**Universidad Nacional del Litoral**

***Facultad de Ciencias Veterinarias***

*Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET), Universidad Nacional del Litoral (UNL).*

*Tesis presentada para optar por el grado académico de*

*Doctora en Ciencias Veterinarias*

# Ecoepidemiología de *Ehrlichia* spp. asociadas a garrapatas (Acari: Ixodidae) de importancia sanitaria en Argentina.

**Autor:** Biól. Paula Josefina Vaschalde

**Director:** Dr. Lucas D. Monje

**Co-director:** Dr. Fernando S. Flores

Año: **2025**

“*Para el que mira sin ver,*
*la tierra es tierra nomás*”
Atahualpa Yupanqui

**AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer, antes que nada, a las universidades públicas y gratuitas, que permitieron convertirme en profesional y, luego, realizar un doctorado. En un contexto donde las universidades y la ciencia atraviesan momentos de cuestionamiento y penumbra, reivindico con orgullo ser egresada de la Universidad Nacional pública y gratuita. Agradezco tanto a Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) como al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por las becas recibidas para realizar investigación.

A mi director, Dr. Lucas D. Monje, tu exigencia rigurosa en el laboratorio fueron fundamentales para mi formación en técnicas valiosas, enseñanzas claves en biología molecular y por exigirme siempre un poco más, ayudándome a conocer el valor de la perseverancia.

A mi codirector, Dr. Fernando Sebastián Flores, gracias por tu acompañamiento y respeto, que dejaron una huella invaluable en mi formación. Gracias por acompañarme y guiarme en todas las campañas de muestreo, me contagiaste tu pasión por las garrapatas y me acompañaste en cada etapa de esta tesis.

A la directora del instituto ICIVET Litoral (UNL-CONICET), Natalia Salvetti, por el espacio en el cual pude aprender durante tanto tiempo.

Al Laboratorio de Ecología de Enfermedades, gracias al director Pablo Beldomenico, por abrirme las puertas para realizar esta tesis y brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente. Gracias a todos mis compañeros de trabajo que han hecho que este camino sea más ameno. En especial, a mis amigos: Majo, Sofi, Pali, Sandry, Pitu, quienes, entre comidas, risas, pasiones y charlas interminables, acompañaron cada etapa de este camino con alegría y mucho cariño; a mi amigo Johann, mi co-equiper de ruta, con quien recorrimos miles de kilómetros compartiendo jornadas intensas de campo, aprendizajes y compañerismo. A Eli, estudiante de grado, que nos acompañó en todas las campañas de muestreo y estuvo en el laboratorio trabajando con nosotros.

Al INTA por abrirme sus puertas para formarme en el mundo de las garrapatas y permitirme identificar todas las garrapatas incluidas en esta tesis en sus laboratorios. En especial, a Eve y Patrick, gracias por acompañarme a las campañas de muestreo, por las risas y por animarme a seguir profundizando en ese mundo de garrapatas.

Al INMET que me abrió sus puertas, gracias a la beca de movilidad de AGENCIA, y pude continuar inmersa en el estudio de las garrapatas y conocer a hermosas personas como Dani y Mara.
A todas las personas que forman parte de las áreas naturales donde trabajamos estos años: a las/os directoras/es de los parques, a los guardaparques que siempre estuvieron para dar una mano siempre que se necesitó.
Al trabajo en equipo, que fue motor de esta tesis, y cuando hablo de equipo no solamente en lo profesional, sino en lo personal.
A mi familia, sostén incondicional que me ha “apapachado” toda la vida con muchísimo amor y confianza. Son la raíz de cada logro, son todo.
A mis amigos y amigas, los que elegí y me eligieron, dispersos entre Córdoba, San Francisco y Esperanza: Flori, Flaca, Nay, Negra, Piru, Xiomi, Changui, Negro, León, Santi. Su cercanía, aún en la distancia, me hizo la vida más liviana.
Al Comité Académico del Doctorado y al jurado evaluador por la buena predisposición, por sus aportes y el seguimiento de la tesis todos estos años.

Finalmente, a todas las personas e instituciones que, de una u otra forma, aportaron su tiempo, su conocimiento o su entusiasmo: ¡gracias!

