



**Universidad Nacional del Litoral**

*Facultad de Ciencias Veterinarias*

Lugar de realización

**Instituto de Zoonosis Luis Pasteur – Ministerio de Salud**

**Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires**

*Tesis presentada para optar por el grado académico de  
Doctor en Ciencias Veterinarias*

***Estudio epidemiológico de las garrapatas presentes en un área  
urbana protegida en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires***

Autor: **Gabriel Leonardo Cicuttin**

Director de Tesis: **Santiago Nava**

Co-Director de Tesis: **Pablo Martín Beldomenico**

**2019**



# Dedicatoria

---

A Julieta.

A mis padres y mi tía.

A Alberto Guglielmone y Pedro Anda, por abrirme las puertas al maravilloso mundo de las garrapatas y los patógenos transmitidos por ellas.

A Juan C. Sassaroli, quien con su curiosidad científica innata halló los primeros ejemplares de garrapatas en la reserva.

## Agradecimientos

---

En primer término, a Santiago Nava por haberme estimulado a realizar mi doctorado y por su generosidad en transmitir sus saberes durante estos casi 10 años de trabajo en conjunto.

A Oscar Lencinas y especialmente a Federico Gury Dohmen por posibilitarme realizar mi doctorado en el Instituto de Zoonosis Luis Pasteur.

A Nazarena De Salvo, Santiago Nava y a los residentes de la Residencia de Veterinaria en Salud Pública del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur por su colaboración con los muestreos de garrapatas de vegetación.

A la División Acciones Comunitarias para la Salud del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (especialmente a Carina Hercolini, Evangelina Arístegui, Antonella Bruno y Diego Brambati) por facilitarme los ejemplares de roedores para la búsqueda de garrapatas y las muestras de tejidos de los roedores.

A Santiago Nava y José Venzal por sus aportes fundamentales en los muestreos de aves.

A Juan C. Sassaroli y a la División Acciones Comunitarias para la Salud del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur por la derivación de las muestras de aves para su estudio.

A Lorena Zapata (Reserva Ecológica Costanera Sur) por su predisposición y ayuda para la tramitación de los permisos pertinentes.

A Paula Díaz Pérez, Dario Silva y muy especialmente a Nazarena De Salvo, por su inestimable ayuda en el diagnóstico de laboratorio durante estos años.

A Edgardo Marcos, Osvaldo Degregorio y M. Julieta Rodríguez Cámara por su lectura crítica de esta tesis.

Y especialmente a mi director Santiago Nava y a mi co-director Pablo Beldoménico por su guía durante estos años como doctorando.

La realización de los trabajos de campo y de laboratorio fue posible gracias al apoyo económico del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Subsidio Fundación A. J. Roemmers 2016-2018, Beca de Investigación “Carrillo-Oñativia” 2015, INTA, Asociación Cooperadora INTA Rafaela y Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (PICT-2013-526 y PICT-2016-774).

# Índice

---

<b>Lista de tablas y figuras .....</b>	<b>iii</b>
<b>Abreviaturas y símbolos .....</b>	<b>v</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>vi</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Prolegómenos.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Garrapatas duras (Familia Ixodidae).....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Microorganismos patógenos transmitidos por garrapatas.....</b>	<b>5</b>
1.3.1. Bacterias patógenas transmitidas por garrapatas .....	7
<b>1.4. Áreas urbanas protegidas .....</b>	<b>13</b>
1.4.1. Áreas urbanas protegidas y patógenos transmitidos por garrapatas .....	15
<b>1.5. Antecedentes en el área de estudio.....</b>	<b>16</b>
<b>2. Hipótesis y objetivos del trabajo .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. Hipótesis .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2. Objetivo general .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3. Objetivos específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>3. Materiales y Métodos .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Caracterización del área de estudio.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2. Objetivo 1) Garrapatas.....</b>	<b>23</b>
3.2.1. Muestreo de garrapatas .....	23
3.2.2. Clasificación taxonómica de las garrapatas .....	29
<b>3.3. Objetivos 2, 3 y 4) Patógenos bacterianos .....</b>	<b>30</b>
3.3.1. Muestras.....	30
3.3.2. Extracción de ADN .....	30
3.3.3. Reacción en cadena de la polimerasa .....	30
3.3.4. Electroforesis en gel de agarosa .....	33
3.3.5. Secuenciación .....	33
3.3.6. Análisis filogenético .....	33
<b>3.4. Análisis estadístico.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5. Consideraciones éticas .....</b>	<b>34</b>
<b>4. Resultados .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1. Objetivo 1) Garrapatas.....</b>	<b>37</b>

4.1.1. Vegetación .....	37
4.1.2. Aves .....	39
4.1.3. Roedores .....	46
4.1.4. Caninos domésticos .....	46
4.1.5. Otros .....	46
<b>4.2. Objetivos 2, 3 y 4) Patógenos bacterianos .....</b>	<b>46</b>
4.2.1. Muestras estudiadas .....	46
4.2.2. Género <i>Rickettsia</i> .....	52
4.2.3. Familia Anaplasmataceae .....	56
4.2.4. Género <i>Borrelia</i> .....	62
<b>5. Discusión .....</b>	<b>67</b>
<b>5.1. General .....</b>	<b>68</b>
<b>5.2. Garrapatas .....</b>	<b>68</b>
5.2.1. <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato .....	68
5.2.2. <i>Amblyomma aureolatum</i> .....	70
5.2.3. <i>Amblyomma triste</i> .....	70
5.2.4. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto .....	71
<b>5.3. Patógenos bacterianos .....</b>	<b>72</b>
5.3.1. Género <i>Rickettsia</i> .....	72
5.3.2. Género <i>Ehrlichia</i> .....	74
5.3.3. Género <i>Anaplasma</i> .....	75
5.3.4. Género <i>Neorickettsia</i> .....	76
5.3.5. Alfa-proteobacterias simbioses de garrapatas .....	78
5.3.6. Género <i>Borrelia</i> .....	79
<b>5.4. Importancia veterinaria y para la salud pública .....</b>	<b>81</b>
5.4.1. <i>Amblyomma aureolatum</i> , <i>Borrelia</i> sp. y <i>Rickettsia bellii</i> .....	81
5.4.2. <i>Amblyomma triste</i> .....	82
5.4.3. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto .....	82
5.4.4. <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato, <i>Borrelia</i> sp., <i>Ehrlichia</i> sp. y <i>Rickettsia</i> sp. ....	83
5.4.5. <i>Neorickettsia risticii</i> .....	83
<b>6. Conclusión .....</b>	<b>84</b>
<b>7. Bibliografía .....</b>	<b>86</b>
<b>Anexo - Publicaciones asociadas a la tesis .....</b>	<b>110</b>

# Lista de tablas y figuras

---

## Tablas

<b>Tabla 1.</b> Cebadores utilizados para el género <i>Rickettsia</i> .....	31
<b>Tabla 2.</b> Cebadores utilizados para la Familia Anaplasmataceae.....	31
<b>Tabla 3.</b> Cebadores utilizados para el género <i>Ehrlichia</i> .....	32
<b>Tabla 4.</b> Cebadores utilizados para el género <i>Anaplasma</i> .....	32
<b>Tabla 5.</b> Cebadores utilizados para el género <i>Neorickettsia</i> .....	32
<b>Tabla 6.</b> Cebadores utilizados para el género <i>Borrelia</i> .....	33
<b>Tabla 7.</b> Aves muestreadas en la Reserva Ecológica Costanera Sur.....	39
<b>Tabla 8.</b> Aves infestadas con <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato.....	42
<b>Tabla 9.</b> Aves infestadas con <i>Amblyomma aureolatum</i> .....	42
<b>Tabla 10.</b> Garrapatas colectadas sobre aves.....	45
<b>Tabla 11.</b> Diagnóstico molecular de patógenos en garrapatas.....	47
<b>Tabla 12.</b> Muestras sanguíneas obtenidas de aves.....	48
<b>Tabla 13.</b> Aves muertas estudiadas.....	49
<b>Tabla 14.</b> Muestras sanguíneas de aves. Periodo 2012-2015.....	51
<b>Tabla 15.</b> Roedores analizados.....	52
<b>Tabla 16.</b> PCR para el fragmento del espaciador intergénico del ARNr 23S-5S del género <i>Rickettsia</i> . Garrapatas colectadas de perros.....	53
<b>Tabla 17.</b> PCR para el fragmento del espaciador intergénico del ARNr 23S-5S del género <i>Rickettsia</i> . Garrapatas colectadas de aves.....	53
<b>Tabla 18.</b> PCR para el fragmento ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae. Garrapatas colectadas de vegetación.....	56
<b>Tabla 19.</b> PCR para el fragmento ARNr 16S de la Familia Anaplasmataceae. Garrapatas colectadas de perros.....	57
<b>Tabla 20.</b> PCR para el fragmento ARNr 16S de la Familia Anaplasmataceae. Roedores.....	58
<b>Tabla 21.</b> PCR anidada para el fragmento <i>fla</i> del género <i>Borrelia</i> . Garrapatas colectadas de vegetación.....	62
<b>Tabla 22.</b> PCR anidada para el fragmento <i>fla</i> del género <i>Borrelia</i> . Garrapatas colectadas de aves.....	63
<b>Tabla 23.</b> Detalle de garrapatas positivas según ave.....	64

## Figuras

<b>Figura 1.</b> Fotografía aérea de la Reserva Ecológica Costanera Sur y los barrios aledaños Puerto Madero y Rodrigo Bueno.....	22
<b>Figura 2.</b> Mapa de ambientes de la Reserva Ecológica Costanera Sur.....	23
<b>Figura 3.</b> Mapa de sitios del muestreo anual 2013-2014 de garrapatas de vegetación.....	25
<b>Figura 4.</b> Fotografías del muestreo anual 2013-2014 de garrapatas de vegetación.....	26
<b>Figura 5.</b> Fotografías del muestreo complementario 2018.....	26
<b>Figura 6.</b> Mapa de sitios del muestreo complementario 2018 de garrapatas de vegetación y del muestreo de aves.....	27
<b>Figura 7.</b> Fotografías del muestreo de aves.....	28
<b>Figura 8.</b> Distribución estacional de larvas y ninfas de <i>Amblyomma aureolatum</i> colectadas de vegetación entre abril 2013 y marzo 2014 en la Reserva Ecológica Costanera Sur.....	38
<b>Figura 9.</b> Distribución estacional de larvas, ninfas y adultos de <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato colectadas de vegetación entre abril 2013 y marzo 2014 en la Reserva Ecológica Costanera Sur.....	39
<b>Figura 10.</b> Fotografía de hembra de <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato en <i>Troglodytes aedon</i> .....	43
<b>Figura 11.</b> Fotografía de hembra de <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato en <i>Turdus rufiventris</i> .....	44
<b>Figura 12.</b> Infestación de aves según época del año.....	44
<b>Figura 13.</b> Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G) para un fragmento del gen <i>gltA</i> del género <i>Rickettsia</i> .....	55
<b>Figura 14.</b> Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para el fragmento del ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae.....	59
<b>Figura 15.</b> Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para el gen <i>p51</i> del género <i>Neorickettsia</i> .....	61
<b>Figura 16.</b> Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para un fragmento del gen <i>fla</i> del género <i>Borrelia</i> .....	66



## Abreviaturas y símbolos

---

A.: *Amblyomma*

A.: *Anaplasma*

AUP: áreas urbanas protegidas

B.: *Borrelia*

CABA: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

E.: *Ehrlichia*

ETG: enfermedad transmitida por garrapatas

GEL: grupo enfermedad de Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu lato)

GFR: grupo fiebre recurrente - *Borrelia*

GFR-GD: grupo fiebre recurrente transmitido por garrapatas duras - *Borrelia*

I.: *Ixodes*

IZLP: Instituto de Zoonosis Luis Pasteur

N.: *Neorickettsia*

pb: pares de bases

PCR: *polymerase chain reaction* (reacción en cadena de la polimerasa)

p.e.: por ejemplo

R.: *Rickettsia*

RECS: Reserva Ecológica Costanera Sur

REP: grupo de *Borrelia* spp. asociadas a reptiles

Rh.: *Rhipicephalus*

s.l.: *sensu lato*

s.s.: *sensu stricto*

# Resumen

---

El objetivo de esta tesis doctoral fue estudiar aspectos epidemiológicos de las garrapatas y de los microorganismos patógenos transmitidos por garrapatas en la Reserva Ecológica Costanera Sur de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires entre 2011 y 2018.

Se colectaron 1168 garrapatas de la vegetación (454 de la especie *Amblyomma aureolatum*, 635 *Ixodes auritulus* sensu lato y 79 *Amblyomma triste*), 120 desde las aves (108 *I. auritulus* s.l. y 12 *A. aureolatum*), 104 desde perros (101 *A. aureolatum*, 2 *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto y 1 *A. triste*), 1 *A. aureolatum* en una cabaña de trabajo y 1 *A. triste* desde personal de la RECS.

Mediante PCR, 0,2% resultaron positivas al género *Rickettsia*, 0,3% a la familia Anaplasmataceae y 2,9% al género *Borrelia*. Además, un roedor (*Oligoryzomys flavescens*) (1/203) resultó positivo a *Neorickettsia risticii*.

La existencia de una especie nueva de *Borrelia* en *A. aureolatum* es de relevancia dado que esta garrapata infesta a perros y humanos, aunque el grupo filogenético al que pertenece es de patogenicidad desconocida. Por otro lado, las *Borrelia* spp. detectadas en *I. auritulus* s.l. pertenecen al grupo de *Borrelia burgdorferi* sensu lato, aunque esta especie de garrapata no se ha hallado nunca infestando a humanos.

En conclusión, las cuatro especies de garrapatas halladas son de importancia médica y veterinaria, dado que son vectores o participan en el ciclo de numerosos patógenos. Un papel destacado tienen las especies que pican a los humanos: *A. aureolatum*, *A. triste* y *Rh. sanguineus* s.s.

### **Epidemiological study of ticks in a protected urban area of Buenos Aires city.**

The aim was to study epidemiological aspects of ticks and tick-borne microorganisms in the Reserva Ecológica Costanera Sur of Buenos Aires city between 2011 and 2018.

One thousand, one hundred and sixty-eight ticks were collected from vegetation (454 of the species *Amblyomma aureolatum*, 635 *Ixodes auritulus* sensu lato and 79 *Amblyomma triste*), 120 from the birds (108 *I. auritulus* s.l. and 12 *A. aureolatum*), 104 from dogs (101 *A. aureolatum*, 2 *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto and 1 *A. triste*), 1 *A. aureolatum* in a work hut and 1 *A. triste* from RECS staff.

By PCR, 0.2% were positive to the *Rickettsia* genus, 0.3% to the Anaplasmataceae family and 2.9% to the *Borrelia* genus. In addition, one rodent (*Oligoryzomys flavescens*) (1/203) was positive for *Neorickettsia risticii*.

The existence of a new species of *Borrelia* in *A. aureolatum* is of relevance since this tick infests dogs and humans, although the phylogenetic group to which it belongs is of unknown pathogenicity. On the other hand, the *Borrelia* spp. detected in *I. auritulus* s.l. belong to the *Borrelia burgdorferi* sensu lato group, but this tick was never found infesting humans.

In conclusion, the four ticks specie found are of medical and veterinary importance, since they are vectors or participate in the cycle of numerous pathogens. A prominent role have the species that bite humans: *A. aureolatum*, *A. triste* and *Rh. sanguineus* s.s.

# 1. Introducción

---

## 1.1. Prolegómenos

El estudio de los mecanismos ecológicos, evolutivos, sociales, económicos y epidemiológicos que facilitan la persistencia y el surgimiento de las enfermedades infecciosas endémicas permite desarrollar sistemas de alerta temprana para conocer mejor el riesgo en animales y personas, y reducir el número de enfermos (Karesh y col., 2012; Wilcox y Colwell, 2005; Wilcox y Gubler, 2005).

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos de vertebrados (con excepción de los peces) que causan diversas patologías como dermatosis, anemia, toxemia (incluyendo parálisis), pérdida de ganancia de peso, facilitan la ocurrencia de miasis e infecciones bacterianas secundarias, y son consideradas junto con los mosquitos como los más importantes artrópodos vectores de agentes patógenos: virus, bacterias, protozoos y nematodos (Institute of Medicine, 2011; Jongejan y Uilenberg, 2004; Munderloh y Kurtti, 2010; Nava y col., 2017; Sonenshine y col., 2002). Actualmente con el desarrollo de la biología molecular, nuevas especies, cepas o variantes genéticas de microorganismos están siendo detectados en las garrapatas en todo el mundo (Dantas-Torres y col., 2012; Parola y Raoult, 2001).

## 1.2. Garrapatas duras (Familia Ixodidae)

Las garrapatas pertenecen al phylum Arthropoda, clase Arachnida, subclase Acari, orden Parasitiformes, suborden Ixodida, y comprenden aproximadamente unas 910 especies dentro de tres familias: Argasidae (garrapatas blandas), Ixodidae (garrapatas duras) y Nuttalliellidae (representada por una sola especie en África) (Barros-Battesti y col., 2013; Guglielmono y Nava, 2014; Nava y col., 2017). La familia Ixodidae se divide en dos grupos: Prostriata (género *Ixodes*) y Metastriata (el resto de los géneros), de acuerdo a las características morfológicas (Nava y col., 2009, 2017a; Parola y Raoult, 2001).

En Argentina habitan numerosas especies de garrapatas duras de los géneros *Amblyomma* (24 especies), *Dermacentor* (1), *Haemaphysalis* (2), *Ixodes* (10) y *Rhipicephalus* (2) (Lamattina y col., 2018a; Nava y col., 2017). La mayoría se encuentra en la región biogeográfica del Chaco, seguida por el dominio Amazónico y el Andino-Patagónico. De las especies presentes en el país, 19 especies del género *Amblyomma*, las dos especies de *Haemaphysalis* y las dos especies *Rhipicephalus* fueron determinadas sobre humanos (Nava y col., 2017). En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) se notificó la presencia de 4 especies de garrapatas:

*Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto (Cicuttin, 2008), *Ixodes auritulus* sensu lato<sup>1</sup> (Cicuttin, 2016), *Amblyomma aureolatum* (Cicuttin y col., 2013a) y *Amblyomma triste* (Cicuttin y col., 2013a), las últimas dos exclusivamente en la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS).

Anatómicamente las garrapatas de la familia Ixodidae tienen un tamaño de 2 a 30 mm, los adultos y ninfas tienen cuatro pares de patas, y las larvas tienen tres pares. La parte anterior del cuerpo (capítulo) presenta las piezas bucales, incluidos los órganos sensoriales, las piezas de corte y un órgano inmóvil a nivel medio (hipostoma) con numerosos dientes curvados que ancla la garrapata a la piel del hospedador. En el dorso poseen un escudo rígido (de ahí su nombre de garrapatas duras), que se extiende por toda la superficie dorsal del macho, mientras que en la hembra sólo ocupa una pequeña porción detrás de la cabeza. Muchas garrapatas carecen de ojos, e incluso cuando los ojos están presentes, es dudoso que permitan una percepción detallada del entorno. Las garrapatas tienen una variedad de órganos sensoriales periféricos que incluyen estructuras parecidas a pelos en el cuerpo, patas y partes de la boca y un complejo sensorial situado en la superficie dorsal del tarso de la pata I que contiene un conjunto de receptores olfativos y gustativos (órgano de Haller). Estos órganos sensoriales son evidentemente importantes para localizar a sus hospedadores y comunicarse entre sí (Boero, 1957; Nava y col., 2017; Parola y Raoult, 2001; Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994). Las garrapatas son muy sensibles a estímulos que indiquen la presencia de hospedadores: estímulos químicos (como el CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, fenoles, humedad y químicos aromáticos), vibraciones en el aire y temperaturas corporales asociadas a los animales de sangre caliente (Parola y Raoult, 2001; Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994).

El ciclo completo de vida (huevo, larva, ninfa, adulto) puede durar entre 1 y 3 años, según la especie y la latitud, dado que depende de condiciones ambientales, como la temperatura, la humedad relativa y el fotoperiodo (Dantas-Torres y col., 2012; Munderloh y Kurtti, 2010; Parola y Raoult, 2001; Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994; Vu Hai y col., 2014). La hembra pone todos sus huevos en un sólo lote en lugares protegidos y muere poco tiempo después. La larva recién eclosionada sube al hospedador y, después de alimentarse, muda y se transforma en ninfa. Luego de un nuevo período de alimentación, muda otra vez y se transforma en imago o adulto. Los machos y hembras copulan (en Metastriata la cópula ocurre usualmente sobre el hospedador, mientras que en Prostriata puede ocurrir fuera del hospedador), la hembra se alimenta, abandona el hospedador y busca un lugar apropiado para depositar los huevos. Los machos Metastriata permanecen más tiempo en el hospedador

---

<sup>1</sup>*Ixodes auritulus* es considerada un complejo de especies (Nava y col., 2017).

alimentándose intermitentemente. Además, algunas especies sólo tienen hembras que se reproducen partenogénicamente (Nava y col., 2017; Parola y Raoult, 2001; Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994).

Los ixódidos se pueden clasificar de acuerdo al número de hospedadores que requieren para su ciclo biológico: a) garrapatas de un hospedador, donde los tres estadios se alimentan en el mismo hospedador y donde también tienen lugar las dos mudas (p. ej., *Rhipicephalus – Boophilus- microplus*); b) garrapatas de dos hospedadores, donde la larva se alimenta y muda en el hospedador, la ninfa lo abandona después de alimentarse, muda en el suelo y el imago busca un nuevo hospedador (p. ej., algunas especies de *Rhipicephalus*); y c) garrapatas de tres hospedadores que requieren un hospedador para cada uno de los estadios (p. ej. *Rh. sanguineus* s.s.), siendo la gran mayoría de las especies (Boero, 1957; Nava y col., 2017; Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994). Las garrapatas de mayor importancia para la salud humana son de tres hospedadores, que comúnmente utilizan hospedadores silvestres durante las fases de larva y ninfa, y de este modo, actúan como “vectores-puente” entre los hospedadores animales, que por lo general no se ven afectados por el patógeno, y los seres humanos que son hospedadores finales y sufren la enfermedad (Munderloh y Kurti, 2010).

La búsqueda de hospedadores se realiza mediante al menos dos estrategias. Algunas especies de garrapatas trepan sobre las malezas, pastos, arbustos u otra vegetación para esperar el paso de los hospedadores, y al ser estimuladas por la presencia de un hospedador, extienden sus patas delanteras anterolateralmente (comportamiento *questing*) y se aferran al pelo, plumas o ropa del hospedador. Mientras que otras especies presentan comportamiento cazador (*hunting*), saliendo de su refugio cuando son excitadas por los olores del hospedador y lo buscan activamente (Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994).

Los ixódidos se encuentran en muchos hábitats terrestres, que van desde los bosques fríos y húmedos a los desiertos cálidos y áridos. Cada especie, sin embargo, se ha adaptado a tipos específicos de hábitats donde generalmente se encuentran en mayor abundancia (Sonenshine y col., 2002; Sonenshine y Mather, 1994). Desde un enfoque evolutivo, las restricciones impuestas por la biogeografía y la especificidad ecológica, conducen a los patrones de asociación con hospedadores más que la especificidad con un hospedador dado. Esto no es sorprendente, dada la baja especificidad de la mayoría de las relaciones garrapatas-hospedadores. Algunas especies de garrapatas muestran especificidad de hospedador variable en cada nivel taxonómico, otras se limitan únicamente a determinadas clases de vertebrados, otras en gran parte a órdenes particulares dentro de las clases (por ejemplo, carnívoros, artiodáctilos, roedores), y pocas son especie-específicas. Por lo tanto, las garrapatas pueden



verse como oportunistas, limitadas por restricciones abióticas, y por características físicas, de comportamiento e inmunológicas de los vertebrados, lo que determina la distribución diferencial de garrapatas entre sus especies hospedadoras (Randolph, 2004). Esto tiene consecuencias importantes para la potencial transmisión de patógenos, dado que las especies de vertebrados son diferencialmente competentes para transmitir diversos patógenos, entonces la distribución de las garrapatas entre diferentes especies hospedadoras tendrá un impacto diverso en la multiplicación de los patógenos. Incluso se ha sugerido que los hospedadores no competentes podrían tener un efecto “profiláctico” zoológico al disminuir la prevalencia de la infección en la población de garrapatas (Parola y Raoult, 2001; Randolph, 2004).

La densidad de garrapatas en un ambiente dado está determinada por distintos factores, aunque el número de los hospedadores primarios en una región parece determinar el promedio alrededor del cual fluctúa el número de garrapatas (Institute of Medicine, 2011). Por lo tanto, las actividades humanas pueden contribuir a la expansión, tanto por la modificación del hábitat, así como mediante la alteración de las poblaciones de hospedadores y su composición. Los cambios en los patrones de uso de la tierra han favorecido el establecimiento y la expansión de las garrapatas en la interfaz urbano/rural y proporcionaron un nuevo hábitat para los hospedadores silvestres altamente adaptables, así como nuevos hospedadores representados por los animales domésticos (Dantas-Torres y col., 2012; Munderloh y Kurtti, 2010; Vu Hai y col., 2014). En cuanto a la dispersión de garrapatas, si bien las poblaciones de hospedadores silvestres (especialmente aves) pueden migrar muchos kilómetros, movilizando garrapatas (y sus patógenos) de un área a otra, la dispersión relacionada al humano, fundamentalmente a través del movimiento de animales domésticos, ha sido el mecanismo más eficaz de dispersión como lo demuestra la historia de las dos especies (o grupo de especies) de garrapatas a nivel mundial que tienen la más amplia distribución: *Rh. microplus* y *Rh. sanguineus* (EFSA, 2010; Munderloh y Kurtti, 2010).

### **1.3. Microorganismos patógenos transmitidos por garrapatas**

Las garrapatas se han reconocido como parásitos desde hace miles de años, pero el potencial para transmitir patógenos se demostró recién a finales del siglo XIX, cuando Smith y Kilbourne probaron que *Boophilus annulatus* transmitía el protozoo *Babesia bigemina*. A principios del siglo XX, las garrapatas fueron implicadas como vectores de patógenos bacterianos a los humanos: se describió la fiebre recurrente causada por *Borrelia duttonii* y transmitida por

*Ornithodoros moubata* (garrapata blanda) y Ricketts demostró que la garrapata *Dermacentor andersoni* estaba involucrada en la transmisión de *Rickettsia rickettsii*, el agente de la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. En 1910, los primeros casos de Fiebre Maculosa del Mediterráneo fueron reportados en Túnez y en 1930 se estableció el papel de *Rh. sanguineus* en la transmisión de esta enfermedad. En 1929, Francis describe la epidemiología de la tularemia y el papel de los artrópodos hematófagos, incluyendo las garrapatas, en su transmisión. A principios del siglo XX, Cowdry demostró también la asociación de bacterias no patogénicas (endosimbiontes) con las garrapatas. Después de la Segunda Guerra Mundial, una serie de enfermedades virales, bacterianas y protozoarias transmitidas por garrapatas se describieron en los animales y en los seres humanos. En la década de 1980, fue descrita la enfermedad de Lyme debido a *Borrelia burgdorferi* sensu lato, actualmente considerada la enfermedad por vectores más importante en Europa y Estados Unidos. Hacia finales del siglo XX, una serie de nuevas rickettsiosis transmitidas por garrapatas se han registrado en todo el mundo, y las bacterias del género *Ehrlichia* comenzaron a ser reconocidas como patógenos humanos (Narasimhan y Fikrig, 2015; Parola y Raoult, 2001).

Es así que con el desarrollo de la biología molecular, nuevas especies, cepas o variantes genéticas de estos microorganismos están siendo detectadas en las garrapatas en todo el mundo, y la lista de posibles agentes patógenos transmitidos por garrapatas sigue aumentando. Algunos de estos agentes, como *Rickettsia slovacica*, *Rickettsia parkeri* y *Rickettsia massiliae*, fueron identificados en garrapatas, años o décadas antes de que se asociaran con enfermedades humanas. Sin embargo, a pesar de la enorme contribución de la biología molecular para el descubrimiento de nuevas especies bacterianas asociadas a garrapatas, los datos deben ser interpretados con cautela (Dantas-Torres y col., 2012).

Los ixódidos tienen atributos que mejoran su potencial como vector, dado que se alimentan por períodos relativamente largos (días), durante el cual permanecen firmemente unidos al hospedador. A su vez, la alimentación puede implicar una gran variedad de vertebrados que ocupan hábitats muy diversos (Parola y Raoult, 2001).

Cox y col. (2011) definen competencia vectorial como la susceptibilidad intrínseca que tiene una especie de artrópodo a adquirir e infectarse con un microorganismo, y posteriormente replicarlo y transmitirlo. Esto implica la alimentación del vector artrópodo en un hospedador vertebrado en el que circula el patógeno y la realimentación posterior en un hospedador susceptible no infectado (Reisen, 2002). A su vez, la capacidad vectorial está dada por factores extrínsecos e intrínsecos que le permiten al vector transmitir el patógeno en determinadas condiciones espacio-temporales (Marquardt, 2005).

### 1.3.1. Bacterias patógenas transmitidas por garrapatas

Entre las enfermedades bacterianas más importantes transmitidas por garrapatas a los animales domésticos y humanos se encuentran las rickettsiosis, ehrlichiosis, anaplasmosis y borreliosis (Nava y col., 2017; Randolph, 2004). Las garrapatas pueden infectarse cuando se alimentan de animales con bacteriemia o por transmisión transtadial y transovárica. Las rickettsias al multiplicarse en casi todos los órganos y fluidos de garrapatas, en particular, las glándulas salivales y los ovarios, logran la transmisión durante la alimentación y transováricamente, respectivamente, mientras que otras bacterias pueden transmitirse transováricamente pero no infectan las glándulas salivales y por consiguiente no pueden entonces ser transmitidas a hospedadores susceptibles. Por otra parte, la garrapata dura se alimenta una sola vez en cada estadio, y las bacterias adquiridas por una garrapata durante la alimentación se pueden transmitir a otro hospedador sólo cuando la garrapata ha mudado a su siguiente etapa de desarrollo; aunque no todas las especies son capaces de transmitir bacterias transtadialmente, p.e., no todas las especies de *Ixodes* que adquieren *B. burgdorferi*, pasan el agente transtadialmente. Cuando las bacterias (p.e., algunas especies de rickettsias) se transmiten tanto transtadialmente como transováricamente, esta garrapata será también el reservorio de las bacterias, y la distribución de la enfermedad causada por la bacteria será idéntica a la de su hospedadora garrapata. Además, las garrapatas pueden infectarse con bacterias por co-alimentación (*co-feeding*): cuando varias garrapatas se alimentan en estrecho contacto puede ocurrir propagación directa de bacterias de una garrapata infectada a una no infectada. Finalmente, en algunas especies de rickettsias y borrelias se comprobó transmisión sexual de las bacterias desde una garrapata macho infectada a una hembra (Parola y Raoult, 2001).

Las consecuencias de las infecciones bacterianas en la garrapata son poco conocidas, pero se ha reportado que en las garrapatas infectadas con *R. rickettsii* baja la fecundidad y ocurre alta mortalidad. Además, aún no se conoce con certeza si las propiedades de las bacterias (p.e. virulencia) pueden cambiar por el pasaje en las garrapatas: *B. duttonii* pierde patogenicidad después de repetidos pasajes transováricos en *O. moubata*, y *R. rickettsii* pierde su virulencia en cobayos cuando las garrapatas son sometidas a estrés fisiológico (Parola y Raoult, 2001).

En adición a los patógenos que transmiten, numerosas bacterias endosimbiontes presentan relaciones de comensalismo, mutualismo o parasitismo con las garrapatas. Distintos estudios sugieren que estas bacterias asociadas pueden modular la capacidad vectorial de las garrapatas, la reproducción y la alimentación, y podrían proporcionar herramientas para prevenir la transmisión de patógenos (Estrada-Peña y col., 2013; Institute of Medicine, 2011; Munderloh

y Kurtti, 2010; Narasimhan y Fikrig, 2015). Los endosimbiontes también pueden ser transmitidos transováricamente y muchas especies resultan muy cercanas filogenéticamente a bacterias patógenas, lo que sugiere la posibilidad de ancestros en común y que bajo circunstancias desconocidas un endosimbionte puede emerger como un nuevo patógeno de vertebrados. Por otra parte, la infección de la garrapata con determinados endosimbiontes se ha sugerido que puede servir como barrera para la infección con patógenos relacionados (Narasimhan y Fikrig, 2015). A su vez, las garrapatas también son colonizadas por otros microorganismos adquiridos desde los animales durante la ingesta de sangre o desde el suelo y plantas mientras están fuera del hospedador. Por ello, existe una considerable variación por etapas del ciclo de la garrapata y por estar ingurgitada o no, pero en general, ninfas y hembras ingurgitadas albergaban mayor diversidad bacteriana, lo que sugiere que la ingesta de sangre ejerce un impacto importante en la diversidad microbiana de la garrapata (Estrada-Peña y col., 2013; Institute of Medicine, 2011; Munderloh y Kurtti, 2010; Narasimhan y Fikrig, 2015).

