

**Análisis bioinformático de patógenos de fauna silvestre colombiana y sus
vectores. Investigación lasallista en tiempos de pandemia**

Trabajo de grado para optar por título de Médico Veterinario

María Camila Ramírez Montoya

**Asesor
Santiago Monsalve Buriticá
MVZ, Esp, MSc, PhD**

**Unilasallista Corporación Universitaria
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Programa de Medicina Veterinaria
Caldas-Antioquia
2021**

Contenido

Lista de Ilustraciones	4
Introducción	7
Objetivos	8
General.....	8
Específicos	8
Marco Teórico	9
PATÓGENOS SILVESTRES.....	9
Ehrlichia	9
Ehrlichia canis	10
Ehrlichia chaffeensis.....	11
Anaplasma	11
Anaplasma centrale.....	12
Anaplasma platys	13
Anaplasma phagocytophilum.....	13
Anaplasma ovis	14
Anaplasma bovis.....	14
Bartonella.....	15
GARRAPATAS.....	17
Amblyomma.....	18
Amblyomma nodosum.....	18
Amblyomma rotundatum	19
Amblyomma dissimile.....	19
Amblyomma ovale.....	19
Amblyomma cajennense.....	20
Amblyomma tigrinum.....	21
Amblyomma triste	21
Amblyomma maculatum	21
Amblyomma mixtum	21
Amblyomma americanum	21
Amblyomma oblongoguttatum.....	21
Dermacentor	22
Dermacentor variabilis	22
Dermacentor andersoni	22
Dermacentor nitens.....	23
Dermacentor albipictus.....	23
Ornithodoros	24
Ornithodoros rostratus.....	24
Ixodes (Prostriata).....	24
Ixodes ricinus	25
Ixodes lasallei.....	25
Metodología.....	26
Análisis bioinformático	27
Resultados	28
Venados	28
Discusión	34

Referencias Bibliográficas..... 36

Lista de Ilustraciones

Ilustración 1 <i>Dermacentor nitens</i> , obtenido de un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Montería Córdoba. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018)(Mol et al., 2016).....	29
Ilustración 2 <i>Ornithodoros puertoricensis</i> , obtenido de un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Santa Ana, Magdalena. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018)(Mol et al., 2016).	30
Ilustración 3 <i>Bartonella henselae</i> , obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA ribosomal (Almazán et al., 2016).....	31
Ilustración 4 Candidato <i>Neoehrlichia mikurensis</i> , obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018)(Mol et al., 2016).....	32
Ilustración 5 Candidato <i>Neoehrlichia mikurensis</i> , obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018)(Mol et al., 2016).....	33

Resumen

Introducción

Dado que cada día se presenta más proximidad entre los humanos y animales de vida silvestre, es importante describir y publicar, el estado en el que se encuentran las enfermedades bacterianas o agentes relacionados, con potencial zoonótico, originadas desde condiciones *insitu*.

Objetivos

Analizar filogenéticamente secuencias de patógenos de fauna silvestre colombiana (Clase *reptil*, Familia *cervidae*, Género *Hidrochoerus*) y sus vectores (Familias *Ixodidae* y *Argasidae*).

Metodología

Se recolectaron garrapatas de diversas especies de la fauna silvestre colombiana en distintas áreas geográficas del país y posteriormente se clasificaron con claves taxonómicas y detección molecular. Todos los productos positivos con protocolos que permitieron la amplificación de microorganismos relacionados, por PCR convencional, con los géneros *Ehrlichia spp.* *Anaplasma spp.* *Babesia spp.* y/o *Hepatozoon spp.* fueron secuenciados en la empresa MacroGen Inc., Seul, Corea, entre los años 2015 - 2018.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a blast analyses y alineados con secuencias homólogas disponibles en el GenBank. Las secuencias fueron editadas y analizadas filogenéticamente usando el programa MEGA X resultados generales.

Resultados

Se detectaron de ejemplares de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia los microorganismos *Bartonella henselae* y Candidatos de *Neoehrlichia mikurensis*, así como *Ornithodoros puertoricensis*, en un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Santa Ana, Magdalena. En ejemplares de venado de cola blanca procedente del municipio de Montería Córdoba, se detectó *Dermacentor nitens*, así como la amplificación de un segmento del gen 16S por medio de la identidad similar a *Anaplasma marginale*.

Su extensión es de 150 a 250 palabras

Palabras clave: Bartonella, Garrapatas, Anaplasma, Ehrlichia, Bioinformática

Introducción

Dado que cada día se presenta más proximidad entre los humanos y animales de vida silvestre, es importante describir y publicar, el estado en el que se encuentran las enfermedades bacterianas o agentes relacionados, con potencial zoonótico, originadas desde condiciones *insitu*. La Corporación Universitaria Lasallista desarrolló el programa: “NANOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA: UNA ESTRATEGIA DE INNONVACIÓN”; convocatoria 562-2012 Banco de proyectos I+D+I modalidad cofinanciación, código 127552128647 entre los años 2013 a 2018. Este programa cumplió a cabalidad, los diferentes indicadores planteados por la institución beneficiaria. Uno de los objetivos propuestos en el proyecto, involucró el análisis molecular de algunas especies de la fauna silvestre y sus vectores, con el fin de llevar a cabo, investigación en la circulación de agentes rickettsiales, debido a su potencial zoonótico. Durante los años 2015 a 2019, los investigadores del proyecto realizaron miles de análisis moleculares, tanto de animales domésticos, silvestres y sus garrapatas, tratando de demostrar la circulación de estos agentes en el entorno nacional y local. Parte de este material, en sus análisis preliminares, plasmaba información, que posiblemente, podría ser relevante para la salud pública veterinaria y humana.

Debido a que mucha de esta información, no fue analizada con rigurosidad, ni publicada en el momento, con la presente investigación se espera llenar la falta de datos que existe sobre algunas enfermedades y/o vectores que pueden llegar a presentar los ejemplares de roedores silvestres, venados y reptiles de algunas regiones de Colombia.

Objetivos

General

- Analizar filogenéticamente secuencias de patógenos de fauna silvestre colombiana (Clase *reptil*, Familia *cervidae*, Género *Hydrochoerus*) y sus vectores (Familias *Ixodidae* y *Argasidae*).

Específicos

- Analizar filogenéticamente secuencias de ejemplares garrapatas de la clase reptil
- Analizar filogenéticamente secuencias de ejemplares de la Familia *cervidae* y sus vectores (Familias *Ixodidae* y *Argasidae*).
- Analizar filogenéticamente secuencias de ejemplares de la familia *sigodontinea* del Parque Nacional Natural las Orquídeas.

Marco Teórico

PATÓGENOS SILVESTRES

Entre los patógenos emergentes transmitidos por garrapatas destacan los agentes pertenecientes a la familia *Anaplasmataceae* (Orden *Rickettsiales*) por su distribución mundial y potencial zoonótico.

Las bacterias del orden *Rickettsiales*; *Ehrlichia* y *Anaplasma* han sido reportadas en gran variedad de hospederos incluyendo humanos, fauna silvestre y animales domésticos, de igual manera es ampliamente documentada su presencia en diversos vectores, incluyendo artrópodos como las garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Amblyomma* y *Ornithodoros*. Así mismo, la presencia de bacterias del género *Bartonella*, ha sido reportada tanto en humanos como en felinos domésticos y silvestres, al igual que en gran variedad de especies de roedores y sus diversos vectores, siendo reportados hasta el momento principalmente los artrópodos como garrapatas de los géneros *Ixodes* y *Rhipicephalus*, así como en diversos géneros de pulgas.

Los carnívoros silvestres y domésticos son considerados la principal fuente de enfermedades zoonóticas transmitidas por garrapatas hacia los humanos (André, 2018).

Ehrlichia

Su hospedero principal es el canido, con distribución en el Sur de Europa, medio oriente, África, Sudoeste asiático, USA, Sudeste y parte sur-central y siendo sus principales vectores las garrapatas de los géneros *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor variabilis* y *Amblyomma americanum*. (Cuesy, 2021).

