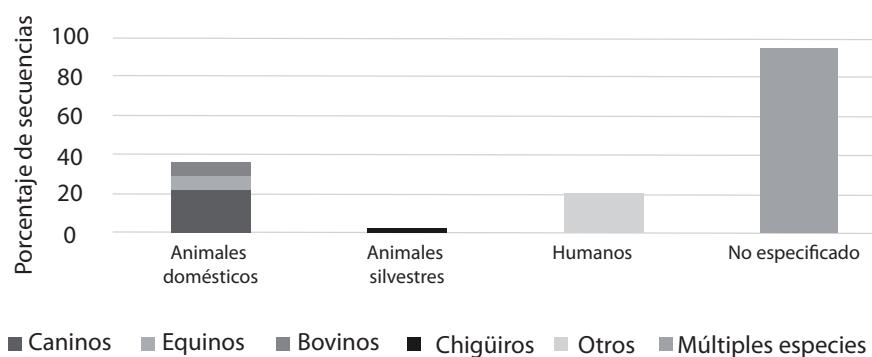


Figura 3. Huéspedes asociados a *Rickettsia rickettsii*.

Fuente: elaboración propia.

De igual manera, se desconoce si hay un ectoparásito involucrado en 420 (84%) de las 500 secuencias de genes de *R. rickettsii* reportadas, el porcentaje restante corresponde a reportes en los que no se especificó el género del ectoparásito (8 reportes) y otros en los que se identificó que correspondía a garrapatas (72 reportes) de los siguientes géneros y especies (figuras 4 y 5):

Amblyomma (51,02%) con las especies *A. americanum* (38%) (36,37), *A. cajennense* (26%) (8,18), *A. patinai* (16%) (7), *A. imitator* (10%) (7,25), *A. parvum* (8%) (22) y *A. aureolatum* (2%) (14,16).

Dermacentor (21,43%) con las especies *D. variabilis* (52,38%) (38,39), *D. andersoni* (40)(42,85%)(41) y *D. occidentalis* (4,76%) (42).

Rhipicephalus (14,28%) con *R. sanguineus* (64,28%) (4,21,24,26,42,43) y *R. microplus* (35,71%) (14).

Haemaphysalis (2,04%) con *H. leporispalustris* (100%) (8).

Ixodes (5,10%) (37) y otras garrapatas no especificadas (6,12%).

Así, de acuerdo a la especie de garrapata, las más reportadas en la revisión de secuencias fueron *A. americanum* con un 20,25%, seguido de *A. cajennense* con 16,45% y de *D. variabilis* con 13,92% (figuras 4 y 5).

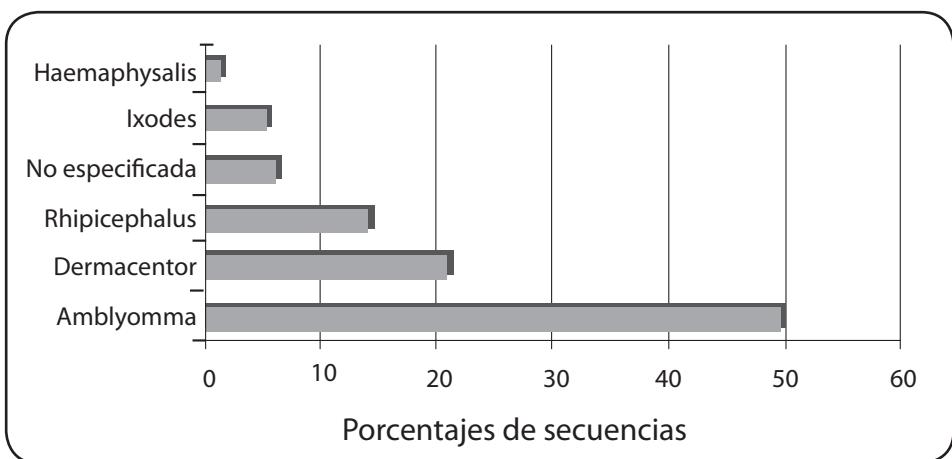


Figura 4. Géneros de garrapatas asociadas a secuencias genéticas de *R. rickettsii*.