La probabilidad de que un hospedador esté expuesto a un patógeno que causa una enfermedad transmitida por garrapatas (ETG) se puede expresar como  $P_e = 1 - (1 - k_v)^n$ , donde  $P_e$  es la probabilidad de ser picado por al menos un vector infectado,  $k_v$  es la proporción de vectores infectados con el patógeno y  $n$  es el número de picaduras del vector. Cuando los resultados se representan gráficamente para diferentes tasas de infección, aparece una curva asintótica, p.e., con una tasa de infección del 25% y probabilidad de 5 a 10 picaduras de garrapatas, la probabilidad de exposición resulta cercana a 1. Sin embargo, la adquisición de una ETG es el resultado de un proceso doble de exposición e infección (Institute of Medicine, 2011; Randolph, 2004).

Las ETG zoonóticas entonces son el resultado de la interacción de la biología de la garrapata (hospedador/es, clima y especies), los factores de exposición a la garrapata (p.e., lugar de residencia, ocupación y actividades recreativas) y la biología humana (p.e., edad y género). La región geográfica de residencia es de vital importancia debido a que la presencia de ETG es altamente dependiente geográficamente (porque depende de la garrapata vectora). En términos de ocupación, las personas que trabajan al aire libre están en mayor riesgo de exposición, aunque diferentes ocupaciones al aire libre varían en su riesgo, p.e., los trabajadores al aire libre en general mostraron tener un riesgo mayor para la enfermedad de Lyme, los agricultores para la encefalitis transmitida por garrapatas y los leñadores para la enfermedad de Lyme, encefalitis y anaplasmosis. Las actividades recreativas también pueden aumentar el riesgo de exposición debido a que muchas actividades se desarrollan en el entorno de la garrapata y en algunos casos, la preferencia del tipo de actividad y la habilidad para desarrollarla, puede influir en el nivel

de riesgo asociado, p.e., los “malos” golfistas corren un mayor riesgo de ehrlichiosis debido a que pasan mayor cantidad de tiempo en el pasto más alto, en comparación con los que juegan relativamente mejor que están más tiempo en el césped cuidado y cortado. Finalmente, las relaciones entre especies también pueden influir en la exposición a la enfermedad. Los dueños de animales de compañía pueden estar en mayor riesgo debido a las garrapatas que transportan esos animales al hogar. Por otra parte, la evidencia ha demostrado que la práctica de medidas de protección personal, tales como el uso de mangas largas y pantalones largos, pantalones dentro de las botas, y uso de repelentes, puede reducir el riesgo de exposición hasta en un 93%. La exposición a la garrapata es una parte necesaria aunque no suficiente para el desarrollo de la enfermedad, ya que un individuo necesita ser infectado por el agente patógeno (Dantas-Torres y col., 2012; Fischhoff y col., 2019; Institute of Medicine, 2011).

#### **1.3.1.1. Género *Rickettsia***

Las rickettsiosis son causadas por bacterias intracelulares obligadas del género *Rickettsia* (familia Rickettsiaceae, orden Rickettsiales, filo Proteobacterias) que tienen tropismo por las células endoteliales y su patogenia se debe a la lesión de las mismas, causando vasculitis, microhemorragias, aumento de la permeabilidad vascular, edema y activación de los mecanismos de inflamación y coagulación. En los últimos 20 años se han descrito aproximadamente 60 nuevas especies de rickettsias (Venzal y Nava, 2011). El género se clasifica en cuatro grupos: i) fiebres manchadas (p.e. *R. rickettsii*), transmitido principalmente por garrapatas duras; ii) de transición, que incluye a *Rickettsia felis* y *Rickettsia akari*, transmitidas por pulgas y ácaros respectivamente; iii) fiebres tíficas, *Rickettsia typhi* y *Rickettsia prowazekii*, transmitidas por pulgas y piojos respectivamente; y iv) un grupo ancestral que incluye a *Rickettsia bellii* y *Rickettsia canadensis*, transmitido principalmente por garrapatas (Cicuttin, 2014).

El grupo de las fiebres manchadas puede presentar ciclos enzoóticos o epizoóticos con la participación de vertebrados, pero las garrapatas son generalmente el principal reservorio y vector de estos patógenos en la naturaleza, dada la habilidad de las rickettsias para sobrevivir en las mismas y transmitirse en forma transtadial y transovárica. En los últimos tiempos se ha producido un incremento en la ocurrencia de rickettsiosis en áreas urbanas, reconociéndose nuevos patógenos humanos (*R. massiliae*), y, además, patógenos relacionados con áreas silvestres comenzaron a detectarse en ambientes urbanos y periurbanos, tal como *R. rickettsii* y *R. parkeri*, principalmente debido a que vertebrados reservorios y ectoparásitos vectores

comenzaron a ser frecuentes en las ciudades, especialmente en áreas urbanas protegidas e interfases urbano-rural (Cicuttin, 2014).

En Argentina, este género ha sido muy estudiado desde principios del siglo XXI, detectándose diversas especies de *Rickettsia* en garrapatas principalmente de los géneros *Amblyomma* y *Rhipicephalus*, y *R. felis* en pulgas del género *Ctenocephalides*. Cuatro de estas especies (*R. rickettsii*, *R. parkeri* sensu stricto, *R. parkeri* cepa Mata Atlántica y *R. massiliae*) son reconocidas como patógenas para los humanos (Venzal y Nava, 2011). *Rickettsia rickettsii* se encuentra asociada al complejo *Amblyomma cajennense* (*Amblyomma sculptum* y *Amblyomma tonelliae*) con ocurrencia de casos humanos en Salta y Jujuy (de la Fuente y Sanchez, 2018; Paddock y col., 2008). *Rickettsia parkeri* s.s. es transmitida por *Amblyomma triste* y *Amblyomma tigrinum*, vectores con características ecológicas diferentes, y notificación de casos en gran parte del país (Romer y col., 2014, 2011). *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlántica está asociada a *Amblyomma ovale* (Lamattina y col., 2018b) y se reportó un caso sospechoso en Misiones (Vizcaychipi y col., 2019). *Rickettsia massiliae* fue hallada en CABA (Cicuttin y col., 2004, 2014a), Bahía Blanca (Buenos Aires) (Cicuttin y col., 2014b) y Mendoza (Monje y col., 2016), con un caso humano confirmado en CABA (García-García y col., 2010).

### **1.3.1.2. Géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma***

Las ehrlichiosis y anaplasmosis son causadas por bacterias intracelulares obligadas de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*, respectivamente (familia Anaplasmataceae, orden Rickettsiales, filo Proteobacterias). Residen dentro de vacuolas citoplasmáticas, por separado o más frecuentemente en inclusiones compactas (mórulas), presentes en las células hematopoyéticas maduras o inmaduras, en la sangre periférica o en los tejidos de hospedadores. Son agentes etiológicos de enfermedades de perros y otros cánidos, humanos y rumiantes (vacas, cabras, ovejas, llamas y ciervos). Dentro del género *Ehrlichia* se destacan las especies *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia ewingii*, la primera transmitida por *Rh. sanguineus* s.l. y las otras dos por garrapatas del género *Amblyomma* (Dumler y col., 2001). El género *Anaplasma* incluye especies de importancia sanitaria como *Anaplasma phagocytophilum* (transmitida por garrapatas *Ixodes*), *Anaplasma marginale* (secundariamente por *Rhipicephalus*) y *Anaplasma platys* (por *Rh. sanguineus* s.l.) (Dumler y col., 2007, 2001; Mangold y Mastropaolo, 2013).

El género *Ehrlichia* en Argentina ha sido poco estudiado. En una encuesta serológica en la provincia de Jujuy se detectaron anticuerpos reactivos contra *E. chaffeensis* en sueros humanos, aunque se debe considerar la existencia de reacciones cruzadas entre las distintas especies

(Ripoll y col., 1999). Posteriormente se detectó molecularmente *E. chaffeensis* -o una especie cercana- en garrapatas *Amblyomma parvum* de Santiago del Estero (Monje y col., 2018; Tomassone y col., 2008), en *Amblyomma tigrinum* de San Luis (Cicuttin y col., 2017a) y en ciervos de los pantanos *Blastocerus dichotomus* de Corrientes y Buenos Aires (Guillemi y col., 2019). En *A. tigrinum* de Córdoba también fue detectada otra especie de ehrlichia no asociada a enfermedad humana (Cicuttin y col., 2017a). *Ehrlichia canis* ha sido detectada en perros con signos compatibles del área metropolitana de Buenos Aires (Cicuttin y col., 2016; Eiras y col., 2013), así como en garrapatas *Rh. sanguineus* del norte del país y de Buenos Aires (Cicuttin y col., 2015a, 2015b, 2017b). De *E. ewingii* no se encuentran antecedentes para el país. Respecto a casuística en humanos, sólo en Córdoba se notificó un supuesto caso de ehrlichiosis en un niño, sin embargo, la metodología utilizada no permite confirmarlo fehacientemente (Halac, 2016).

Respecto al género *Anaplasma*, *A. marginale* se encuentra en el norte y centro de Argentina asociada a rodeos bovinos (Mangold y Mastropaolo, 2013) y *A. platys* ha sido detectada en el área metropolitana de Buenos Aires (Cicuttin y col., 2011b; Eiras y col., 2013), Bahía Blanca –provincia de Buenos Aires- (Cicuttin y col., 2014b), Salta (Cicuttin y col., 2015b), Corrientes (Oscherov y col., 2011), Mendoza (Linares, comunicación personal), Córdoba (Cicuttin y col., 2017a; Mascarelli y col., 2016) y Santa Fe (Mascarelli y col., 2016). También se encuentra *Anaplasma centrale*, de origen africano, que se utiliza para la inmunización de los bovinos contra la anaplasmosis (Mangold y Mastropaolo, 2013). No hay reportes de presencia de *A. phagocytophila* u otras especies de anaplasmas.

### **1.3.1.3. Género *Borrelia***

Las borreliosis son causadas por bacterias con forma de espiroquetas gram-negativas del género *Borrelia* (familia Spirochaetaceae, orden Spirochaetales, filo Spirochaetes). Tradicionalmente ha sido clasificado en dos grandes grupos: Enfermedad de Lyme (GEL) – *B. burgdorferi* s.l.- transmitidas principalmente por garrapatas del género *Ixodes*; y Fiebre Recurrente (GFR), transmitidas por garrapatas blandas principalmente, y también por unas pocas especies de garrapatas duras y el piojo humano (Adeolu y Gupta, 2014; Takano y col., 2011; Talagrand-Reboul y col., 2018).

El GEL consiste en aproximadamente 18 genoespecies formalmente descritas. Los principales agentes causales de la enfermedad de Lyme son *B. burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia afzelii* y *Borrelia garinii*. Estos tres agentes son transmitidos por garrapatas del complejo *Ixodes ricinus* (*Ixodes pacificus* e *Ixodes scapularis* en EEUU, *Ixodes ricinus* en Europa e *Ixodes persulcatus*

en Europa y Asia) (Adeolu y Gupta, 2014; Takano y col., 2011; Talagrand-Reboul y col., 2018). Adicionalmente, GEL puede ser dividido en cuatro subgrupos según los hospedadores: a) especies adaptadas a mamíferos (p.e., *B. afzelii*); b) a aves (p.e., *B. garinii*, *Borrelia americana*); c) a reptiles (p.e., *Borrelia lusitaniae*); y d) especies sin hospedadores especializados (p.e., *B. burgdorferi* s.s.) (Mechai y col., 2016; Piesman y Gern, 2004; Rudenko y col., 2014). En Sudamérica se han detectado *Borrelia chilensis* y diferentes haplotipos de nuevas geno especies de *B. burgdorferi* s.l. en *Ixodes longiscutatus* de Brasil (Dall’Agnol y col., 2017), *Ixodes aragaoi* e *I. auritulus* de Uruguay (Barbieri y col., 2013; Carvalho y col., 2019), *Ixodes stilesi* e *I. auritulus* de Chile (Ivanova y col., 2014; Muñoz-Leal y col., 2019a), e *Ixodes pararicinus*, *Ixodes* sp. cf. *I. neuquenensis* e *Ixodes sigelos* de Argentina (Nava y col., 2014; Saracho Bottero y col., 2017).

Las espiroquetas del GFR son transmitidas por garrapatas blandas (GFR-GB) y duras (GFR-GD) y solamente *Borrelia recurrentis* es transmitida por piojos (*Pediculus humanus humanus*, piojo humano del cuerpo). Se conforman cuatro subgrupos de acuerdo a aspectos ecológicos: a) borrelias del Viejo Mundo (p.e., *Borrelia hispanica*); b) borrelias del Nuevo Mundo (p.e., *Borrelia turicatae*); c) borrelias aviares de distribución mundial (p.e., *Borrelia anserina*); y d) borrelias transmitidas por garrapatas duras de distribución mundial (p.e., *Borrelia miyamotoi*) (Cutler, 2010; Talagrand-Reboul y col., 2018). En Sudamérica este grupo ha sido poco estudiado, detectándose *Borrelia* spp. GFR-GB en garrapatas blandas del género *Ornithodoros* en Chile, Bolivia y Brasil (Muñoz-Leal y col., 2018, 2019b; Parola y col., 2011) y dentro de las GFR-GD se notificó *Borrelia theileri* en *Rh. microplus* y bovinos (Morel y col., 2019).

Por último, diferentes estudios plantean un tercer grupo en el género, denominado borrelias asociadas a reptiles (REP), también transmitidas por garrapatas duras, incluyendo hallazgos en garrapatas no asociadas a reptiles (Lee y col., 2014; Loh y col., 2016; Takano y col., 2011, 2010). Se detectó una *Borrelia* sp. de este grupo en *Amblyomma longirostre* de Brasil (Pacheco y col., 2019).

Respecto a la ocurrencia de casos humanos en Argentina, principalmente a principios del siglo XX se describieron casos humanos de fiebre recurrente (*B. recurrentis*) (Acha y Szyfres, 2003; Bernasconi, 1926), sin embargo la información disponible es muy limitada. Por otra parte, no está comprobada la ocurrencia de casos autóctonos de enfermedad de Lyme (Armitano y col., 2018).



## **1.4. Áreas urbanas protegidas**

En 1950 se estimaba que el 30% de las personas vivían en ciudades, pero ya en 2007 este porcentaje ascendió al 50%, hacia 2030 se proyecta el crecimiento de la población urbana de 3,6 mil millones a 5 mil millones, llegando a un 67 % de población urbana para 2050. La mayor parte del incremento ocurrirá en los países en vías de desarrollo, y lamentablemente la mayoría de estos nuevos habitantes urbanos vivirán en barrios pobres hacinados, a menudo en tierras marginales y peligrosas para la salud, sin saneamiento y sin acceso a agua potable (Elmqvist y col., 2013; Trzyna, 2014). Al mismo tiempo, la superficie designada como área protegida ha crecido de forma espectacular. En 1950 menos del 0,5% de la superficie terrestre estaba protegida y actualmente alcanza el 11,5%, con diferentes grados de protección (Elmqvist y col., 2013; Mcdonald y col., 2009; Trzyna, 2014). El crecimiento de las zonas urbanas por un lado y de las áreas protegidas por el otro, crea una tendencia hacia la proximidad cada vez mayor entre las zonas urbanas y las zonas protegidas (Mcdonald y col., 2009) con impactos negativos que incluyen la fragmentación del hábitat, los efectos de borde, el ruido, la luz, los conflictos humano-vida silvestre, la transmisión de patógenos, la introducción de especies exóticas invasoras, el fuego y la basura, entre otros (Mcdonald y col., 2009; Trzyna, 2014).

Las áreas urbanas protegidas (AUP) se definen como espacios geográficos claramente demarcados, reconocidos y manejados, dentro de un marco legal, que se encuentran dentro o limitando a grandes centros urbanos. Estas áreas son ecológicamente significativas, reflejan en su implementación procesos económicos, ambientales, técnicos y sociales, conservan la biodiversidad, influyendo en el clima local, protegiendo el suelo y el agua, y fundamentalmente resultan sitios ideales para la recreación, el ecoturismo y la educación (Trzyna, 2014). Presenta características algo diferentes a las de otras áreas protegidas, ya que suelen recibir un gran número de visitantes (y que las visitan con frecuencia, incluso diariamente), muchos de los cuales no han “experimentado” otras áreas protegidas remotas o “más salvajes”; por otra parte, los visitantes -de características netamente urbanas- suelen ser más diversos étnica, cultural y económicamente que las poblaciones que generalmente viven cerca o en otras áreas protegidas no urbanas. A su vez, estas áreas suelen hacer interactuar numerosos actores del ámbito urbano, tales como: organismos y funcionarios de gobiernos nacionales, regionales y locales, instituciones educativas, culturales y protectoras (ecologistas y proteccionistas de animales domésticos), y suelen tener una “cercanía” con los medios de comunicación y los líderes de opinión (Mcdonald y col., 2009; Trzyna, 2014).

Las AUP en general se encuentran amenazadas por la expansión urbana y la intensificación del desarrollo urbano (el interés económico-inmobiliario), incluso por infraestructuras planificadas como apertura de calles, construcción de edificios gubernamentales, vertederos de basura, antenas de radiodifusión, etc. Además se ven sumamente afectadas por el vandalismo, el desecho de basura y la contaminación lumínica y acústica que se origina en las zonas urbanas adyacentes. Por último, se encuentran sometidas a efectos de “borde urbano” como incendios frecuentes y graves, creación y uso de senderos ilegales, contaminación del agua, introducción de plantas y animales exóticos e invasores, pérdida de hábitat, conflictos entre los seres humanos y los animales silvestres, e invasión y abandono de gatos y perros (McDonald y col., 2009; Trzyna, 2014).

Las áreas protegidas, incluyendo las AUP, hacen una contribución vital para la salud del planeta y el bienestar humano, mediante la protección de los hábitats y de las especies en peligro de extinción. Pero las AUP son importantes también porque a menudo definen la identidad de una ciudad, ayudan a que la gente urbana valore la naturaleza en forma más amplia, son muy utilizadas para estudiar la naturaleza por las escuelas, universidades, grupos de jóvenes y grupos de adultos, como los observadores de aves, y ofrecen excelentes oportunidades para demostrar y promover el buen comportamiento ambiental; además, proporcionan beneficios propios de los ecosistemas como la reducción de la contaminación del aire y moderación del efecto de isla de calor urbano; refuerzan la protección y recuperación de espacios naturales; y apoyan la economía local aumentando el atractivo turístico de la ciudad (McDonald y col., 2009; Sportza, 2001; Trzyna, 2014).

Por último, los ecosistemas naturales protegidos tienden a tener un balance estable en la ecología de microorganismos-hospedadores-vectores, pero cuando se degradan -especialmente alrededor de los senderos, en los límites y en los lugares muy visitados- pueden facilitar la interacción entre agentes patógenos, vectores y hospedadores, y así crear las condiciones para la transmisión de microorganismos (Trzyna, 2014); además, los animales de compañía (principalmente perros y gatos) y sinantrópicos (como roedores) pueden servir como amplificadores de agentes zoonóticos y transportar y dispersar los ectoparásitos vectores entre un área protegida y las zonas urbanas linderas (Cicuttin, 2014). En ese sentido, la mayoría de las enfermedades infecciosas emergentes se producen debido a una ruptura de las barreras que limitaban anteriormente al área de distribución geográfica, al hospedador o al vector, del agente patógeno, y parecen florecer especialmente en ambientes alterados por el ser humano (Wobeser, 2002).

#### **1.4.1. Áreas urbanas protegidas y patógenos transmitidos por garrapatas**

La comprensión de la dinámica de las enfermedades transmitidas por vectores en los ambientes urbanos requiere la integración de procesos ecológicos y sociológicos que se relacionan con la dinámica de la población de los microorganismos, sus vectores y sus hospedadores en estos ecosistemas particulares (LaDeau y col., 2016). Los ambientes urbanos conforman mosaicos de hábitats para los vectores, que generan gradientes de transmisión relacionados especialmente a factores socioeconómicos de la población urbana (LaDeau y col., 2016).

Existe un incremento en los reportes sobre el establecimiento de garrapatas y sus patógenos en pequeñas áreas naturales en ambientes urbanos (LaDeau y col., 2016). Estas pequeñas áreas pueden incluso tener un elevado riesgo de exposición a patógenos transmitidos por garrapatas debido a una alta densidad de las garrapatas, relacionadas a un desequilibrio en la disponibilidad de hospedadores (LaDeau y col., 2016). Los ixódidos son comúnmente reportados en parques y áreas naturales urbanos, siendo la mayoría de los estudios realizados en Europa (Kowalec y col., 2017, 2019; LaDeau y col., 2016). Diversas investigaciones en pequeños fragmentos boscosos urbanos demostraron que la elevada densidad del ratón *Peromyscus leucopus* (asociada a la escasa presencia de predadores) se asocia al riesgo de transmisión de enfermedad de Lyme. También se encontró que la alta densidad de garrapatas y la elevada prevalencia de *B. burgdorferi* s.l. en las garrapatas estaba correlacionada negativamente con el tamaño del fragmento natural urbano o la riqueza de especies hospedadoras (Kowalec y col., 2017, 2019; LaDeau y col., 2016). Otros hallazgos evidencian que en una misma área urbana natural las garrapatas pueden estar infectadas con múltiples patógenos (Mancini y col., 2014).

Los parques y las áreas naturales urbanas presentan un estrecho contacto entre los animales domésticos (en especial de compañía) y los animales silvestres, siendo especialmente sensibles a la introducción o dispersión de ectoparásitos como las garrapatas, así como patógenos de los cuales pueden ser reservorios (Di Luca y col., 2013; Kowalec y col., 2017). Además, cabe resaltar la importancia de la introducción de animales exóticos que pueden aumentar el riesgo de transmisión tanto por ser hospedadores de la garrapata, así como del patógeno (LaDeau y col., 2016).

En Sudamérica, los estudios en áreas urbanas naturales son escasos. En un parque urbano de Londrina (Paraná, Brasil) se encontró *Amblyomma dubitatum* y *A. cajennense*, pero todas las garrapatas resultaron negativas al género *Rickettsia* (Toledo y col., 2011a, 2011b). Estrada y col. encontraron abundancia de *A. cajennense* y *Amblyomma cooperi* en un parque de Campinas (San Pablo, Brasil), detectando solamente *R. bellii* en las mismas (Estrada y col., 2006). La abundante presencia de carpinchos en ambos parques fue relacionada con la abundancia de

garrapatas y el riesgo de transmisión de *R. rickettsii* a los humanos (Estrada y col., 2006; Toledo y col., 2011a, 2011b). En Argentina, un sólo estudio ha sido llevado a cabo recientemente en otra área protegida de CABA, la Reserva Ecológica Ciudad Universitaria Costanera Norte (RECUCN), encontrándose solamente la presencia de *I. auritulus* s.l. (González y col., 2019).

### **1.5. Antecedentes en el área de estudio**

En la RECS se hicieron escasos muestreos previos no sistemáticos de garrapatas. En 2012 se colectaron tres especímenes de una habitación utilizada para los cuidados posteriores a la esterilización quirúrgica de perros vagabundos de la reserva, las cuales fueron identificadas como dos hembras de *Amblyomma aureolatum* y una hembra de *A. triste* (Cicuttin y col., 2013a). En ese mismo año, en un muestro de aves silvestres para estudio de patógenos zoonóticos se encontró una garrapata parasitando a un ejemplar de *Poospiza nigrorufa* -sietevestidos- que fue identificada como *A. aureolatum* (Cicuttin y col., 2013a) y dos garrapatas en dos *Turdus rufiventris* –zorzal colorado-, identificadas como *I. auritulus* s.l. y *A. aureolatum* (Cicuttin, 2016). No existen estudios previos de patógenos transmitidos por garrapatas en la RECS.

## **2. Hipótesis y objetivos del trabajo**

---

## 2.1. Hipótesis

El presente trabajo se desarrolló bajo la hipótesis de que las especies de garrapatas presentes en la RECS son vectores con capacidad potencial para transmitir microorganismos bacterianos (*Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Borrelia*) a los animales domésticos y al hombre.

## 2.2. Objetivo general

Estudiar aspectos epidemiológicos de las garrapatas (riqueza específica, distribución estacional, rol como potenciales vectores de microorganismos patógenos) y de los microorganismos patógenos transmitidos por garrapatas (diversidad, relevancia sanitaria) en la Reserva Ecológica Costanera Sur de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires en el período 2011-2018. A través de los estudios de la dinámica poblacional y de la prevalencia de infección con microorganismos, se espera determinar la importancia epidemiológica de las garrapatas y de las enfermedades transmitidas por garrapatas en un área lindante con el principal conglomerado humano de la Argentina.

## 2.3. Objetivos específicos

- 1) Determinar la riqueza específica y distribución estacional de las garrapatas presentes en la RECS.
- 2) Detectar molecularmente la presencia de especies de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia* en las garrapatas.
- 3) Detectar molecularmente la presencia de especies de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia* en roedores y aves que actúan como potenciales hospedadores de las garrapatas, para determinar si estos vertebrados pueden actuar como amplificadores o reservorios de microorganismos transmitidos por las garrapatas presentes en la RECS.
- 4) Caracterizar molecularmente los hallazgos y analizar filogenéticamente las secuencias positivas a los géneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia* para determinar las especies encontradas y si las mismas están asociadas a cepas reportadas como patógenas para los animales domésticos y humanos.

### **3. Materiales y Métodos**

---

### **3.1. Caracterización del área de estudio**

El clima de CABA es templado pampeano, con una temperatura media de 17°C y una precipitación anual de 1146 mm. A lo largo del siglo XX, al igual que en otras grandes ciudades del mundo a causa de la urbanización, las temperaturas de la ciudad han aumentado levemente debido a la isla de calor. Las precipitaciones también se han acrecentado desde 1973 (Equipo Interministerial de Cambio Climático, 2009; Servicio Meteorológico Nacional, 2019).

La RECS es un área urbana protegida de 353 hectáreas ubicada en CABA sobre terrenos ganados al Río de la Plata (34° 36' S; 58° 21' W) (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013) (Figura 1). El área donde se encuentra la RECS era río, siendo hasta fines del siglo XIX donde las embarcaciones fondeaban y los pasajeros eran bajados en botes a remo y luego en carretas por la ribera barrosa para arribar al espigón. Hacia comienzos del siglo XX se transformó en el balneario de la ciudad (aún hoy existen las explanadas para el ingreso al río –actualmente laguna de los Coipos-) y miles de porteños acudían a refrescarse (Figura 2). De este auge provino una larga decadencia desde fines de los 50s, hasta llegar a la prohibición de bañarse por la contaminación del río y el abandono total (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).

A principios de los 70s se impulsaron diversos proyectos para “ganar” tierras al río, frente a lo que fuera el antiguo balneario. A partir de 1978, con el objetivo de crear un área para mudar los edificios de la administración pública de Buenos Aires se comenzó a rellenar ese sector con escombros provenientes de las demoliciones de viviendas realizadas para abrir el trazado de las autopistas urbanas durante la última dictadura. Se construyeron terraplenes perimetrales (actualmente los caminos de la RECS) para poder ir drenando las áreas. Ese proyecto fue desestimado, aunque la descarga de escombros y tareas de relleno continuaron hasta 1984, pero a partir de ese año el área quedó completamente abandonada. Desde ese momento comenzaron a desarrollarse diversas comunidades vegetales que fueron favoreciendo el establecimiento de animales, siendo un área muy visitada por diversos organismos educativos y organizaciones no gubernamentales para el estudio de la naturaleza, quienes presionaron al gobierno para su protección (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).

Finalmente el 5 de julio de 1986, el Consejo Deliberante de la Ciudad de Buenos Aires sancionó la Ordenanza Municipal N° 41.247 que declaró al área “Parque Natural y Zona de Reserva Ecológica” e instrumentando la conservación. En 1989 con la ordenanza N° 43.609 se definió como “Área de Reserva Ecológica”. La Constitución de la Ciudad de Buenos Aires en su Capítulo IV – artículo 27 menciona expresamente las zonas de reserva ecológica, y la



preservación de su diversidad biológica. La RECS fue castigada con más de trescientos incendios, especialmente en la década del 90, la mayoría intencionales dado el valor inmobiliario de esas tierras. En 2005, la RECS fue designada “Sitio Ramsar” (el Convenio de Ramsar es un acuerdo internacional para la protección de humedales) y en 2008, Área de Importancia para la Conservación de Aves por Bird Life Internacional (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).

La RECS fue incorporada al Sistema Federal de Áreas Protegidas. Según las categorías establecidas a nivel internacional por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza se encuadra como un “Área de Manejo de Hábitat y Especies Concretas” (Categoría IV) requiriendo intervención activa para cumplir su objetivo de conservación del ecosistema, dado que no constituyen ecosistemas autosustentables, sino fragmentos de ellos, siendo espacios altamente vulnerables y fácilmente afectados por la presión humana (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).

La RECS se caracteriza por una gran cantidad de ambientes de origen artificial, como bañados, lagunas, pastizales, matorrales y bosques, además de las playas del Río de la Plata. La flora presenta algunas especies que tienen una severa reducción de hábitat, como *Cortaderia selloana* (cortadera), bosques de *Tessaria integrifolia* (aliso de río), junto con *Baccharis salicifolia* (chilca), diversas especies de *Solanum* y *Polygonum*, y gramíneas. También se encuentran numerosas especies que conforman las selvas en galería de las riberas de los ríos Paraná, Uruguay y afluentes. En las lagunas y orillas inundables se presenta *Schenoplectus californicus* (junco) y otras especies como *Ocotea acutifolia* (laurel blanco), *Citharexylum montevidense* (tarumá), *Erithryna crista-galli* (ceibo), *Salix humboldtiana* (sauce criollo) y *Sapium haemospermum* (curupí o lecherón) (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013) (Figura 1).

En diferentes épocas del año se han avistado aproximadamente más de 250 especies de aves, 9 de anfibios, 23 de reptiles y 10 de mamíferos. Las aves presentan la mayor diversidad de especies, destacándose el orden Passeriformes (p.e., *Hymenops perspicillatus* -pico de plata-, *Pitangus sulphuratus* -benteveo común-, *Tyrannus melancholicus* -suirirí real-, *Furnarius rufus* -hornero-, *Lepidocolaptes angustirostris* -chinchero chico-, *Mimus saturninus* -calandria-, *Sturnus vulgaris* -estornino pinto-, *Turdus rufiventris* -zorzal colorado-, *Poospiza nigrorufa* -sietevestidos-). Entre los mamíferos principalmente se destacan roedores de las familias Muridae (*Mus musculus*, ratón doméstico común), Cricetidae (*Oligoryzomys flavescens* -colilargo amarillo-, *Deltamys kempi* -ratón de hierba-) y Caviidae (*Cavia aperea*, cuis grande), y comadreas *Lutreolina crassicaudata* (comadreja colorada) y *Didelphis albiventris*

(comadreja overa). Además, un papel muy importante es jugado por los caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*) vagabundos, que circulan por toda la reserva y con barrios aledaños (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).



**Figura 1.** Fotografía aérea de la Reserva Ecológica Costanera Sur y los barrios aledaños Puerto Madero y Rodrigo Bueno. Autor: Observatorio Nacional de Biodiversidad.

Por último, es necesario resaltar que vecino a la RECS se encuentra el asentamiento Rodrigo Bueno. Este asentamiento se conformó a principios de la década del '80 con un pequeño grupo de personas pero a partir de la crisis de 2001-2002 el crecimiento de la población fue en ascenso, y actualmente se estima una cantidad aproximada de 700 familias. Las viviendas están construidas la mayoría con material, techo de madera y chapa, incluso con construcciones en altura. En cuanto a los servicios, poseen informalmente luz y agua pero carecen de desagües cloacales. En el barrio, si bien no hay una estimación precisa, se encuentran numerosos perros sueltos que circulan libremente entre el mismo y la RECS (Rodríguez, 2009). Desde 2016 ha comenzado un proyecto de urbanización con construcción de nuevas viviendas (incluso sobre parte del predio ex-Covimet) (Figura 2) (Instituto de la Vivienda, 2016).