Ehrlichia spp es uno de las bacterias más reportadas en vertebrados de Sur América, y se ha detectado circulando en caninos en ciudades colombianas como Cali y Medellín. Los perros son el hospedero final de las garrapatas que transmiten la ehrlichiosis, y por eso esta enfermedad debe ser considerada un problema de salud pública de potencial zoonótico. (Osorio et al., 2018)

En Colombia, se han encontrado secuencias homólogas en el departamento de Córdoba con *E. canis* y *E. mineirensis* en garrapatas de la especie *Rhipicephalus sanguineus*, y evidencia sugestiva y no concluyente de *E. ewingii* y *E. chaffensis* en *Rh. microplus* de la misma zona. Las especies de bacterias halladas están vinculadas con ehrlichiosis en animales como *E. canis* y *E. mineirensis*, las cuales afectan caninos y bovinos, respectivamente, o en infecciones zoonóticas como *E. ewingii* y *E. chaffensis*. Así mismo, *E. canis* y *E. mineirensis* han sido halladas en *R sanguineus* y *R microplus* en el departamento de Córdoba y en Ibagué.

Ehrlichia canis

Su principal hospedero es el canino y tiene distribución cosmopolita siendo su principal vector la garrapata del género *Rhipicephalus sanguineus*.

E. canis ha sido reportada en felinos silvestres de Brasil y Japón, (André, 2018). En Colombia ha sido detectada en perros de las ciudades de Santa Marta y Ciénaga en el departamento de Magdalena. (Pesapane et al., 2019)

Vargas-Hernández et al. detectaron *E. canis* en garrapatas de la especie *R. sanguineus* colectadas de perros en Bogotá, Bucaramanga y Villavicencio. Hoy en día, *E. canis* es considerada como una especie causante de ehrlichiosis; no solamente ha sido reportada en caninos, sino también en felinos, humanos y en muchos de estos

casos ha sido detectada de la transmisión por mordedura de *R. sanguineus* (Osorio et al., 2018)

Existe evidencia de la presencia de *E. canis* en varias regiones de Colombia incluyendo áreas de las costas del Caribe; estudios en dichas zonas confirman *E. canis* en garrapatas del departamento de Córdoba usando secuenciación de DNA. (Pesapane et al., 2019)

Ehrlichia chaffeensis

Su principal hospedero es el venado de cola blanca con una distribución geográfica en América del norte, siendo su principal vector la garrapata de la especie *A. americanum*, sin embargo, *E. chaffeensis* se detectó en el 5,5% de roedores *Peromyscus spp* recolectados en México, la presencia de este patógeno en hospederos salvajes es evidencia de un ciclo de garrapatas y vertebrados lo que representa un riesgo potencial para los seres humanos (Cuesy, 2021)

Anaplasma

Los nuevos genotipos de *Anaplasma* circulan en canidos y félidos silvestres de Sur América. Evidencia serológica y molecular ha sugerido que numerosas especies de mamíferos pueden ser reservorios de *Anaplasma spp*, como el venado de cola blanca, el alce euroasiático y el ciervo ked (*Lipoptena cervi*). El principal vector para la transmisión de *Anaplasma* en los EE. UU. es la garrapata *Ixodes scapularis*; sin embargo, existe una amplia variedad de vectores de *Anaplasma* en otras áreas. En Europa, el principal vector es *Ixodes ricinus*, más ocasionalmente *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor marginatus* y los tábanos. La evidencia sugiere que la transmisión

transovárica de *A. phagocytophilum* puede ocurrir en garrapatas de invierno (Elliott et al., 2021).

Anaplasma centrale

Su distribución se da en Europa, África, América y Asia siendo el ganado su principal hospedero con la garrapata del género *Haemaphysalis* como su vector.

Anaplasma marginale

Anaplasma marginale esta globalmente dispersa en las Américas, Asia, África y Europa. Su principal huésped reportado es el ganado (Cuesy, 2021). Es transmitida biológicamente por aproximadamente veinte especies de garrapatas (principalmente de los géneros *Rhiphicephalus*, *Dermacentor* e *Ixodes*. (Osorio et al., 2018) afirman que garrapatas de las especies *Argas persicus*, *Rhiphicephalus annulatus*, *Rhiphicephalus decoloratus*, *R. microplus*, *Dermacentor albipictus*, *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor occidentalis*, *Dermacentor variabilis*, *Ixodes ricinus*, *R. sanguineus*, and *Rhiphicephalus simus* son también vectores mecánicos o biológicos de *A. marginale*. Se ha demostrado experimentalmente que las garrapatas de invierno (*Dermacentor albipictus*) son vectores competentes de *A. marginale* (Elliott et al., 2021)

En el departamento de Córdoba y en Ibagué se han reportado especies de *Anaplasma marginale* en *Rh. Microplus* y *R sanguineus*. Algunos autores han descrito a la garrapata del género *Rhiphicephalus* como vectores significativos en regiones como Centro América, Latino América, el caribe, Australia y Sur África. En Colombia, *A. marginale* ha sido identificada en regiones como el caribe. (Osorio et al., 2018)

Anaplasma platys

Sus principales hospederos son el perro, gato y hombre con una distribución cosmopolita (Cuesy, 2021). Evidencia molecular de la presencia de *A. platys* en humanos ha sido reportada en Venezuela y en Estados Unidos, sugiriendo el posible potencial zoonótico de este agente (André, 2018). Ha sido reportada en zorros de Portugal. En Colombia ha sido detectada en perros de las ciudades de Santa Marta y Ciénaga en el departamento de Magdalena (Pesapane et al., 2019). Un estudio documentó la presencia de *A. platys* en las ciudades de Bogotá, Villavicencio, Barranquilla y Bucaramanga (Pesapane et al., 2019)

Anaplasma phagocytophilum

Su distribución es cosmopolita y sus hospederos principales son el humano, equino, oveja, cabra, ganado, perro, roedores y felinos con las garrapatas de los géneros *Ixodes* y *Dermacentor* como sus principales vectores (Cuesy, 2021). *Anaplasma phagocytophilum* en particular, es la causante de la anaplasmosis granulocítica humana y es reconocida como una causa frecuente de fiebre en áreas donde se encuentran las garrapatas *Ixodes spp*, incluyendo el medio oeste superior, Nueva Inglaterra, California del norte y varias regiones de Europa. (Elliott et al., 2021). Los huéspedes silvestres de *A. phagocytophilum* responsables de todos los casos humanos son principalmente tres especies de mamíferos, el ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*), el mapache (*Procyon lotor*) y la ardilla gris (*Sciurus carolinensis*), conocidos por ser competentes reservorios para esta cepa. Ha sido detectada en félidos silvestres de Brasil y África (André, 2018). En Colombia, en el departamento de Córdoba se ha sugerido la circulación de *A. phagocytophilum* en

D. nitens, basándose en análisis de un fragmento del gen 16S ribosomal. *Anaplasma phagocytophilum* ha sido confirmada en Asia, Europa y algunos países de Sur América. Estudios serológicos en perros de tres ciudades de Colombia durante 2011, reportaron *A. phagocytophilum* en 51%, 40% y 12% en Cartagena, Barranquilla y Medellín respectivamente. Datos seroepidemiológicos sugieren que muchas infecciones humanas pasan desapercibidas en Sucre y Córdoba (norte de Colombia), donde un estudio prospectivo en personas en riesgo ocupacional (como granjeros), encontró un índice de seroprevalencia de 20% (15/75) para *A. phagocytophilum* (Osorio et al., 2018)

Anaplasma ovis

Sus principales hospederos son ovejas y cabras en Europa, África, Norteamérica y Asia siendo sus vectores más reportados las garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Cuesy, 2021) Fue detectada molecularmente en zorros de Sicilia, Italia (André, 2018).