Fuente: elaboración propia.

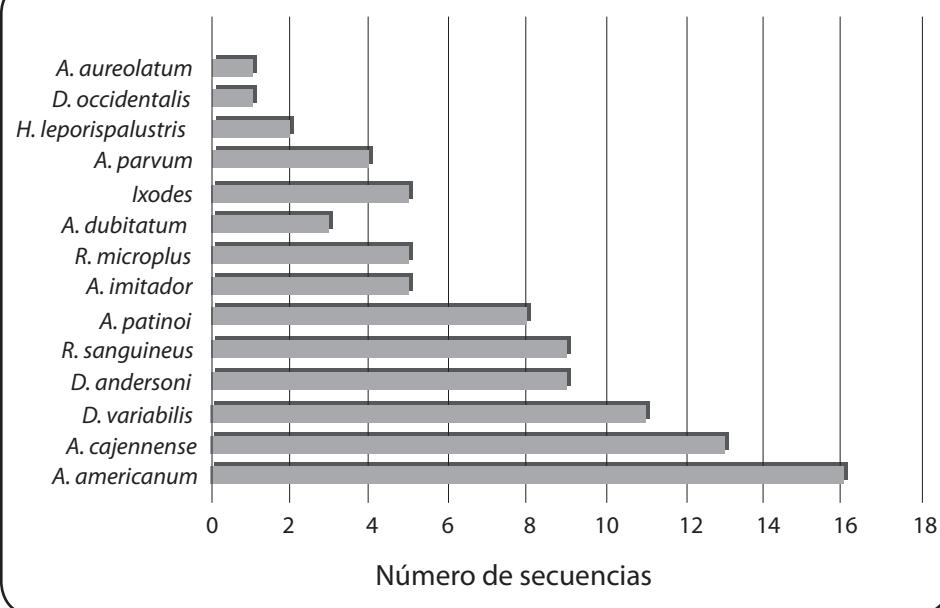


Figura 5. Especies de garrapatas asociadas a secuencias genéticas de *R. rickettsii*.

Fuente: elaboración propia.

Discusión

En los últimos años varios genes de *R. rickettsii* han sido secuenciados, entre ellos se encuentran principalmente los *16SrNA*, *gltA*, *ompA*, *ompB* y *genD*, los cuales han sido utilizados para la identificación del agente (44). El gen *gltA* se encontró como el más reportado junto con *ompA* y *ompB*, los cuales son usados para diagnóstico molecular a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (18).

La Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas es una enfermedad restringida a los países del hemisferio occidental (45). Estados Unidos fue el país con mayor registro de secuencias de genes de *R. rickettsii*; sin embargo, a pesar de que se conoce que la mayor distribución (19 a 63 casos por millón de personas) se presenta en Arkansas, Tennessee, Delaware, Missouri, Carolina del Norte y Oklahoma (46), sólo existen reportes en los tres últimos estados (32,47). El país latinoamericano con mayor detección de *R. rickettsii* fue



Brasil según lo reportado en 2016 por Souza y colaboradores (48), quienes concluyeron que el sureste del país es la región con mayor concentración de casos de Fiebre Manchada Brasileña (BSF). En este país la enfermedad es notificable desde 2001, presentándose 506 casos confirmados en Sao Paulo entre 2000 y 2013 (49).

Por el contrario, en otros países como México, se cuenta con una baja sospecha de la enfermedad y poco acceso a pruebas diagnósticas, lo cual dificulta el diagnóstico en la mayoría de los casos (50). Sin embargo, se han reportado secuencias de nucleótidos especialmente en Yucatán y Mexicali (21,26). De igual forma, la aparición del primer caso en Guadalajara demuestra que la enfermedad puede estar emergiendo en nuevas áreas debido a la dispersión (51). Por otra parte, aunque se identificaron sólo el 5.73% de secuencias de *R. rickettsii* localizadas en Colombia respecto a los demás países latinoamericanos, Hidalgo y colaboradores (52) reportan una seroprevalencia mayor a la encontrada en estudios realizados en Brasil (4,2%), Argentina (4%) y México (5%).