**Figura 2.** Mapa de ambientes de la Reserva Ecológica Costanera Sur. Referencias: 1. Punto de encuentro; 2. Bosque de alisos; 3. Bosque de sauces; 4. Ceibal y juncal; 5. Pastizal; 6. Bañado; 7. Fuente de las Nereidas; 8. Espigón Plus Ultra; 9. Predio ex-Covimet. Fuente: Ministerio de Ambiente y Espacio Público del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

### 3.2. Objetivo 1) Garrapatas

**Determinar la riqueza específica y distribución estacional de las garrapatas presentes en la RECS**

#### 3.2.1. Muestreo de garrapatas

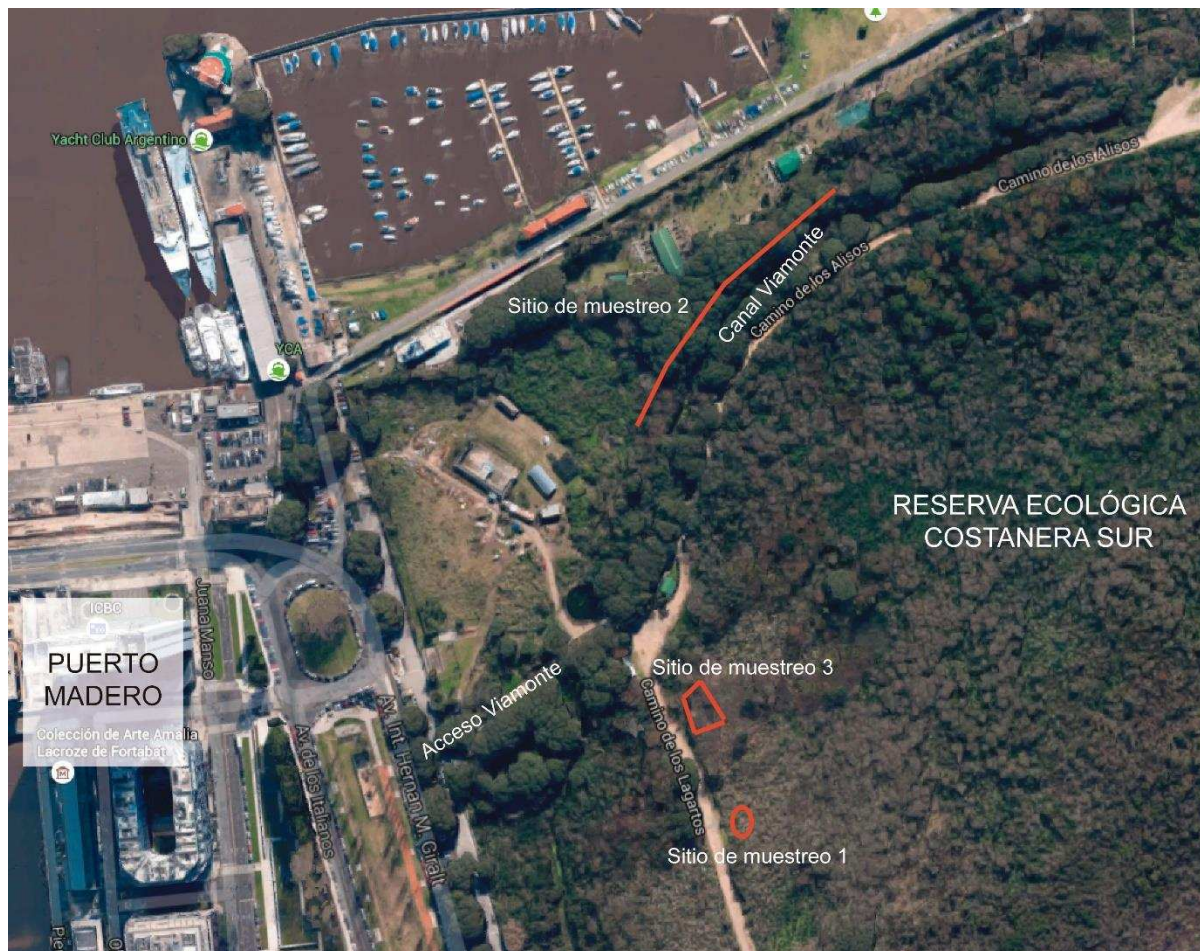
Las garrapatas tienen ciclos biológicos que se caracterizan, para muchas de las especies, por una distribución estacional secuencial de cada uno de los estadios. De esta manera, para coleccionar y determinar la presencia de cada uno de los estadios de una especie dada, es necesario realizar muestreos con frecuencia mensual que abarquen las distintas estaciones del año. La ecología de

las garrapatas es fundamental para conocer la variación espacial y temporal en el riesgo de infección por patógenos transmitidos por garrapatas. Debido a la biología de las garrapatas como parásitos que se alimentan de sangre, su entorno físico incluye al hospedador también. Además, las garrapatas son sólo parásitos intermitentes, pasando la mayor parte de su ciclo de vida libre dentro de su hábitat a merced de factores abióticos del ambiente. Las garrapatas toman una gran ingesta de sangre por cada etapa de la vida (larvas, ninfas y adultos), y a continuación se desarrollan a la siguiente etapa, lo que lleva semanas, meses o incluso años, dependiendo de numerosos factores ambientales (Randolph, 2004).

### **Vegetación**

Entre abril de 2013 y marzo de 2014 se colectaron mensualmente garrapatas de la vegetación de tres sitios de muestreo que fueron seleccionados de acuerdo a la accesibilidad y la factibilidad del método de muestreo, así como al posible tránsito y riesgo para las personas. El sitio 1 tenía características de cortaderal (34° 35' 59" S, 58° 21' 38" O), el sitio 2 era un bosque en una orilla del canal Viamonte (34° 35' 48" S, 58° 21' 39" O) y el sitio 3 fue un bosque en el cruce de dos caminos (34° 35' 54" S, 58° 21' 38" O). Los sitios 1 y 3 se encontraban linderos a lugares de acceso al público visitante, mientras que el sitio 2 se ubicaba más retirado, pero transitado por personal de la RECS (Figuras 2-4). La selección de estos sitios no hizo exhaustiva los distintos ecotopos presentes en la reserva.

El muestreo fue realizado mediante dos métodos, dado que algunas especies y/o estadios de garrapatas son más factibles de colectar según la metodología utilizada. En el sitio 1 se utilizó trampas de dióxido de carbono, las cuales consistieron en recipientes que producen dióxido de carbono, a través de la combinación de ácido cítrico, bicarbonato de sodio y agua, con un paño de 0,5 x 0,5 metros debajo. Las trampas se dejaron funcionar durante 3 horas y posteriormente se colectaron los especímenes del paño. Se construyeron 5 trampas que fueron ubicadas cada 5 metros. En los sitios 2 y 3 se utilizó el método bandera, el cual consistió en arrastrar un paño de 1 x 1,5 metros durante un periodo de tiempo de 30 minutos por cada sitio de muestreo, cada 10 metros la bandera fue revisada completamente y se colectaron los ejemplares atrapados (Figura 4).



**Figura 3.** Mapa de sitios del muestreo anual 2013-2014 de garrapatas de vegetación (líneas rojas). Fuente: elaboración propia con mapa obtenido de Google Earth.

Complementariamente se realizaron dos muestreos con método bandera en septiembre y octubre de 2018 recorriendo principalmente los caminos de acceso público de la RECS (Figuras 5 y 6).



**Figura 4.** Fotografías del muestreo anual 2013-2014 de garrapatas de vegetación por método bandera y trampas de dióxido de carbono. Autor: Gabriel Cicuttin.



**Figura 5.** Fotografías del muestreo complementario 2018. Autor: Gabriel Cicuttin.

### **Aves**

Entre julio de 2016 y mayo de 2017 se realizó captura de aves mediante redes de niebla durante muestreos estacionales de dos días en el área denominada ex-Covimet (Figuras 2, 6 y 7). La

extracción del ave de la red se realizó en primer lugar determinando el lado de la red por el que el ave entró, y posteriormente trabajando desde el lugar de entrada se retiró el ave paso a paso en el sentido contrario al que entró. Una vez extraídas de la redes, las aves fueron introducidas en bolsas de tela individuales y transportadas al lugar de procesamiento. La taxonomía de cada ave fue determinada de acuerdo a Narosky e Yzurieta (2010) y clasificada según Clements y col. (2017). Las aves capturadas fueron revisadas alrededor de los ojos, cuello, pico y abertura auricular para la colecta de garrapatas mediante pinza de disección delicada (Flores y col., 2014; Nava y col., 2011). Una vez procesadas fueron liberadas.



**Figura 6.** Mapa de sitios del muestreo complementario 2018 de garrapatas de vegetación (líneas rojas) y del muestreo de aves (círculo rojo). Fuente: elaboración propia con mapa obtenido de Google Earth.



**Figura 7.** Fotografías del muestreo de aves. Autor: Gabriel Cicuttin.



## **Roedores**

Los micromamíferos fueron capturados por la División Acciones Comunitarias para la Salud del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (IZLP) entre octubre de 2011 y febrero de 2015 mediante trampas tipo Sherman y tipo Tomahawk, aproximadamente 80 por noche, en muestreos de 4 días de duración, entre uno a dos muestreos por estación del año. En total se realizaron 28 muestreos de 4 noches de duración (112 jornadas) en el área de los muestreos de garrapatas de vegetación. Los especímenes fueron manipulados siguiendo las normas de bioseguridad (traje de bioseguridad con presión positiva, doble guante de látex) y de bienestar animal y eutanasiados con agente inhalatorio isofluorano. El reconocimiento de la muerte incluyó el cese del latido cardíaco y la respiración, ausencia de reflejos y disminución de la temperatura corporal. Los ejemplares fueron clasificados taxonómicamente siguiendo a Gomez Villafañe y col. (2005). Los cadáveres fueron conservados en etanol al 70 %.

Los especímenes fueron revisados bajo lupa estereoscópica buscando por todo el cuerpo del animal la presencia de garrapatas (Nava y col., 2011).

## **Caninos domésticos**

Entre abril de 2013 y julio de 2016, el personal de la RECS colectó en forma manual garrapatas sobre perros (*C. lupus familiaris*) con hábitos de vagabundeo en la RECS.

## **Otras muestras**

Entre los años de estudio también se obtuvieron muestras recolectadas de cabañas de trabajo y de personal de la RECS.

## **Conservación de los especímenes**

Todas las garrapatas colectadas se conservaron en etanol al 70% hasta su identificación taxonómica.

### **3.2.2. Clasificación taxonómica de las garrapatas**

Las garrapatas colectadas fueron identificadas siguiendo las claves y descripciones taxonómicas específicas de Nuttall (1916) y Nava y col. (2017), y por comparación con material de referencia depositado en la Colección de Garrapatas del INTA Rafaela.

### 3.3. Objetivos 2, 3 y 4) Patógenos bacterianos

-Detectar molecularmente la presencia de especies de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia* en las garrapatas, en roedores y en aves.

-Caracterizar molecularmente los hallazgos y analizar filogenéticamente las secuencias positivas a los géneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia*.

#### 3.3.1. Muestras

**Garrapatas.** Se procesaron en forma individual (adultos y ninfas) o en grupos de 1 a 10 ejemplares (larvas) según origen y fecha.

**Aves.** Se colectó sangre entera con anticoagulante EDTA de las aves capturadas (ver punto 3.2.1). La cantidad de sangre se extrajo según el peso corporal del ave (hasta 1 % del peso corporal) por punción de vena yugular o alar con aguja de calibre 30 y jeringa de 1 ml.

Complementariamente también se analizaron muestras derivadas por el personal de la RECS para diagnóstico de zoonosis al IZLP: órganos (bazo y/o hígado en pool) de aves halladas muertas (obtenidas entre 2014 y 2017) y muestras sanguíneas con EDTA (obtenidas entre 2012 y 2015). Las muestras se conservaron en microtubos de 1,5 ml libres de nucleasas a -70°C.

**Roedores.** De cada espécimen se obtuvo un pool de los siguientes órganos: bazo, hígado y pulmón. Las muestras se conservaron en microtubos de 1,5 ml libres de nucleasas a -70°C. Los roedores fueron capturados por la División Acciones Comunitarias para la Salud del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur (IZLP) entre octubre de 2011 y agosto de 2014 (ver punto 3.2.1).

#### 3.3.2. Extracción de ADN

Se extrajo el ADN mediante el *ZR Genomic DNA kit* (Zymo Research, Irvine, USA) y el *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche, Alemania) siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Como control negativo de extracción se utilizó agua libre de nucleasas.

#### 3.3.3. Reacción en cadena de la polimerasa

Todas las reacciones se realizaron siguiendo las indicaciones de los autores referenciados. Se utilizó 5 µl de ADN por reacción.

**Género *Rickettsia*.** La detección de *Rickettsia* spp. se realizó mediante una PCR simple para amplificar un fragmento de tamaño variable del espacio intergénico ARNr 23S-5S. La caracterización molecular de los hallazgos se realizó por PCR para fragmentos de distintos genes: *ompA*, *gltA* y *htrA* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cebadores utilizados para el género *Rickettsia*.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
Espacio intergénico	RCK/23-5-F	GATAGGTCRGRTGTGGAAGCAC	Jado y col., 2006
ARNr 23S-5S	RCK/23-5-R	TCGGGAYGGGATCGTGTGTTTC	
<i>ompA</i>	Rr190.70p	ATGGCGAATATTTCTCCAAA	Regnery y col., 1991
	Rr190.602n	AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT	
<i>gltA</i>	CS-239	GCTCTTCTCATCCTATGGCTATT AT	Pacheco y col., 2011
	CS-1069	CAGGGTCTTCGTGCATTTCTT	
<i>htrA</i>	17k-5	GCTTTACAAAATTCTAAAAACC ATATA	
	17k-3	TGTCTATCAATTCACAACTTGCC	

Fuente: Elaboración propia.

**Familia Anaplasmataceae - Géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*.** Se utilizaron cebadores para un fragmento codificante de ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae (Tabla 2). Este par de cebadores ha sido utilizado rutinariamente para detectar bacterias de esta familia, sin embargo, diversos estudios han demostrado que también detectan a un grupo de alfa-proteobacterias estrechamente relacionadas dentro del orden Rickettsiales (Parola y col., 2003; Venzal y col., 2008).

La caracterización molecular del género *Ehrlichia* se realizó por PCR para fragmentos de distintos genes: *dsb* (semianidada) y *groESL* (anidada), del género *Anaplasma* con cebadores para los fragmentos: *groESL* (anidada) y *gltA*, y del género *Neorickettsia* con cebadores para *p51* (anidada) (Tablas 3, 4 y 5).

**Tabla 2.** Cebadores utilizados para la Familia Anaplasmataceae.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
ARNr 16S	EHR16SD	GGTACCYACAGAAGAAGTCC	Parola y col., 2000
	EHR16SR	TAGCACTCATCGTTTACAGC	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 3.** Cebadores utilizados para el género *Ehrlichia*.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
	dsb-330	GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT	Aguiar y col., 2007
<i>dsb</i>	dsb-380	ATTTTATAGRGATTTTCCAATACTTGG	Almeida y col., 2013
	dsb-728	CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT	Aguiar y col., 2007
	HS1a	AITGGGCTGGTAITGAAAT	
	HS6a	CCICCIGGIACIAIACCTTC	
<i>groESL</i>	HS43	ATWGCWAARGAAGCATAGTC	Liz y col., 2000
	HSVR	CTCAACAGCAGCTCTAGTAGC	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 4.** Cebadores utilizados para el género *Anaplasma*.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
	EHR-CS136F	TTYATGTCYACTGCTGCKTG	Inokuma y col., 2001
<i>gltA</i>	EHR-CS778R	GCNCCMCCATGMGCTGG	
	HS1a	AITGGGCTGGTAITGAAAT	
	HS6a	CCICCIGGIACIAIACCTTC	
<i>groESL</i>	HS43	ATWGCWAARGAAGCATAGTC	Liz y col., 2000
	HSVR	CTCAACAGCAGCTCTAGTAGC	

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 5.** Cebadores utilizados para el género *Neorickettsia*.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
	51K-O-F	GGATCGATAACTGCGATGCT	
	51K-O-R	ACCGGCCTGACCACTAAAG	
<i>p51</i>	51K-I-F	TCCTATAATGGCACCAGTAGCG	Barlough y col., 1998
	51K-I-R	CCATCCGCAGTAGAGTTTGAG	

Fuente: Elaboración propia.

**Género *Borrelia*.** La detección de *Borrelia* spp. se realizó mediante una PCR anidada para un fragmento codificante del gen *fla* (Tabla 6). Posteriormente las muestras positivas fueron caracterizadas mediante una PCR anidada para un fragmento del ARNr 16S (Tabla 6).

**Tabla 6.** Cebadores utilizados para el género *Borrelia*.

Blanco	Nombre	Secuencia (5'-3')	Referencia
<i>fla</i>	Fla-LL	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT	Barbour y col., 1996
	Fla-RL	GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT	
	Fla-LS	AACAGCTGAAGAGCTTGGAATG	
	Fla-RS	CTTTGATCACTTTCATTCTAATAGC	
ARNr 16S	16S1A	CTAACGCTGGCAGTGCCTTAAGC	Richter y col., 2002
	16S1B	AGCGTCAGTCTTGACCCAGAAGTTC	
	16S2A	AGTCAAACGGGATGTAGCAATAC	
	16S2B	GGTATTCTTTCTGATATCAACAG	

Fuente: Elaboración propia.

**Controles de PCR.** Como controles positivos se utilizaron *Rickettsia conorii* (para el género *Rickettsia*), *Anaplasma centrale* (para la familia Anaplasmataceae) y *B. burgdorferi* s.s. (para el género *Borrelia*), y como control negativo se usó agua libre de nucleasas.

### 3.3.4. Electroforesis en gel de agarosa

Los productos obtenidos fueron visualizados en gel de agarosa al 1,5% en tampón TBE (Tris-ácido bórico-EDTA) en corrida electroforética a 100 V durante 45-60 minutos, con un marcador de peso molecular de 100 a 1500 pares de bases (Roche, Alemania).

### 3.3.5. Secuenciación

Los productos positivos a la PCR fueron purificados mediante columnas de extracción de ADN desde agarosa mediante *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega, Madison, EEUU) y posteriormente secuenciados en el Instituto de Biotecnología del INTA Castelar.

### 3.3.6. Análisis filogenético

La identificación específica de los productos de PCR se realizó a través de comparación de secuencias y creación de árboles filogenéticos. Las secuencias obtenidas se alinearon con

BIOEDIT SEQUENCE ALIGNMENT EDITOR (Hall, 1999) aplicando el programa CLUSTAL W (Thompson y col., 1994) y se compararon entre sí y con aquellas depositadas en el GenBank usando el programa MEGA versión 5.0 (Tamura y col., 2011). La elección del mejor modelo de sustitución nucleotídica se realizó con ModelTest utilizando el criterio de información de Akaike (Posada y Crandall, 1998). Se analizaron las relaciones evolutivas empleando el método de máxima verosimilitud (*maximun likelihood*) con el programa MEGA 5.0 (Tamura y col., 2011). Las diferencias en la composición de nucleótidos se analizaron excluyendo las posiciones con *gaps* entre los pares de secuencias y la fiabilidad de las filogenias se evaluó mediante el procedimiento de *bootstrap* con 1000 repeticiones.

### **3.4. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron codificados e ingresados a una base de datos usando el software Microsoft Excel. La estadística descriptiva se calculó para todas las variables. Para los grupos de larvas se calculó el nivel mínimo de infección como el número de grupos positivos sobre el total de larvas. Las variables categóricas se resumieron en términos de frecuencias y porcentajes; para las comparaciones se utilizó chi-cuadrado de Pearson o prueba exacta de Fisher de dos colas, y se calculó también la razón de momios (*odds ratio*) con un intervalo de confianza del 95%. La significación estadística se basó en un valor de  $p < 0,05$ . Se utilizó el software EpiInfo 7.1.2.0 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, EEUU). En el caso particular de la infestación de garrapatas en aves y micromamíferos, se calculó también la prevalencia, intensidad media y abundancia media como están descriptas en Bush y col. (1997).

### **3.5. Consideraciones éticas**

El presente estudio se realizó conforme a los “Principios rectores internacionales aplicables a las investigaciones biomédicas con animales” del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas aprobado por el Comité Consultivo de Investigaciones Médicas de la Organización Mundial de la Salud (1985), las “Normas Internacionales para la investigación biomédica con animales” de la Organización Panamericana de la Salud (1990) y el Título 7: "Bienestar de los animales" del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (2011).

Se obtuvieron los permisos de muestreo en la RECS (n° 30/09/2010, 01/2014, 20/2016, 32/2016 y 17/2018), la aprobación del Comité de Docencia e Investigación del IZLP y la aprobación del Comité Asesor de Ética y Seguridad (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).

## 4. Resultados

---



## 4.1. Objetivo 1) Garrapatas

**Determinar la riqueza específica y distribución estacional de las garrapatas presentes en la RECS.**

### 4.1.1. Vegetación

#### Muestreo anual 2013-2014

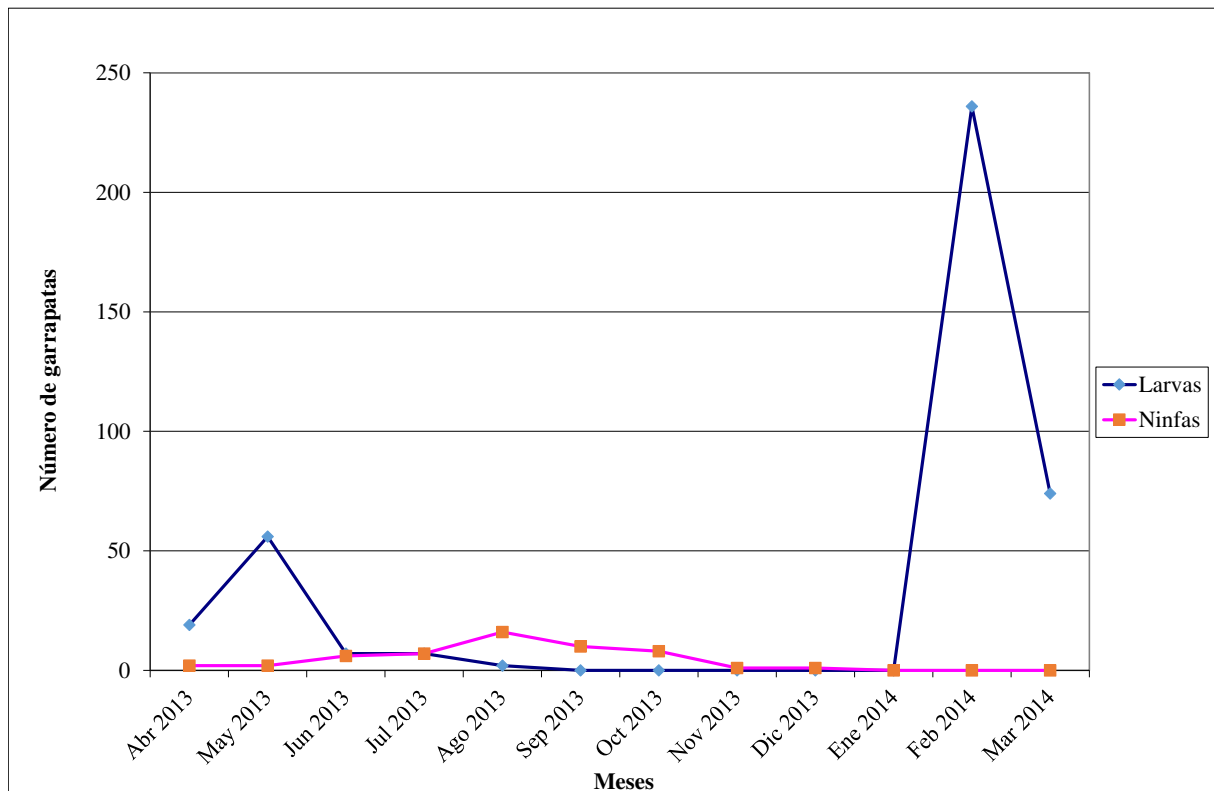
En total se colectaron 1090 garrapatas de la vegetación, 1076 mediante el método bandera (719 del sitio 2 y 357 del sitio 3) y 14 mediante las trampas de CO<sub>2</sub> (sitio 1).

La identificación taxonómica determinó que 454 garrapatas pertenecían a la especie *A. aureolatum*, 635 eran *I. auritulus* s.l. y sólo 1 ejemplar de la especie *A. triste*. Se encontró asociación estadística por chi-cuadrado de Pearson ( $p=0,000$ ), entre sitio de muestreo y especie de garrapata, resultando que en el sitio 2 se tuvo 3,75 veces más posibilidades de encontrar la especie *A. aureolatum* (IC95%=2,801-5,019) con respecto al sitio 3.

De *A. aureolatum* se colectaron 441 ejemplares mediante método bandera y 13 mediante trampas de CO<sub>2</sub>. Los estadios detectados fueron 401 larvas y 53 ninfas. La presencia de larvas se detectó entre febrero y agosto, con una mayor abundancia (96,0 %) entre los meses de febrero a mayo, con el pico ocurriendo en febrero (58,8 %). La presencia de ninfas se extendió entre abril y diciembre, con mayor abundancia de julio a septiembre (77,3 %) y un pico leve en agosto (30,2 %) (Figura 8).

Respecto a la especie *I. auritulus* s.l. se colectaron 609 larvas, 24 ninfas y 2 hembras (todas mediante el método bandera). La presencia de larvas se detectó de enero a noviembre (aunque no se encontraron en febrero), con una mayor abundancia (98,3 %) entre abril y septiembre y dos picos en los meses de mayo (27,4 %) y agosto-septiembre (20,8-22,2 %). Las ninfas estuvieron presentes todo el año a excepción de marzo, con una mayor abundancia en abril (41,7 %). Los adultos se encontraron en abril y agosto (Figura 9).

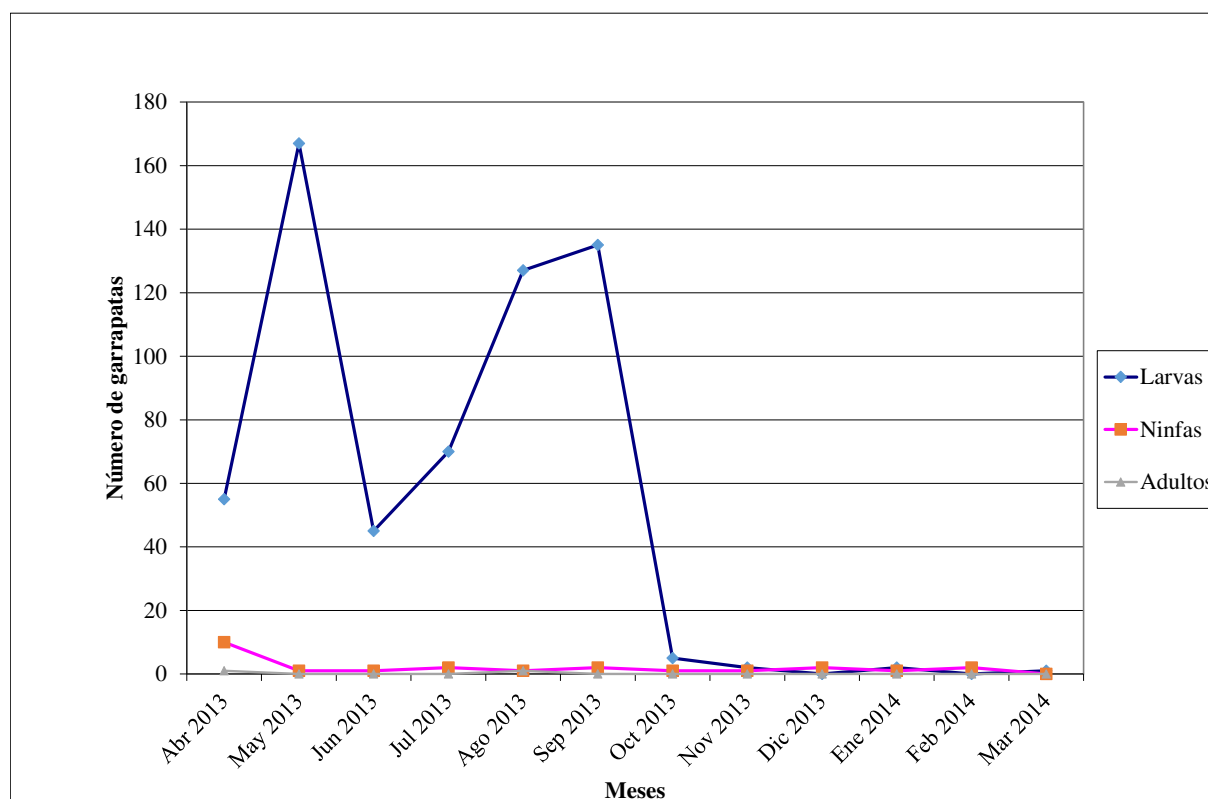
Por último, el ejemplar de *A. triste* fue una hembra capturada en el mes de octubre mediante una trampa de CO<sub>2</sub> en el sitio 1.



**Figura 8.** Distribución estacional de larvas y ninfas de *Amblyomma aureolatum* colectadas de vegetación entre abril 2013 y marzo 2014 en la Reserva Ecológica Costanera Sur. Fuente: Elaboración propia.

### Muestreo complementario 2018

En septiembre se colectaron 30 ejemplares de la especie *A. triste* (20 hembras y 10 machos) y en octubre se obtuvieron 48 ejemplares identificados como *A. triste* (23 hembras y 11 machos), *A. aureolatum* (1 ninfa y 1 macho) e *I. auritulus* s.l. (11 larvas y 1 ninfa).



**Figura 9.** Distribución estacional de larvas, ninfas y adultos de *Ixodes auritulus* sensu lato colectadas de vegetación entre abril 2013 y marzo 2014 en la Reserva Ecológica Costanera Sur.

Fuente: Elaboración propia.

#### 4.1.2. Aves

Se capturaron 340 aves pertenecientes a 43 especies, 41 géneros, 18 familias y 6 órdenes (90,3% correspondieron al orden Passeriformes) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Aves muestreadas en la Reserva Ecológica Costanera Sur.

Orden, familia, especie	Total	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
<b>Columbiformes</b>	<b>16</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>10</b>
<b>Columbidae</b>	<b>16</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>10</b>
<i>Leptotila verreauxi</i>	4	-	2	-	2
<i>Zenaida auriculata</i>	12	1	-	3	8
<b>Coraciiformes</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>4</b>
<b>Picidae</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>4</b>
<i>Colaptes melanochloros</i>	1	-	-	-	1
<i>Picoides mixtus</i>	5	1	1	-	3

<b>Cuculiformes</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Cuculidae</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<i>Coccyzus melacoryphus</i>	1	1	-	-	-
<b>Passeriformes</b>	<b>307</b>	<b>71</b>	<b>66</b>	<b>80</b>	<b>90</b>
<b>Emberizidae</b>	<b>78</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>23</b>
<i>Cyanocompsa brissonii</i>	3	-	-	2	1
<i>Cyanoloxia glaucoerulea</i>	1	-	-	1	-
<i>Poospiza melanoleuca</i>	5	-	2	-	3
<i>Poospiza nigrorufa</i>	20	5	4	6	5
<i>Saltator aurantiirostris</i>	11	3	5	-	3
<i>Sicalis flaveola</i>	4	-	1	2	1
<i>Sporophila caerulea</i>	3	1	-	-	2
<i>Zonotrichia capensis</i>	31	8	7	8	8
<b>Fringillidae</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<i>Carduelis magellanica</i>	10	2	-	3	5
<b>Furnariidae</b>	<b>28</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>11</b>
<i>Furnarius rufus</i>	14	4	4	1	5
<i>Phacellodomus striaticollis</i>	3	2	-	-	1
<i>Synallaxis frontalis</i>	11	3	2	1	5
<b>Hirundinidae</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>2</b>
<i>Progne tapera</i>	2	-	-	-	2
<b>Icteridae</b>	<b>12</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>1</b>
<i>Agelaioides badius</i>	6	1	3	2	-
<i>Cacicus solitarius</i>	2	1	-	-	1
<i>Icterus cayanensis</i>	1	1	-	-	-
<i>Molothrus bonariensis</i>	3	-	-	3	-
<b>Mimidae</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<i>Mimus saturninus</i>	3	-	-	2	1
<b>Parulidae</b>	<b>30</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>3</b>
<i>Basileuterus culicivorus</i>	16	9	5	-	2
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	12	-	-	11	1
<i>Parula pitiayumi</i>	2	-	2	-	-
<b>Poliophtidae</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
<i>Poliophtila dumicola</i>	10	2	2	1	5
<b>Thraupidae</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>-</b>
<i>Stephanophorus diadematus</i>	1	-	1	-	-
<i>Tachyphonus rufus</i>	2	-	2	-	-
<i>Thraupis bonariensis</i>	3	2	-	1	-
<b>Troglodytidae</b>	<b>23</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>5</b>
<i>Troglodytes aedon</i>	23	6	5	7	5

<b>Turdidae</b>	<b>62</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>18</b>	<b>9</b>
<i>Turdus amaurochalinus</i>	27	5	4	12	6
<i>Turdus rufiventris</i>	35	10	16	6	3
<b>Tyrannidae</b>	<b>39</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>22</b>
<i>Elaenia parvirostris</i>	13	1	-	2	10
<i>Myiodynastes maculatus</i>	2	-	-	-	2
<i>Myiophobus fasciatus</i>	10	1	-	5	4
<i>Pachyramphus polychopterus</i>	3	-	-	-	3
<i>Pitangus sulphuratus</i>	5	2	1	1	1
<i>Serpophaga subcristata</i>	4	2	-	2	-
<i>Tirannus melancholicus</i>	2	-	-	-	2
<b>Vireonidae</b>	<b>4</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
<i>Vireo olivaceus</i>	4	-	-	1	3
<b>Strigiformes</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1</b>
<b>Strigidae</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>1</b>
<i>Glaucidium brasilianum</i>	1	-	-	-	1
<b>Trochiliformes</b>	<b>9</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>6</b>	<b>3</b>
<b>Trochilidae</b>	<b>9</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>6</b>	<b>3</b>
<i>Chlorostilbon aureoventris</i>	9	-	-	6	3
<b>Total</b>	<b>340</b>	<b>74</b>	<b>69</b>	<b>89</b>	<b>108</b>
<b>Proporción por estación (%)</b>		<b>21.7</b>	<b>20.3</b>	<b>26.2</b>	<b>31.8</b>

Fuente: Elaboración propia.