Anaplasma bovis

Se presenta en conejos y ganado en América, África y Asia siendo sus vectores diversos géneros de garrapatas, entre ellos el género *Ixodes*. (Cuesy, 2021). Garrapatas de al menos tres géneros (*Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* y *Amblyomma*) son conocidos vectores de *A. bovis*; se presume que *Haemaphysalis leporispalustris*, es el vector de *A. bovis* entre ratones. (Chilton et al., 2018). Ha sido reportada en mapaches de Japón y en prociónidos, caninos y felinos salvajes en Asia y Brasil (André, 2018). En garrapatas de mapaches en Japón se ha reportado asociación estadística entre la positividad por PCR para *A. bovis* y la infestación por

Haemaphysalis spp, así como también en mapache perro de in (*Nyctereutes procyonoides*) de Corea.

En Tailandia, *A. bovis* ha sido detectada en garrapatas de la especie *Haemaphysalis lagrangei* de un oso del sol malayo (*Helarctos malayanus*). En Sur América, secuencias del gen 16S rDNA de *A. bovis* han sido detectadas en coatis (*Nasua nasua*) del pantanal brasileño, en esta misma zona se detectó también *A. bovis* en zorros cangrejeros (*Cerdocyon thous*) y en garrapatas de las especies *Amblyomma ovale* y *Amblyomma sculptum* colectadas de coatis, recientemente también fue detectada ocelotes (*Leopardus pardalis*) y en perros de monte (*Speothos venaticus*) mantenidos en cautiverio en un zoológico de Brasil. (André, 2018)

Bartonella

Actualmente el género *Bartonella* incluye 36 especies validadas y publicadas, 17 especies candidatas y tres subespecies, siendo algunas de estas de carácter zoonótico incluyendo *B. alsatica*, *B. bacilliformis*, *B. elizabethae*, *B. tamiae*, *B. koehlerae*, *B. rochalimae*, *B. melophagi*, *B. quintana*, *B. vinsonii subsp. berkhoffii*, *B. vinsonii subsp. Arupensis*, *B. henselae*, y *B. washoensis*; siendo las últimas 4 mencionadas, algunas de las especies analizadas en este estudio. Estas especies pueden ser halladas en un amplio rango de mamíferos como hospederos y gran variedad de artrópodos como sus vectores; las garrapatas y pequeños roedores son conocidos hospederos de *Bartonella* y juegan un rol significativo en la circulación de *Bartonella* en la naturaleza (Hao et al., 2020) Algunos estudios apoyan la posibilidad de que roedores adaptados a ciertas especies de *Bartonella*, pueden ser responsables de muchas más infecciones humanas especialmente en áreas donde los humanos están en contacto cercano con roedores

(Müller et al., 2020). Otras especies de mamíferos que pueden hospedar las diferentes especies de *Bartonella* incluyen perros, coyotes, zorros, ganado, ciervos, alces y murciélagos. La principal especie de garrapata que actúa como vector de *Bartonella henselae* es la *Ixodes ricinus*, sin embargo, el DNA de dicha bacteria ha sido detectado en otras especies incluyendo *Ixodes pacificus* e *I. persulcatus*. Algunas evidencias indirectas de casos clínicos y estudios epidemiológicos también sugieren que otras especies de garrapatas, incluyendo *Rhipicephalus sanguineus*, pueden transmitir la bacteria (Wechtaisong et al., 2020). Han sido reportadas por evidencias moleculares tanto en humanos como animales, co- infecciones de *B. henselae* con otros patógenos conocidos por ser transmitidos por garrapatas, como *Anaplasma spp.*, *Borrelia spp.* y *Rickettsia spp.*, sugiriendo una posible co-transmisión de agentes patógenos después de la mordedura de garrapata (Wechtaisong et al., 2020).

Adicionalmente, el DNA de *B. vinsonii subsp. Berkhoffii* ha sido detectado en materia fecal de individuos adultos de *R. sanguineus*, lo cual sugiere que las heces de garrapata podrían ser una potencial fuente de infección por *B. vinsonii subsp. Berkhoffii*. La presencia de DNA de *B. henselae* en heces de larva también sugieren que heces de larva de garrapata contaminadas con *B. henselae* pueden ser una potencial fuente de infección por Bartonella en humanos o animales. Sin embargo, no fue detectado DNA de *B. henselae* DNA en heces de ninfas, sugiriendo que esa bacteria puede no estar en el sistema digestivo de la garrapata durante el periodo de muda (Wechtaisong et al., 2020).

GARRAPATAS

Las garrapatas se clasifican como artrópodos de la clase Arachnida, del orden Parasitiformes y superfamilia Ixodoidea. (Martínez-Sánchez et al., 2020), son un grupo diverso de ectoparásitos hematófagos obligados, con más de 900 nombres científicos válidos de géneros y especies distribuidas en tres familias: Ixodidae (garrapatas duras), Argasidae (garrapatas blandas) y Nuttallielidae que incluye una sola especie confinada geográficamente en África. Aunque son parásitos cosmopolitas, se encuentran especialmente concentradas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, además de ser conocidos vectores de microorganismos rickettsiales como *Ehrlichia* y *Anaplasma*, la importancia de las garrapatas ha sido reconocida por su habilidad para alimentarse de una amplia cantidad de especies de hospederos y transmitir el patógeno *Bartonella* que infecta gran variedad de hospederos vertebrados incluyendo humanos. (Martínez-Sánchez et al., 2020) Después de los mosquitos, las garrapatas son consideradas el segundo grupo de vectores de importancia en la transmisión de enfermedades infecciosas a los humanos y el más importante en la transmisión de infecciones a los animales. Su importancia radica también a nivel económico ya que se calcula que en el mundo las garrapatas son responsables de pérdidas económicas entre los 13,5 y los 18,7 billones de dólares y en algunos países latinoamericanos las pérdidas alcanzan hasta US\$ 1,5 billones, y estudios realizados en Colombia en la década de los 90 indicaban que las pérdidas económicas debidas a las garrapatas eran 10 000 millones de pesos por año (Martínez-Sánchez et al., 2020)

En Colombia, hay 43 especies de garrapatas duras (Acari: Ixodidae) que pertenecen a varios géneros reportados hasta la fecha, incluyendo *Amblyomma*,

Ixodes, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, y *Dermacentor* (Martínez-Sánchez et al., 2020) un estudio realizado por (Martínez-Sánchez et al., 2020) reporta 46 especies, donde el género con mayor variedad fue *Amblyomma* con 29 especies registradas, seguido de *Ixodes* con 11 especies, y dos para cada uno los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis* y *Rhipicephalus*, distribuidos en 28 de los 32 departamentos del territorio nacional.

R. sanguineus puede desarrollarse en roedores y otros mamíferos, pero el perro es el hospedador principal y juega un papel importante en el desarrollo de grandes poblaciones de este ectoparásito. *R. microplus* es un patógeno primario en bovinos, sin embargo, puede aparecer en varios hospedadores entre los que podemos destacar búfalos, caballos, burros, cabras, ovejas, venados, cerdos, perros, y algunos animales salvajes. (Osorio et al., 2018)

A continuación, se ampliará información específica acerca de cada especie perteneciente a este estudio.

Amblyomma

Durante las últimas dos décadas, han sido descritas al menos 10 especies de *Amblyomma* en Sur América. En este estudio tenemos en consideración algunas de las que han sido halladas en Colombia.

Amblyomma nodosum

Ha sido reportada en Antioquia, Meta y Tolima en oso hormiguero amazónico (*tamandua tetradactyla*) y Tangara picoplata (*Ramphocelus carbo*).

Amblyomma rotundatum

Se ha encontrado en Caldas, Chocó, Meta y Valle del Cauca en especies como el sapo gigante (*Rhinella marina*) Boa constrictor y chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*).