En Latinoamérica las enfermedades por rickettsias son frecuentemente mal diagnosticadas, como ocurrió en 2006 en el municipio de Necoclí (Antioquia) en el cual inicialmente se le atribuyó la sintomatología a un hantavirus (53). Algo similar ocurrió en Panamá, donde a pesar de que la rickettsiosis es reconocida desde la primera mitad del siglo XX, no existieron reportes de *R. rickettsii* en el país por cerca de 51 años hasta la primera década del siglo XXI. Incluso se reporta una alta seroprevalencia en humanos que presentan un contacto cercano con animales domésticos y silvestres tanto en cautiverio como en vida libre en Panamá (54). Finalmente, en países como Canadá, Costa Rica y Argentina, en los cuales se conoce la presencia de la enfermedad (1), no fue reportada ninguna secuencia genética de *R. rickettsii*.

En cuanto a los huéspedes asociados, en la mayoría de los reportes no fueron especificados y sólo el 1,68% correspondieron a una especie silvestre: el chigüiro (*H. hydrochaeris*). Desde 1940 los chigüiros han sido considerados como uno de los principales huéspedes amplificadores competentes para *R. rickettsii* por garrapatas *Amblyomma cajennense* especialmente en áreas endémicas del sureste de Brasil (18). Un estudio experimental realizado en

chigüiros confirmó la capacidad de ser infectados sin producir signos clínicos, así como de inducir ricketsemia capaz de causar infección en cobayos (*C. porcellus*) y garrapatas, lo cual confirma su participación como hospedero amplificador (55).

Existen otras especies que han sido reportadas como hospederos amplificadores de *R. rickettsii* como las zarigüeyas (*Didelphis spp.*) y pequeños roedores en Latinoamérica. Las zarigüeyas son abundantes en áreas endémicas para Fiebre de las Montañas Rocosas y generalmente son infestadas con diferentes especies de garrapatas, entre ellas el complejo *A. cajennense* que es el vector más importante en Sudamérica (56). Melo y colaboradores(57) han reportado la presencia de anticuerpos contra *R. rickettsii* en *D. albiventris* y *D. Aurita* de vida libre en Brasil. Además, experimentalmente se ha evidenciado su capacidad de ser infectadas y producir ricketsemia (58). Igualmente, en el caso de pequeños roedores se ha encontrado presencia de títulos altos de anticuerpos contra *R. Rickettsii* sugiriendo la participación de estos animales en el mantenimiento del ciclo ecológico en la región este de Brasil (59). A pesar de ello, no se cuentan con reportes de secuencias de genes detectados en estas especies silvestres.

A la luz de lo anterior es posible concluir que, aunque la enfermedad causada por *R. rickettsii* es ampliamente estudiada en humanos, caninos y otras especies domésticas, debido a la facilidad de realizar un muestreo representativo no se han tenido en cuenta en la dinámica de la enfermedad desde una perspectiva genómica y bioinformática a los huéspedes amplificadores silvestres como chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*), zarigüeyas (*Didelphis spp.*) y pequeños roedores. Este aspecto llama la atención pues se trata de componentes con un rol ecológico esencial en las enfermedades transmitidas por garrapatas, como la Fiebre de las Montañas Rocosas donde las tasas de infección por *R. rickettsii* en garrapatas son muy bajas (menores al 1%) en condiciones naturales al ser patogénicas para ellas. Es así que resulta necesario el desarrollo de estudios para disminuir vacíos en la información sobre los aspectos eco-epidemiológicos, así como mejorar las herramientas de diagnóstico, prevención y control mediante el análisis de secuencias consenso.