El 13,8% (47/340) de las aves estaban infestadas con garrapatas. Las aves infestadas pertenecían a 10 especies (23,2%) del orden Passeriformes (Emberizidae, Furnariidae, Parulidae, Thraupidae, Troglodytidae, Turdidae) (Tablas 8 y 9; Figuras 10 y 11). La proporción de infestación por estación del año fue: 10,8% (8/74) en otoño, 29,0% (20/69) en invierno, 13,5% (12/89) en primavera y 6,5% (7/108) en verano (Figura 12).

**Tabla 8.** Aves infestadas con *Ixodes auritulus* sensu lato.

Orden, familia, especie	n	Aves infestadas con <i>Ixodes auritulus</i> sensu lato / Aves capturadas (%)				Total
		Otoño	Invierno	Primavera	Verano	
		<b>8 / 71</b>	<b>17 / 66</b>	<b>10 / 80</b>	<b>7 / 90</b>	<b>42 / 307</b>
<b>Passeriformes</b>	<b>307</b>	<b>(11,3)</b>	<b>(25,7)</b>	<b>(12,5)</b>	<b>(7,8)</b>	<b>(13,7)</b>
<b>Emberizidae</b>	<b>78</b>	<b>1 / 17 (5,9)</b>	<b>7 / 19 (36,8)</b>	<b>0 / 19</b>	<b>0 / 23</b>	<b>8 / 78 (10,2)</b>
<i>Poospiza nigrorufa</i>	20	0 / 5	2 / 4 (50,0)	0 / 6	0 / 5	2 / 20 (0,1)
<i>Saltator aurantirostris</i>	11	0 / 3	2 / 5 (40,0)	-	0 / 3	2 / 11 (18,2)
<i>Zonotrichia capensis</i>	31	1 / 8 (12,5)	3 / 7 (42,8)	0 / 8	0 / 8	4 / 31 (12,9)
<b>Furnariidae</b>	<b>28</b>	<b>2 / 9 (22,2)</b>	<b>0 / 6</b>	<b>0 / 2</b>	<b>1 / 11 (9,1)</b>	<b>3 / 28 (10,7)</b>
<i>Furnarius rufus</i>	14	0 / 4	0 / 4	0 / 1	1 / 5 (20,0)	1 / 14 (7,1)
<i>Phacellodomus striaticollis</i>	3	2 / 2 (100)	-	-	0 / 1	2 / 3 (66,7)
<b>Parulidae</b>	<b>30</b>	<b>0 / 9</b>	<b>0 / 7</b>	<b>2 / 11 (18,2)</b>	<b>0 / 3</b>	<b>2 / 30 (6,7)</b>
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	12	-	-	2 / 11 (18,2)	0 / 1	2 / 12 (16,7)
<b>Thraupidae</b>	<b>6</b>	<b>0 / 2</b>	<b>1 / 3 (33,3)</b>	<b>0 / 1</b>	<b>-</b>	<b>1 / 6 (16,7)</b>
<i>Stephanophorus diadematus</i>	1	-	1 / 1 (100)	-	-	1 / 1 (100)
<b>Troglodytidae</b>	<b>23</b>	<b>1 / 6 (16,7)</b>	<b>3 / 5 (60,0)</b>	<b>0 / 7</b>	<b>0 / 5</b>	<b>4 / 23 (17,4)</b>
<i>Troglodytes aedon</i>	23	1 / 6 (16,7)	3 / 5 (60,0)	0 / 7	0 / 5	4 / 23 (17,4)
<b>Turdidae</b>	<b>62</b>	<b>4 / 15 (26,7)</b>	<b>6 / 20 (30,0)</b>	<b>8 / 18 (44,4)</b>	<b>6 / 9 (66,7)</b>	<b>24 / 62 (38,7)</b>
<i>Turdus amaurochalinus</i>	27	1 / 5 (20,0)	1 / 4 (25)	3 / 12 (25)	4 / 6 (66,7)	9 / 27 (33,3)
<i>Turdus rufiventris</i>	35	3 / 10 (30,0)	5 / 16 (31,2)	5 / 6 (83,3)	2 / 3 (66,7)	15 / 35 (42,9)
		<b>8 / 74</b>	<b>17 / 69</b>	<b>10 / 89</b>	<b>7 / 108</b>	<b>42 / 340</b>
<b>Total</b>	<b>340</b>	<b>(10,8)</b>	<b>(24,6)</b>	<b>(11,2)</b>	<b>(6,5)</b>	<b>(12,3)</b>

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 9.** Aves infestadas con *Amblyomma aureolatum*.

Orden, familia, especie	n	Aves infestadas con <i>Amblyomma aureolatum</i> / Aves capturadas (%)				Total
		Otoño	Invierno	Primavera	Verano	
<b>Passeriformes</b>	<b>307</b>	<b>0 / 71</b>	<b>6 / 66 (9,1)</b>	<b>3 / 80 (3,7)</b>	<b>0 / 90</b>	<b>9 / 307 (2,9)</b>
<b>Turdidae</b>	<b>62</b>	<b>0 / 15</b>	<b>6 / 20 (30,0)</b>	<b>3 / 18 (16,7)</b>	<b>0 / 9</b>	<b>9 / 62 (14,5)</b>
<i>Turdus amaurochalinus</i>	27	0 / 5	2 / 4 (50,0)	2 / 12 (16,7)	0 / 6	4 / 27 (14,8)
<i>Turdus rufiventris</i>	35	0 / 10	4 / 16 (25,0)	1 / 6 (16,7)	0 / 3	5 / 35 (14,3)
<b>Total</b>	<b>340</b>	<b>0 / 74</b>	<b>6 / 69 (8,7)</b>	<b>3 / 89 (3,4)</b>	<b>0 / 108</b>	<b>9 / 340 (2,6)</b>

Fuente: Elaboración propia.



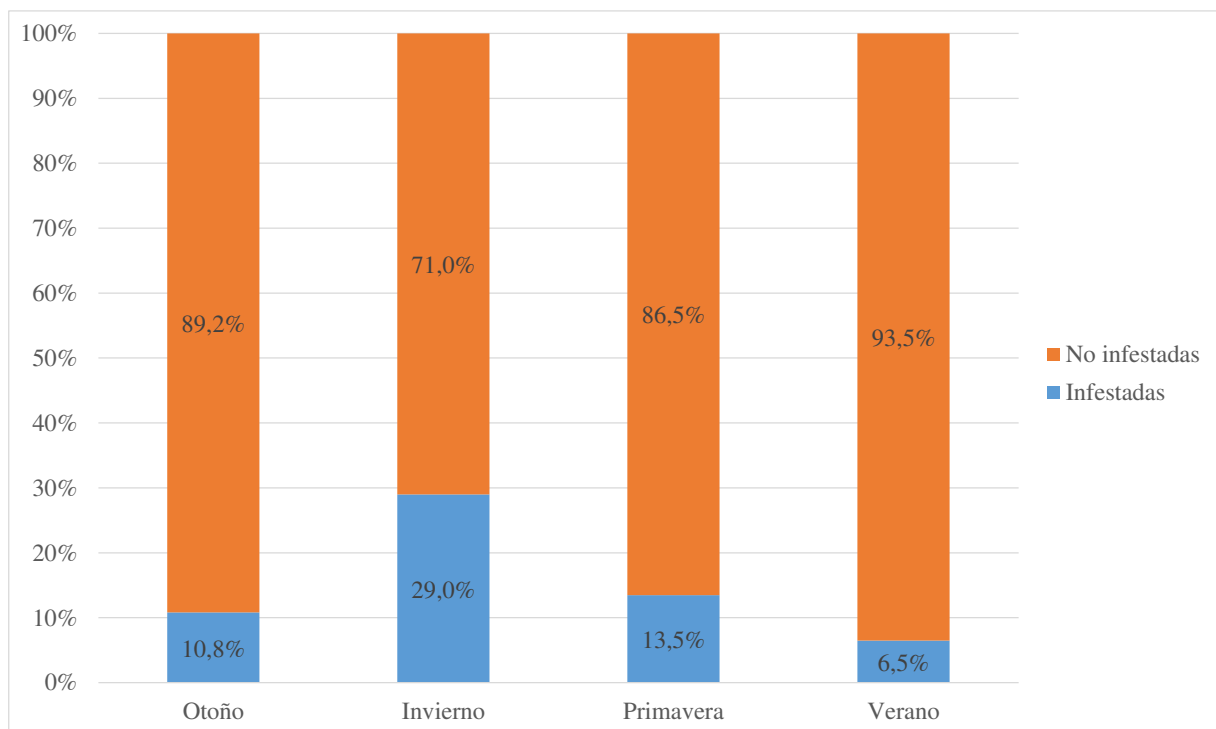
**Figura 10.** Fotografía de hembra de *Ixodes auritulus* sensu lato en *Troglodytes aedon*. Autor: Gabriel Cicuttin.

El total de garrapatas colectadas de las aves fue de 120 especímenes (57 larvas, 55 ninfas y 8 hembras). Las garrapatas fueron identificadas como *I. auritulus* s.l. (56 larvas, 44 ninfas y 8 hembras) y *A. aureolatum* (1 larva y 11 ninfas) (Tablas 8, 9 y 10).

De las 6 familias de passeriformes infestadas, la familia Turdidae (2 especies) acumuló el 71,7% (86/120) de las garrapatas colectadas. Tres ejemplares de *T. rufiventris* (2 en invierno y 1 en primavera) y un individuo de *Turdus amaurochalinus* (capturado en invierno) tuvieron coinfección con ambas especies.



**Figura 11.** Fotografía de hembra de *Ixodes auritulus* sensu lato en *Turdus rufiventris*. Autor: Gabriel Cicuttin.



**Figura 12.** Infestación de aves según época del año. Fuente: Elaboración propia.



**Tabla 10.** Garrapatas colectadas sobre aves.

Aves (familia, especie)	I/C	Especie de garrapata	Otoño			Invierno			Primavera			Verano			Año				Intensidad media	Abundancia media
			L	N	H	L	N	H	L	N	H	L	N	H	L	N	H	Total		
<b>Emberizidae</b>																				
<i>Zonotrichia capensis</i>	4/31	<i>Ixodes auritulus</i> s.l.	0	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	6	1,50	0,19
<i>Poospiza nigrorufa</i>	2/20	<i>I. auritulus</i> s.l.	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1,00	0,10
<i>Saltator aurantiirostris</i>	2/11	<i>I. auritulus</i> s.l. <sup>a</sup>	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	2,00	0,36
<b>Furnariidae</b>																				
<i>Phacellodomus striaticollis</i>	2/3	<i>I. auritulus</i> s.l. <sup>a</sup>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1,00	0,67
<i>Furnarius rufus</i>	1/14	<i>I. auritulus</i> s.l. <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1,00	0,07
<b>Parulidae</b>																				
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	2/12	<i>I. auritulus</i> s.l. <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	0	3	1,50	0,25
<b>Thraupidae</b>																				
<i>Stephanophorus diadematus</i>	1/1	<i>I. auritulus</i> s.l.	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	4,00	4,00
<b>Troglodytidae</b>																				
<i>Troglodytes aedon</i>	4/23	<i>I. auritulus</i> s.l.	0	1	0	9	1	1	0	0	0	0	0	0	9	2	1	12	3,00	0,52
<b>Turdidae</b>																				
<i>Turdus rufiventris</i> <sup>b</sup>	5/35	<i>Amblyomma aureolatum</i>	0	0	0	0	7	0	0	1	0	0	0	0	0	8	0	8	1,60	0,23
<i>Turdus amaurochalinus</i> <sup>c</sup>	15/35	<i>I. auritulus</i> s.l.	5	4	0	9	6	0	8	18	1	0	0	2	22	28	3	53	3,53	1,51
	4/27	<i>A. aureolatum</i>	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	0	0	1	3	0	4	1,00	0,15
	9/27	<i>I. auritulus</i> s.l.	0	1	0	0	0	1	9	4	0	1	3	2	10	8	3	21	2,33	0,78
<b>Total</b>	<b>47/340</b>		<b>5</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>31</b>	<b>18</b>	<b>2</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>57</b>	<b>55</b>	<b>8</b>	<b>120</b>	<b>2,55</b>	<b>0,35</b>
<b>Por estación (%)</b>			<b>14 (11,7)</b>			<b>51 (42,5)</b>			<b>46 (38,3)</b>			<b>9 (7,5)</b>								

I/C, infestadas/capturadas; L, larvas; N, ninfas; H, hembras; <sup>a</sup>Nueva asociación hospedador-garrapata; <sup>b</sup>Tres ejemplares tenían co-infestación; <sup>c</sup>Un ejemplar tenía co-infestación.

Fuente: Elaboración propia.

#### **4.1.3. Roedores**

Se examinaron 200 roedores de las especies *Oligoryzomys flavescens* (118), *Mus musculus* (65), *Deltamys kempi* (12) y *Scapteromys aquaticus* (5).

El 36,0 % de los roedores revisados estaba infestado con ectoparásitos.

Los ectoparásitos hallados fueron pulgas, piojos y ácaros. No se encontró ninguna garrapata.

#### **4.1.4. Caninos domésticos**

En los perros se colectaron 104 especímenes adultos, con alta predominancia de *A. aureolatum* (97 hembras y 4 machos), seguido por *Rh. sanguineus* s.s. (1 macho y 1 hembra) y *A. triste* (1 hembra). Los adultos de *A. aureolatum* se encontraron en los meses de mayo a febrero, con mayor abundancia de diciembre a febrero (71,2 %). Especímenes de *Rh. sanguineus* s.s. se colectaron en febrero y el de *A. triste* en octubre. Dado que el muestreo no fue sistemático, no se puede hacer inferencia de estacionalidad en este caso.

#### **4.1.5. Otros**

En enero de 2014 se colectó una hembra de *A. aureolatum* en una cabaña de trabajo y en abril de 2017 se colectó una hembra de *A. triste* del personal de la RECS.

### **4.2. Objetivos 2, 3 y 4) Patógenos bacterianos**

- Detectar molecularmente la presencia de especies de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia* en las garrapatas, en roedores y en aves.**
- Caracterizar molecularmente los hallazgos y analizar filogenéticamente las secuencias positivas a los géneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Borrelia*.**

#### **4.2.1. Muestras estudiadas**

##### **Garrapatas**

En total, se analizaron 1282 garrapatas (1091 colectadas de vegetación, 100 de aves, 89 de perros, 1 de cabaña y 1 de humano).

En la tabla 11 se muestra el detalle de las garrapatas analizadas y los resultados de microorganismos hallados mediante las distintas PCR.

**Tabla 11.** Diagnóstico molecular de patógenos en garrapatas.

Especie	Estadio	n	Pooles	PCR (%)		
				Género <i>Rickettsia</i>	Familia Anaplasmataceae	Género <i>Borrelia</i>
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Larvas	369	47	0	0	0
	Ninfas	63	-	0	0	9 (14,3)
	Hembras	83	-	1 (1,2)	3 (3,6)	0
	Machos	4	-	0	0	0
	Total	519	198	1 (0,2)	3 (0,6)	9 (1,7)
<i>Amblyomma triste</i>	Hembras	46	-	0	0	0
	Machos	21	-	0	0	0
	Total	67	-	0	0	0
<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato	Larvas	628	92	0	0	5 (0,8*)
	Ninfas	58	-	1 (1,7)	1 (1,7)	22 (37,8)
	Hembras	8	-	0	0	1 (12,5)
	Total	694	158	1 (0,1)	1 (0,1)	28 (4,0*)
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto	Hembras	1	-	0	0	0
	Machos	1	-	0	0	0
	Total	2	2	0	0	0
Total		1282	424	2 (0,2)	4 (0,3)	37 (2,9*)

\*Nivel mínimo de infección.

Fuente: Elaboración propia.

## Muestras sanguíneas y otros tejidos de aves

De las 340 aves capturadas (ver punto 4.1.2; Tabla 7), se obtuvieron 101 muestras sanguíneas (Tabla 12). Treinta aves (de 47) que presentaban infestación por garrapatas fueron muestreadas (15 *T. rufiventris*, 11 *T. amaurochalinus*, 2 *S. aurantirostris*, 1 *Stephanophorus diadematus* y 1 *Furnarius rufus*).

**Tabla 12.** Muestras sanguíneas obtenidas de aves

Orden, familia, especie	n
<b>Columbiformes</b>	
<b>Columbidae</b>	
<i>Zenaida auriculata</i>	3
<i>Leptotila verreauxi</i>	1
<b>Cuculiformes</b>	
<b>Cuculidae</b>	
<i>Coccyzus melacoryphus</i>	1
<b>Passeriformes</b>	
<b>Emberizidae</b>	
<i>Saltator aurantirostris</i>	10
<i>Cyanocopsa brissonii</i>	3
<b>Furnariidae</b>	
<i>Furnarius rufus</i>	11
<b>Hirundinidae</b>	
<i>Progne tapera</i>	1
<b>Icteridae</b>	
<i>Agelaioides badius</i>	4
<i>Molothrus bonariensis</i>	1
<b>Mimidae</b>	
<i>Mimus saturninus</i>	3
<b>Thraupidae</b>	
<i>Thraupis bonariensis</i>	2
<i>Tachyphonus rufus</i>	1
<i>Stephanophorus diadematus</i>	1
<b>Turdidae</b>	
<i>Turdus rufiventris</i>	30
<i>Turdus amaurochalinus</i>	23
<b>Tyrannidae</b>	
<i>Pitangus sulphuratus</i>	3
<i>Tirannus melancholicus</i>	2
<i>Myiodynastes maculatus</i>	1
<b>Total</b>	<b>101</b>

Fuente: Elaboración propia.

Complementariamente también se analizaron órganos (bazo y/o hígado) de 168 aves de diversas especies halladas muertas dentro de la RECS entre 2014 y 2017 (Tabla 13).

**Tabla 13.** Aves muertas estudiadas

<b>Orden, familia, especie</b>	<b>n</b>
<b>Anseriformes</b>	
Anatidae	
<i>Anas flavirostris</i>	1
<i>Anas platyrhynchos</i>	1
<i>Anas versicolor</i>	1
Anhimidae	
<i>Chauna torquata</i>	1
<b>Charadriiformes</b>	
Charadriidae	
<i>Vanellus chilensis</i>	1
Laridae	
<i>Larus maculipennis</i>	5
<i>Larus dominicanus</i>	4
<i>Larus pipixcan</i>	1
Rostratulidae	
<i>Nycticryphes semicollaris</i>	1
<b>Ciconiiformes</b>	
Ardeidae	
<i>Ixobrychus involucris</i>	7
<i>Ardea alba</i>	2
<i>Ardea cocoi</i>	2
<i>Syrigma sibilatrix</i>	2
Threskiornithidae	
<i>Phimosus infuscatus</i>	1
<b>Columbiformes</b>	
Columbidae	
<i>Zenaida auriculata</i>	5
<i>Columba livia</i>	5
<i>Columba picazuro</i>	1
<b>Coraciiformes</b>	
Alcedinidae	
<i>Chloroceryle amazona</i>	1
<b>Cuculiformes</b>	
Cuculidae	
<i>Guira guira</i>	3
<i>Crotophaga major</i>	2
<b>Falconiformes</b>	
Accipitridae	
<i>Parabuteo unicinctus</i>	9
<i>Buteo magnirostris</i>	5
Falconidae	
<i>Milvago chimango</i>	13
<i>Caracara plancus</i>	12
<i>Falco sparverius</i>	5
<b>Gruiformes</b>	
Aramidae	
<i>Aramus guarauna</i>	7

<b>Rallidae</b>	
<i>Aramides cajanea</i>	7
<i>Pardirallus maculatus</i>	5
<i>Porphyrio martinica</i>	1
<b>Passeriformes</b>	
Emberizidae	
<i>Coryphospingus cucullatus</i>	1
<i>Paroaria capitata</i>	1
<i>Paroaria coronata</i>	1
<i>Poospiza melanoleuca</i>	1
<i>Poospiza nigrorufa</i>	1
<i>Saltator aurantirostris</i>	1
<i>Sicalis flaveola</i>	1
<i>Sporophila caeulescens</i>	1
Hirundinidae	
<i>Progne chalybea</i>	2
<i>Progne tapera</i>	1
Icteridae	
<i>Cacicus solitarius</i>	1
<i>Molothrus bonariensis</i>	1
<i>Sturnella superciliaris</i>	1
Sturnidae	
<i>Sturnus vulgaris</i>	2
Turdidae	
<i>Turdus rufiventris</i>	6
Tyrannidae	
<i>Pitangus sulphuratus</i>	7
<i>Machetornis rixosa</i>	1
<b>Pelecaniformes</b>	
Phalacrocoracidae	
<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	2
<b>Piciformes</b>	
Picidae	
<i>Colaptes melanochloros</i>	1
<b>Psittaciformes</b>	
Psittacidae	
<i>Myiopsitta monachus</i>	5
<i>Cyanoliseus patagonus</i>	2
<b>Strigiformes</b>	
Strigidae	
<i>Athene cunicularia</i>	9
<i>Glaucidium brasilianum</i>	6
<i>Otus choliba</i>	1
Tytonidae	
<i>Tyto alba</i>	4
<b>Total</b>	<b>168</b>

Fuente: Elaboración propia.

Y por último, también se estudiaron 43 muestras sanguíneas con EDTA recolectadas entre 2012 y 2015 (Tabla 14).

**Tabla 14.** Muestras sanguíneas de aves. Periodo 2012-2015.

<b>Orden, familia, especie</b>	<b>n</b>
<b>Charadriiformes</b>	
Laridae	
<i>Larus dominicanus</i>	1
<b>Columbiformes</b>	
Columbidae	
<i>Zenaida auriculata</i>	4
<b>Falconiformes</b>	
Accipitridae	
<i>Parabuteo unicinctus</i>	5
<i>Buteo magnirostris</i>	2
<i>Geranoaetus melanoleucus</i>	1
Falconidae	
<i>Caracara plancus</i>	5
<i>Milvago chimango</i>	3
<b>Passeriformes</b>	
Emberizidae	
<i>Zonotrichia capensis</i>	4
<i>Poospiza nigrorufa</i>	1
Furnariidae	
<i>Furnarius rufus</i>	1
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	1
Sturnidae	
<i>Sturnus vulgaris</i>	2
Turdidae	
<i>Turdus rufiventris</i>	8
<i>Turdus amaurochalinus</i>	3
Tyrannidae	
<i>Elaenia parvirostris</i>	1
<b>Strigiformes</b>	
Strigidae	
<i>Asio clamator</i>	1
<b>Total</b>	<b>43</b>

Fuente: Elaboración propia.

### **Muestras de tejidos de roedores**

Se analizaron 203 pools de órganos (bazo, hígado y pulmón) de roedores capturados entre 2011 y 2014 (Tabla 15).

**Tabla 15.** Roedores analizados.

<b>Familia, especie</b>	<b>n</b>
<b>Muridae</b>	
<i>Mus musculus</i>	91
<i>Rattus norvegicus</i>	11
<b>Cricetidae</b>	
<i>Oligoryzomys flavescens</i>	86
<i>Deltamys kemp</i>	11
<i>Scapteromys aquaticus</i>	4
<b>Total</b>	<b>203</b>

Fuente: Elaboración propia.

#### **4.2.2. Género *Rickettsia***

Una hembra de *A. aureolatum* (0,2%) colectada sobre un perro y 1 ninfa de *I. auritulus* s.l. (0,1%) colectada sobre un *T. amaurochalinus* resultaron positivas a la PCR para un fragmento del espaciador intergénico del ARNr 23S-5S del género *Rickettsia* (Tablas 16 y 17). La hembra de *A. aureolatum* fue colectada en abril, mientras que la ninfa de *I. auritulus* s.l. fue colectada en octubre.

Las garrapatas restantes resultaron negativas. Todas las muestras de aves (incluyendo la sangre del *T. amaurochalinus* que tenía la garrapata positiva a *Rickettsia*) y las muestras de roedores resultaron negativas.

La secuencia obtenida del fragmento 23S-5S ARNr de *A. aureolatum* (350 pb) tuvo un 99,1-99,7% de identidad con distintos hallazgos de *Rickettsia bellii* en garrapatas, mientras que la proveniente de *I. auritulus* s.l. (204 pb) presentó un 86,8-86,9% con diversas especies de rickettsias como *Rickettsia amblyommatis*, *Rickettsia felis*, *R. massiliae* y *Candidatus Rickettsia andeanae*, entre otras.



**Tabla 16.** PCR para el fragmento del espaciador intergénico del ARNr 23S-5S del género *Rickettsia*. Garrapatas colectadas de perros.

<b>Especies</b>		<b>n</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Secuencias obtenidas (%)</b>
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Hembras	82	1 (1,2)	1 (100)
	Machos	4	0	-
	Total	86	1 (1,2)	1 (100)
<i>Amblyomma triste</i>	Hembras	1	0	-
	Total	1	0	-
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto	Hembras	1	0	-
	Machos	1	0	-
	Total	2	0	-
Total		89	1 (1,1)	1 (100)

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 17.** PCR para el fragmento del espaciador intergénico del ARNr 23S-5S del género *Rickettsia*. Garrapatas colectadas de aves.

<b>Especies</b>		<b>n</b>	<b>Pooles</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Secuencias obtenidas (%)</b>
<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato	Larvas	37	22	0	-
	Ninfas	44	-	1 (2,3)	1 (100)
	Hembras	7	-	0	-
	Total	88	-	1 (1,1)	1 (100)
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Larvas	1	1	0	-
	Ninfas	11	-	0	-
	Total	12	-	0	-
Total		100	-	1 (1,0)	1 (100)

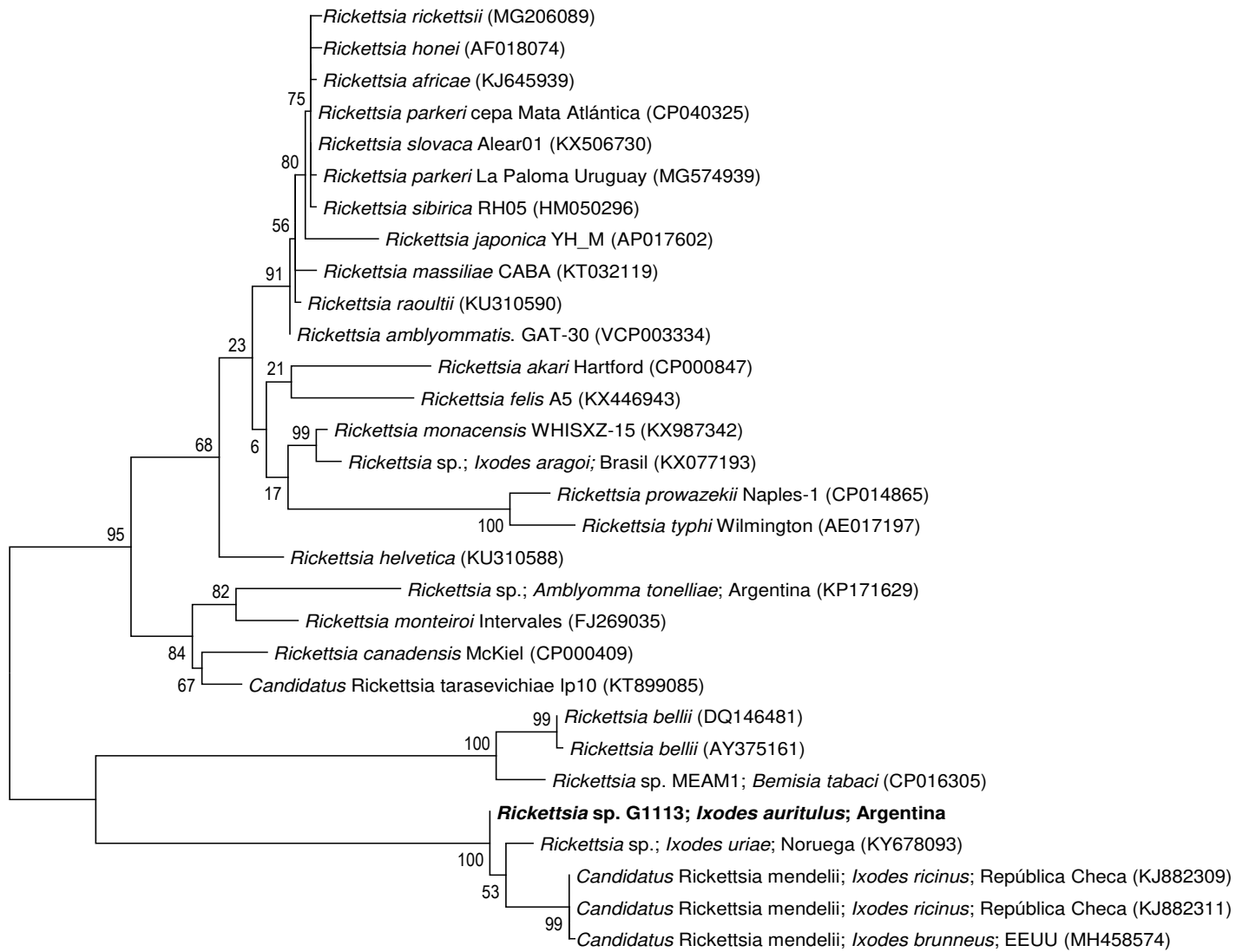
Fuente: Elaboración propia.

La muestra positiva de *A. aureolatum* a la PCR ARNr 23S-5S del género *Rickettsia* resultó negativa a la PCR para un fragmento del gen *gltA* del género *Rickettsia*, mientras que la muestra positiva de *I. auritulus* s.l. resultó positiva, fue secuenciada y tuvo un 98,8% con *Rickettsia* sp. hallada en *I. uriae* de Noruega (KY678093), 98,2% de identidad con *Candidatus Rickettsia mendelii* detectada en *Ixodes ricinus* en República Checa (KJ882311 y KJ882309) y 98,1% con *Candidatus R. mendelii* detectada en *Ixodes brunneus* en EEUU (MH458574). El análisis filogenético revela que la *Rickettsia* sp. detectada en *I. auritulus* s.l. en esta tesis conforma un subgrupo con las *Rickettsia* spp. anteriormente mencionadas (Figura 13).

Ambas muestras resultaron negativas a la PCR que amplifica un fragmento del gen *htrA* del género *Rickettsia*. Por falta de material genético no se realizó la PCR para el gen *ompA*.

---

**Figura 13 (página siguiente).** Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G) para un fragmento del gen *gltA* del género *Rickettsia*. Los números en los nodos representan el soporte de remuestreo generado por 1000 replicaciones. Entre paréntesis se muestran los números de acceso de GenBank.



0.02

### 4.2.3. Familia Anaplasmataceae

Una ninfa de *I. auritulus* s.l. (0,1%) colectada de la vegetación y 3 hembras de *A. aureolatum* (0,6%) colectadas de caninos y resultaron positivas a la PCR para un fragmento del gen ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae (Tabla 18 y 19). La ninfa de *I. auritulus* s.l. positiva fue colectada en diciembre, mientras que las tres hembras de *A. aureolatum* positivas fueron colectadas entre octubre y febrero.

Las garrapatas restantes resultaron negativas.

**Tabla 18.** PCR para el fragmento ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae. Garrapatas colectadas de vegetación.