**ÍNDICE GENERAL**

**RESUMEN** ..... **1**

**ABSTRACT** ..... **2**

**1 INTRODUCCIÓN** ..... **4**

1.1 GARRAPATAS DURAS (Acari: Ixodidae) ..... 4

1.1.1 Aspectos generales ..... 4

1.1.2 Clasificación taxonómica ..... 5

1.1.3 Distribución de Ixodidae en Argentina ..... 6

1.1.4 Ciclo de vida ..... 14

1.1.5 Garrapatas como vectores de patógenos ..... 18

1.2 Dinámica ecológica de las enfermedades transmitidas por garrapatas ..... 19

1.3 Bacterias del género *Ehrlichia* ..... 20

1.3.1 Aspectos generales ..... 20

1.3.2 Clasificación taxonómica y patogénesis ..... 21

1.3.2.1. *Ehrlichia canis* (Donatien y Lestoquard 1935) Moshkovski, 1945 ..... 21

1.3.2.2. *Ehrlichia chaffeensis* Anderson et al., 1991 ..... 22

1.3.2.3. *Ehrlichia ewingii* Anderson et al., 1992 ..... 23

1.3.2.4. *Ehrlichia japonica* Lin et al., 2022 ..... 23

1.3.2.5. *Ehrlichia minasensis* Cabezas-Cruz et al., 2016 ..... 24

1.3.2.6. *Ehrlichia muris* Wen et al., 1995 ..... 24

1.3.2.7. *Ehrlichia ruminantium* (Cowdry 1925) Dumler et al., 2001 ..... 24

1.3.3 Replicación de bacterias del género *Ehrlichia* ..... 25

1.3.4 Ciclo de mantenimiento de bacterias del género *Ehrlichia* ..... 26

1.4 *Ehrlichia* en Argentina ..... 27

**2 HIPÓTESIS** ..... **30**

**3 OBJETIVOS** ..... **32**

3.1 Objetivo general ..... 32

3.2 Objetivos específicos ..... 32

**4 MATERIALES Y MÉTODOS ..... 34**

4.1 Áreas de estudio ..... 34

4.1.1 Caracterización de las áreas de estudio ..... 35

4.1.1.1 Provincia fitogeográfica Chaqueña ..... 35

Chaco Húmedo: con bosques y cañadas (Mosaico de Bosque de xerófitas, de mesófitas, Sabana y Selva de albardón) ..... 35

Chaco Seco: Chaco Serrano (Bosque de xerófilas con *Schinopsis marginata*) ..... 36

4.1.1.2 Provincia Fitogeográfica del Espinal ..... 37

Espinal: Ñandubayzal y Selva de Montiel (Bosque de esclerófilas con *Neltuma affinis*) ..... 37