Agradecimientos

Al Dr. Efraín Benavides, profesor e investigador del Grupo de Epidemiología y Salud Pública de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle (Bogotá, Colombia), por sus aportes desde la parasitología. Este estudio fue financiado con recursos del Semillero de Investigación Una Salud y del Grupo de Epidemiología y Salud Pública de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle (Bogotá, Colombia). El desarrollo de este estudio se incluye dentro del proyecto: “Fenología y presencia de *Rickettsia* spp. en garrapatas del occidente de Cundinamarca y piedemonte casanareño” (UniSalle-VRIT-243897), el cual fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Transferencia (VRIT) de la Universidad de La Salle (Bogotá, Colombia).

Referencias

1. Díaz J.S., Cataño J.C. Fiebre manchada de las montañas rocosas: ni tan manchada ni tan montañosa como pensábamos. *Infectio*. Diciembre de 2010;14(4):264-76.
2. Quintero J.C., Londoño A.F., Díaz F.J., Agudelo-Flórez P., Arboleda M., Rodas J.D. Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica* [Internet] 4 de septiembre de 2012 [citado el 5 de noviembre de 2018];33(0). Recuperado de: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/735>
3. Ramírez A. Identificación molecular y análisis de la relación filogenética de especies de rickettsias presentes en garrapatas provenientes de tres regiones de Colombia. [Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2014.
4. Martínez-Caballero A., Moreno B., González C., Martínez G., Adames M., Pachar J.V., et al. Descriptions of two new cases of Rocky Mountain spotted fever in Panama, and coincident infection with *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus sanguineus* s.l. in an urban locality of Panama City, Panama. *Epidemiol Infect*. Mayo de 2018;146(07):875-8.
5. Bermúdez S., Troyo A. A review of the genus *Rickettsia* in Central America. *Res Rep Trop Med*. Junio de 2018;Volume 9:103-12.
6. Álvarez-Hernández G., Roldán J.F.G., Milan N.S.H., Lash R.R., Behravesh C.B., Paddock C.D. Rocky Mountain spotted fever in Mexico: past, present, and future. *Lancet Infect Dis*. Junio de 2017;17(6):e189-96.

7. Faccini-Martínez Á.A., Costa F.B., Hayama-Ueno T.E., Ramírez-Hernández A., Cortés-Vecino J.A., Labruna M.B., et al. *Rickettsia rickettsii* in *Amblyomma patinoi* Ticks, Colombia. *Emerg Infect Dis*. Marzo de 2015;21(3):537-9.
8. 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. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. Diciembre de 2005;100(8):841-5.
9. Paddock C.D., Fernandez S., Echenique G.A., Sumner J.W., Reeves W.K., Zaki S.R., et al. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *Am J Trop Med Hyg*. Abril de 2008;78(4):687-92.
10. Woods C.R. Rocky Mountain Spotted Fever in Children. *Pediatr Clin North Am*. Abril de 2013;60(2):455-70.
11. Johnson S., Munk A., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsii* str. Colombia, complete genome. 2012.
12. Johnson S., Davenport K., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsii* str. Brazil, complete genome. 2012.
13. Rozental T., Ferreira M.S., Gomes R., Costa C., Barbosa P., Becerra I.O., et al. Occupational exposure leading to fatal Brazilian spotted fever in animal shelter employees in Rio de Janeiro, Brazil. Brasil; No publicado.
14. Gehrke F., Schumaker T.S. Detection and molecular characterization of *Rickettsiae* in humans, potential vectors and domestic animals of southeastern Brazil. No publicado.
15. Favacho A., Rozental T., Calic S., Scofield M., Lemos E.R. Fatal Brazilian spotless fever caused by *Rickettsia rickettsii* in a darker-skinned patient. 2011;44:395-6.
16. Pinter A., Labruna M. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. 2006;1078:523-9.
17. Mazioli R., Maia N., Mafra C. Reemergence of Brazilian spotted fever in an old endemic area. No publicado.
18. Krawczak F., Nieri-Bastos F., Nunes F., Soares J., Moraes-Filho J., Labruna M. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. 2014;7:1-7.
19. Guedes E., Leite R.C., Pacheco R.C., Silveira I., Labruna M.B. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma* ticks from an area endemic for Brazilian spotted fever in Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. Diciembre de 2011;20(4):308-11.
20. Faccini-Martínez Á.A., Muñoz-Leal S., Acosta I.C.L., de Oliveira S.V., de Lima Duré A.I., Cerutti C., et al. Confirming *Rickettsia rickettsii* as the etiological agent of