Especies		n	Pooles	Positivos (%)	Secuencias obtenidas (%)
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Larvas	368	46	0	-
	Ninfas	52	-	0	-
	Total	420	-	0	-
<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato	Larvas	591	69	0	-
	Ninfas	14	-	1 (7,1)	1 (100)
	Hembras	1	-	0	-
	Total	606	-	1 (0,2)	1 (100)
<i>Amblyomma triste</i>	Machos	21	-	0	-
	Hembras	44	-	0	-
	Total	65	-	0	-
Total		1091	-	1 (0,1)	1 (100)

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 19.** PCR para el fragmento ARNr 16S de la Familia Anaplasmataceae. Garrapatas colectadas de perros.

<b>Especies</b>		<b>n</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Secuencias obtenidas (%)</b>
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Hembras	82	3 (3,7)	3 (100)
	Machos	4	0	-
	Total	86	3 (3,5)	3 (100)
<i>Amblyomma triste</i>	Hembras	1	0	-
	Total	1	0	-
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto	Hembras	1	0	-
	Machos	1	0	-
	Total	2	0	-
<b>Total</b>		<b>89</b>	<b>3 (3,4)</b>	<b>3 (100)</b>

Fuente: Elaboración propia.

Las 4 muestras positivas pudieron ser secuenciadas. Las secuencias obtenidas tuvieron 83,2 a 100% de identidad entre sí.

La secuencia obtenida de *I. auritulus* s.l. tuvo un 100% de identidad con *Ehrlichia* sp. detectada en pingüinos *Spheniscus magellanicus* de Chile (MK049840) e *Ixodes turdus* de Japón (LC386011), 99,7% con *Ehrlichia* sp. hallada en *Bothriocroton concolor* de Australia (MK041545), *Ixodes ornithorhynchi* de Australia (MF069159) y *Candidatus Ehrlichia khabarensis* hallada en el roedor *Myodes rufocanus* de Rusia (KR063138 y FJ966352).

Las tres secuencias obtenidas de *A. aureolatum* tuvieron un 100% de identidad entre sí y 99,7-99,4% con rickettsiales hallados en diversas especies de garrapatas (*Rh. sanguineus* de Tailandia, KY910125; *A. triste* de Uruguay, EF687768; y *Haemaphysalis wellingtoni* de Tailandia, AF497582 y AF497583) y 98,7% con *Candidatus* *Midichloria mitochondrii* (hallado en *Ixodes ricinus*).

Un roedor *O. flavescens* (1,2%) capturado en septiembre (primavera) resultó positivo a la PCR para un fragmento del ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae (Tabla 20). La secuencia obtenida tuvo un 99,7% de identidad con *Neorickettsia risticii*.

**Tabla 20.** PCR para el fragmento ARNr 16S de la Familia Anaplasmataceae. Roedores.

<b>Familia, especie</b>	<b>n</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Secuencias obtenidas (%)</b>
<b>Muridae</b>			
<i>Mus musculus</i>	91	0	-
<i>Rattus norvegicus</i>	11	0	-
<b>Cricetidae</b>			
<i>Oligoryzomys flavescens</i>	86	1 (1,2)	1 (100)
<i>Deltamys kemp</i>	11	0	-
<i>Scapteromys aquaticus</i>	4	0	-
<b>Total</b>	<b>203</b>	<b>1 (0,5)</b>	<b>1 (100)</b>

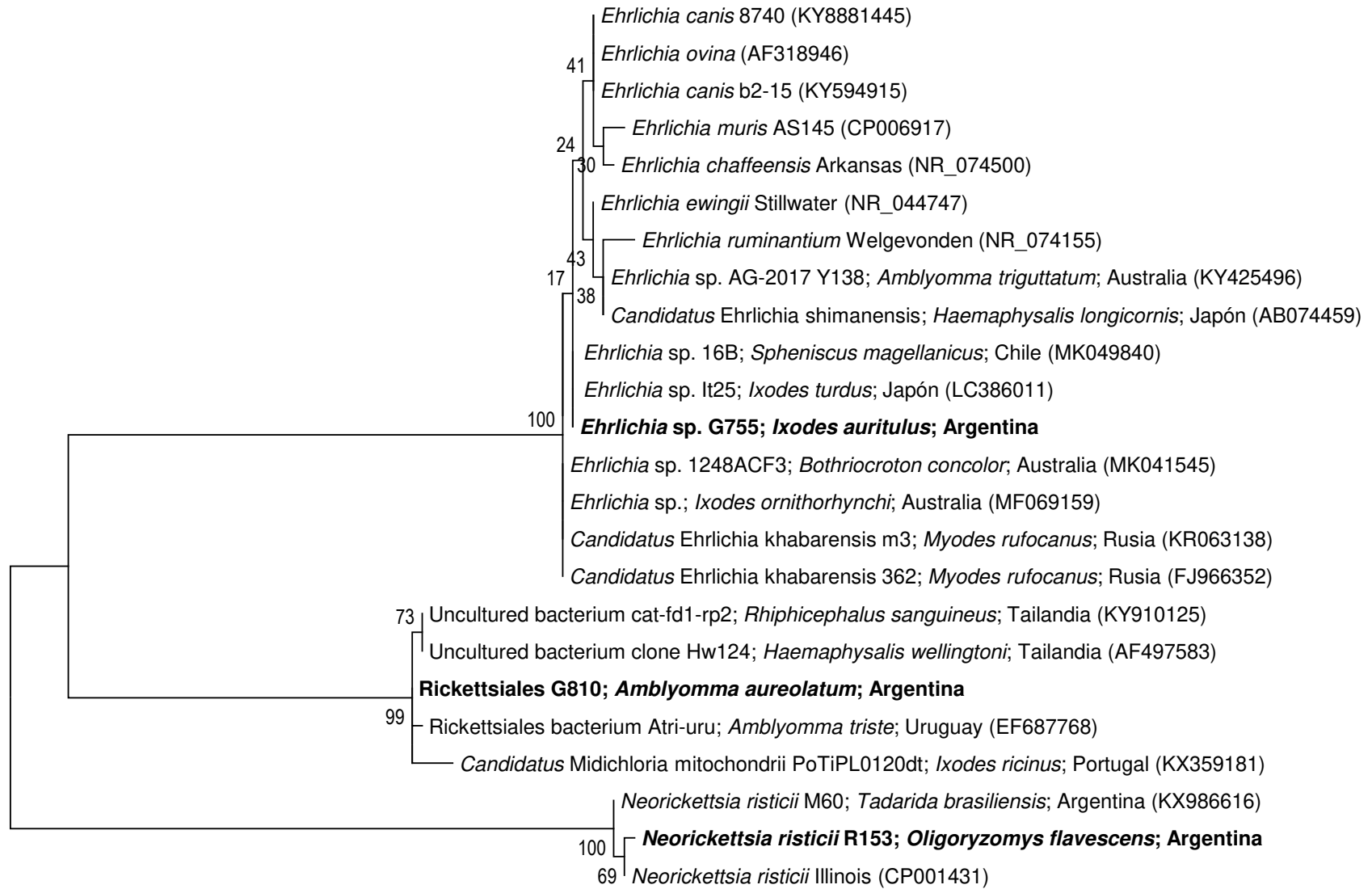
Fuente: Elaboración propia.

La relación filogenética de los hallazgos en *I. auritulus* s.l., *A. aureolatim* y *O. flavescens* se muestra en la Figura 14.

Todas las muestras de aves resultaron negativas.

---

**Figura 14 (página siguiente).** Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para el fragmento del ARNr 16S de la familia Anaplasmataceae. Los números en los nodos representan el soporte de remuestreo generado por 1000 replicaciones. Entre paréntesis se muestran los números de acceso de GenBank.



0.05

### **Caracterización molecular de los hallazgos del género *Ehrlichia*.**

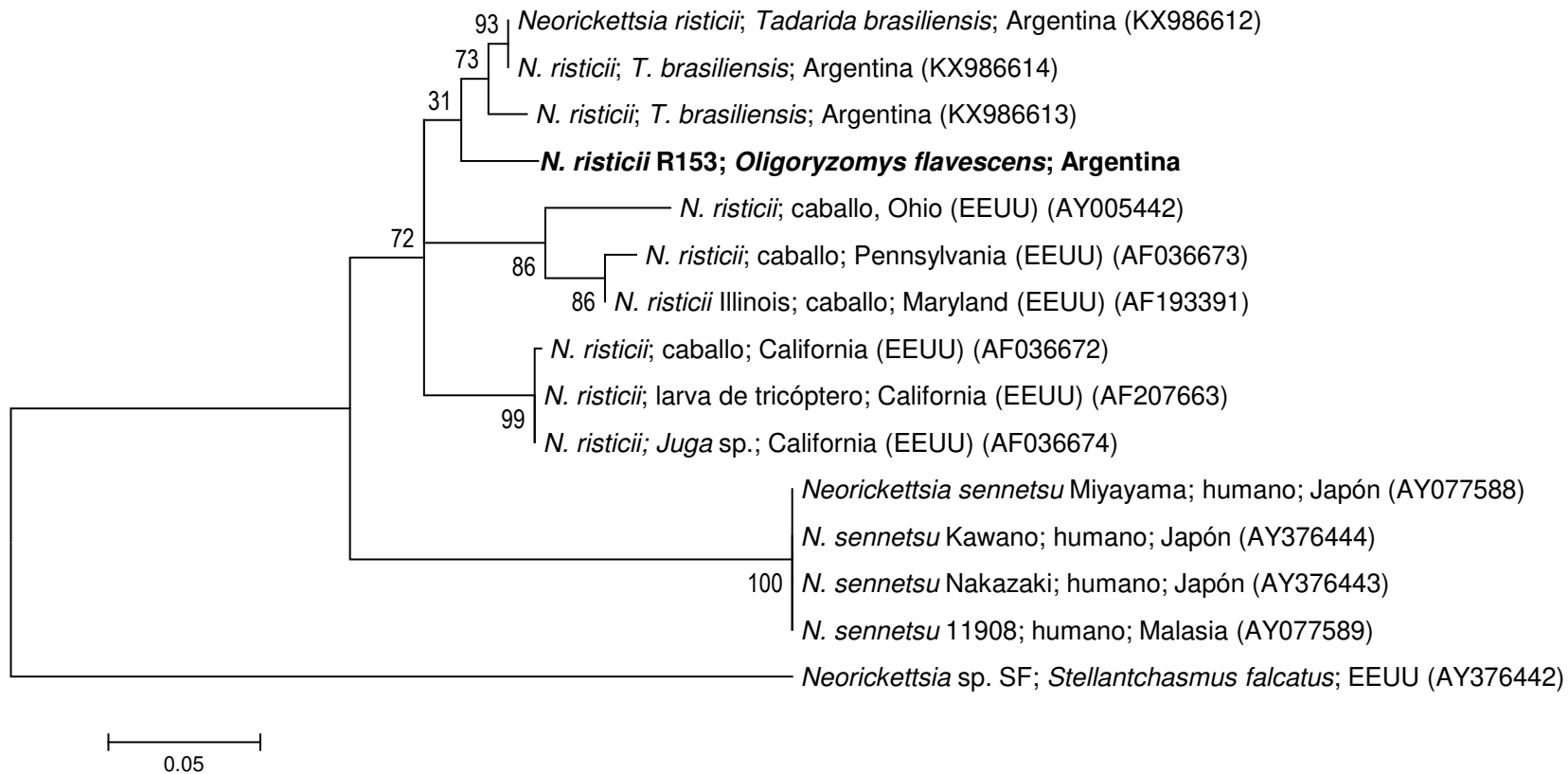
No se logró amplificar la muestra de *I. auritulus* s.l. positiva a *Ehrlichia* mediante las PCR para fragmentos de los genes *dsb* y *groESL*.

### **Caracterización molecular de los hallazgos del género *Neorickettsia*.**

La muestra positiva de *O. flavescens* a la PCR ARNr 16S también resultó positiva a la PCR anidada para un fragmento del gen *p51* del género *Neorickettsia* y pudo ser secuenciada.

La secuencia obtenida tuvo un 95,9-96,1% de identidad con *N. risticii* halladas en murciélagos *Tadarida brasiliensis* de CABA (KX986612, KX986614 y KX986613), 95,7% con *N. risticii* hallada en un caballo de Oregon (EEUU, AF036676) y menos del 95% con otros hallazgos de *N. risticii* en América del Norte. El árbol filogenético generado con la secuencia *p51* mostró que *N. risticii* hallada conforma un linaje independiente junto con los otros hallazgos en CABA (Figura 15).





**Figura 15.** Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para el gen *p51* del género *Neorickettsia*. Los números en los nodos representan el soporte de remuestreo generado por 1000 replicaciones. Entre paréntesis se muestran los números de acceso de GenBank.

#### 4.2.4. Género *Borrelia*

Nueve ninfas de *A. aureolatum* (2,1%) y 4 ninfas de *I. auritulus* s.l. (0,7%) colectadas de vegetación resultaron positivas a la PCR anidada para un fragmento del gen *fla* del género *Borrelia* (Tabla 21). Las ninfas positivas de *A. aureolatum* fueron colectadas en invierno (2 en julio y 3 en agosto) y en primavera (3 en septiembre y 1 en octubre), mientras que las ninfas positivas de *I. auritulus* s.l. se hallaron en primavera (1 en septiembre y 1 en noviembre), verano (1 en diciembre) y otoño (1 en mayo).

**Tabla 21.** PCR anidada para el fragmento *fla* del género *Borrelia*. Garrapatas colectadas de vegetación.

Especies		n	Pooles	Positivos (%)	Secuencias obtenidas (%)
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Larvas	368	46	0	-
	Ninfas	52	-	9 (17,3)	9 (100)
	Total	420	-	9 (2,1)	9 (100)
<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato	Larvas	591	69	0	-
	Ninfas	14	-	4 (28,6)	4 (100)
	Hembras	1	-	0	-
	Total	606	-	4 (0,7)	4 (100)
<i>Amblyomma triste</i>	Machos	21	-	0	-
	Hembras	44	-	0	-
	Total	65	-	0	-
Total		1091	-	13 (1,2)	13 (100)

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a las garrapatas colectadas de aves, cinco ninfas de *A. aureolatum* (45,4%) y 5 pooles de larvas (nivel mínimo de infección: 13,5%), 18 ninfas (40,9%) y 1 hembra (14,3%) de *I. auritulus* s.l. fueron positivas (Tabla 22).

Las garrapatas positivas fueron colectadas de sólo 16 aves (de un total de 47 aves infestadas, 34,0%): 10 de la especie *T. rufiventris* (de un total de 17 infestadas, 58,8%), 5 *T.*

*amaurochalinus* (de un total de 12 infestadas, 41,7%) y 1 *Saltator aurantirostris* (de un total de 2 infestadas, 50,0%) (Tabla 23).

**Tabla 22.** PCR anidada para el fragmento *fla* del género *Borrelia*. Garrapatas colectadas de aves.

Especies		n	Pooles	Positivos (%)	Secuencias obtenidas (%)
<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato	Larvas	37	22	5 pooles <sup>a</sup> (13,5 <sup>b</sup> )	5 (100)
	Ninfas	44	-	18 (40,9)	18 (100)
	Hembras	7	-	1 (14,3)	1 (100)
	Total	88	-	24 (27,3 <sup>b</sup> )	24 (100)
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Larvas	1	1	0 (0)	-
	Ninfas	11	-	5 (45,4)	4 (80)
	Total	12	-	5 (41,7)	5 (100)
Total		100	-	29 (29,0 <sup>b</sup> )	28 (96,5)

<sup>a</sup>Correspondientes a 7 larvas; <sup>b</sup>Nivel mínimo de infección

Fuente: Elaboración propia.

Del total de 42 muestras positivas a la PCR anidada del fragmento *fla*, 41 amplicones pudieron ser secuenciados. Las secuencias obtenidas tuvieron 80,0 a 100% de identidad entre sí.

El árbol filogenético generado con las secuencias *fla* mostró que siete de los ocho diferentes haplotipos de *Borrelia* detectados en *I. auritulus* s.l. (haplotipos denominados G1000, G754, G1138, G911, G1128, G1107 y G1002) conforman un linaje independiente dentro del complejo *B. burgdorferi* s. l. (Figura 16). Estos haplotipos se encuentra muy relacionados con secuencias de *Borrelia* sp. halladas en *I. auritulus* de Canadá y Uruguay, conformando un grupo monofilético con más de 80% de soporte de remuestreo.

Las secuencias detectadas en *I. auritulus* s.l. colectadas de *T. amaurochalinus* tuvieron 96,0-100% de identidad entre sí, mientras que las colectadas de *T. rufiventris* tuvieron 95,7-100% de identidad. La identidad entre secuencias detectadas en *I. auritulus* s.l. colectadas de las mismas aves variaron de 96,7-100% (ave ID 072), 97,7-100% (ave ID 325) y 96,7% (ave ID 104).

**Tabla 23.** Detalle de garrapatas positivas según ave.

ID	Época	Especie de aves	Garrapatas positivas / Garrapatas estudiadas (%)				Total
			<i>Ixodes auritulus</i> sensu lato			<i>Amblyomma aureolatum</i>	
			Pooles de larvas	Ninfas	Hembra	Ninfas	
005	Invierno	<i>Turdus rufiventris</i>	1/1 (100)	0/1 (0)	-	-	1/2 (50,0)
006	Invierno	<i>Saltator aurantiirostris</i>	-	1/1 (100)	-	-	1/1 (100)
022	Invierno	<i>T. rufiventris</i>	-	1/2 (50,0)	-	-	1/2 (50,0)
026	Invierno	<i>T. rufiventris</i>	-	1/1 (100)	-	2/3 (66.7)	3/4 (75,0)
050	Invierno	<i>T. rufiventris</i>	-	-	-	1/1 (100)	1/1 (100)
072	Primavera	<i>T. rufiventris</i>	1/1 (100)	4/10 (40,0)	1/1 (100)	-	6/12 (50,0)
082	Primavera	<i>Turdus amaurochalinus</i>	0/1 (0)	1/3 (33,3)	-	-	1/4 (25,0)
089	Primavera	<i>T. amaurochalinus</i>	-	1/1 (100)	-	-	1/1 (100)
104	Primavera	<i>T. rufiventris</i>	-	2/4 (50,0)	-	-	2/4 (50,0)
108	Primavera	<i>T. amaurochalinus</i>	1/1 (100)	-	-	-	1/1 (100)
118	Primavera	<i>T. rufiventris</i>	0/1 (0)	1/1 (100)	-	1/1 (100)	2/3 (66,7)
131	Primavera	<i>T. amaurochalinus</i>	-	-	-	1/1 (100)	1/1 (100)
140	Primavera	<i>T. rufiventris</i>	1/1 (100)	0/2 (0)	-	-	1/3 (33,3)
244	Verano	<i>T. amaurochalinus</i>	-	1/1 (100)	-	-	1/1 (100)
293	Otoño	<i>T. rufiventris</i>	-	1/1 (100)	-	-	1/1 (100)
325	Otoño	<i>T. rufiventris</i>	1/1 (100)	3/3 (100)	-	-	4/4 (100)

Las secuencias de *Borrelia* obtenidas de *A. aureolatum* fueron idénticas entre sí y conformaron un grupo filogenético con *Borrelia turcica* (hallada en *Hyalomma aegyptium* de Turquía) y *Borrelia* spp. detectadas en *Amblyomma maculatum* de EEUU y *A. longirostre* de Brasil, y también con una *Borrelia* sp. encontrada en la tortuga *Geochelone pardalis babcocki* de Zambia (Figura 16). Todas estas *Borrelia* spp. pertenecen al REP. Además, una secuencia obtenida de una ninfa de *I. auritulus* s.l. (G1034) se encontró asociada también a este grupo (Figura 16).

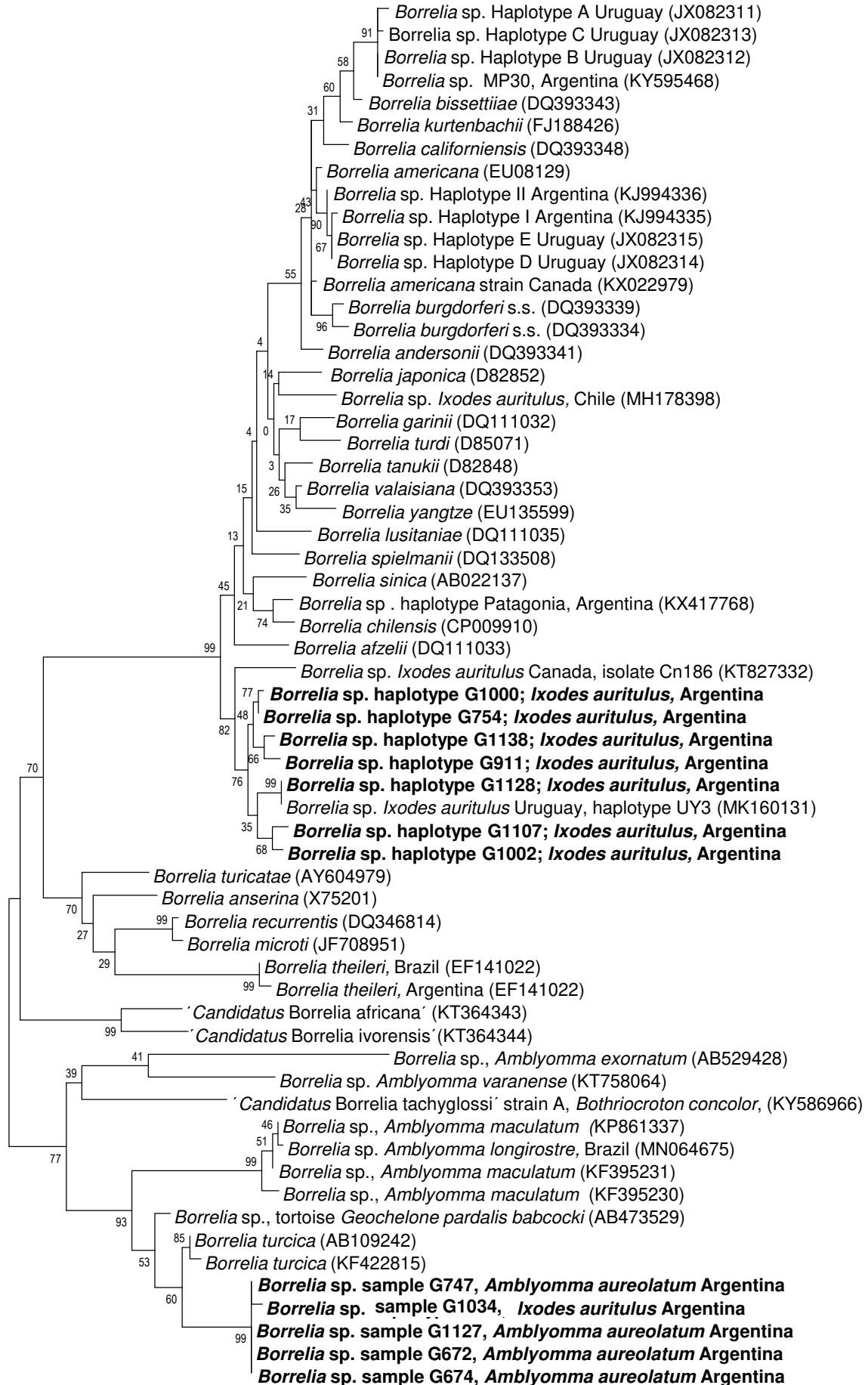
Treinta y nueve muestras (de los 42 muestras positivas a la PCR anidada del fragmento *fla*) resultaron positivas a la PCR anidada del fragmento ARNr 16S y todas pudieron ser secuenciadas. Las tres muestras negativas correspondieron a dos ninfas de *I. auritulus* s.l. (colectadas en *T. rufiventris* y *T. amaurochalinus*) y una ninfa de *A. aureolatum* (colectada en *T. rufiventris*).

Las secuencias del ARNr 16S obtenidas de los positivos de *I. auritulus* s.l. conformaron 6 diferentes haplotipos con 99,2-100% de identidad entre sí y menos de 99,2% con diferentes secuencias de *Borrelia* del GEL. No se encontró secuencias de ese fragmento pertenecientes a *Borrelia* spp. halladas previamente en *I. auritulus* de Canadá y Uruguay para su comparación. Por otro lado, las secuencias del ARNr 16S obtenidas de los especímenes de *A. aureolatum* fueron idénticas entre sí y tuvieron 99,0% de identidad con *B. turcica* (AB473539) hallada en *H. aegyptium* de Jordania, *Borrelia* sp. (AB529377) hallada en *Amblyomma geoemydae* de Japón, *Borrelia* sp. (MH628249) hallada en *H. aegyptium* de Turquía, y *Borrelia* sp. (AB473532) hallada en la tortuga *G. pardalis babcocki* de Zambia.

Por último, las garrapatas colectadas de perros, de la cabaña y el ejemplar colectado de un humano resultaron negativas. Todas las muestras de aves (incluyendo 15 aves que tenían garrapatas positivas a *Borrelia*: 9 *T. rufiventris*, 5 *T. amaurochalinus* y 1 *S. aurantirostris*) y las muestras de roedores resultaron negativas.

---

**Figura 16 (página siguiente).** Árbol filogenético generado por el método de máxima verosimilitud (GTR+G+I) para un fragmento del gen *fla* del género *Borrelia*. Los números en los nodos representan el soporte de remuestreo generado por 1000 replicaciones. Entre paréntesis se muestran los números de acceso de GenBank.



## **5. Discusión**

---

## 5.1. General

Los parques y las áreas naturales urbanas presentan un estrecho contacto entre los animales domésticos (en especial de compañía) y los animales silvestres, siendo especialmente sensibles a la introducción o dispersión de ectoparásitos como las garrapatas, así como patógenos de los cuales pueden ser reservorios (Di Luca y col., 2013; Kowalec y col., 2017). La RECS, la principal área urbana protegida de CABA, se caracteriza por una gran cantidad de ambientes con abundancia de animales, principalmente aves, y la presencia habitual de perros vagabundos (Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos, 2014; Wais de Badgen, 2013).

## 5.2. Garrapatas

La presente tesis establece la presencia permanente de tres especies de garrapatas en la RECS: *I. auritulus* s.l., *A. aureolatum* y *A. triste*, a lo largo de un periodo de más de 5 años. En Sudamérica, los estudios en áreas urbanas naturales son escasos. En dos estudios en Brasil se encontraron diversas especies del género *Amblyomma* (Estrada y col., 2006; Toledo y col., 2011a, 2011b), mientras que en el único llevado a cabo en Argentina (en RECUCN-CABA) se encontró sólo *I. auritulus* s.l. (González y col., 2019). Además, muestreos estacionales realizados en perros del barrio aledaño a la RECS (Rodrigo Bueno) sólo detectaron la presencia de *Rh. sanguineus* s.s. (González y col., 2019).

### 5.2.1. *Ixodes auritulus* sensu lato

*Ixodes auritulus* s.l. es un parásito de aves con distribución mundial, los especímenes presentan una variación morfológica considerable y más de una especie posiblemente se encuentre incluida bajo este nombre, representando un complejo de especies que parasitan a una gran variedad de aves (Guglielmone y col., 2014; Nava y col., 2017). No existen registros de picaduras a humanos o animales domésticos por esta especie de garrapata (Nava y col., 2017). En el cono sur de Sudamérica este grupo presenta una distribución focal, que incluye Chile, Brasil, Perú, Argentina y Uruguay (Nava y col., 2017). En Argentina fue encontrada en las provincias patagónicas (Guglielmone y Nava, 2005), delta del Paraná (Flores y col., 2014) y CABA (Cicuttin, 2016), aunque es probable que su distribución sea más amplia.

En la region neotropical se halló en distintos órdenes de aves, principalmente Passeriformes (especialmente las familias Furnariidae y Turdidae) (Carvalho y col., 2019), y en menor medida en Ciconiiformes, Columbiformes, Falconiformes, Galliformes, Piciformes, Procellariiformes



y Tinamiformes (González-Acuña y col., 2005; Nava y col., 2017). Los machos de *I. auritulus* s.l. no se encuentran comúnmente sobre los hospedadores (González-Acuña y col., 2005).

La bibliografía sobre la dinámica estacional de *I. auritulus* s.l. es escasa. En CABA, en la RECUCN se colectaron larvas mayormente en mayo y junio, ninfas en mayo y julio y los adultos fueron encontrados en los meses de enero, febrero y junio (González y col., 2019). En Uruguay (departamentos de Lavalleja y Rocha, a una latitud similar a CABA) larvas y ninfas fueron colectadas de vegetación mayormente durante el invierno, mientras que las hembras fueron halladas principalmente en primavera (Carvalho y col., 2019). En esta tesis se encontraron larvas principalmente en mayo pero también en agosto-septiembre. Las ninfas estuvieron presentes todo el año, con un pico de abundancia en abril. Por último, los adultos se hallaron en abril y agosto, pero el número de ejemplares fue muy escaso.

Respecto a la infestación en aves, el mayor porcentaje ocurrió en invierno (24,6%) mientras que en verano fue mucho menor (6,5%), en comparación, Carvalho y col. (Carvalho y col., 2019) detectaron la mayor prevalencia en verano (27,9%) y la menor en primavera (12,8%). En esta tesis la mayor presencia de larvas en aves fue en invierno, la de ninfas en primavera y las hembras en verano, mientras que en Uruguay, las larvas se detectaron mayormente en otoño-invierno, las ninfas de verano a invierno y las hembras en invierno (Carvalho y col., 2019) y en Curitiba (área subtropical de Brasil), las larvas se detectaron en otoño, las ninfas principalmente en otoño y primavera, y las hembras en primavera (Arzua y Barros-Battesti, 1999).

De las aves infestadas, la mayoría fue de la familia Turdidae –*T. rufiventris* y *Turdus amaurochalinus*– (57,1%), seguidas por *Troglodytes aedon* y *Zonotrichia capensis*. En Argentina los hallazgos son escasos como para referir a una especie con mayor infestación. En el delta del Paraná, *I. auritulus* fue colectada de *Thamnophilus caerulescens*, *P. nigrorufa*, *Sporophila caerulescens* y *T. rufiventris*, aunque el número es bajo como para establecer preferencias (Flores y col., 2014). En Santa Cruz y Tierra del Fuego fue reportada en Passeriformes (*Cinclodes patagonicus* y *Sturnella loyca*), Ciconiiformes (*Nycticorax nycticorax*), Falconiformes (*Phalcoboenus australis*) y Procellariiformes (*Pelecanoides magellani*). Por último, en RECS (CABA) fueron colectadas tres hembras de un *T. rufiventris* (Cicutin, 2016). En Uruguay, el 79,7% de las aves infestadas eran de la familia Turdidae (Carvalho y col., 2019), mientras que en Curitiba (Brasil), *T. rufiventris* fue la especie más infestada (Arzua y col., 2003; Arzua y Barros-Battesti, 1999).

La presente tesis agrega a *Stephanophorus aurantirostris*, *Phacellodomus striaticollis*, *F. rufus* y *Geothlypis aequinoctialis* como hospedadores para *I. auritulus* s.l.

### **5.2.2. *Amblyomma aureolatum***

*Amblyomma aureolatum* se halla sólo en la región neotropical, cubriendo el este de Sudamérica, desde Uruguay hasta Surinam, incluyendo el este de Argentina, Paraguay, Brasil y Guyana Francesa, y forma el complejo *ovale* junto con *A. ovale* (Guglielmone y col., 2003; Nava y col., 2017). Los registros previos en Argentina comprenden hallazgos en Misiones, Chaco, Entre Ríos, Santa Fe, Buenos Aires y CABA (Cicuttin y col., 2013a; Colombo y col., 2016; Guglielmone y Nava, 2006; Tarragona y col., 2012).

La gran mayoría de los especímenes adultos son encontrados sobre carnívoros (Orden Carnivora), frecuentemente caninos domésticos. Por otra parte, los estadios inmaduros afectan principalmente a aves del orden Passeriformes, y en segundo lugar roedores, aunque también fueron hallados sobre Carnivora y Xenarthra, esta estrategia de ninfas y larvas de alimentarse sobre distintos hospedadores mejora su chance de supervivencia. La picadura de humanos no es inusual y ocurre por los estadios adultos (Guglielmone y col., 2003; Nava y col., 2017).

En el presente estudio, los adultos de *A. aureolatum* fueron hallados abundantemente en perros, tal cual se reportó en otras regiones (Cicuttin y col., 2013a; Colombo y col., 2016; Guglielmone y Nava, 2006; Nava y col., 2017; Tarragona y col., 2012). Las aves infestadas por larvas y ninfas fueron *T. rufiventris* y *T. amaurochalinus*. En Argentina, el único registro previo en aves correspondió a *P. nigrorufa* en CABA (Cicuttin y col., 2013a). En Curitiba (Brasil), la especie mayormente afectada fue *T. rufiventris* (Arzua y col., 2003). Por último, no se encontraron inmaduros sobre los roedores, en concordancia con reportes previos que no encontraron *A. aureolatum* en las mismas especies de roedores (Colombo y col., 2013; Guglielmone y col., 2003).