Amblyomma dissimile

Esta especie ha sido hallada en Antioquia, Atlántico, Caldas, Córdoba, Casanare, Huila, Quindío, Magdalena, Meta, Sucre, Tolima y Valle del Cauca principalmente reptiles como iguanas (*Iguana iguana*), serpientes (*Spilotes pullatus*, *Corallus hortulanus*, *Boa imperator* y *Boa constrictor*), lagartos (*Basiliscus basiliscus* y *Caiman crocodilus*), y tortugas (*Kinosternon scorpioides*). Existen también reportes en hospederos excepcionales como anfibios (*Rhinella marina*), caninos, bovinos e incluso en humanos, pero sin determinar la localidad. (Martínez-Sánchez et al., 2020)

Amblyomma ovale

Amblyomma ovale parasita principalmente carnívoros domésticos y silvestres en sus estadios adultos, se ha encontrado parasitando caninos domésticos y a seres humanos que ingresan a zonas boscosas. Se distribuye ampliamente en regiones tropicales y subtropicales de América, desde México hasta Argentina. Han sido colectadas en Argentina, Belice, México, Nicaragua y Colombia. Son limitados los estudios con esta especie en nuestro país y se resumen en algunos registros aislados en los departamentos de Antioquia, Chocó, Córdoba, Cundinamarca, Guaviare, Meta, Nariño, Sucre, Tolima y Valle del Cauca. (Natalia & Sánchez, 2021). Se ha reportado infestando comúnmente a caninos, bovinos, equinos, aves, nutrias, didélfidos (*D. marsupialis* y *Marmosa alstoni*), mustélidos como el hurón mayor y comadreas (*Eira*

barbara y *Mustela frenata*), coatíes (*Nasua*), mapache cangrejero (*Procyon cancrivorus*), tapires (*Tapirus*) y roedores pequeños tales como la rata arrocera (*Transandinomys talamancae*) y la rata semiespinosa (*Proechimys semispinosus*) en los departamentos de Antioquia, Chocó, Córdoba, Cundinamarca, Guaviare, Meta, Nariño, Sucre, Tolima y Valle del Cauca (Martínez-Sánchez et al., 2020)

Amblyomma cajennense

Esta garrapata fue descrita en el año 2014 como un complejo de por lo menos seis especies (*Amblyomma mixtum*, *Amblyomma patinoi*, *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma interandinum*, *Amblyomma sculptum* y *Amblyomma tonelliae*). Se presenta en el país a nivel de climas cálidos y templados; ha sido reportada en 14 departamentos del país; Antioquia, Atlántico, Arauca, Bolívar, Caldas, Casanare, Cauca, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Meta, Santander, Sucre, Tolima y Valle del Cauca. Parasita un amplio rango de hospederos como animales domésticos, silvestres e inclusive humanos. Entre los animales domésticos se tienen como hospederos más reportados los equinos, pero también se ha reportado infestando perros, bovinos, gatos, ovejas, cerdos, y aves como el pavo común. Entre los hospederos silvestres reportados se encuentran roedores como la rata arrocera, los capibaras (*H. hydrochaeris*), los didélfidos (*Didelphis marsupialis*, *Metachirus nudicaudatus* y *Marmosa robinsoni*), los coatíes (*Nasua nasua*), los armadillos (*Dasypus kappleri*), los osos hormigueros (*Tamandua tetradactyla* y *Myrmecophaga tridactyla*), los venados de cola blanca (*O. virginianus*) y las guaguas (*C. paca*). La mayoría de los reportes se han originado principalmente a partir de estudios de la

epidemiología de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas y en una menor proporción por su impacto en la salud animal. (Martínez-Sánchez et al., 2020)

Amblyomma tigrinum

Se ha reportado en Meta en especies como *Bos spp*, guagua (*Cuniculus paca*) y zanate caribeño (*Quiscalus lugubris*)

Amblyomma triste

También ha sido reportada en Meta en especies como *Bos spp*, Canino (*Canis familiaris*) y venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*)

Amblyomma maculatum

Ha sido hallada en los departamentos de Caldas, Casanare, Cundinamarca, Magdalena, Meta, Nariño, Tolima y Valle del Cauca en especies como *Bos spp*. *Equus caballus* *Canis familiaris* *Cercopithecus thomasi* *Marmosa alstoni* *Orizomys sp* y chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*)

Amblyomma mixtum

Se ha reportado en Arauca, Caldas, Casanare y Meta en especies como *Bos spp*, *Equus caballus* y chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*)

Amblyomma americanum

Su presencia ha sido reportada en nuestro país en el Valle del cauca. (Martínez-Sánchez et al., 2020). Se ha reportado como vector de *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia ewingii* en Norteamérica (Cuesy, 2021).

Amblyomma oblongoguttatum

Es una especie ampliamente distribuida, se encuentra desde México hasta Brasil, siendo reportada en los estados de Acre, Rondônia, Pará, Goiás, Mato Grosso,

Minas Gerais, Espírito Santo y Río de Janeiro. Así como los estados de Roraima y Amazonas que también están incluidos en su distancia de distribución. Sus principales hospederos son mamíferos como *C. familiaris*, *S. scrofa*, *T. terrestris*, *Mazama sp.* y otros como el jabalí, ciervo, conejo, humano. En la literatura, hay varias citas de adultos de *A. oblongoguttatum* parasitando humanos.

Dermacentor

Dermacentor variabilis

Comúnmente conocida como la garrapata del perro americano o garrapata de la madera, es una especie de garrapata ampliamente distribuida en todo el centro y este de América del Norte, que se extiende de norte a sur de Canadá al este de Saskatchewan, y se extiende en California a lo largo del oeste de las sierras montañosas Cascade y Sierra Nevada, y llegando a México por el sur (Boorgula et al., 2020)

Dermacentor andersoni

La garrapata de las Montañas Rocosas, *Dermacentor andersoni*, es el principal vector de *A. marginale* (Chilton N, et al, 2018). Los adultos de *D. andersoni* se alimentan de una variedad de mamíferos de tamaño grande y mediano de varios órdenes, siendo un parásito muy frecuente de humanos y animales domésticos, mientras que los individuos inmaduros de *D. andersoni* comúnmente infestan pequeños mamíferos de diferentes órdenes. (Faccini A, et al. 2020). Se localiza comúnmente en ambiente semiárido y áreas montañosas, viéndose favorecida por hábitats compuestos principalmente por pastos y arbustos. (Faccini A, et al. 2020). No es una garrapata

común de Sur América, sin embargo, un estudio publicado por Labruna et al en 2020 realizó el primer reporte de la misma en un humano en Brasil proveniente de los EEUU

Dermacentor nitens

Dermacentor nitens (clasificada previamente en el género *Anocentor*) es una garrapata de un solo hospedero y es comúnmente conocida como la garrapata tropical del equino. Generalmente parasita caballos, mulas y burros, pero también se ha informado en el país parasitando al hombre y otros animales, tales como bovinos, caninos, porcinos, ovejas y ratas de agua tales como *Sygodontomys alfari* y *Nectomys squamipes*. También se ha encontrado sobre artiodáctilos como alpacas (*Vicugna pacos*), en lagomorfos como *Sylvilagus floridanus*, y roedores como capibaras, *Dasyprocta fuliginosa* y del género *Cuniculus*. Se ha reportado en todas las regiones naturales de Colombia, en los departamentos de Amazonas, Antioquia, Arauca, Bolívar, Caldas, Casanare, Cauca, Córdoba, Cundinamarca, Guaviare, Huila, Meta, Nariño, Risaralda, Santander, Sucre, Tolima y Valle del Cauca (Martínez-Sánchez et al., 2020)

Dermacentor albipictus

Es el ectoparásito primario de los alces y su área de distribución nativa es América del Norte. Se ha demostrado experimentalmente que son vectores competentes de *A. marginale*. (Elliott et al., 2021). En cuanto a las garrapatas blandas, estas comprenden 4 géneros y alrededor de 185 especies, incluyendo tres géneros representados por un gran rango de especies: *Carios* (87 especies), *Argas* (57 especies) y *Ornithodoros* (36 especies). El cuarto genero (*Otobius*) es representado por tres especies. (Lafri et al., 2017). En Colombia, se han identificado 19 especies de la

familia *Argasidae* (*Argas* 4, *Ornithodoros* 13, *Otobius* 1 y *Antricola* 1). El número de estudios publicados sobre la familia *Argasidae* es considerablemente más bajo en comparación a los realizados sobre la familia *Ixodidae*. Hay algunos reportes acerca de *Ornithodoros moubata*, *O. parkeri*, *O. coriaceus*, *O. erraticus*, *Antricola delacruzi* y *Argas monolakensis* y pocos estudios de *O. moubata*, *O. mimon* y *O. erraticus* (Araujo et al., 2019)