- lethal spotted fever group rickettsiosis in human patients from Espírito Santo state, Brazil. *Ticks Tick-Borne Dis.* Marzo de 2018;9(3):496-9.
21. Peniche-Lara G, Dzul-Rosado K, Zavala-Velázquez J, Zavala-Castro J. *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* in Yucatán, México. No publicado.
 22. Dzul-Rosado K, Peniche-Lara G, Tello-Martín R, Zavala-Velázquez J, Pacheco R de C, Labruna MB, et al. *Rickettsia rickettsii* isolation from naturally infected *Amblyomma parvum* ticks by centrifugation in a 24-well culture plate technique. *Open Vet J.* 2013;3(2):101-5.
 23. Zavala-Castro J., Zavala-Velázquez J., Walker D., Ruiz E., Laviada-Molina H., Olano J. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, México. 2006;12:672-4.
 24. Zavala-Castro J., Zavala-Velázquez J., Dzul-Rosado K. Molecular identification of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia felis* in ectoparasites from households of patients as a probable causal agent of unidentified febrile cases in Yucatan State, Mexico. No publicado.
 25. Oliveira K., Pinter A., Medina-Sánchez A., Boppana V., Wikle S., Saito T. *Amblyomma* imitator ticks as vectors of *Rickettsia rickettsii*, Mexico. 2010;16:1282-4.
 26. Eremeeva M., Zambrano M., Anaya L., Beati L., Karpathy S., Santos-Silva M. *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus* ticks, Mexicali, Mexico. *J Med Entomol.* 2011;48:418-21.
 27. Rivera-Paez F., Martins T., Ossa-Lopez P., Sampieri B., Camargo-Mathias M. Rickettsial infection in ticks (*Acari: Ixodidae*) of domestic animals in Colombia. No publicado.
 28. Londoño A., Díaz F., Rodas J. Third outbreak of rickettsiosis in the Department of Antioquia - Colombia. No publicado.
 29. Tribaldos M., Zaldivar Y., Bermúdez S., Samudio F., Mendoza Y., Martínez A.A., et al. Rocky Mountain spotted fever in Panama: a cluster description. *J Infect Dev Ctries.* 13 de octubre de 2011;5(10):737-41.
 30. Estripeaut D., Aramburú M., Sáez-Llorens X., Thompson H., Dasch G., Paddock C. Rocky Mountain Spotted Fever, Panama. 2007;13:1763-5.
 31. Faccini-Martínez A., Barreto C., Millán D., Valbuena E., Forero-Becerra E., Ramírez-Hernández A., et al. New molecular and serologic evidence of spotted fever group rickettsiae in Villeta, Colombia. No publicado.
 32. Kidd L., Hegarty B., Sexton D., Breitschwerdt E. Molecular Characterization of *Rickettsia rickettsii* Infecting Dogs and People in North Carolina. *Ann N Y Acad Sci.* 1 de octubre de 2006;1078(1):400-9.
 33. Campos S.D., Toma H., Machado C.S., Vanat N., Seabra E., Cunha N., et al. Spotted fever group rickettsiae in hard ticks (*Acari: Ixodidae*) collected from dogs in the surroundings of conservation unit areas in Brazil. No publicado.