En cuanto a la dinámica estacional de *A. aureolatum* los estudios previos también son escasos y no se encontraron estudios estacionales en garrapatas colectadas de vegetación. En Brasil se halló esta garrapata en los caninos domésticos durante todo el año con una abundancia mensual similar (Pinter y col., 2004), mientras que en la presente tesis se hallaron de mayo a febrero, aunque el muestreo no fue sistemático. En aves de Curitiba (Brasil) la prevalencia de infestación fue mayor en julio (35,5%) y junio (32,0%) (Arzua y col., 2003), mientras que en esta tesis se encontró en invierno (8,7%) y primavera (3,4%).

### **5.2.3. *Amblyomma triste***

*Amblyomma triste* forma parte del grupo *Amblyomma maculatum* –que incluye a *A. maculatum*, *A. tigrinum*, *Amblyomma neumanni* y *Amblyomma parvitarsum*- (Lado y col., 2018). Este complejo está ampliamente distribuido por la región neotropical, desde el sur de EEUU hasta

Argentina (Herrick y col., 2016; Lado y col., 2018; Nava y col., 2017, 2011). Estudios filogenéticos revelaron que *A. maculatum*, *A. triste* y *A. tigrinum* son muy cercanas, sugiriéndose que *A. maculatum* y *A. triste* podrían ser la misma especie (Lado y col., 2018).

*Amblyomma triste* sensu stricto se encuentra en Argentina, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil (Lado y col., 2018). Ecológicamente se encuentra asociada a humedales y áreas inundables (Nava y col., 2017, 2011). Su distribución en Argentina se presenta en las subcuencas de los ríos Paraná y Uruguay, hasta la Bahía de Samborombón en la provincia de Buenos Aires, incluyendo CABA (Cicuttin y col., 2013a; Guglielmone y Nava, 2006; Nava y col., 2011).

El ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) es considerado uno de los principales hospedadores para los adultos de *A. triste*, pero también se hallan en carnívoros domésticos (perros y gatos), carnívoros silvestres (*Panthera onca*, *Puma concolor*, *Herpailurus yagouaroundi*, *Chrysocyon brachyurus*, *Lycalopex vetulus*), carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*), ciervo de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus*), bovinos y equinos. Esta especie es muy agresiva hacia los humanos. Los roedores de la subfamilia Sigmodontinae y posiblemente los cuisés (*Cavia aperea*) son los hospedadores de los estadios inmaduros (Nava y col., 2017).

En esta tesis, *A. triste* se encontró en vegetación, en un perro y en un humano, pero no se encontró en roedores. Respecto a las especies de roedores analizadas, estudios previos en el delta del Paraná (Buenos Aires) detectaron inmaduros en aproximadamente el 30 % de *O. flavescens* y *S. aquaticus* (Colombo y col., 2013).

En el área del delta del bajo Paraná, *A. triste* desarrolla una generación por año, con los estadios inmaduros presentes principalmente en verano, y el pico de abundancia de adultos desde fin de invierno a mitad de primavera (Nava y col., 2011). En el muestreo anual y en el muestreo complementario realizados en la presente tesis, los adultos también fueron hallados en septiembre y octubre en la vegetación, pero en abril se colectaron también sobre un perro y un humano.

#### **5.2.4. *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto**

La garrapata común del perro, *Rh. sanguineus* s.l. presenta una amplia distribución mundial y es de gran relevancia en salud pública y veterinaria. En la región neotropical, *Rh. sanguineus* s.l. está conformada por al menos dos linajes con distinta distribución biogeográfica y posiblemente distinta competencia vectorial. El linaje tropical se ubica en localidades tropicales y subtropicales de América, incluyendo el norte de Argentina, y está relacionado filogenéticamente con garrapatas de África. Por otra parte, el linaje templado (*Rh. sanguineus*

s.s.) se ubica en localidades templadas de Argentina, Chile y Uruguay, y se relaciona con garrapatas de Europa (Nava y col., 2012, 2015, 2018). En Argentina ha sido detectada en prácticamente todo el país hasta Chubut (Guglielmone y Nava, 2005). En CABA se halló en perros, especialmente en barrios con necesidades básicas insatisfechas (Cicuttin, 2008), siendo posteriormente clasificada como *Rh. sanguineus* s. s. (Nava y col., 2012, 2018). En CABA también se ha detectado picando humanos (Cicuttin, comunicación personal).

Las garrapatas pertenecientes al taxón *Rh. sanguineus* s. l. son endofílicas y el perro doméstico es el principal hospedador en zonas urbanas y rurales, aunque ocasionalmente puede infectar a un amplio rango de hospedadores domésticos y silvestres, incluyendo gatos, roedores, aves y seres humanos (Nava y col., 2017). El parasitismo en hospedadores distintos al perro se asocia principalmente a la presencia de perros y entornos altamente infestados. En las zonas tropicales y subtropicales es frecuente durante todo el año, mientras que en las regiones templadas es más activa desde el final de la primavera hasta principios de otoño (Cicuttin, 2008; Dantas-Torres, 2010; Lorusso y col., 2010).

La detección de *Rh. sanguineus* s.s. en nuestro trabajo fue baja, en contraposición con la situación encontrada en perros de otros áreas de CABA, especialmente en barrios con necesidades básicas insatisfechas (Cicuttin, 2014); esto podría deberse a la baja densidad presente en el área de su hospedador habitual (perro), así como a su mejor adaptación a ambientes netamente urbanos.

### **5.3. Patógenos bacterianos**

En la RECS no existen estudios previos de patógenos transmitidos por garrapatas. En esta tesis se detectó la presencia de *Borrelia* spp., *R. bellii*, *Ehrlichia* sp. y otras alfa-proteobacterias en garrapatas, y *N. risticii* en roedores *O. flavescens*.

Respecto a CABA, los antecedentes incluían la detección molecular de *R. massiliae* y *A. platys* en *Rh. sanguineus* s.l., *A. platys* y *E. canis* en caninos, y *N. risticii* y *Rickettsia* sp. en murciélagos *T. brasiliensis*.

#### **5.3.1. Género *Rickettsia***

En esta tesis se reporta el primer hallazgo de *Rickettsia* sp. en *I. auritulus* s.l. a nivel mundial y el primer hallazgo de *R. bellii* en *A. aureolatum* de Argentina.

Diversas especies de *Rickettsia* han sido halladas en garrapatas del género *Ixodes* en todo el mundo (Akl y col., 2019; Merhej y Raoult, 2011; Tokarz y col., 2019), incluso algunas patógenas para los humanos como *Rickettsia australis* (Merhej y Raoult, 2011). En Brasil, Blanco y col. (2016) reportaron *Rickettsia* sp. en *I. aragoi* colectadas de roedores, y en Salta (Argentina), Flores y col. (2016) detectaron una *Rickettsia* sp. en *I. pararicinus* colectados de *T. aedon*, *T. amaurochalinus*, *T. rufiventris*, *Coryphospingus cucullatus* y *Z. capensis*. Ambas *Rickettsia* spp. detectadas están relacionadas con rickettsias endosimbiontes de otras *Ixodes* spp. de América Central y del Norte, pero no con el hallazgo de esta tesis.

*Rickettsia bellii*, hallada en *A. aureolatum* en esta tesis, se clasifica dentro del grupo denominado ancestral y ha sido hallada en garrapatas e insectos, considerándose una especie simbiote (Krawczak y col., 2018; Merhej y Raoult, 2011). No existen evidencias que cause enfermedad en humanos o animales (Krawczak y col., 2018; Merhej y Raoult, 2011). El único antecedente en *A. aureolatum* es un trabajo de Pinter y Labruna (2006) que reportan 1,5% de *A. aureolatum* colectadas de perros de San Pablo (Brasil) infectadas con *R. bellii*; en esta tesis se halló 1,2% de infección. En Argentina, *R. bellii* se notificó en diversas especies de garrapatas: *A. neumanni* (Labruna y col., 2007), *A. dubitatum* (Monje y col., 2015), *A. trigrinum* (Tomassone y col., 2010), *A. sculptum*, *A. ovale* y *Haemaphysalis juxtakochi* (Sebastian y col., 2016a).

Por otra parte, en *A. aureolatum* se ha detectado *R. rickettsii* en San Pablo (Brasil) (Pinter y Labruna, 2006) y *R. parkeri* cepa Mata Atlántica en el sur de Brasil (Barbieri y col., 2014). En *A. triste*, *R. parkeri* ha sido hallada en varias regiones de Sudamérica, e incluso en regiones próximas a la RECS como el Delta del Paraná (Romer y col., 2011) y Ensenada (Villalba Apestegui y col., 2018) han ocurrido casos humanos de rickettsiosis por *R. parkeri*. Sin embargo, en la presente tesis no fue detectada en *A. triste*. También en Argentina se ha detectado *R. massiliae* en *Rh. sanguineus* s.l. de CABA (Cicuttin y col., 2004, 2014a), Buenos Aires (Cicuttin y col., 2014b) y Mendoza (Monje y col., 2016). En la presente tesis, la cantidad de ejemplares estudiada de *Rh. sanguineus* s.s. fue muy escasa.

Las rickettsias se transmiten eficientemente tanto transestadialmente como transováricamente en las garrapatas, considerándose tanto vectores como reservorios de estas bacterias (Merhej y col., 2014). Sin embargo, en algunas especies de rickettsias se observa la participación de hospedadores amplificadores (vertebrados que desarrollan una rickettsemia elevada durante algunos días), confirmado para *R. rickettsii* y el roedor *Microtus pennsylvanicus* en EEUU y los roedores *Euryzomatomys spinosus* e *H. hydrochaeris* y las comadrejas *Didelphis* spp. en Brasil (Labruna, 2009). Además, *R. rickettsii* se ha detectado en órganos de numerosas especies

de roedores tales como *P. leucopus*, *Pitymys pinetorum*, *Sigmodon hispidus*, *Citellus lateralis tescorum* y *Eutamias amoenus* en EEUU (Eremeeva y col., 2015). En Argentina se reportó un solo estudio de *Rickettsia* spp. en muestras de pulmón de roedores (*Akodon azarae*, *Oxymycterus rufus*, *O. flavescens*, *Oligoryzomys nigripes*, *S. aquaticus*, *D. kempi* y *Holochilus brasiliensis*), resultando todas negativas (Colombo, 2016).

El rol de las aves como amplificadores es mucho más discutido, si bien diversos estudios detectan *Rickettsia* spp. (especialmente *Rickettsia helvetica*) en sangre de aves de Europa (Berthová y col., 2015; Hornok y col., 2014). No existen reportes bibliográficos para América de hallazgos en aves.

### 5.3.2. Género *Ehrlichia*

Esta tesis reporta el primer hallazgo de *Ehrlichia* sp. en *I. auritulus* s.l. a nivel mundial.

Las garrapatas del género *Ixodes* han sido reconocidas como vectores de *Ehrlichia* spp. en diversas regiones del mundo. Se puede destacar a *Ehrlichia muris* subespecie *muris* detectada en *I. persulcatus* de Europa del Este y Japón, y *E. muris* subesp. *eaucclairensis* hallada en *I. scapularis* de EEUU, ambas con importancia en salud pública (Pritt y col., 2017).

La *Ehrlichia* sp. hallada en *I. auritulus* s.l. fue idéntica (fragmento ARNr 16S) con hallazgos en pingüinos *Spheniscus magellanicus* de Chile e *Ixodes turdus* de Japón. En el estudio realizado en Japón, detectaron positividad en 9/84 (10,7%) de *I. turdus* colectadas de vegetación, de las cuales 1 sola fue similar a la *Ehrlichia* sp. detectada en esta tesis (Taira y col., 2019). Lamentablemente la *Ehrlichia* sp. hallada en la presente tesis no pudo ser caracterizada molecularmente con lo cual la información filogenética es muy limitada.

No hay estudios previos del género *Ehrlichia* en *A. triste* y *A. aureolatum*. Por otro lado, en Argentina se ha detectado *E. canis* en *Rh. sanguineus* s.s. de Buenos Aires (Cicuttin y col., 2017b) y en *Rh. sanguineus* linaje tropical de Formosa (Cicuttin y col., 2015b). En la presente tesis, la cantidad de ejemplares estudiada de *Rh. sanguineus* s.s. fue muy escasa.

Las garrapatas son vectores de *Ehrlichia* spp., pero no ocurre transmisión transovárica, con lo cual es necesario un hospedador vertebrado para la infección de la garrapata (Dumler y col., 2001). Históricamente los mamíferos han sido los únicos vertebrados considerados hospedadores naturales del género *Ehrlichia* (Dumler y col., 2001). Los roedores se han considerado susceptibles (tanto natural como experimentalmente) a diversas especies de *Ehrlichia* (Dumler y col., 2001). En Europa, el ciclo de *E. muris* subsp. *muris* involucra a diversos roedores silvestres, mientras que en EEUU, para *E. muris* subsp. *eaucclairensis* se ha identificado un importante rol para *P. leucopus* (Pritt y col., 2017). En Brasil, se detectaron

genotipos de *Ehrlichia* (relacionadas a *E. canis*) en roedores *Clyomys laticeps*, *Holochilus fosteri*, *Clyomys laticeps* y *Calomys cerqueirai* (Benevenuto y col., 2017).

Por otra parte, recientes estudios en reptiles y garrapatas asociadas a reptiles, así como en garrapatas asociadas a aves ponen en evidencia un escenario más complejo (Andoh y col., 2015; Machado y col., 2012; Muñoz-Leal y col., 2019c; Tjisse-klasen y col., 2010). Muñoz-Leal y col. (2019c) detectaron *Ehrlichia* sp. en bazo de pingüinos *Spheniscus magellanicus* en el sur de Chile, mientras que Machado y col. (2012) reportan tres *Ehrlichia* spp. en sangre entera de tres especies de aves (*Falco sparverius*, *Coragyps atratus* y *Neochen jubata*).

Con excepción de un estudio en Brasil que estudió 2 *Caracara plancus* (resultando negativos) (Machado y col., 2012), no se encontraron estudios previos de *Ehrlichia* spp. sobre las especies de aves y roedores estudiadas en esta tesis.

### **5.3.3. Género *Anaplasma***

En esta tesis no se detectó al género *Anaplasma* en ninguna de las muestras analizadas.

El conocimiento del género *Anaplasma* en garrapatas de Sudamérica es limitado. En Brasil, *A. platys* fue detectada en *Rh. sanguineus* s.l. (Melo y col., 2015) y diversas *Anaplasma* spp. fueron detectadas en *A. sculptum*, *A. ovale* y *A. parvum* (De Sousa y col., 2017; Melo y col., 2015). En Argentina, en garrapatas sólo se ha detectado *A. platys* en *Rh. sanguineus* s.s. y *Rh. sanguineus* linaje tropical (Cicuttin y col., 2015a, 2015b; Oscherov y col., 2011) y *A. marginale* en *Rh. microplus* (Ruybal y col., 2009). Los ejemplares analizados de *Rh. sanguineus* s.s. fueron muy escasos en la presente tesis.

Al igual que para el género *Ehrlichia*, los mamíferos son los únicos vertebrados que son hospedadores competentes de *Anaplasma* (Dumler y col., 2001), pero existen reportes de detección de *Anaplasma* spp. en sangre de aves (Vanstreels y col., 2018). Los roedores han sido involucrados como reservorios de *A. phagocytophilum* (o cepas relacionadas) en Europa y EEUU (Matei y col., 2018). En Brasil, diversas especies de *Anaplasma* fueron descritas en roedores de numerosas especies (*C. laticeps*, *Rattus rattus*, *Akodon* sp., *Sphiggurus villosus*, *C. cerqueirae* y *Hylaeamys megacephalus*) (Benevenuto y col., 2017; De Sousa y col., 2017; Wolf y col., 2016) y en aves silvestres (*Penelope obscura*, *Coragyps atratus* y *C. plancus*) (Machado y col., 2012; Mongruel y col., 2017).

#### 5.3.4. Género *Neorickettsia*<sup>2</sup>

El género *Neorickettsia* comprende un grupo de bacterias intracelulares obligadas habitualmente endosimbiontes de digeneos (subclase Digenea, clase Trematoda, filo Platyhelminthes). Los ciclos de vida de estos trematodos son complejos e involucran diversos estadios que parasitan diferentes hospedadores (Vaughan y col., 2012). *Neorickettsia* spp. han sido reportadas en todo el mundo asociadas a estos platelmintos (Greiman y col., 2014).

Las neorickettsias persisten dentro de todos los estadios de los trematodos presentando transmisión vertical, y además, en algunos casos, los digeneos adultos pueden transmitir los endosimbiontes a los hospedadores vertebrados definitivos (transmisión horizontal) (Vaughan y col., 2012).

En los vertebrados, estas bacterias invaden y se multiplican en los monocitos en sangre y en los macrófagos en tejidos linfoides y otros tejidos, produciendo una enfermedad severa y en ocasiones fatal (Vaughan y col., 2012). Hasta la actualidad, se atribuyeron cuatro enfermedades en vertebrados causadas por este género bacteriano: fiebre Sennetsu (por *Neorickettsia sennetsu*, que afecta a los humanos), toxipatía por salmón (por *Neorickettsia helminthoeca*, que afecta a los cánidos), fiebre del trematodo del río Elokomin (por el agente EFF, que afecta a los osos) y ehrlichiosis monocítica equina (por *N. risticii*, que afecta a los caballos) (Rikihisa y col., 2004; Vaughan y col., 2012). En Argentina, la única especie notificada hasta el momento es *N. risticii* (Cicuttin y col., 2013b, 2017c).

*Neorickettsia risticii* (anteriormente denominada *Ehrlichia risticii*) es el agente de la fiebre equina del Potomac (ehrlichiosis monocítica equina), una enfermedad del verano descrita a fines de los 70s en Maryland y Virginia cerca del río Potomac (Washington, EEUU) (Baird y Arroyo, 2013). Los caballos exhiben signos clínicos variados, que usualmente incluyen fiebre (a menudo bifásica), depresión, anorexia y colitis con diarrea aguda. En casos graves, presentan laminitis y abortos (Baird y Arroyo, 2013; Dumler y col., 2001; Gibson y col., 2005; Vaughan y col., 2012). Sin tratamiento la letalidad varía del 5 al 30 % (Dumler y col., 2001). Hasta la actualidad, se han notificado casos clínicos en EEUU, Canadá, Brasil y Uruguay (Durán y Marqués, 2016; Gibson y col., 2005; Vaughan y col., 2012). Interesantemente, en Brasil y Uruguay desde hace casi 100 años se conoce la ocurrencia de una enfermedad diarreica en caballos que ocurre en el verano en las costas del lago Merín, denominada localmente como churrido equino y descrita formalmente en 1948 (Dutra y col., 2001). En Argentina, *N. risticii*

---

<sup>2</sup>El género *Neorickettsia* no es transmitido por garrapatas, por lo cual no fue incluido en la Introducción de esta tesis. En esta sección se desarrolla la información completa.



se detectó por primera vez en 2013 en tres murciélagos *T. brasiliensis* de CABA, a partir de muestras de hígado, bazo y pulmón (Cicuttin y col., 2013b).

*Neorickettsia risticii* es un endosimbionte de trematodos (principalmente de los géneros *Acanthatrium* y *Lecithodendrium*). El ciclo de vida de estos parásitos es complejo e involucra varios hospedadores, incluyendo caracoles acuáticos, artrópodos acuáticos y vertebrados. En general, comienza cuando un caracol acuático ingiere un huevo del parásito, el huevo eclosiona y el miracidio penetra los tejidos del caracol, desarrollando a un esporoquiste primario. El esporoquiste primario produce esporoquistes secundarios a través de reproducción asexual, estos esporoquistes se extienden por todos los tejidos del caracol y producen miles de cercarias. Las cercarias salen del caracol y entran en el ambiente externo, donde pueden penetrar en un artrópodo acuático y enquistarse en forma de metacercarias. Cuando los murciélagos y aves insectívoras ingieren los artrópodos infectados por metacercarias, los trematodos adultos se desarrollan en su intestino (Baird y Arroyo, 2013; Lin y col., 2009; Vaughan y col., 2012; Wilson y col., 2006). *Neorickettsia risticii* puede ser transmitida horizontalmente desde los trematodos infectados a tejidos no parasitados (como hígado y bazo) de aves y murciélagos, sugiriéndose que los animales insectívoros también podrían ser reservorios de esta bacteria (Gibson y col., 2005; Pusterla y col., 2003; Vaughan y col., 2012). La transmisión a los equinos ocurre cuando ingieren accidentalmente insectos infestados con metacercarias (infectadas con *N. risticii*) durante el pastoreo o comiendo heno, o al beber accidentalmente insectos infestados o quizás cercarias libres (infectadas con *N. risticii*) junto con el agua (Vaughan y col., 2012). Según estudios realizados por caracterización molecular de los genes ARNr 16S, *groESL* y *p51*, análisis de *Western blot* y morfología, *N. risticii* se compone de diversas cepas en distintas regiones (Dumler y col., 2001; Dutra y col., 2001; Greiman y col., 2015; Cicuttin y Greiman, 2016). La variación en el gen *p51* muestra asociaciones geográficas, posiblemente debidas a presiones selectivas locales (Gibson y col., 2011). El análisis filogenético del fragmento *p51* revela grupos de *N. risticii*: costa oeste de EEUU (California y Oregon) con hallazgos en caballos, caracoles acuáticos y trematodos; centro-este de EEUU (Michigan, Pennsylvania y Maryland) en caballos y *N. risticii* halladas en murciélagos de CABA que se relacionan con el hallazgo de esta tesis. Cabe destacar que si bien hay notificaciones de casos en equinos y hallazgos en trematodos de Brasil y Uruguay, no se encuentran secuencias disponibles para su comparación (Cicuttin y Greiman, 2016).

El hallazgo de *N. risticii* en *O. flavescens* es la primera notificación de este género de bacterias en roedores en el ambiente natural, dado que hasta el momento la infección por *Neorickettsia* spp. en roedores sólo fue descrita en forma experimental (Vaughan y col., 2012).

*Oligoryzomys flavescens* se distribuye desde el sureste de Brasil hasta Uruguay y Argentina (norte y centro) y se alimenta principalmente de semillas, pero complementa su alimentación con insectos según la abundancia estacional (Barquez y col., 2006; Boiani y col., 2008; Ellis y col., 1994; Polop y col., 2003). Considerando los hábitos alimenticios de esta especie de roedor, la detección de *N. risticii* en la presente tesis también podría estar relacionada con contaminación con contenido intestinal o por el fenómeno de translocación bacteriana (migración de microorganismos viables o sus productos, como su ADN, a través de la barrera intestinal hacia los linfonódulos mesentéricos u otros órganos como el hígado) (Giannelli y col., 2014).

### **5.3.5. Alfa-proteobacterias simbioses de garrapatas**

Las tres secuencias del fragmento ARNr 16S obtenidas de *A. aureolatum* se encuentran relacionadas con un grupo de alfa-proteobacterias simbioses de garrapatas que conforman un clado separado a los géneros *Wolbachia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Neorickettsia* (Lo y col., 2006). Estos hallazgos son la segunda evidencia para Sudamérica y la primera para *A. aureolatum*.

La simbiosis con microorganismos es un hito importante en la evolución de los eucariotas. Los artrópodos tienen frecuentes asociaciones con bacterias simbioses que viven exclusivamente en ellos y se transmiten transovariamente (Duron y col., 2017). La asociación de las garrapatas con bacterias simbioses fue establecida por Cowdry al principio del siglo XX, quien demostró por microscopía óptica la presencia de bacterias gram-negativas tipo-rickettsia en diversos tejidos (huevos, ovarios, túbulos de Malpighi y células del epitelio intestinal) de larvas no alimentadas (Narasimhan y Fikrig, 2015).

Dos géneros de simbioses sólo fueron hallados en garrapatas: *Mitochondria*, que habita en las mitocondrias de algunas especies de garrapatas, y endosimbioses tipo-*Francisella* reportados en unas pocas especies (Duron y col., 2017). *Candidatus M. mitochondrii* es una bacteria gram-negativa en forma de bacilo que se observó en varios tipos de células (células lumbales, funiculares y oocitos) de los ovarios de *I. ricinus* en Europa (Lo y col., 2006; Sassera y col., 2006). La distribución, prevalencia y transmisión transovárica de este endosimbionte de *I. ricinus* sugiere que esta asociación puede ser obligada, con un rol fundamental en la supervivencia de esta garrapata (Narasimhan y Fikrig, 2015). En Uruguay, Venzal y col. (2008) detectaron alfa-proteobacterias en el 33% de pools de adultos de *A. triste*. En comparación, en la presente tesis, detectamos sólo el 0,6% de *A. aureolatum* infectadas.

### 5.3.6. Género *Borrelia*

Esta tesis reporta por primera vez el género *Borrelia* en la especie *A. aureolatum*. Los hallazgos de *Borrelia* sp. en *I. auritulus* s.l. representan el primer registro en Argentina (y tercer reporte para Sudamérica).

En Canadá, la prevalencia de *Borrelia* sp. - GEL en *I. auritulus* colectadas en aves varió de 6,2 a 33,3% (Morshed y col., 2005; Scott y col., 2010, 2012, 2015), mientras que en Uruguay, Carvalho y col. (2019) hallaron 12,2% de *I. auritulus* infectadas colectadas de aves (ninfas y hembras) y 5,3% en colectadas de vegetación (ninfas y hembras). En el presente estudio, se encontró 27,3% de *I. auritulus* positivas (todos los estadios) colectadas de aves y sólo 0,7% en *I. auritulus* de vegetación (aunque 28,6% en las ninfas). Dado que la transmisión transovárica es rara en las espiroquetas del GEL (Rollend y col., 2013), esto sugiere que fueron adquiridas por las garrapatas *I. auritulus* en su alimentación sobre las aves, manteniendo la infección durante la muda.

Los haplotipos de *Borrelia* sp. - GEL que fueron detectados en *I. auritulus* parecen pertenecer a las mismas genoespecies detectadas en *I. auritulus* de Canadá (Cn186) y Uruguay (UY3). Por otra parte, Muñoz-Leal y col. (2019a) detectaron una genoespecie en *I. auritulus* en Chile que no se encuentra relacionada con el hallazgo de esta tesis.

El hallazgo de *Borrelia* sp. – GEL en *I. auritulus* s.l. en el presente estudio se agrega a la lista de genoespecies de *B. burgdorferi* s.l. reportadas en Argentina. Diferentes haplotipos fueron detectados en *I. parvicinus* del norte de este país (Flores y col., 2018; Nava y col., 2014; Saracho-Bottero y col., 2017) y un haplotipo fue detectado en *Ixodes* sp. cf. *I. nequenensis* e *I. sigelos* de la región patagónica (Sebastian y col., 2016b).

No hay registros previos de *Borrelia* spp. en *A. aureolatum*. En el Nuevo Mundo, la presencia de *Borrelia* en garrapatas *Amblyomma* se notificó en EEUU y Brasil. En EEUU se encontró una genoespecie de *Borrelia* – REP en *A. maculatum* (Lee y col., 2014; Mitchell y col., 2016) y *Borrelia lonestari* (perteneciente al GFR) en *Amblyomma americanum* (Hudman y Sargentini, 2018; Mitchell y col., 2016). En Brasil, la presencia de una *Borrelia* sp., muy relacionada a los hallazgos en *A. maculatum*, fue reportada en *A. longirostre* por Pacheco y col. (2019). La *Borrelia* sp. hallada en este tesis conforma un grupo monofilético con *B. turcica*, con *Borrelia* sp. detectada en *G. pardalis babcocki* (tortuga) de Zambia y con las genoespecies halladas en *A. maculatum* de EEUU y *A. longirostre* de Brasil.

La prevalencia de *Borrelia* sp. en *A. aureolatum* en la presente tesis varió de 2,1 % en garrapatas colectadas de vegetación (17,3% en ninfas, sin detección en larvas) hasta 41,7% en garrapatas colectadas de aves.

La transmisión transovárica es un evento inusual en las *Borrelia* – GFR, pero no hay estudios específicos en el subgrupo *Borrelia* – GFR-GD (Talagrand-Reboul y col., 2018). Considerando la alta prevalencia en garrapatas colectadas de aves con respecto a las de vegetación (y la no detección en larvas colectadas de vegetación), el presente estudio sugiere que las espiroquetas fueron adquiridas durante la alimentación de las larvas sobre las aves y transmitidas transtadialmente a las ninfas. De todas formas, esto no confirma su capacidad vectorial y los hallazgos deben ser cuidadosamente interpretados, especialmente considerando que las garrapatas parcialmente o totalmente ingurgitadas colectadas sobre hospedadores pueden contener microorganismos adquiridos durante la ingesta de sangre, sin necesariamente ser vectores de los mismos (Estrada-Peña y col., 2013). El espécimen positivo de *I. auritulus* s.l. asociado a *Borrelia* – REP puede ser debido a esta ingesta de sangre del hospedador o también asociado a la co-alimentación con *A. aureolatum*. En este sentido, hay reportes que las espiroquetas pueden pasar directamente de garrapatas infectadas a no infectadas mientras las garrapatas se alimentan simultáneamente en estrecho contacto (Richter y col., 2002).

No hay estudios previos de *Borrelia* spp. en *Amblyomma triste*. Respecto a *Rh. sanguineus* s.s. las muestras estudiadas han sido muy escasas; en la bibliografía se menciona la detección de *Borrelia* spp. – GEL en *Rh. sanguineus* s.l. de Europa pero la competencia vectorial no ha sido demostrada (Abdullah y col., 2018).

Las *Borrelia* spp. - GEL incluyen especies más adaptadas a hospedadores específicos (mamíferos, aves e incluso a reptiles) y especies sin hospedadores especializados como *B. burgdorferi* s.s. (Mechai y col., 2016; Piesman y Gern, 2004; Rudenko y col., 2014). Los roedores son importantes reservorios de diversas especies de *Borrelia* – GEL en todo el mundo (Gil y col., 2005; Piesman y Gern, 2004), p.e., el reservorio primario de *B. burgdorferi* s.s. es el ratón *P. leucopus*, aunque otras especies de roedores también resultan infectadas (Beckmann y col., 2019). Por otro lado, la importancia de las aves como reservorios de *Borrelia* spp. – GEL también está claramente reconocida (Mechai y col., 2016; Newman y col., 2015; Rudenko y col., 2014), p.e., *Turdus merula* y *B. garinii* en Europa (Piesman y Gern, 2004). Para el caso de *Borrelia* spp. – GFR, la especificidad de hospedadores es variable, porque diferentes especies pueden infectar pequeños mamíferos, aves, otros mamíferos domésticos o silvestres, así como humanos, sin una especificidad clara (Cutler, 2010; Talagrand-Reboul y col., 2018). De todas formas, dos asociaciones con hospedadores fueron reportadas: *B. anserina* con aves y *Borrelia duttonii* / *B. recurrentis* con humanos (Cutler, 2010; Talagrand-Reboul y col., 2018). Interesantemente, los hospedadores vertebrados del subgrupo GFR-GD no están claramente identificados (Cutler, 2010; Talagrand-Reboul y col., 2018). Por último, algunas *Borrelia* spp.

– REP fueron aisladas o detectadas en reptiles (Takano y col., 2011, 2010). En la presente tesis, tres especies de aves tuvieron garrapatas positivas a *Borrelia* spp. – GEL: *T. rufiventris*, *T. amaurochalinus* y *S. aurantirostris*, y dos especies de aves tenían garrapatas positivas a *Borrelia* sp. – REP: *T. rufiventris* y *T. amaurochalinus*. Numerosos reportes de garrapatas positivas a *Borrelia* sp. – GEL colectadas sobre aves de la familia Turdidae indican el posible rol de este grupo de aves como reservorio de espiroquetas del GEL (Flores y col., 2018; Norte y col., 2013; Saracho-Bottero y col., 2017; Scott y col., 2012). De todas formas, todas las muestras de aves (sanguíneas y de tejidos, incluyendo 15 muestras sanguíneas de aves que tenían garrapatas positivas a *Borrelia* spp.) y todos los roedores estudiados resultaron negativos. En las aves se debe considerar que el tropismo de las borrelias no está claramente conocido, y además, debido a que poseen eritrocitos nucleados, la sangre de aves contiene numerosa cantidad de ADN que hace difícil la detección de patógenos (Newman y col., 2015). Además, no se encontraron antecedentes de detección de *Borrelia* spp. en las especies de aves y roedores estudiadas en esta tesis.

#### **5.4. Importancia veterinaria y para la salud pública**

En la presente tesis se hallaron especies de garrapatas de importancia en medicina veterinaria y humana, además, se detectaron microorganismos relacionados a otros de patogenicidad conocida, o, siendo de patogenicidad desconocida, presentes en garrapatas que infestan humanos y animales domésticos.