Ornithodoros

Un número considerable de especies de *Ornithodoros* habitan de madrigueras con pequeños mamíferos y están adaptadas para sobrevivir en ambientes áridos. En América del Sur, los roedores establecidos en ecosistemas áridos son hospedadores de al menos tres taxones descritos recientemente como *Ornithodoros rietcorreae*, *Ornithodoros quilinensis*, *Ornithodoros xerophylus* (Muñoz-Leal et al., 2020). Poco se conoce acerca del rol de *Ornithodoros* como vector de microorganismos rickettsiales, sin embargo, hay reportes de mordedura de garrapatas a humanos en las que se transmiten patógenos zoonóticos. (Araujo et al., 2019). *Ornithodoros rudis*, *O. talaje* y *O. puertoricensis* son conocidas por parasitar humanos (Bermu et al., 2021)

Ornithodoros rostratus

Se ha reportado su presencia en Sur América en países como Brasil, Paraguay, Argentina y Bolivia. (Araujo et al., 2019)

Ixodes (Prostriata)

Transmiten agentes como *B. burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *ehrlichia sp*, diversas especies de *Rickettsia* han sido halladas en garrapatas del género *Ixodes* en todo el mundo. En cuanto a sus hospederos, las garrapatas del género *Ixodes*

presentan una preferencia hacia los ungulados más jóvenes, debido al comportamiento o hábitos del mismo, a su piel más delgada y vascularizada que en los adultos. (Cuesy, 2021)

Ixodes ricinus

Transmite enfermedades como la enfermedad de Lyme o la encefalitis transmitida por garrapatas, u otras como la infección por *Rickettsia monacensis*, la anaplasmosis humana, y la babesiosis (Portillo et al., 2018)

Ixodes lasallei

Fue descrita en Colombia por Méndez Arocha y Ortiz en 1958 en Arauca reportando como su hospedero al agutí brasileño (*Dasyprocta leporina*) (Acevedo-Gutiérrez et al., 2020)

Metodología

Toma de muestras y secuenciación (2015-2019)

Durante los años 2015 – 2019, se recolectaron garrapatas infestando las especies *Boa constrictor*, *Corallus hortulanus*, *Epicrates cenchria*, *Leptodeira annulata*, *Masticophis mentovarius*, *Chelonoidis carbonaria*, *Ameiva ameiva*, *Caiman crocodilus*, *Iguana iguana*, *Eunectes murinus*, *Bothrops asper* y *Spilotes pullatus* en cautiverio y de vida silvestre, obtenidas en los municipios de Puerto Triunfo (Antioquia); San Luis de Palenque, Paz de Ariporo, Hato Corozal, Trinidad y El Yopal (Casanare), Tame (Arauca); Montería (Córdoba); Albania (Guajira) y Barranquilla (Atlántico). De igual manera se capturaron 156 chigüiros en el departamento de Casanare, municipios de Hato Corozal y Paz de Ariporo; los cuales fueron sometidos a una restricción física y química, (siguiendo con todos los parámetros bioéticos) y luego se recolectaron la mayor cantidad de garrapatas por individuo. Todas las garrapatas fueron identificadas por claves dicotómicas para determinar el género y la especie. Se realizó extracción de ADN. Para la detección molecular se usó PCR convencional para la amplificación de segmentos específicos, los productos fueron secuenciados. De igual manera se muestrearon 44 ejemplares de cérvidos en cautiverio y de vida silvestre. Para la detección molecular se usó PCR convencional para la amplificación de un segmento del gen 16S ribosomal específicos de la familia *Anaplasmataceae*, citocromo b para la clasificación de los cérvidos y 16S mitocondrial para la clasificación de los ectoparásitos. Todos los productos positivos con protocolos que permitieron la amplificación de microorganismos relacionados, por PCR convencional, con los

géneros *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.*, *Babesia spp.* y/o *Hepatozoon spp.* fueron secuenciados en la empresa MacroGen Inc., Seoul, Corea, entre los años 2015 -2018.

Análisis bioinformático

Los resultados obtenidos fueron sometidos a blast analyses (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast), y alineados con secuencias homólogas disponibles en el GenBank. Las secuencias fueron editadas y analizadas filogenéticamente con el programa Geneious (<https://www.geneious.com/>). Los métodos filogenéticos se realizaron por medio del análisis de probabilidades bayesianas. Se determinó el uso de los modelos de sustitución general con tiempo reversible y el análisis por distancias genéticas con el algoritmo de neighbor-joining (Tavares, 2011) con las distancias estimadas según el modelo de sustitución de Hasegawa- Kishino-Yano con los programa MrBayes 3.1.2 y PAUP v. 4.10, respectivamente (Tamura et al., 2013). Todos los productos positivos fueron secuenciados en la compañía MacroGen Inc. en Seúl, Corea. Los resultados obtenidos fueron enviadas a blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast), y alineadas con secuencias homologas disponibles en GenBank. Las secuencias fueron editadas y analizadas filogenéticamente usando el programa MEGA X. Los métodos filogenéticos se realizaron mediante un análisis de probabilidades bayesianas con el modelo de sustitución general y un análisis de tiempo reversible y distancia genética con el algoritmo de unión de vecinos con distancias estimadas siguiendo el modelo de sustitución de Hasegawa-Kishino-Yano con los programas MrBayes 3.1.2 y PAUP v. 4.10 respectivamente (Kumar, 2018).

Resultados

Venados

Se pudo detectar la amplificación de un segmento del gen 16S por medio de la identidad similar a *Anaplasma marginale* en un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Montería Córdoba. Además, se identificaron infestaciones por *Dermacentor nitens* en un venado masama y por *Ornithodoros puertoricensis* en dos venados en Santa Ana Magdalena. La identificación taxonómica y molecular de las garrapatas blandas encontradas infestando venados luego del proceso de secuenciación dio como resultado la clasificación de las mismas como *Ornithodoros puertoricensis* (Ilustración 1).

Ilustración 1 *Dermacentor nitens*, obtenido de un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Montería Córdoba. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018) (Mol et al., 2016).