34. Gehrke F., Gazeta G., Souza E., Marrelli M., Schumaker T.S. Co-infestation of ecto-parasites infected by *Rickettsia rickettsii* in dogs and horses in the state of Rio de Janeiro/Brazil. No publicado.
35. Gehrke F., Gilberto G., Eliana S., Marrelli M., Schumaker T.S. First detection of *Rickettsia rickettsii* in horses and hogs in Brazilian Spotted Fever focus in the state of Rio de Janeiro, Brazil. No publicado.
36. Berrada Z.L., Goethert H.K., Cunningham J., Telford S.R. *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) From Kansas. J Med Entomol. 1 de marzo de 2011;48(2):461-7.
37. Weller S.J., Baldridge G.D., Munderloh U.G., Noda H., Simser J., Kurtti T.J. Phylogenetic placement of rickettsiae from the ticks *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis*. J Clin Microbiol. Mayo de 1998;36(5):1305-17.
38. Stromdahl E.Y., Jiang J., Vince M., Richards A.L. Infrequency of *Rickettsia rickettsii* in *Dermacentor variabilis* removed from humans, with comments on the role of other human-biting ticks associated with Spotted Fever Group Rickettsiae in the United States. Vector-Borne Zoonotic Dis. Julio de 2011;11(7):969-77.
39. Kakumanu M.L., Ponnusamy L., Sutton H.T., Meshnick S.R., Nicholson W.L., Apperson C.S. Development and validation of an improved PCR method using the 23S-5S intergenic spacer for detection of Rickettsiae in *Dermacentor variabilis* ticks and tissue samples from humans and laboratory animals. Fenwick BW, editor. J Clin Microbiol. Abril de 2016;54(4):972-9.
40. Niebylski M.L., Schrumpf M.E., Burgdorfer W., Fischer E.R., Gage K.L., Schwan T.G. *Rickettsia peacockii* sp. nov., a new species infecting wood ticks, *Dermacentor andersoni*, in Western Montana. Int J Syst Bacteriol. 1 de abril de 1997;47(2):446-52.
41. Baldridge G.D., Burkhardt N.Y., Simser J.A., Kurtti T.J., Munderloh U.G. Sequence and expression analysis of the *ompA* Gene of *Rickettsia peacockii*, an endosymbiont of the Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni*. Appl Environ Microbiol. 1 de noviembre de 2004;70(11):6628-36.
42. Wikswo M.E., Hu R., Metzger M.E., Eremeeva M.E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. J Med Entomol. Enero de 2007;44(1):158-62.
43. Cunha N.C., Fonseca A.H., Rezende J., Rozental T., Favacho A.R.M., Barreira J.D., et al. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. Pesqui Veterinária Bras. Febrero de 2009;29(2):105-8.
44. Fournier P.E., Dumler J.S., Greub G., Zhang J., Wu Y., Raoult D. Gene sequence-based criteria for identification of new *Rickettsia* isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. J Clin Microbiol. 1 de diciembre de 2003;41(12):5456-65.

45. Barba J. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. *Rev Mex Patol Clin.* 2009;56:193-208.
46. Drexler N.A., Dahlgren F.S., Heitman K.N., Massung R.F., Paddock C.D., Behravesh C.B. National surveillance of spotted fever group Rickettsioses in the United States, 2008-2012. *Am J Trop Med Hyg.* Enero de 2016;94(1):26-34.
47. Karpathy S.E., Dasch G.A., Eremeeva M.E. Molecular typing of isolates of *Rickettsia rickettsiae* by use of DNA sequencing of variable intergenic regions. *J Clin Microbiol.* 1 de agosto de 2007;45(8):2545-53.
48. Souza C.E., Camargo L.B., Pinter A., Donalisio M.R. High seroprevalence for *Rickettsia rickettsii* in equines suggests risk of human infection in silent areas for the Brazilian Spotted Fever. Yu X, editor. *PLOS ONE.* 11 de abril de 2016;11(4):e0153303.
49. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Febre Maculosa Brasileira. [Internet]. Citado el 5 de mayo de 2016. Recuperado de: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fm_inc.htm
50. Martínez-Medina M.A., Alvarez-Hernández G., Padilla-Zamudioa J.G., Rojas-Guerra M.G. Rocky Mountain spotted fever in children: clinical and epidemiological features. *Gac Med Mex.* abril de 2007;143(2):137-40.
51. Martin del Campo L., Asencio-Magdaleno A., Partida-Moreno P., Ramos-Rodríguez H. Primer reporte de infección por *Rickettsia rickettsii* en Guadalajara, México. *Med Int Mex.* 2010;26(2):183-5.
52. Hidalgo M., Sánchez R., Orejuela L., Hernández J., Walker D.H., Valbuena G. Prevalence of antibodies against spotted fever group rickettsiae in a rural area of Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* agosto de 2007;77(2):378-80.
53. Quintero-Vélez J.C., Hidalgo M., Rodas-González J.D. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas Scientiarum* [Internet]. 2012;17. Recuperado de:<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49923387009>
54. Bermúdez S.E., Lyons C.R., García G.G., Zaldívar Y.L., Gabster A., Arteaga G.B. Evidencia serológica de infecciones de *Rickettsia* en humanos provenientes de tres localidades de Panamá. *Biomédica* [Internet]. el 4 de septiembre de 2012 Citado el 7 de noviembre de 2018; 33(0). Recuperado de: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/831>
55. Souza C.E., Moraes-Filho J., Ogrzewalska M., Uchoa F.C., Horta M.C., Souza S.S.L., et al. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vet Parasitol.* Abril de 2009;161(1-2):116-21.
56. Labruna M.B. Ecology of Rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci.* Mayo de 2009;1166(1):156-66.