##### **5.4.1. *Amblyomma aureolatum*, *Borrelia* sp. y *Rickettsia bellii***

*Amblyomma aureolatum* ha sido implicada como vector de *R. rickettsii* en la región metropolitana de San Pablo (Brasil) con un nivel de infección entre 1 y 10 % (Labruna, 2009; Szabó y col., 2013). Por razones aún desconocidas, los casos humanos de infección por *R. rickettsii* asociada a *A. aureolatum* presentan una alta letalidad (superior al 60 %) (Szabó y col., 2013). Además, se ha detectado *R. parkeri* cepa Mata Atlántica en 9,3% de ejemplares colectados de perros del sur de Brasil (Barbieri y col., 2014). Esta especie de garrapata se encontró infestando a humanos en distintas localidades de Argentina (Misiones), Brasil y Paraguay (Guglielmone y col., 2006). Además, *A. aureolatum* es vector del protozoo *Rangelia vitalii*, agente de la rangeliosis canina, con ocurrencia de casos en Brasil, Uruguay y Argentina (Eiras y col., 2014; Gottlieb y col., 2016).

La *Borrelia* sp. hallada en *A. aureolatum*, así como el grupo filogenético al que pertenece (REP), es de patogenicidad desconocida en humanos y animales. De todas formas, la existencia de una especie nueva de *Borrelia* en *A. aureolatum* es de relevancia dado que esta garrapata infesta a perros y humanos. Por otra parte, *R. bellii*, descrita en 1983, es una rickettsia simbiote (hallada en numerosas especies de garrapatas e insectos) y que no ha sido relacionada con enfermedad humana o animal (Krawczak y col., 2018; Merhej y Raoult, 2011).

No existen otros estudios sobre patógenos transmitidos por esta especie de garrapata en Argentina.

#### **5.4.2. *Amblyomma triste***

*Amblyomma triste* es vector comprobado de *R. parkeri* en distintas zonas de EEUU, Brasil, Uruguay y Argentina (Herrick y col., 2016; Venzal y Nava, 2011). En Argentina los niveles de infección de las garrapatas oscilaron entre 5,8 y 8,4 % (Romer y col., 2014), siendo principalmente detectada en toda la cuenca del Paraná hasta Bahía Samborombón (Cicuttin y Nava, 2013). *Amblyomma triste* se detectó en humanos de distintas localidades de Argentina (bajo delta del Paraná y CABA –esta tesis-), Uruguay y Venezuela (Guglielmone y col., 2006).

#### **5.4.3. *Rhipicephalus sanguineus sensu stricto***

*Rhipicephalus sanguineus* s. l. es vector de numerosos agentes patógenos bacterianos en todo el mundo (Cicuttin, 2008; Dantas-Torres, 2010; Nava y col., 2012). En Argentina, se detectó *R. massiliae* en *Rh. sanguineus* s. l. de CABA, Bahía Blanca (Buenos Aires) y Mendoza (Cicuttin y col., 2014a, 2014b; Monje y col., 2016) y como causal de rickettsiosis humana en CABA (García-García y col., 2010). También se detectó *E. canis* en Formosa (*Rh. sanguineus* s.l. linaje tropical) y Buenos Aires (*Rh. sanguineus* s.s.) (Cicuttin y col., 2015b, 2017b) y en perros del Área Metropolitana de Buenos Aires causando ehrlichiosis monocítica canina (Cicuttin y col., 2016; Eiras y col., 2013) y *A. platys* en casi todo el país – en *Rh. sanguineus* s.l. y perros con y sin enfermedad clínica- (Cicuttin y col., 2011a, 2014a, 2014b, 2015b, 2016, 2017a; Eiras y col., 2013; Mascarelli y col., 2016; Oscherov y col., 2011). En Sudamérica, *Rh. sanguineus* s. l. se registró en humanos de distintas localidades de Argentina (Salta, Santa Fe y CABA), Brasil, Chile, Perú y Guyana (Nava y col., 2017; Cicuttin, comunicación personal). Además, en un estudio realizado mediante una encuesta en CABA, el 1,4 % de los propietarios de perros infestados por garrapatas relató haber sufrido picaduras de garrapatas (Cicuttin y col., 2011b).

#### **5.4.4. *Ixodes auritulus* sensu lato, *Borrelia* sp., *Ehrlichia* sp. y *Rickettsia* sp.**

*Ixodes auritulus* s.l. se considera que posee un papel importante en el mantenimiento del ciclo enzoótico de *B. burgdorferi* s.l. y otras especies de borrelias (Carvalho y col., 2019; Scott y Foley, 2016). El riesgo de transmisión de genoespecies de *Borrelia* asociadas a *I. auritulus* s.l. es bajo dado que no hay registros de esta garrapata en humanos. Sin embargo, es evidente que existe un ciclo enzoótico activo en la RECS entre esta especie de garrapata y las aves (especialmente de la familia Turdidae). La patogenicidad en aves es desconocida.

Las especies de *Rickettsia* y *Ehrlichia* halladas en *I. auritulus* s.l. en esta tesis son de patogenicidad desconocida dado que los escasos antecedentes son muy recientes. La presencia de una *Ehrlichia* sp. indica la existencia de hospedadores amplificadores entre las especies de aves silvestres.

No existen otros estudios sobre patógenos transmitidos por esta especie de garrapata en Argentina.

#### **5.4.5. *Neorickettsia risticii***

*Neorickettsia risticii* es el agente de la ehrlichiosis monocítica equina con ocurrencia de casos clínicos en EEUU, Canadá, Brasil y Uruguay (Durán y Marqués, 2016; Gibson y col., 2005; Vaughan y col., 2012). En Argentina, *N. risticii* se detectó en murciélagos *T. brasiliensis* de CABA (Cicutin y col., 2013b, 2017c), pero no se notificaron casos de enfermedad equina. Dado el potencial impacto en medicina veterinaria, la circulación de *N. risticii* en el área es de suma importancia.

## **6. Conclusión**

---



La Ciudad Autónoma de Buenos Aires es la urbe más importante de Argentina con una alta densidad poblacional y una baja cantidad de espacios verdes. Dentro de esos espacios, se destacan las áreas urbanas protegidas, especialmente la mayor que es la RECS: una “isla” natural en medio de un ambiente netamente urbano, con la particularidad que linda por un lado con el barrio más caro de la ciudad (Puerto Madero) y por el otro con un área con necesidades básicas insatisfechas como el barrio Rodrigo Bueno. A esa isla de escasos 353 hectáreas arribaron una inmensa variedad de plantas y animales, dando una continuidad a los ambientes de la cuenca del Paraná. Dada su accesibilidad, la RECS recibe la visita de miles de personas diariamente, muchos de los cuales la visitan periódicamente para la práctica de deportes.

En esta tesis se encontraron cuatro especies diferentes de garrapatas y la evidencia de variados ciclos de transmisión de microorganismos, hallazgos destacados considerando la característica de aislamiento relativo de la RECS. Las cuatro especies de garrapatas halladas son de importancia médica y veterinaria, dado que son vectores o participan en el ciclo de numerosos patógenos. Un papel central lo juegan las especies que pican a los humanos: *A. aureolatum*, *A. triste* y *Rh. sanguineus* s.s.

Las áreas urbanas protegidas son espacios altamente vulnerables, donde la degradación (por la presión de la ciudad colindante) facilita la interacción entre hospedadores, vectores y patógenos. La combinación de animales de compañía (perros), ingresando y viviendo libremente en un área protegida como la RECS, junto con la presencia de roedores y aves silvestres ha conformado una situación inédita donde la presencia de dos especies de garrapatas (*A. triste* y *A. aureolatum*) solo puede ser explicada gracias a la presencia de esos perros, ya que no existe en la RECS otro mamífero hospedador para los adultos de estas garrapatas. Esta situación representa una síntesis acabada de las modificaciones ambientales que realiza el hombre: un ambiente artificial que se transforma en protegido donde circulan animales de compañía que fueron abandonados (o directamente se establecieron en el área) y que a su vez circulan entre este ambiente silvestre y los barrios linderos, transportando garrapatas con sus microorganismos asociados.

Los novedosos hallazgos de bacterias de los géneros *Borrelia*, *Rickettsia*, *Ehrlichia* y *Neorickettsia*, incluyendo algunas especies relacionadas con patología en humanos o animales y otras con patogenicidad desconocida, plantean la necesidad de mantener y profundizar el estudio de las garrapatas y los patógenos asociados en la RECS, tanto en dichos artrópodos como en animales hospedadores (como las aves) donde estas bacterias podrían amplificarse, incluyendo además otras especies animales no estudiadas en esta tesis que podrían participar en estos ciclos de transmisión.

## **7. Bibliografía**

---

- Abdullah S, Helps C, Tasker S, Newbury H, Wall R. 2018. Prevalence and distribution of *Borrelia* and *Babesia* species in ticks feeding on dogs in the U.K. *Med Vet Entomol.* 32: 14–22. doi:10.1111/mve.12257
- Acha PN, Szyfres B. 2001. Fiebre recurrente transmitida por garrapatas. En: Acha PN, Szyfres B, Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. p 139–143. Ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington.
- Adeolu M, Gupta RS. 2014. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera: The emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Int J Gen Mol Microbiol.* 105: 1049–1072. doi:10.1007/s10482-014-0164-x
- Aguiar DR, Cavalcante GT, Pinter A, Gennari SM, Camargo LM, Labruna MB. 2007. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari. Ixodidae) ticks from Brazil. *J Med Entomol* 44: 126–132. doi:10.1093/jmedent/41.5.126
- Akl T, Bourgoïn G, Souq ML, Appolinaire J, Poirel MT, Gibert P, Abi Rizk G, Garel M, Zenner L. 2019. Detection of tick-borne pathogens in questing *Ixodes ricinus* in the French Pyrenees and first identification of *Rickettsia monacensis* in France. *Parasite.* 26. doi:10.1051/parasite/2019019
- Almeida AP, Souza TD, Marcili A, Labruna MB. 2013. Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. *J Med Entomol.* 50: 640–646. doi:10.1603/ME12272
- Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, Goka K, Kishimoto T, Ando S. 2015. Detection of *Rickettsia* and *Ehrlichia* spp. in ticks associated with exotic reptiles and amphibians imported into Japan. *PLoS One.* 10: e0133700. doi:10.1371/journal.pone.0133700
- Armitano R, Orduna T, Alonso R, Jacob N, Borrás P, Prieto M, Schieffer M. De lo mediático a la realidad: Sospecha de Enfermedad de Lyme en Argentina. Estado de situación. II Congreso Internacional de Zoonosis. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina, 5 al 7 de junio de 2018.

- Arzua M, Barros-Battesti DM. 1999. Parasitism of *Ixodes (Multidentatus) auritulus* Neumann (Acari: Ixodidae) on birds from the city of Curitiba, state of Paraná, southern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 94: 597–603. doi:10.1590/S0074-02761999000500006
- Arzua M, Da Silva MA, Famadas KM, Beati L, Barros-Battesti DM. 2003. *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) on birds in southern Brazil, with notes on their ecology. Exp Appl Acarol. 31: 283–296. doi:10.1023/B:APPA.0000010381.24903.1c
- Baird JD, Arroyo LG. 2013. Historical aspects of Potomac horse fever in Ontario (1924-2010). Can Vet J. 54: 565–572.
- Barbieri AM, Venzal JM, Marcili A, Almeida AP, González EM, Labruna MB. 2013. *Borrelia burgdorferi* sensu lato infecting ticks of the *Ixodes ricinus* complex in Uruguay: First report for the Southern Hemisphere. Vector-Borne Zoonotic Dis. 13: 147–153. doi:10.1089/vbz.2012.1102
- Barbieri AR, Filho JM, Nieri-Bastos FA, Souza JC, Szabó MP, Labruna MB. 2014. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 5: 848–853. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.07.010
- Barbour AG, Maupin GO, Teltow GJ, Carter CJ, Piesman J. 1996. Identification of an uncultivable *Borrelia* species in the hard tick *Amblyomma americanum*: possible agent of a Lyme disease-like illness. J Infect Dis. 173: 403–409. doi:10.1093/infdis/173.2.403
- Barlough J, Reubel G, Madigan J, Vredevoe L, Miller P, Rikihisa Y. 1998. Detection of *Ehrlichia risticii*, the Agent of Potomac Horse Fever, in Freshwater Stream Snails (Pleuroceridae: *Juga* spp.) from Northern California. Appl Environ Microbiol. 64: 2888–2893.
- Barquez RM, Díaz MM, Ojeda RA. (Eds.), 2006. Mamíferos de Argentina. Sistemática y Distribución. Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. [https://www.sarem.org.ar/wp-content/uploads/2015/05/Mam.-Arg.-Sist.-y-distri\\_2006.pdf](https://www.sarem.org.ar/wp-content/uploads/2015/05/Mam.-Arg.-Sist.-y-distri_2006.pdf) Último acceso 15-08-2017.
- Barros-Battesti DM, Ramirez DG, Landulfo GA, Faccini JL, Dantas-Torres F, Labruna MB, Venzal JM, Onofrio VC. 2013. Immature argasid ticks: diagnosis and keys for Neotropical region. Rev Bras Parasitol Vet. 22: 443–456. doi:10.1590/S1984-29612013000400002
- Beckmann S, Freund R, Pehl H, Rodgers A, Venegas T. 2019. Rodent species as possible reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in a prairie ecosystem. Ticks Tick Borne Dis. 10: 1162–1167. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.06.011

- Benevenuto JL, Dumler JS, Ogrzewalska M, Roque AL, Mello VV, de Sousa KC, Gonçalves LR, D'Andrea PS, de Sampaio Lemos ER, Machado RZ, André MR. 2017. Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using *groEL* gene for *Ehrlichia* and *Anaplasma* species in rodents in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 8: 646-656. doi:10.1016/j.ttbdis.2017.04.011
- Bernasconi VF. 1926. Primer caso de fiebre recurrente autóctono diagnosticado en Jujuy. *Boll Inst Clin Quir.*
- Berthová L, Slobodník V, Slobodník R, Oleksák M, Sekeyová Z, Svitáľková Z, Kazimírová M, Spitalská E. 2015. The natural infection of birds and ticks feeding on birds with *Rickettsia* spp. and *Coxiella burnetii* in Slovakia. *Exp Appl Acarol.* 68: 299–314. doi:10.1007/s10493-015-9975-3
- Blanco CM, Teixeira BR, da Silva AG, de Oliveira RC, Strecht L, Ogrzewalska M, de Lemos ER. 2016. Microorganisms in ticks (Acari: Ixodidae) collected on marsupials and rodents from Santa Catarina, Paraná and Mato Grosso do Sul states, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 8: 90-98. doi:10.1016/j.ttbdis.2016.10.003
- Boero J. 1957. Las garrapatas de la República Argentina (Acarina – Ixodoidea). Ed. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires. p. 113.
- Boiani L, Berois N, D'Elía G. 2008. Annual male reproductive cycle of a Hantavirus reservoir, the long-tailed mouse *Oligoryzomys flavescens* (Rodentia; Cricetidae, Sigmodontinae) from Uruguay. *Mastozoología Neotrop.* 15: 23–32.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Marcolis y col. revisited. *J Parasitol.* 83: 575–583.
- Carvalho L, Maya L, Armua-Fernandez M, Félix M, Bazzano V, Barbieri A, González E, Lado P, Colina R, Díaz P, Labruna M, Nava S, Venzal J. 2019. *Borrelia burgdorferi* sensu lato infecting *Ixodes auritulus* ticks in Uruguay. *Exp Appl Acarol.* 80: 109-125. doi:10.1007/s10493-019-00435-8.
- Cicuttin GL. 2008. Presencia de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en caninos de un barrio con necesidades básicas insatisfechas de la Ciudad de Buenos Aires. *Rev Argentina Zoonosis.* V: 56–61.

Cicuttin GL. 2014. Rickettsiosis urbanas: *Rickettsia massiliae*. En: Basualdo Farjat J, Enría D, Martino P, Rosenzvit M, Seijo A (Eds.), Temas de Zoonosis VI. p 281–286. Ed. Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires.

Cicuttin GL. 2016. Especies de garrapatas duras presentes en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y su importancia para la salud pública. Rev Argentina Zoonosis y Enfermedades Infecc. Emergentes. XI: 5–9.

Cicuttin GL, Nava S. 2013. Molecular identification of *Rickettsia parkeri* infecting *Amblyomma triste* ticks in an area of Argentina where cases of rickettsiosis were diagnosed. Mem Inst Oswaldo Cruz. 108: 123–125. doi:10.1590/s0074-02762013000100022

Cicuttin GL, Greiman SE. 2016. Análisis filogenético de *Neorickettsia risticii* detectada en murciélagos de Argentina. InVet. 18: 341-347.

Cicuttin GL, Rodríguez Vargas M, Jado I, Anda P. 2004. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. Comunicación preliminar. Rev Argentina Zoonosis. I: 8–10.

Cicuttin GL, Brambati D, Rodríguez Eugui J, González Lebrero C, De Salvo MN, Vidal P, Gury Dohmen FE. Garrapatas duras (Familia Ixodidae) en caninos domésticos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y del municipio de Bahía Blanca (Argentina). 2do Encuentro Nacional Sobre Enfermedades Olvidadas y XIV Simposio Internacional Sobre Control Epidemiológico de Enfermedades Transmitidas Por Vectores. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina, 20 al 21 de octubre de 2011.

Cicuttin GL, Navarro O'Connor M, Lobo B, Jado I, Anda P. 2011b. Evidencia molecular de *Anaplasma platys* en caninos domésticos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Rev FAVE - Sección Ciencias Vet. 10: 19-23. doi:10.14409/favecv.v10i2.1537

Cicuttin GL, Sassaroli JC, Ardiles MI, Zotter AC, Guglielmone AA, Nava S. 2013a. Presencia de dos especies de garrapatas (Acari: Ixodidae) con importancia médica en la Ciudad de Buenos Aires. Med (Buenos Aires). 73: 389–390.

Cicuttin GL, Boeri EJ, Beltrán FJ, Gury Dohmen FE. 2013b. Molecular detection of *Neorickettsia risticii* in Brazilian free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*) from Buenos Aires, Argentina. Pesq Vet Bras. 33: 648–650. doi:10.1590/S0100-736X2013000500016

Cicuttin GL, Brambati DF, Rodríguez Eugui JI, González Lebrero C, De Salvo MN, Beltrán FJ, Gury Dohmen FE, Jado I, Anda P. 2014a. Molecular characterization of *Rickettsia massiliae*

and *Anaplasma platys* infecting *Rhipicephalus sanguineus* ticks and domestic dogs, Buenos Aires (Argentina). *Ticks Tick Borne Dis.* 5: 484–488. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.03.001

Cicuttin GL, Vidal P, De Salvo MN, Beltrán FJ, Gury Dohmen FE. 2014b. Detección molecular de *Rickettsia massiliae* y *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y caninos domésticos del municipio de Bahía Blanca (Argentina). *Rev Chil Infectología.* 31: 563–568. doi:10.4067/s0716-10182014000500008

Cicuttin GL, De Salvo MN, Siccardi FM, Gramajo L, Gury Dohmen FE. 2015a. Caninos domésticos con elevada infestación por garrapatas y patógenos bacterianos asociados en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Rev Argentina Zoonosis y Enfermedades Infecc. Emergentes.* X: 13–16.

Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Nava S. 2015b. Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks Tick Borne Dis.* 6: 724–729. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.06.006

Cicuttin GL, De Salvo MN, Gury Dohmen FE. 2016. Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. *Ticks Tick Borne Dis.* 7: 954–957. doi:10.1016/j.ttbdis.2016.04.017

Cicuttin GL, De Salvo MN, Nava S. 2017a. Two novel *Ehrlichia* strains detected in *Amblyomma tigrinum* ticks associated to dogs in peri-urban areas of Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 53: 40–44. doi:10.1016/j.cimid.2017.07.001

Cicuttin GL, De Salvo MN, Silva D, Brito M, Nava S. 2017b. *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato del linaje templado (Acari: Ixodidae), provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev FAVE - Sección Ciencias Vet.* 16: 93–96. doi:10.14409/favecv.v16i2.6910

Cicuttin GL, De Salvo MN, La Rosa I, Gury Dohmen FE. 2017c. *Neorickettsia risticii*, *Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. in *Tadarida brasiliensis* bats from Buenos Aires, Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect. Dis.* 52: 1–5. doi:10.1016/j.cimid.2017.04.004

Clements JF, Schulenberg TS, Iliff MJ, Roberson D, Fredericks TA, Sullivan BL, Wood CL. 2017. The eBird/Clements checklist of birds of the world: v2016. [Http://www.birds.cornell.edu/%0Aclementschecklist/download/](http://www.birds.cornell.edu/%0Aclementschecklist/download/) Último acceso 15-03-2017.

Colombo VC. 2016. Ecoepidemiología de *Rickettsia parkeri* en el Delta del Paraná. Tesis de Doctorado. p. 105. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

Colombo VC, Lareschi M, Monje LD, Nava S, Antoniazzi LR, Beldoménico PM, Guglielmone AA. 2013. Garrapatas (Ixodida) y ácaros (Mesostigmata) parásitos de roedores sigmodontinos del delta del Paraná, Argentina. *Rev FAVE - Sección Ciencias Vet.* 12: 39-50. doi:10.14409/favecv.v12i1/2.4544

Colombo VC, Pereira J, Nava S, Beldomenico PM. 2016. *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae): nuevos registros en las provincias de Buenos Aires y Santa Fe, Argentina. *Rev FAVE - Sección Ciencias Vet.* 15: 1–4. doi:10.14409/favecv.v15i1/2.5914

Cox J, Brown HE, Rico-Hesse R. 2011. Variation in vector competence for dengue viruses does not depend on mosquito midgut binding affinity. *PLoS Negl Trop Dis.* 5: e1172. doi:10.1371/journal.pntd.0001172

Cutler SJ. 2010. Relapsing fever - A forgotten disease revealed. *J Appl Microbiol.* 108: 1115–1122. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04598.x

Dall’Agnol B, Michel T, Weck B, Souza UA, Webster A, Leal BF, Klafke GM, Martins JR, Ott R, Venzal JM, Ferreira CAS, Reck J. 2017. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. *Ticks Tick Borne Dis.* 8: 928–932. doi:10.1016/j.ttbdis.2017.08.003

Dantas-Torres F. 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors.* 3: 26. doi:10.1186/1756-3305-3-26

Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto, D. 2012. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends Parasitol.* 28: 437–446. doi:10.1016/j.pt.2012.07.003

de la Fuente LR, Sanchez AP. 2018. Fatal spotted fever rickettsiosis in Argentina. *IDCases.* 12: 151–152. doi:10.1016/j.idcr.2018.05.006

De Sousa KCM, Calchi AC, Herrera HM, Dumler JS, Barros-Battesti DM, Machado RZ, André MR. 2017. Anaplasmataceae agents among wild mammals and ectoparasites in Brazil. *Epidemiol Infect.* 145: 3424–3437. doi:10.1017/S095026881700245X

Di Luca M, Toma L, Bianchi R, Quarchioni E, Marini L, Mancini F, Ciervo A, Khoury C. 2013. Seasonal dynamics of tick species in an urban park of Rome. *Ticks Tick Borne Dis.* 4: 513–517. doi:10.1016/j.ttbdis.2013.06.008



- Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combi. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51: 2145–2165. doi:10.1099/00207713-51-6-2145
- Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken JS. 2007. Ehrlichioses in Humans: Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment. *Clin Infect Dis.* 45: 45–51. doi:10.1086/518146
- Durán MC, Marqués FJ. 2016. Detection of *Neorickettsia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in a Gypsy Vanner stallion from Manitoba. *Can Vet. J.* 57: 293–295.
- Duron O, Binetruy F, Noël V, Cremaschi J, McCoy K, Arnathau C, Plantard O, Goolsby J, Pérez de León A, Heylen D, Van Oosten A, Gottlieb Y, Baneth G, Guglielmone A, Estrada-Peña A, Opara M, Zenner L, Vavre F, Chevillon C. 2017. Evolutionary changes in symbiont community structure in ticks. *Mol Ecol.* 26: 2905–2921. doi:10.1111/ijlh.12426
- Dutra F, Schuch LFD, Delucchi E, Curcio BR, Coimbra H, Raffi MB, Dellagostin O, Riet-Correa F. 2001. Equine Monocytic Ehrlichiosis (Potomac Horse Fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. *J Vet Diagnostic Investig.* 13, 433–437. doi:10.1177/104063870101300514
- European Food Safety Authority (EFSA). 2010. Scientific Opinion on Geographic Distribution of Tick-borne Infections and their Vectors in Europe and the other Regions of the Mediterranean Basin. *EFSA Journal.* 8: 1723. doi:10.2903/j.efsa.2010.1723.
- Eiras DF, Craviotto MB, Vezzani D, Eyal O, Baneth G. 2013. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 36, 169–73. doi:10.1016/j.cimid.2012.11.008
- Eiras DF, Craviotto MB, Baneth G, Moré G. 2014. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangelirosis) in Argentina. *Parasitol Int.* 73: 729-734. doi:10.1016/j.parint.2014.06.003
- Ellis BA, Mills JN, Kennedy EJT, Maiztegui JI, Childs JE. 1994. The relationship among diet, alimentary tract morphology, and life history for five species of rodents from the central Argentine pampa. *Acta Theriol (Warsz).* 39, 345–355. doi:10.4098/AT.arch.94-40

Elmqvist T, Fragkias M, Goodness J, Güneralp B, Marcotullio PJ, McDonald RI, Parnell S, Haase D, Sendstad M, Seto KC, Wilkinson C (Eds.). 2013. Urbanization, Biodiversity and Ecosystem Services: Challenges and Opportunities. Springer, New York. p. 755.

Equipo Interministerial de Cambio Climático. 2009. Cambio Climático. Plan de Acción Buenos Aires 2030. Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Eremeeva M, Dasch GA, Drive F. 2015. Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. *Front Public Heal.* 3: 55. doi:10.3389/fpubh.2015.00055

Estrada-Peña A, Gray JS, Kahl O, Lane RS, Nijhof AM. 2013. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens--methodological principles and caveats. *Front Cell Infect Microbiol.* 3: 29. doi:10.3389/fcimb.2013.00029

Estrada DA, Tizu T, Schumaker S, De Souza CE, Rodrigues-Neto EJ, Linhares AX. 2006. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. *Rev Soc Bras Med Trop.* 39: 68–71. doi:10.1590/S0037-86822006000100013

Fischhoff IR, Keesing F, Ostfeld RS. 2019. Risk factors for bites and diseases associated with blacklegged ticks: a meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 188: 1742-1750. doi:10.1093/aje/kwz130

Flores FS, Nava S, Batallán G, Tauro LB, Contigiani MS, Diaz LA, Guglielmone AA. 2014. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild birds in north-central Argentina. *Ticks Tick Borne Dis.* 5: 715–721. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.05.004

Flores FS, Costa FB, Nava S, Diaz LA, Labruna MB. 2016. Rickettsial infection in ticks infesting wild birds from two eco-regions of Argentina. *Brazilian J Vet Parasitol.* 25: 378–382. doi:10.1590/S1984-29612016045

Flores FS, Muñoz-Leal S, Diaz A, Labruna MB. 2018. Wild birds as host of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in northwestern Argentina. *Ticks Tick Borne Dis.* 9: 1586-1589. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.08.005

García-García JC, Portillo A, Núñez MJ, Santibáñez S, Castro B, Oteo JA. 2010. A patient from Argentina infected with *Rickettsia massiliae*. *Am J Trop Med Hyg.* 82: 691–692. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0662

- Giannelli V, Di Gregorio V, Iebba V, Giusto M, Schippa S, Merli M, Thalheimer U. 2014. Microbiota and the gut-liver axis: Bacterial translocation, inflammation and infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 20: 16795–16810. doi:10.3748/wjg.v20.i45.16795
- Gibson KE, Rikihisa Y, Zhang C, Martin C. 2005. *Neorickettsia risticii* is vertically transmitted in the trematode *Acanthatrium oregonense* and horizontally transmitted to bats. *Environ Microbiol.* 7: 203–212. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00683.x
- Gibson KE, Pastenkos G, Moesta S, Rikihisa Y. 2011. *Neorickettsia risticii* surface-exposed proteins: proteomics identification, recognition by naturally-infected horses, and strain variations. *Vet Res.* 42: 71. doi:10.1186/1297-9716-42-71
- Gil H, Barral M, Escudero R, García-Pérez AL, Anda P. 2005. Identification of a new *Borrelia* species among small mammals in areas of northern Spain where Lyme Disease is endemic. *Appl Environ Microbiol.* 71: 1336–1345. doi:10.1128/AEM.71.3.1336
- Gómez-Villafañe IE, Miño M, Cavia R, Hodara K, Courtalón P, Suárez OV, Busch M. 2005. *Roedores: guía de la provincia de Buenos Aires. Literature of Latin America, Buenos Aires.* p. 100.
- González-Acuña D, Venzal JM, Keirans JE, Robbins RG, Ippi S, Guglielmone AA. 2005. New host and locality records for the *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) species group, with a review of host relationships and distribution in the Neotropical Zoogeographic Region. *Exp Appl Acarol.* 37: 147–156. doi:10.1007/s10493-005-8434-y
- González S, Graciano L, Garaglia L, Cicuttin G, Marcos E, Degregorio O. 2019. Especies de garrapatas en un área urbana protegida de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Rev Investig Vet del Peru.* En prensa.
- Gottlieb J, André MR, Soares JF, Goncalves LR, de Oliveira MT, Costa MM, Labruna MB, Bortolini CE, Machado RZ. 2016. *Rangelia vitalii*, *Babesia* spp. and *Ehrlichia* spp. in dogs in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 25: 172-178. doi:10.1590/S1984-29612016041
- Greiman SE, Tkach VV, Pulis E, Fayton TJ, Curran SS. 2014. Large scale screening of digeneans for *Neorickettsia* endosymbionts using real-time PCR reveals new *Neorickettsia* genotypes, host associations and geographic records. *PLoS One.* 9: e98453. doi:10.1371/journal.pone.0098453

- Greiman SE, Tkach M, Vaughan JA, Tkach VV. 2015. Laboratory maintenance of the bacterial endosymbiont, *Neorickettsia* sp., through the life cycle of a digenean, *Plagiorchis elegans*. *Exp Parasitol.* 157: 78–83. doi:10.1002/cncr.27633. Percutaneous
- Grupo de Trabajo de Recursos Acuáticos. 2014. Reserva Ecológica Costanera Sur (Ciudad de Buenos Aires). Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. [Http://www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=1187](http://www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=1187) Último acceso el 10-11-2014.
- Guglielmone AA, Nava S. 2005. Las garrapatas de la familia Argasidae y de los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Ixodidae) de la Argentina: distribución y hospedadores. *RIA.* 34: 123–141.
- Guglielmone A, Nava S. 2006. Las garrapatas argentinas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae): distribución y hospedadores. *RIA.* 35: 133–153.
- Guglielmone A, Nava S. 2014. Names for Ixodidae (Acari: Ixodoidea): valid, synonyms, incertae sedis, nomina dubia, nomina nuda, lapsus, incorrect and suppressed names– with notes on confusions and misidentifications. *Zootaxa.* 3767: 1-256. doi:10.11646/zootaxa.3767.1.1
- Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Mangold AJ, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Martins JR, Venzal JM, Arzua M, Keirans JE. 2003. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. *Vet Parasitol.* 113: 273–288. doi:10.1016/S0304-4017(03)00083-9
- Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, Mangold AJ, Szabó MPJ, Martins JR, González-Acuña D, Estrada-Peña A. 2006. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 40: 83–100. doi:10.1007/s10493-006-9027-0
- Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Peña A, Horak IG. 2014. *The Hard Ticks of the World*. Springer Netherlands, Dordrecht. p. 730.
- Guillemi EC, Orozco MM, Argibay HD, Farber MD. 2019. Evidence of *Ehrlichia chaffeensis* in Argentina through molecular detection in marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 8: 45–49. doi:10.1016/j.ijppaw.2018.12.004
- Halac E. 2016. Infección por *Ehrlichia* en un niño: características clínicas y revisión de la bibliografía. *Arch Argent Pediatr.* 114: 199–200.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser.* 41: 95–98.