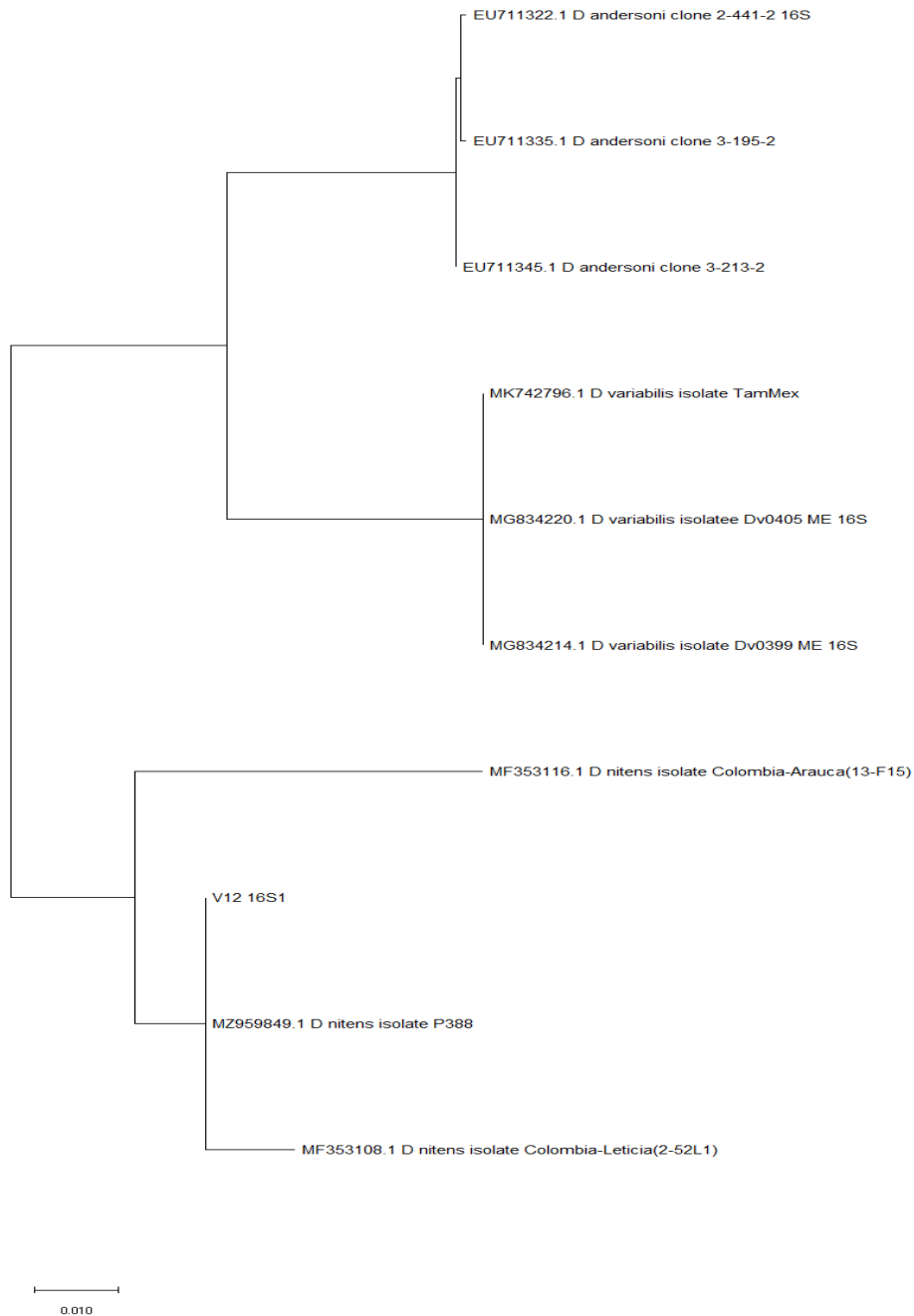


Ilustración 2 *Ornithodoros puertoricensis*, obtenido de un ejemplar de venado de cola blanca procedente del municipio de Santa Ana, Magdalena. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018) (Mol et al., 2016).

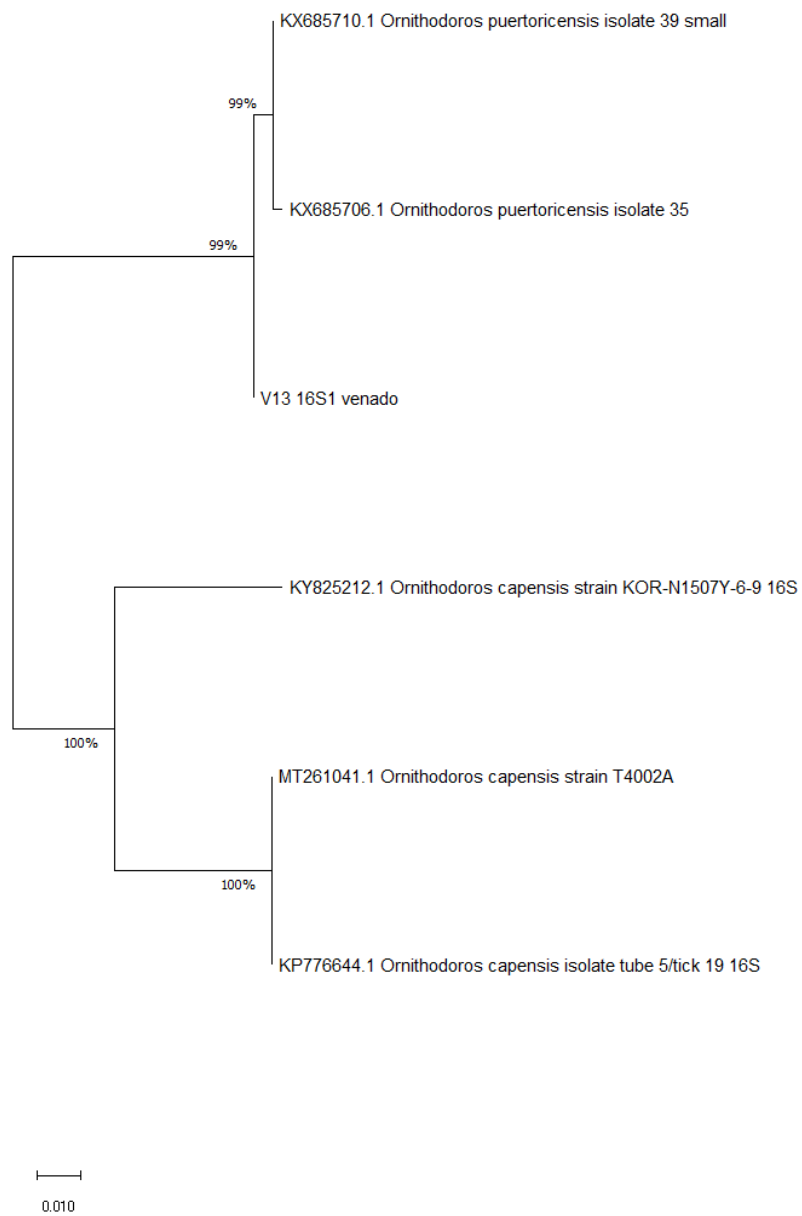


Ilustración 3 *Bartonella henselae*, obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA ribosomal (Almazán et al., 2016).

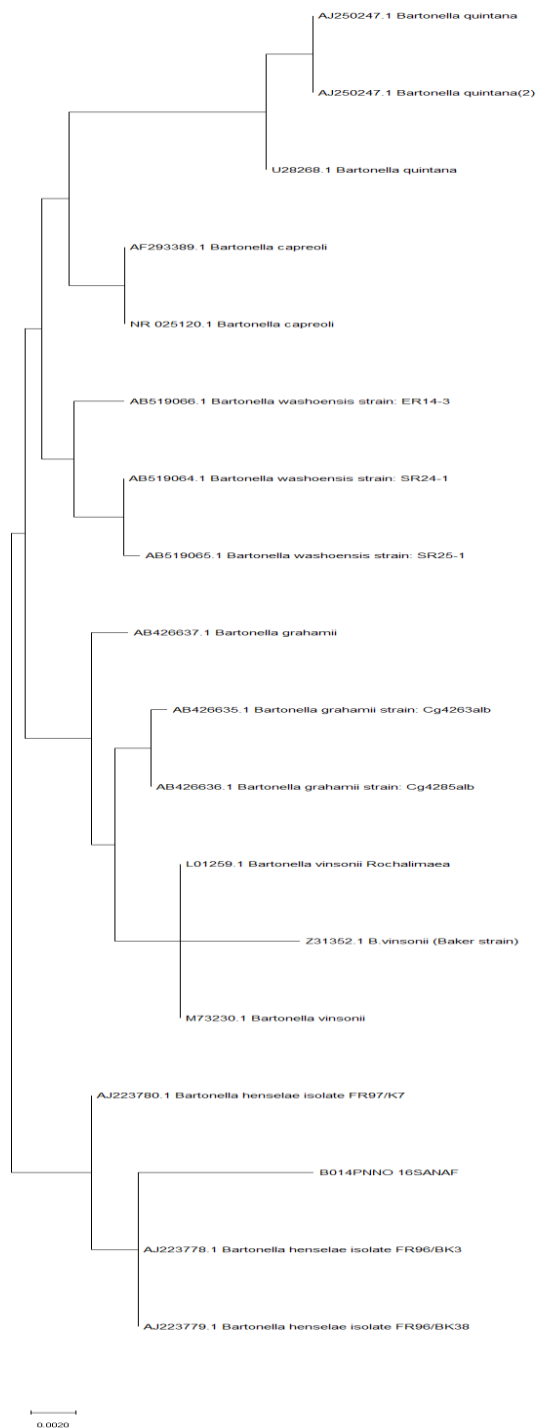


Ilustración 4 Candidato *Neoehrlichia mikurensis*, obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018) (Mol et al., 2016).