57. Melo A.L.T., de Aguiar D.M., Spolidorio M.G., Yoshinari N.H., Matushima E.R., Labruna M.B., et al. Serological evidence of exposure to tick-borne agents in opossums (*Didelphis spp.*) in the state of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. 7 de junio de 2016;25(3):348-52.
58. Horta M.C., Moraes-Filho J., Casagrande R.A., Saito T.B., Rosa S.C., Ogrzewalska M., et al. Experimental infection of opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsiae* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* febrero de 2009;9(1):109-18.
59. Milagres B.S., Padilha A.F., Montandon C.E., Freitas R.N., Pacheco R., Walker D.H., et al. Spotted fever group *Rickettsia* in small rodents from areas of low endemicity for Brazilian Spotted Fever in the eastern region of Minas Gerais State, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* Mayo de 2013;88(5):937-9.
60. Roux V., Fournier P.E., Raoult D. Differentiation of spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. *J Clin Microbiol.* Septiembre de 1996;34(9):2058-65.
61. Chan P.P., Lowe T.M. GtRNADB: a database of transfer RNA genes detected in genomic sequence. *Nucleic Acids Res.* 1 de enero de 2009; 37 (Database): D93-7.
62. Pollicastro P., Hackstadt T. Transcriptional and translational control of *Rickettsia rickettsiae* ompA and ompB measured by reporter gene activity. No publicado.
63. Rozental T., Ferreira M.S., Gomes R., Costa C.M., Barbosa P.R.A., Bezerra I.O., et al. A cluster of *Rickettsia rickettsiae* infection at an animal shelter in an urban area of Brazil. *Epidemiol Infect.* Agosto de 2015;143(11):2446-50.
64. Fournier P-E., Roux V., Raoult D. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. *Int J Syst Bacteriol.* 1 de julio de 1998;48(3):839-49.
65. Rodrigues de Mendoça A., Rozental T., Calic S.B., Scofield M.A.M., Lemos ERS de. Fatal Brazilian Spotless Fever caused by *Rickettsia rickettsiae* in a dark-skinned patient. *Rev Soc Bras Med Trop.* Junio de 2011;44(3):395-6.
66. Anderson B.E., McDonald G.A., Jones D.C., Regnery R.L. A protective protein antigen of *Rickettsia rickettsiae* has tandemly repeated, near-identical sequences. *Infect Immun.* Septiembre de 1990;58(9):2760-9.
67. Andersson J.O., Andersson S.G.E. Pseudogenes, junk DNA, and the dynamics of *Rickettsia* genomes. *Mol Biol Evol.* 1 de mayo de 2001;18(5):829-39.
68. Gilmore R.D., Joste N., McDonald G.A. Cloning, expression and sequence analysis of the gene encoding the 120 kD surface-exposed protein of *Rickettsia rickettsiae*. *Mol Microbiol.* Noviembre de 1989;3(11):1579-86.