- Herrick KL, Pena SA, Yaglom HD, Layton BJ, Moors A, Loftis AD, Condit ME, Singleton J, Kato CY, Denison AM, Ng D, Mertins JW, Paddock CD. 2016. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Arizona, USA. *Emerg Infect Dis.* 22: 780–785. doi:10.3201/eid2205.151824
- Hornok S, Kováts D, Csörgő T, Meli ML, Gönczi E, Hadnagy Z, Takács N, Farkas R, Hofmann-Lehmann R. 2014. Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with *Rickettsia helvetica*. *Parasit Vectors.* 7: 128. doi:10.1186/1756-3305-7-128
- Hudman DA, Sargentini NJ. 2018. Prevalence of Tick-Borne Pathogens in Northeast Missouri. *Mo Med.* 115: 155–161.
- Inokuma H, Brouqui P, Drancourt M, Raoult D. 2001. Citrate synthase gene sequence: a new tool for phylogenetic analysis and identification of *Ehrlichia*. *J Clin Microbiol.* 39: 3031–3039. doi:10.1128/JCM.39.9.3031
- Instituto de la Vivienda. 2016. Barrio Rodrigo Bueno: integración social, urbana y cultural Gobierno. la Ciudad Autónoma Buenos Aires. <https://www.buenosaires.gob.ar/noticias/barrio-rodrigo-bueno-integracion-social-urbana-y-cultural-en-la-costanera-sur> Último acceso 19-01-2019.
- Institute of Medicine. 2011. Critical Needs and Gaps in Understanding Prevention, Amelioration, and Resolution of Lyme and Other Tick-Borne Diseases: The short-term and long-term outcomes. The National Academies Press, Washington. p. 520.
- Ivanova LB, Tomova A, González-Acuña D, Murúa R, Moreno CX, Hernández C, Cabello J, Cabello C, Daniels TJ, Godfrey HP, Cabello FC. 2014. *Borrelia chilensis*, a new member of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere. *Environ Microbiol.* 16: 1069–1080. doi:10.1523/JNEUROSCI.3593-07.2007.Omega-3
- Jado I, Escudero R, Gil H, Jiménez-Alonso MI, Sousa R, García-Pérez AL, Rodríguez-Vargas M, Lobo B, Anda P. 2006. Molecular method for identification of *Rickettsia* species in clinical and environmental samples. *J Clin Microbiol.* 44: 4572–4576. doi:10.1128/JCM.01227-06
- Jongejan F, Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology.* 129: S3–S14. doi:10.1017/S0031182004005967
- Karesh WB, Dobson A, Lloyd-Smith JO, Lubroth J, Dixon MA, Bennett M, Aldrich S, Harrington T, Formenty P, Loh EH, Machalaba CC, Thomas MJ, Heymann DL. 2012. Ecology

of zoonoses: natural and unnatural histories. *Lancet*. 380: 1936–1945. doi:10.1016/S0140-6736(12)61678-X

Kowalec M, Szewczyk T, Welc-Falęciak R, Siński E, Karbowski G, Bajer A. 2017. Ticks and the city - Are there any differences between city parks and natural forests in terms of tick abundance and prevalence of spirochaetes? *Parasit Vectors*. 10: 573. doi:10.1186/s13071-017-2391-2

Kowalec M, Szewczyk T, Welc-Falęciak R, Siński E, Karbowski G, Bajer A. 2019. Rickettsiales Occurrence and Co-occurrence in *Ixodes ricinus* Ticks in Natural and Urban Areas. *Microb Ecol*. 77: 890–904. doi:10.1007/s00248-018-1269-y

Krawczak FS, Labruna MB, Hecht JA, Paddock CD, Karpathy SE. 2018. Genotypic characterization of *Rickettsia bellii* reveals distinct lineages in the United States and South America. *Biomed Res Int*. 8505483. doi:10.1155/2018/8505483

Labruna MB. 2009. Ecology of rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci*. 1166: 156–166. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x

Labruna MB, Pacheco RC, Nava S, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Guglielmone AA. 2007. Infection by *Rickettsia bellii* and *Candidatus* “*Rickettsia amblyommii*” in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. *Microb Ecol*. 54: 126–133. doi:10.1007/s00248-006-9180-3

LaDeau SL, Allan BF, Leisham PT, Levy MZ. 2016. The ecological foundations of transmission potential and vector-borne disease in urban landscapes. *Funct Ecol*. 10: 560–574. doi:10.1056/NEJMra1300109.Origins

Lado P, Nava S, Mendoza-Urbe L, Caceres AG, Delgado-De La Mora J, Licona-Enriquez JD, Delgado-De La Mora D, Labruna MB, Durden LA, Allerdice MEJ, Paddock CD, Szabó MPJ, Venzal JM, Guglielmone AA, Beati L. 2018. The *Amblyomma maculatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) group of ticks: Phenotypic plasticity or incipient speciation? *Parasit Vectors*. 11: 610. doi:10.1186/s13071-018-3186-9

Lamattina D, Venzal JM, Tarragona EL, Mangold AJ. 2018a. *Amblyomma yucumense* Krawczak, Martins & Labruna, 2015 (Acari: Ixodidae) in Argentina. *Syst Appl Acarol*. 23: 799–802. doi:10.11158/saa.23.5.2

Lamattina D, Tarragona EL, Nava S. 2018b. Molecular detection of the human pathogen *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest in *Amblyomma ovale* ticks in Argentina. *Ticks Tick Borne Dis*. 9: 1261–1263. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.05.007

- Lee JK, Smith WC, McIntosh C, Ferraric FG, Moore-Henderson B, Varela-Stokes A. 2014. Detection of a *Borrelia* species in questing Gulf Coast ticks, *Amblyomma maculatum*. *Ticks Tick Borne Dis.* 5: 449–452. doi:10.1038/nbt.3121.ChIP-nexus
- Lin M, Zhang C, Gibson K, Rikihisa Y. 2009. Analysis of complete genome sequence of *Neorickettsia risticii*: causative agent of Potomac horse fever. *Nucleic Acids Res.* 37: 6076–6091. doi:10.1093/nar/gkp642
- Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, Brossard M. 2000. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol.* 38: 1002–1007.
- Lo N, Beninati T, Sasser D, Bouman EAP, Santagati S, Gern L, Sambri V, Masuzawa T, Gray JS, Jaenson TGT, Bouattour A, Kenny MJ, Guner ES, Kharitonov IG, Bitam I, Bandi C. 2006. Widespread distribution and high prevalence of an alpha-proteobacterial symbiont in the tick *Ixodes ricinus*. *Environ Microbiol.* 8: 1280–1287. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01024.x
- Loh SM, Gofton AW, Lo N, Gillett A, Ryan UM, Irwin PJ, Oskam CL. 2016. Novel *Borrelia* species detected in echidna ticks, *Bothriocroton concolor*, in Australia. *Parasit Vectors* 9: 339. doi:10.1186/s13071-016-1627-x
- Lorusso V, Dantas-Torres F, Lia RP, Tarallo VD, Mencke N, Capelli G, Otranto D. 2010. Seasonal dynamics of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*, on a confined dog population in Italy. *Med Vet Entomol.* 24: 309–315. doi:10.1111/j.1365-2915.2010.00885.x
- Machado RZ, André MR, Werther K, de Sousa E, Gavioli FA, Alves JRF. 2012. Migratory and carnivorous birds in Brazil: reservoirs for *Anaplasma* and *Ehrlichia* Species? *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 12: 705–708. doi:10.1089/vbz.2011.0803
- Mancini F, Di Luca M, Toma L, Vescio F, Bianchi R, Khoury C, Marini L, Rezza G, Ciervo A. 2014. Prevalence of tick-borne pathogens in an urban park in Rome, Italy. *Ann Agric Environ Med.* 21: 723–727. doi:10.5604/12321966.1129922
- Mangold AJ, Mastropaolo M. 2013. Epidemiología y control de hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en Argentina. En: Nari A, Fiel C (Eds.), *Enfermedades Parasitarias Con Importancia Clínica y Productiva En Rumiantes: Fundamentos Epidemiológicos Para Su Diagnostico y Control.* p 639–656. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires
- Marquardt WC (Ed.). 2005. *Biology of Disease Vectors.* Academic Press, Burlington. p. 785.

- Mascarelli PE, Tartara GP, Pereyra NB, Maggi RG. 2016. Detection of *Mycoplasma haemocanis*, *Mycoplasma haematoparvum*, *Mycoplasma suis* and other vector-borne pathogens in dogs from Córdoba and Santa Fé, Argentina. *Parasit Vectors*. 9: 642. doi:10.1186/s13071-016-1920-8
- Matei IA, D'Amico G, Ionică AM, Kalmár Z, Corduneanu A, Sándor AD, Fiț N, Bogdan L, Gherman CM, Mihalca AD. 2018. New records for *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal species. *Parasit. Vectors*. 11: 193. doi:10.1186/s13071-018-2791-y
- Mcdonald RI, Forman RTT, Kareiva P, Neugarten R, Salzer D, Fisher J. 2009. Urban effects, distance, and protected areas in an urbanizing world. *Landsc Urban Plan.* 93: 63–75. doi:10.1016/j.landurbplan.2009.06.002
- Mechai S, Margos G, Feil EJ, Barairo N, Lindsay LR, Michel P, Ogden NH. 2016. Evidence for host-genotype associations of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. *PLoS One*. 11: e0149345. doi:10.1371/journal.pone.0149345
- Melo ALT, Witter R, Martins TF, Pacheco TA, Alves AS, Chitarra CS, Dutra V, Nakazato L, Pacheco RC, Labruna MB, Aguiar DM. 2015. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. *Med Vet Entomol*. 30: 112-116. doi:10.1111/mve.12139
- Merhej V, Raoult D. 2011. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 86: 379–405. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00151.x
- Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D. 2014. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infect Genet Evol*. 25: 122–137. doi:10.1016/j.meegid.2014.03.014
- Mitchell EA, Williamson PC, Billingsley PM, Seals JP, Ferguson EE, Allen MS. 2016. Frequency and distribution of rickettsiae, borreliae, and ehrlichiae detected in human-parasitizing ticks, Texas, USA. *Emerg Infect Dis*. 22: 312–315. doi:10.3201/eid2202.150469
- Mongruel ACB, Benevenuto JL, Ikeda P, André MR, Machado RZ, Carrasco AOT, Seki MC. 2017. Detection of *Anaplasma* sp. phylogenetically related to *A. phagocytophilum* in a free-living bird in Brazil. *Rev Bras Parasitol. Vet*. 26: 505–510. doi:10.1590/S1984-29612017042
- Monje LD, Nava S, Eberhardt AT, Correa AI, Guglielmone AA, Beldomenico PM. 2015. Molecular detection of the human pathogenic *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in



*Amblyomma dubitatum* ticks from Argentina. Vector-Borne Zoonotic Dis. 15: 167–169. doi:10.1089/vbz.2014.1741

Monje LD, Linares MC, Beldomenico PM. 2016. Prevalence and infection intensity of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks from Mendoza, Argentina. Microbes Infect. 18: 701-705. doi:10.1016/j.micinf.2016.06.008

Monje LD, Fernandez C, Percara A. 2018. Detection of *Ehrlichia* sp. strain San Luis and *Candidatus* *Rickettsia andeanae* in *Amblyomma parvum* ticks. Ticks Tick Borne Dis. 10: 111-114. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.09.008

Morel N, De Salvo MN, Cicuttin G, Rossner V, Thompson CS, Mangold AJ, Nava S. 2019. The presence of *Borrelia theileri* in Argentina is confirmed after recording the spirochete from a bovine. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 17: 100314. doi:10.1016/j.vprsr.2019.100314

Morshed MG, Scott JD, Fernando K, Beati L, Mazerolle DF, Geddes G, Durden LA. 2005. Migratory songbirds disperse ticks across Canada, and first isolation of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, from the avian tick, *Ixodes auritulus*. J Parasitol. 91: 780–790. doi:10.1645/GE-3437.1

Munderloh UG, Kurtti TJ. Emerging and re-emerging tick-borne diseases: new challenges at the interface of human and animal health. Workshop “Critical needs and gaps in understanding prevention, amelioration, and resolution of Lyme and other tick-borne diseases: the short-term and long-term outcomes”. Washington. EEUU, 11 al 12 de octubre de 2010.

Muñoz-Leal S, Faccini-Martínez ÁA, Costa FB, Marcili A, Mesquita ET, Marques EP, Labruna MB. 2018. Isolation and molecular characterization of a relapsing fever *Borrelia* recovered from *Ornithodoros rudis* in Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 9: 864–871. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.03.008

Muñoz-Leal S, Lopes MG, Martins TF, González-Acuña D, Labruna MB. 2019a. Anaplasmataceae, *Borrelia* and *Hepatozoon* agents in ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from Chile. Acta Trop. 192: 91-103. doi:10.1016/j.actatropica.2019.02.002

Muñoz-Leal S, Marcili A, Fuentes-Castillo D, Ayala M, Labruna MB. 2019b. A relapsing fever *Borrelia* and spotted fever *Rickettsia* in ticks from an Andean valley, central Chile. Exp Appl Acarol. 78: 403-420. doi:10.1007/s10493-019-00389-x

Muñoz-Leal S, Clemes YS, Lopes MG, Acosta ICL, Serpa MCA, Mayorga LF, Gennari SM, González-Acuña D, Labruna MB. 2019c. Novel *Ehrlichia* sp. detected in Magellanic penguins

- (*Sphenicus magellanicus*) and in the seabird tick *Ixodes uriae* from Magdalena Island, southern Chile. Ticks Tick Borne Dis. 10: 10256. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.06.015
- Narasimhan S, Fikrig E. 2015. Tick microbiome: the force within. Trends Parasitol. 31: 315-323. doi:10.1016/j.pt.2015.03.010
- Narosky T, Yzurieta D. 2010. Birds of Argentina and Uruguay. A field guide. Vázquez Mazzini Editores, Buenos Aires. p. 431.
- Nava S, Guglielmone A, Mangold A. 2009. An overview of systematics and evolution of ticks. Front Biosci. 14: 2857–2877. doi:10.2741/3418
- Nava S, Mangold AJ, Mastropaolo M, Venzal JM, Fracassi N, Guglielmone AA. 2011. Seasonal dynamics and hosts of *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) in Argentina. Vet Parasitol. 181: 301–308. doi:10.1016/j.vetpar.2011.03.054
- Nava S, Mastropaolo M, Venzal JM, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2012. Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. Vet Parasitol. 190: 547–555. doi:10.1016/j.vetpar.2012.06.032
- Nava S, Barbieri AM, Maya L, Colina R, Mangold AJ, Labruna MB, Venzal JM. 2014. *Borrelia* infection in *Ixodes parvicinus* ticks (Acari: Ixodidae) from northwestern Argentina. Acta Trop. 139: 1–4. doi:10.1016/j.actatropica.2014.06.010
- Nava S, Estrada-Peña A, Petney T, Beati L, Labruna MB, Szabó MP, Venzal JM, Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2015. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). Vet Parasitol. 208: 2–8. doi:10.1016/j.vetpar.2014.12.021
- Nava S, Venzal JM, Gonzalez-Acuña DA, Martins TF, Guglielmone AA. 2017. Ticks of the Southern Cone of America: Diagnosis, Distribution and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance. Elsevier, London. p. 375.
- Nava S, Beati L, Venzal JM, Labruna MB, Szabó MPJ, Petney T, Saracho-Bottero MN, Tarragona EL, Dantas-Torres F, Silva MMS, Mangold AJ, Guglielmone AA, Estrada-Peña A. 2018. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. Ticks Tick Borne Dis. 9: 1573-1585. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.08.001
- Newman EA, Eisen L, Eisen RJ, Fedorova N, Hasty JM, Vaughn C, Lane RS. 2015. *Borrelia burgdorferi* sensu lato spirochetes in wild birds in northwestern California: Associations with

ecological factors, bird behavior and tick infestation. PLoS One. 10: e0118146. doi:10.1371/journal.pone.0118146

Norte AC, Ramos JA, Gern L, Nuncio MS, Lopes de Carvalho I. 2013. Birds as reservoirs for *Borrelia burgdorferi* s.l. in Western Europe: Circulation of *B.turdi* and other genospecies in bird-tick cycles in Portugal. Environ Microbiol. 15: 386–397. doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02834.x

Nuttall GH. 1916. Notes on ticks. IV. Relating to the genus *Ixodes* and including a description of three new species and two new varieties. Parasitology. 8: 294–337. doi:10.1017/S0031182000010623

Oscherov EB, Milano AMF, Lobo B, Anda P, Escudero R. 2011. Detection of *Anaplasma platys* and other pathogens in ectoparasites from urban hosts in Northeast Argentina. Rev Ibero-Latinoam Parasitol. 70: 42–47.

Pacheco RC, Moraes-Filho J, Marcili A, Richtzenhain LJ, Szabo MPJ, Catroxo MH, Bouyer DH, Labruna MB. 2011. *Rickettsia monteiroi* sp. nov., infecting the tick *Amblyomma incisum* in Brazil. Appl Environ Microbiol. 77: 5207–5211. doi:10.1128/AEM.05166-11

Pacheco A, Cordeiro MD, Cepeda MB, Luz HR, Cardozo, SV, Berto BP, Guterres A, da Fonseca AH. 2019. Hemoparasites in ticks of wild birds of Serra dos Órgãos National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. Brazilian J Vet Parasitol. 28: 238-244. doi:10.1590/s1984-29612019017

Paddock C, Fernandez S, Echenique G, Sumner J, Reeves W, Zaki S, Remondegui C. 2008. Rocky Mountain Spotted Fever in Argentina. Am J Trop Med Hyg. 78: 687–692.

Parola P, Raoult D. 2001. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. Clin Infect Dis. 32: 897–928.

Parola P, Roux V, Camicas J, Baradji I, Brouqui P, Raoult D. 2000. Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. Trans R Soc Trop Med Hyg. 94: 707–709.

Parola P, Cornet J, Ose Y, Miller RS, Van Thien, H. 2003. Detection of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., and Other Eubacteria in Ticks from the Thai-Myanmar Border and Vietnam. J Clin Microbiol. 41: 1600–1608. doi:10.1128/JCM.41.4.1600

Parola P, Ryelandt J, Mangold AJ, Mediannikov O, Guglielmone AA, Raoult D. 2011. Relapsing fever *Borrelia* in *Ornithodoros* ticks from Bolivia. Ann Trop Med Parasitol. 105: 407–411. doi:10.1179/1364859411y.0000000021

- Piesman J, Gern L. 2004. Lyme borreliosis in Europe and north America. *Parasitology*. 129: S191–S220. doi:10.1017/CBO9780511551802.012
- Pinter A, Labruna MB. 2006. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. *Ann N Y Acad Sci*. 1078: 523–529. doi:10.1196/annals.1374.103
- Pinter A, Dias RA, Gennari SM, Labruna MB. 2004. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 41: 324–332. doi:10.1603/0022-2585-41.3.324
- Posada D, Crandall K. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinforma Appl Note*. 14: 817–818.
- Polop J, Priotto J, Steinmann A, Provencal C, Castillo E, Calderón G, Enría D, Sabattini M, Coto H. 2003. Ed. Fundación Mundo Sano. Buenos Aires. p. 93.
- Pritt BS, Allerdice MEJ, Sloan LM, Paddock CD, Munderloh UG, Rikihisa Y, Tajima T, Paskewitz SM, Neitzel DF, Hoang-Johnson DK, Schiffman E, Davis JP, Goldsmith CS, Nelson CM, Karpathy SE. 2017. Proposal to reclassify *Ehrlichia muris* as *Ehrlichia muris* subsp. *muris* subsp. nov. and description of *Ehrlichia muris* subsp. *eaucloirensis* subsp. nov., a newly recognized tick-borne pathogen of humans. *Int J Syst Evol Microbiol*. 67: 2121–2126. doi:10.1099/ijsem.0.001896
- Pusterla N, Johnson EM, Chae JS, Madigan JE. 2003. Digenetic trematodes, *Acanthatrium* sp. and *Lecithodendrium* sp., as vectors of *Neorickettsia risticii*, the agent of Potomac horse fever. *J Helminthol*. 77: 335–339. doi:10.1079/JOH2003181
- Randolph SE. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*. 129: S37–S65. doi:10.1017/S0031182004004925
- Regnery R, Spruill C, Plikaytis B. 1991. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol*. 173: 1576–1589.
- Reisen W. 2002. Epidemiology of vector-borne diseases. En: Mullen GR, Durden LA (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology*. p. 19–34. Academic Press, Boston.
- Richter D, Aligöwer R, Matuschka FR. 2002. Co-feeding transmission and its contribution to the perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia afzelii*. *Emerg Infect Dis*. 8: 1421–1425. doi:10.3201/eid0907.030116

- Rikihisa Y, Zhang C, Kanter M, Cheng Z, Ohashi N, Fukuda T. 2004. Analysis of *p51*, *groESL*, and the major antigen P51 in various species of *Neorickettsia*, an obligatory intracellular bacterium that infects trematodes and mammals. *J Clin Microbiol.* 42: 3823–3826. doi:10.1128/JCM.42.8.3823
- Ripoll C, Remondegui C, Ordonez G, Arazamendi R, Fusaro H, Hyman MJ, Paddock CD, Zaki SR, Olson JG, Santos-Buch CA. 1999. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 61: 350–354.
- Rodríguez MF. 2009. Espacio público y segregación urbana. El caso del asentamiento. Costanera Sur Rodrigo Bueno. XXVII Congreso de La Asociación Latinoamericana de Sociología. Buenos Aires. Argentina, 31 de agosto al 4 de septiembre de 2009, p 0–10.
- Rollend L, Fish D, Childs JE. 2013. Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: A summary of the literature and recent observations. *Ticks Tick Borne Dis.* 4: 46–51. doi:10.1016/j.ttbdis.2012.06.008
- Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RR, Paddock CD. 2011. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 17: 1169–1173. doi:10.3201/eid1707.101857
- Romer Y, Nava S, Govedic F, Cicuttin G, Denison AM, Singleton J, Kelly AJ, Kato CY, Paddock CD. 2014. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in different ecological regions of Argentina and its association with *Amblyomma tigrinum* as a potential vector. *Am J Trop Med Hyg.* 91: 1156–1160. doi:10.4269/ajtmh.14-0334
- Rudenko N, Golovchenko M, Belfiore NM, Grubhoffer L, Oliver JH. 2014. Divergence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato spirochetes could be driven by the host: Diversity of *Borrelia* strains isolated from ticks feeding on a single bird. *Parasit Vectors.* 7: 4. doi:10.1186/1756-3305-7-4
- Ruybal, P., Moretta, R., Perez, A., Petrih, R., Zimmer, P., Alcaraz, E., Echaide, I., Torioni de Echaide, S., Kocan, K.M., de la Fuente, J., Farber, M., 2009. Genetic diversity of *Anaplasma marginale* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 162, 176–180. doi:10.1016/j.vetpar.2009.02.006
- Saracho-Bottero MN, Sebastian PS, Carvalho LA, Claps LG, Mastropaolo M, Mangold AJ, Venzal JM, Nava S. 2017. Presence of *Borrelia* in different populations of *Ixodes parvicinus* from northwestern Argentina. *Ticks Tick Borne Dis.* 8: 488–493. doi:10.1016/j.ttbdis.2017.02.008

Sassera D, Beninati T, Bandi C, Bouman EAP, Sacchi L, Fabbi M, Lo N. 2006. *Candidatus* Midichloria mitochondrii, an endosymbiont of the *Ixodes ricinus* with a unique intramitochondrial lifestyle. *Int J Syst Evol Microbiol.* 56: 2535–2540. doi:10.1099/ijs.0.64386-0

Scott J, Lee M, Fernando K, Durden LA, Jorgensen DR, Mak S, Morshed MG. 2010. Detection of Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, including three novel genotypes in ticks (Acari: Ixodidae) collected from songbirds (Passeriformes) across Canada. *J Vector Ecol.* 35: 124-139.

Scott JD, Anderson JF, Durden LA. 2012. Widespread dispersal of *Borrelia burgdorferi*-infected ticks collected from songbirds across Canada. *J Parasitol.* 98: 49–59. doi:10.1645/GE-2874.1

Scott JD, Durden LA, Anderson JF. 2015. Infection prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected from songbirds in Far-Western Canada. *Open J Anim Sci.* 5: 232–241. doi:10.4236/ojas.2015.53027

Scott JD, Foley JE. 2016. Detection of *Borrelia americana* in the avian coastal tick, *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae), collected from a bird captured in Canada. *J Anim Sci.* 6: 207–216. doi:10.4236/ojas.2016.63027

Sebastian PS, Tarragona EL, Saracho-Bottero MN, Mangold AJ, Mackenstedt U, Nava S. 2016a. Bacteria of the genera *Ehrlichia* and *Rickettsia* in ticks of the family Ixodidae with medical importance in Argentina. *Exp Appl Acarol.* 71: 87-96. doi:10.1007/s10493-016-0096-4

Sebastian PS, Saracho-Bottero MN, Carvalho L, Mackenstedt U, Lareschi M, Venzal JM, Nava S. 2016b. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes neuquenensis* and *Ixodes sigelos* ticks from the Patagonian region of Argentina. *Acta Trop.* 162: 218–221. doi:10.1016/j.actatropica.2016.06.030

Servicio Meteorológico Nacional. 2019. Estadísticas Climáticas. [Http://www.smn.gov.ar/estadisticas](http://www.smn.gov.ar/estadisticas) Último acceso 20-03-2019.

Sonenshine DE, Mather TN (Eds.). 1994. *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses.* Oxford University Press, New York. p. 446.

Sonenshine DE, Lane RS, Nicholson WL. 2002. Ticks (Ixodida). En: Mullen G, Durden L (Eds.), *Medical and Veterinary Entomology.* p 517–558. Ed. Academic Press, London.

Sportza LM. 2001. Urban Protected Areas & Ecological Integrity. Parks Research Forum of Ontario. Ontario. EEUU, 31 de mayo de 2001, p 67–71.

Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. 2013. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 3: 27. doi:10.3389/fcimb.2013.00027

Taira M, Ando S, Kawabata H, Fujita H, Kadosaka T, Sato H, Monma N, Ohashi N, Saijo M. 2019. Isolation and molecular detection of *Ehrlichia* species from ticks in western, central, and eastern Japan. *Ticks Tick Borne Dis.* 10: 344–351. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.11.010

Takano A, Goka K, Une Y, Shimada Y, Fujita H, Shiino T, Watanabe H, Kawabata H. 2010. Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks. *Environ Microbiol.* 12: 134–146. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02054.x

Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Konnai S, Tajima T, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H. 2011. Characterization of reptile-associated *Borrelia* sp. in the vector tick, *Amblyomma geoemydae*, and its association with Lyme disease and relapsing fever *Borrelia* spp. *Environ Microbiol Rep.* 3: 632–637. doi:10.1111/j.1758-2229.2011.00280.x

Talagrand-Reboul E, Boyer PH, Bergström S, Vial L, Boulanger N. 2018. Relapsing fevers: Neglected tick-borne diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 8: 98. doi:10.3389/fcimb.2018.00098

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol.* 28: 2731–2739.

Tarragona EL, Eberhardt MAT, Zurvera D, Beldomenico PM, Mastropaolo M. 2012. Primer registro de *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) y *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) en la provincia de Santa Fe, Argentina. *Rev. FAVE – Ciencias Vet.* 11: 59-63.

Thompson JD, Higgins D, Gibson TJ. 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.

Tijssen-Klasen E, Fonville M, Reimerink JHJ, Spitzen-van der Sluijs A, Sprong H. 2010. Role of sand lizards in the ecology of Lyme and other tick-borne diseases in the Netherlands. *Parasit Vectors.* 3: 42. doi:10.1186/1756-3305-3-42

- Tokarz R, Tagliafierro T, Sameroff S, Cucura DM, Oleynik A, Che X, Jain K, Lipkin WI. 2019. Microbiome analysis of *Ixodes scapularis* ticks from New York and Connecticut. *Ticks Tick Borne Dis.* 10: 894–900. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.04.011
- Toledo RS, Tamekuni K, Filho MFS, Haydu VB, Barbieri ARM, Hiltel AC, Pacheco RC, Labruna MB, Dumler JS, Vidotto O. 2011a. Infection by spotted fever rickettsiae in people, dogs, horses and ticks in Londrina, Parana State, Brazil. *Zoonoses Public Health.* 58: 416–423. doi:10.1111/j.1863-2378.2010.01382.x
- Toledo RS, Tamekuni K, De Freitas M, Filho S, Haydu VB, Pacheco RC, Labruna MB, Dumler JS, Vidotto O. 2011b. Study of infection by Rickettsiae of the spotted fever group in humans and ticks in an urban park located in the City of Londrina, State of Paraná, Brazil um parque urbano na Cidade de Londrina, Estado do Paraná. *Rev Soc Bras Med Trop.* 44: 313–317. doi:10.1590/S0037-86822011005000037.Study
- Tomassone L, Nuñez P, Gürtler R, Ceballos L, Orozco M, Kitron UD, Farber M. 2008. Molecular Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in *Amblyomma parvum* ticks, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 14: 1953–1955. doi:10.3201/eid1412.080781
- Tomassone L, Nuñez P, Ceballos L, Gürtler R, Kitron U, Farber M. 2010. Detection of “*Candidatus Rickettsia* sp. strain Argentina” and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina. *Exp Appl Acarol.* 52: 93–100. doi:10.1007/s10493-010-9339-y.Detection
- Trzyna T. 2014. Urban Protected Areas: Profiles and best practice guidelines. Best Practice Protected Area Guidelines Series No. 22. Ed. International Union for Conservation of Nature. Gland. p. 128.
- Vanstreels RET, Yabsley MJ, Parsons NJ, Swanepoel L, Pistorius PA. 2018. A novel candidate species of *Anaplasma* that infects avian erythrocytes. *Parasit Vectors.* 11: 525. doi:10.1186/s13071-018-3089-9
- Vaughan JA, Tkach VV, Greiman SE. 2012. Neorickettsial endosymbionts of the digenea: diversity, transmission and distribution. En: Rollinson D, Hay SI, *Advances in Parasitology.* p 253–297. Ed. Elsevier, Oxford.
- Venzal JM, Nava S. 2011. El género *Rickettsia* como agente de zoonosis en el Cono Sur de Sudamérica. *Rev Med Urug.* 27: 98–106.



- Venzal JM, Estrada-Peña A, Portillo A, Mangold AJ, Castro O, De Souza CG, Félix ML, Pérez-Martínez L, Santibáñez S, Oteo JA. 2008. Detection of Alpha and Gamma-Proteobacteria in *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) from Uruguay. *Exp Appl Acarol.* 44: 49–56. doi:10.1007/s10493-007-9126-6
- Villalba-Apestequi P, Nava S, Brignone J, Sen C, Esposto A, Angeletti V. 2018. Caso autóctono de fiebre manchada por *Rickettsia parkeri* en Ensenada, Buenos Aires. *Med (Buenos Aires)* 78: 203–206.
- Vizcaychipi K, Casas N, Cicuttin GL, Lloveras S, Lamattina D, Salomon D, Faccini-Martínez AA, Marx J, Pedrozo W, Husulak E, Rinas M, DeMatteo KE, Armitano R, Couto E. 2019. Primer caso humano de rickettsiosis en la provincia de Misiones, Argentina. VIII Congreso Argentino de Parasitología. Corrientes. Argentina, 24 al 27 de abril de 2019, p 105.
- Vu Hai V, Almeras L, Socolovschi C, Raoult D, Parola P, Pagès F. 2014. Monitoring human tick-borne disease risk and tick bite exposure in Europe: Available tools and promising future methods. *Ticks Tick Borne Dis.* 5: 607–619. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.07.022
- Wais de Badgen I. 2013. La Reserva Ecológica Costanera Sur Patrimonio natural y cultural de la Ciudad de Buenos Aires. Agencia de Protección Ambiental (Ministerio de Ambiente y Espacio Público). Ciudad Autónoma de Buenos Aires. p. 118.
- Wilcox BA, Colwell RR. 2005. Emerging and reemerging infectious diseases: Biocomplexity as an interdisciplinary paradigm. *Ecohealth.* 2: 244–257. doi:10.1007/s10393-005-8961-3
- Wilcox BA, Gubler DJ. 2005. Disease ecology and the global emergence of zoonotic pathogens. *Environ. Health Prev Med.* 10: 263–272. doi:10.1007/BF02897701
- Wilson JH, Acvim D, Pusterla N, Bengfort JM, Arney L, 2006. Incrimination of mayflies as a vector of Potomac Horse Fever in an outbreak in Minnesota. *AAEP Proc.* 52: 324–328.
- Wobeser G. 2002. New and emerging diseases — The wildlife interface. *Can Vet J.* 43: 798.
- Wolf RW, Aragona M, Muñoz-Leal S, Pinto LB, Melo ALT, Braga IA, dos Santos Costa J, Martins TF, Marcili A, de Campos Pacheco R, Labruna MB, Aguiar DM. 2016. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 7: 449–456. doi:10.1016/j.ttbdis.2016.01.005

## **Anexo - Publicaciones asociadas a la tesis**

---

Cicuttin G, De Salvo MN, Nava S. 2017. Especies de garrapatas duras en un área urbana protegida de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Rev Argent Salud Pública*. 8: 7–12.

Cicuttin GL, De Salvo MN, Venzal JM, Nava S. 2019. *Borrelia* spp. in ticks and birds from a protected urban area in Buenos Aires city, Argentina. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 10: 101282. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.101282