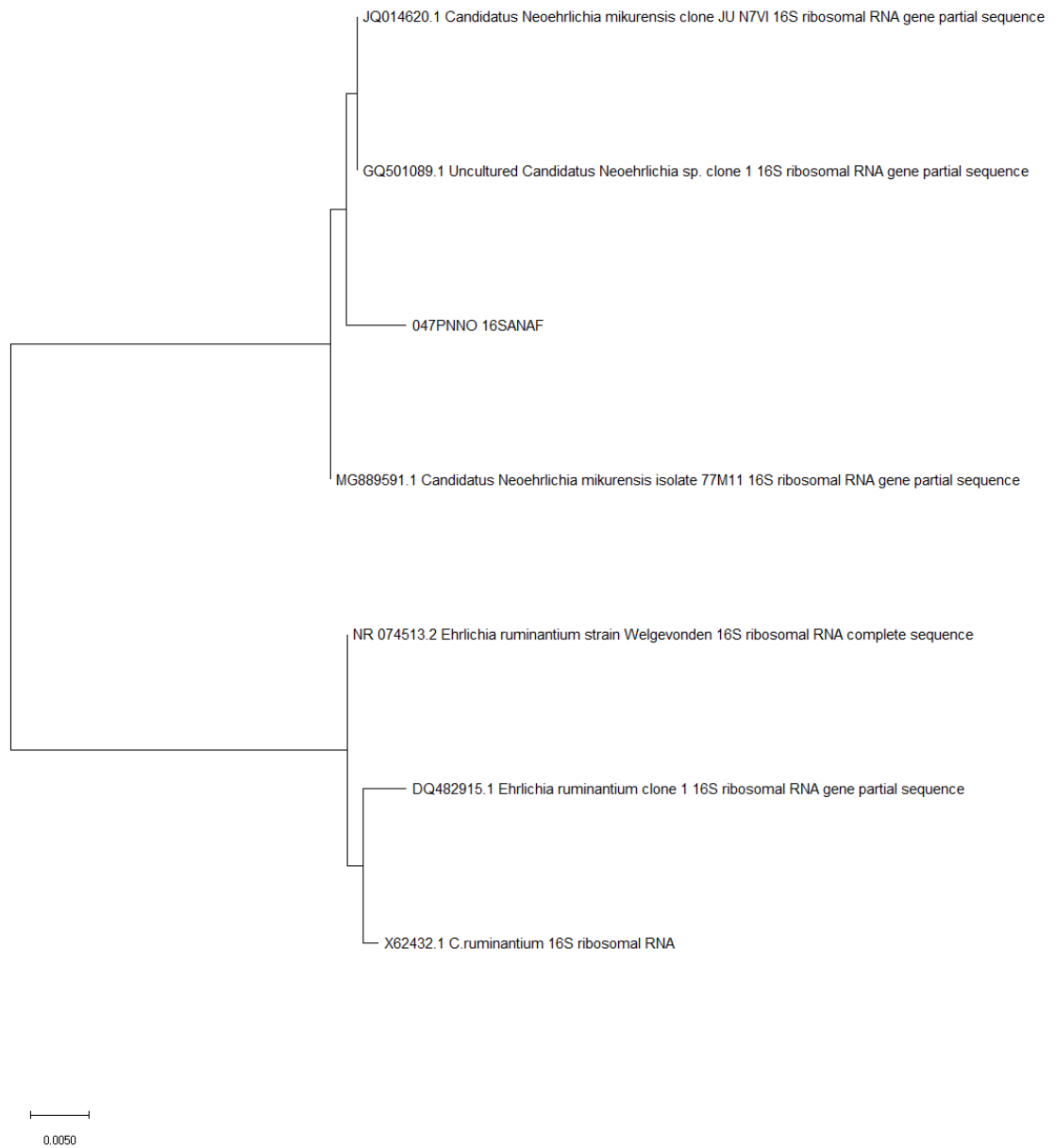
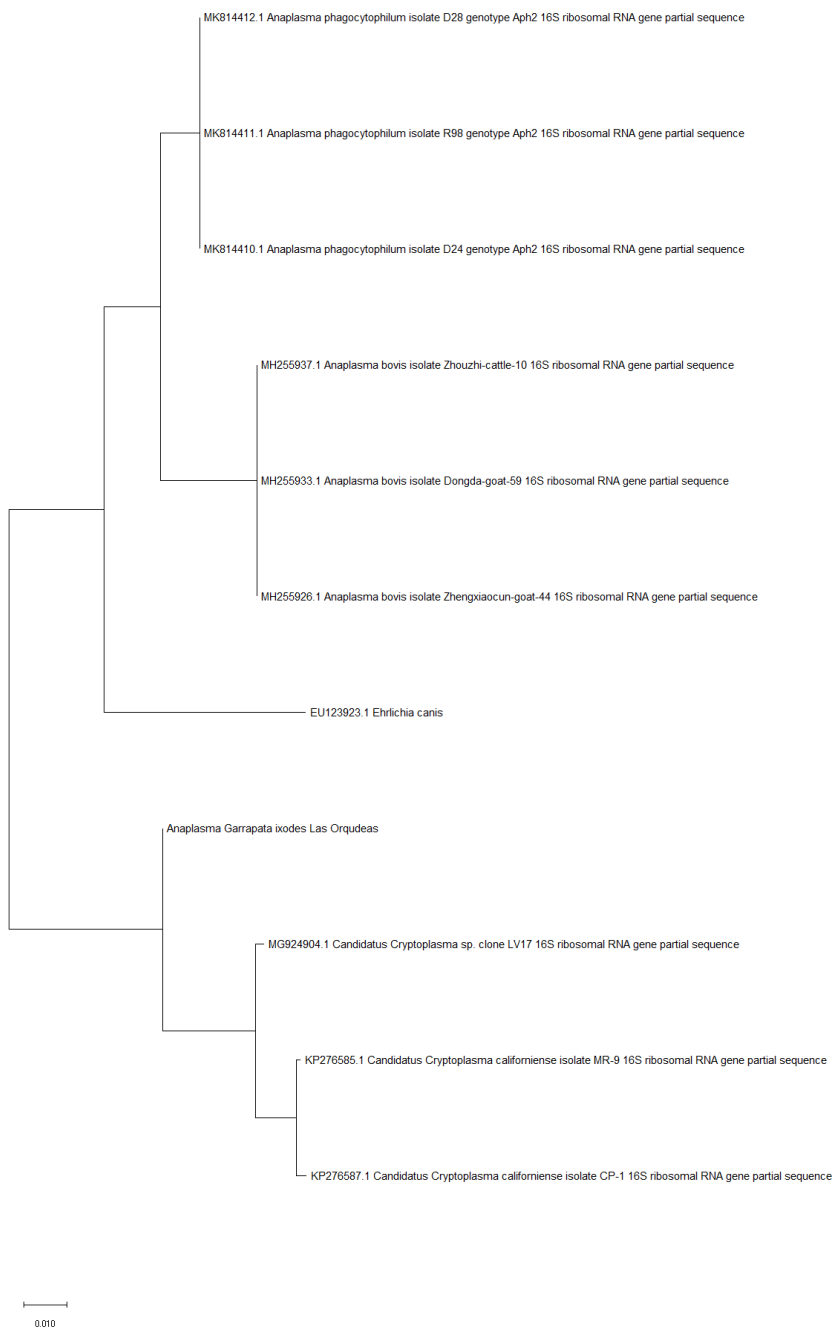


Ilustración 5 Candidato *Neoehrlichia mikurensis*, obtenido de un ejemplar de roedor procedente del Parque Nacional Natural las Orquídeas, Antioquia. Árbol filogenético no enraizado del gen 16S rRNA mitocondrial (mega x, 2018) (Mol et al., 2016).