69. Gueneau de Novoa P. The tmRNA website: reductive evolution of tmRNA in plastids and other endosymbionts. *Nucleic Acids Res.* 1 de enero de 2004;32(90001):104D-108.
70. Ellison D.W., Clark T.R., Sturdevant D.E., Virtaneva K., Porcella S.F., Hackstadt T. Genomic comparison of virulent *Rickettsia rickettsia* Sheila Smith and avirulent *Rickettsia rickettsia* Iowa. *Infect Immun.* 1 de febrero de 2008;76(2):542-50.
71. Stothard D.R., Clark J.B., Fuerst P.A. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the Spotted Fever and Typhus groups of *Rickettsia* and antiquity of the genus *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1 de octubre de 1994;44(4):798-804.
72. Weisburg W.G., Dobson M.E., Samuel J.E., Dasch G.A., Mallavia L.P., Baca O., et al. Phylogenetic diversity of the Rickettsiae. *J Bacteriol.* agosto de 1989;171(8):4202-6.
73. Anderson B.E., Regnery R.L., Carbone G.M., Tzianabos T., McDade J.E., Fu Z.Y., et al. Sequence analysis of the 17-kilodalton-antigen gene from *Rickettsia rickettsii*. *J Bacteriol.* Junio de 1987;169(6):2385-90.
74. Anderson B.E., Tzianabos T. Comparative sequence analysis of a genus-common rickettsial antigen gene. *J Bacteriol.* Septiembre de 1989;171(9):5199-201.
75. Rahman M.S. Functional analysis of secA homologues from rickettsiae. *Microbiology.* 1 de febrero de 2005;151(2):589-96.
76. Sumner J.W., Nicholson W.L., Massung R.F. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the groESL heat shock operon of *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol.* Agosto de 1997;35(8):2087-92.
77. Vitorino L., Chelo I.M., Bacellar F., Ze-Ze L. Rickettsiae phylogeny: a multigenic approach. *Microbiology.* 1 de enero de 2007;153(1):160-8.
78. Lee S., Kakumanu M.L., Ponnusamy L., Vaughn M., Funkhouser S., Thornton H., et al. Prevalence of *Rickettsiales* in ticks removed from the skin of outdoor workers in North Carolina. *Parasit Vectors [Internet].* Diciembre de 2014. Citado el 7 de noviembre de 2018; 7(1). Recuperado de: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-014-0607-2>
79. Andersson S.G., Stothard D.R., Fuerst P., Kurland C.G. Molecular phylogeny and rearrangement of rRNA genes in *Rickettsia* species. *Mol Biol Evol.* 1 de julio de 1999;16(7):987-95.
80. Amiri H. Birth and death of orphan genes in *Rickettsia*. *Mol Biol Evol.* 27 de junio de 2003;20(10):1575-87.
81. Roux V., Raoult D., Sekeyova Z. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of “gene D”, which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 1 de julio de 2001;51(4):1353-60.

82. Ngwamidiba M., Blanc G., Raoult D., Fournier P-E. Sca1, a previously undescribed paralog from autotransporter protein-encoding genes in *Rickettsia* species. BMC Microbiol. 20 de febrero de 2006;6:12.
83. Johnson S., Davenport K., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsii* str. Hlp#2, complete genome. 2012.
84. Madan A., Fahey J., Helton E., Ketteman M., Rodríguez S., Sánchez E., et al. Complete Genome Sequence of *Rickettsia rickettsii*. No publicado.
85. Clark T.R., Noriea N.F., Bublitz D.C., Ellison D.W., Martens C., Lutter E.I., et al. Comparative genome sequencing of *Rickettsia rickettsia* strains that differ in virulence. Morrison RP, editor. Infect Immun. Abril de 2015;83(4):1568-76.
86. Johnson S., Sims D., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsia* str. Hino, complete genome. 2012.
87. Johnson S., Munk A., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsii* str. Hauke, complete genome. 2012.
88. Johnson S., Davenport K., Han S., Bruce D., Dasch G.A. *Rickettsia rickettsia* str. Arizona, complete genome. 2012.