Discusión

La detección de *Anaplasma marginale*, era un resultado esperado, debido a que la misma, es una bacteria común en ganadería de carne en la región Caribe colombiana, debido a la presencia de ejemplares cebú y sus garrapatas en regiones aledañas a los animales estudiados (Zips, 1992). La presencia de estas bacterias transmitidas por vectores se desarrolla favorablemente en ambientes tropicales y contribuyen en la presencia de enfermedades infecciosas emergentes. Teniendo en cuenta que un número considerable de especies de *Ornithodoros* habitan en madrigueras con pequeños mamíferos (Muñoz-Leal et al., 2020), la detección de *Ornithodoros puertoricensis* en dos venados en Santa Ana Magdalena es un resultado esperado debido a la cercanía entre dichos venados de vida libre y las madrigueras en las que habitan estas especies de garrapatas.

A pesar de que *Neoehrlichia mikurensis*, por ser un patógeno emergente solamente ha sido descrita en mamíferos, un estudio realizado por (Ondruš et al., 2020) reporta la presencia de dicho microorganismo en glándulas salivares de garrapatas de la especie *Ixodes ricinus*, por lo cual este el primer reporte de *Neoehrlichia mikurensis* en Colombia.

A pesar de que el hallazgo de *Bartonella henselae* en un ejemplar de roedor de la subfamilia Sigmodontinae en el parque nacional natural las orquídeas es esperado ya que según (Hao et al., 2020) estas especies pueden ser halladas en un amplio rango de mamíferos como hospederos y gran variedad de artrópodos como sus vectores siendo conocidos vectores de la misma las garrapatas y pequeños roedores,

la detección de dicha especie en nuestro país no ha sido aún descrita, por lo cual este estudio realiza el primer reporte de hallazgo molecular de *Bartonella henselae* en nuestro país. Debido a que *Dermacentor nitens* ha sido reportado en todas las regiones naturales de Colombia, (Martínez-Sánchez et al., 2020), el hallazgo de dicha especie en un ejemplar de venado masama es un resultado esperado.

Teniendo en cuenta que un número considerable de especies de Ornithodoros habitan en madrigueras con pequeños mamíferos (Muñoz-Leal et al., 2020), la detección de *Ornithodoros puertoricensis* en dos venados en Santa Ana Magdalena es un resultado esperado debido a la cercanía entre dichos venados de vida libre y las madrigueras en las que habitan estas especies de garrapatas

Referencias Bibliográficas

- Acevedo-Gutiérrez, L. Y., Paternina, L. E., Pérez-Pérez, J. C., Londoño, A. F., López, G., & Rodas, J. D. (2020). Garrapatas duras (Acari: Ixodidae) de Colombia, una revisión a su conocimiento en el país. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 126–139. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.75252>
- André, M. R. (2018). Diversity of Anaplasma and Ehrlichia/Neoehrlichia Agents in terrestrial wild carnivores worldwide: Implications for human and domestic animal health and wildlife conservation. *Frontiers in Veterinary Science*, 5(NOV). <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00293>
- Araujo, R. N., Silva, N. C. S., Mendes-Sousa, A., Paim, R., Costa, G. C. A., Dias, L. R., Oliveira, K., Sant'Anna, M. R. V., Gontijo, N. F., Pereira, M. H., Pessoa, G. D., Valenzuela, J. G., Koerich, L. B., & Oliveira, F. (2019). RNA-seq analysis of the salivary glands and midgut of the Argasid tick *Ornithodoros rostratus*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42899-z>
- Bermu, S. E., Krishnavajhala, A., Kneubehl, A. R., Id, S. M. G., Replogle, A., Petersen, J. M., & Id, J. E. L. (2021). *Isolation and genetic characterization of a relapsing fever spirochete isolated from Ornithodoros puertoricensis collected in central*. 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009642>
- Boorgula, G. D. Y., Townsend Peterson, A., Foley, D. H., Ganta, R. R., & Raghavan, R. K. (2020). Assessing the current and future potential geographic distribution of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say) (Acari: Ixodidae) in North America. *PLoS ONE*, 15(8 August), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237191>
- Chilton, N. B., Dergousoff, S. J., & Lysyk, T. J. (2018). Prevalence of *Anaplasma bovis* in Canadian populations of the Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(6), 1528–1531. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.003>
- Cuesy, M. (2021). *Caracterización del microbioma bacteriano en base a la región 16S rDNA y su asociación con patógenos de importancia médica en garrapatas de hospederos silvestres del norte de la República Mexicana TESIS*. <http://eprints.uanl.mx/21300/1/1080314904.pdf>
- Elliott, J. A., Dickson, C. C., Kantar, L., O'Neal, M. R., Lichtenwalner, A., Bryant, A., Jakubas, W., Pekins, P. J., De Urioste-Stone, S. M., & Kamath, P. L. (2021). Prevalence and Risk Factors of *Anaplasma* Infections in Eastern Moose (*Alces alces americana*) and Winter Ticks (*Dermacentor albipictus*) in Maine, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 57(4). <https://doi.org/10.7589/JWD-D-21-00020>
- Hao, L., Yuan, D., Guo, L., Hou, W., Mo, X., Yin, J., Yang, A., & Li, R. (2020). Molecular detection of *Bartonella* in ixodid ticks collected from yaks and plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) in Shiqu County, China. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02452-x>
- Lafri, I., Hamzaoui, B. El, Bitam, I., Leulmi, H., Lalout, R., Mediannikov, O., Chergui, M., Karakallah, M., Raoult, D., & Parola, P. (2017). *Detection of relapsing fever Borrelia spp ., Bartonella spp . and Anaplasmataceae bacteria in argasid ticks in Algeria*. 1–13.
- Martínez-Sánchez, E. T., Cardona-Romero, M., Ortiz-Giraldo, M., Tobón-Escobar, W. D., López, D. M., Ossa-López, P. A., Pérez-Cárdenas, J. E., Labruna, M. B.,

- Martins, T. F., Rivera-Páez, F. A., & Castaño-Villa, G. J. (2020). Associations between wild birds and hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *11*(6), 101534. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101534>
- Müller, A., Gutiérrez, R., Seguel, M., Monti, G., Otth, C., Bittencourt, P., Sepúlveda, P., Alabí, A., Nachum-Biala, Y., & Harrus, S. (2020). Molecular survey of Bartonella spp. in rodents and fleas from Chile. *Acta Tropica*, *212*(August), 105672. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105672>
- Muñoz-Leal, S., Venzal, J. M., Nava, S., Marcili, A., González-Acuña, D., Martins, T. F., & Labruna, M. B. (2020). Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: Ornithodoros) parasite of Octodon degus (Rodentia: Octodontidae) in northern Chile. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *11*(3). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101385>
- Natalia, L., & Sánchez, R. (2021). *Amblyomma ovale* Koch , 1844 en colecciones acarológicas nacionales y en ambientes del Departamento de Cundinamarca-Colombia.
- Ondruš, J., Kulich, P., Sychra, O., & Šíroký, P. (2020). Putative morphology of Neoehrlichia mikurensis in salivary glands of Ixodes ricinus. *Scientific Reports*, *0123456789*, 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72953-0>
- Osorio, M., Miranda, J., González, M., & Mattar, S. (2018). Anaplasma sp., Ehrlichia sp., and Rickettsia sp. in ticks: A high risk for public health in Ibagué, Colombia. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *24*(4), 557–562. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19581>
- Pesapane, R., Foley, J., Thomas, R., & Castro, L. R. (2019). Molecular detection and characterization of Anaplasma platys and Ehrlichia canis in dogs from northern Colombia. *Veterinary Microbiology*, *233*(April), 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.05.002>
- Portillo, A., Ruiz-arrodo, I., & Oteo, J. A. (2018). ~ y sus enfermedades transmisibles Artrópodos vectores en España. *151*(11), 450–459. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.06.021>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, *30*(12), 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tavares, R., et al. (2011). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis.*, *17*, 239–248.
- Wechtaisong, W., Bonnet, S. I., Lien, Y. Y., Chuang, S. Te, & Tsai, Y. L. (2020). Transmission of bartonella henselae within rhipicephalus sanguineus: Data on the potential vector role of the tick. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *14*(10), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008664>