4.2. Recolección de datos ..... 38

4.2.1 Garrapatas de vida libre ..... 38

4.2.2 Hospedadores ..... 39

Aves ..... 39

Marsupiales ..... 39

Roedores ..... 40

4.3. Identificación de garrapatas ..... 40

4.4. Análisis de las muestras por biología molecular ..... 41

4.4.1 Extracción de ácido desoxiribonucleico (ADN) genómico de garrapatas 41

4.4.2 Extracción de ADN genómico de hospedadores ..... 42

4.4.3 Detección de *Ehrlichia* mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) 44

Ausencia de inhibidores de PCR e integridad ..... 44

Cribado inicial e identificación molecular ..... 44

4.5 Estudios filogenéticos ..... 50
4.6 Análisis estadístico ..... 50
4.7 Análisis espacial ..... 52
4.8 Consideraciones éticas ..... 52
**5 RESULTADOS ..... 54**
5.1 Recolección de datos ..... 54
5.2 Asociaciones ..... 57
5.2.1 Composición de garrapatas de vida libre ..... 57
5.2.2 Asociación entre garrapatas y aves silvestres ..... 63
5.2.2.1. Análisis espacial de la asociación garrapata-aves ..... 80
5.2.2.2. Análisis estacional de la asociación garrapata-aves ..... 87
5.2.2.3. Abundancia relativa de garrapatas en aves silvestres ..... 100
5.2.3 Asociación entre garrapatas y mamíferos ..... 104
5.3 *Ehrlichia* en garrapatas duras ..... 107
5.3.1 Garrapatas de vida libre ..... 107
5.3.2 Garrapatas en fase parasitaria ..... 107
5.4 *Ehrlichia* en hospedadores ..... 107
5.4.1 Aves ..... 107
5.4.2 Mamíferos ..... 108
5.5 Caracterización filogenética de *Ehrlichia* detectadas ..... 108
5.6 Distribución geográfica de las bacterias del género *Ehrlichia* detectadas 112
**6. DISCUSIÓN ..... 116**
6.1 Consideraciones generales ..... 116
6.2 Estructura y dinámica de las comunidades de garrapatas ..... 116
6.3 Asociaciones garrapata-hospedador ..... 119
6.4 Presencia de *Ehrlichia* en garrapatas duras y hospedadores ..... 124
6.5 Caracterización filogenética y potencial zoonótico ..... 126

6.6 Distribución y riesgo ecológico-epidemiológico..... 127

**7. CONCLUSIÓN.....133**

**BIBLIOGRAFÍA.....136**

**ANEXO I.....156**

**ANEXO II.....161**

**ANEXO III.....174**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**Figura 1.** Morfología externa de una garrapata del género *Ixodes*. Las dos fotografías de arriba corresponden a una hembra en vista (A) ventral y (B) dorsal y las fotos de abajo corresponden a un macho en vista (A) ventral y (B) dorsal. A.G: surco anal; As: aloscutum = notum; B.C: basis capitulo; G.A: apertura genital; Sp: placa espiracular con espiráculo (Modificado de Sonenshine y Roe, 2014). **.....14**

**Figura 2.** Ciclo de vida de garrapatas duras de un solo hospedador**....16**

**Figura 3.** Ciclo de vida de garrapatas duras de dos hospedadores**.....17**

**Figura 4.** Ciclo de vida de garrapatas duras de tres hospedadores**.....18**

**Figura 5.** Ciclo enzoótico de *Ehrlichia chaffeensis*. **.....23**

**Figura 6.** Replicación de *Ehrlichia* dentro de la célula huésped. CD: células densas; CR: células reticulares. Ilustración adaptada de Zhang et al. (2007). **.....26**

**Figura 7.** Sitios de muestreo (A: PNM, Parque Nacional Mburucuyá; B: MA, Reserva Natural y Municipal Los Manantiales; C: SM, Parque Provincial General San Martín) de la tesis doctoral en las unidades de vegetación de Argentina, según la definición de Oyarzabal et al. (2018). **34**

**Figura 8.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Mburucuyá, Corrientes (Imágenes cedida por: Valentín Vallespinos)**. .....36**

**Figura 9.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), Río Ceballos, Córdoba **.....37**

**Figura 10.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Parque Provincial General San Martín (SM), La Picada, Entre Ríos. **.....38**

**Figura 11**. Abundancia relativa de garrapatas duras colectadas sobre vegetación separadas por larvas y ninfas, estación y sitio, entre 2021-2023. Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), Parque Provincial General San Martín (SM). **....61**

**Figura 12.** Abundancia relativa de garrapatas duras de vida libre adultas colectadas entre 2021-2023. Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), Parque Provincial General San Martín (SM). **.....63**

**Figura 14.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y larvas garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas**. .....81**

**Figura 15.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y ninfas de garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas**. .....82**

**Figura 16.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y garrapatas colectadas durante las capturas de aves en la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. **.....84**

**Figura 17.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.**.....86**

**Figura 18.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en otoño-invierno en Parque Nacional Murucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. **.....88**

**Figura 19.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en primavera-verano en Parque Nacional Murucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. **.....89**

**Figura 20**. Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en otoño-nvierno en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas**. .....90**

**Figura 21.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en primavera-verano en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas**. .....91**

**Figura 22.** Abundancia relativa de garrapatas duras colectadas sobre aves silvestres separada por estadio, por especie, por estación y por sitio en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. **.....92**

**Figura 23.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en otoño-invierno en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. **.....93**

**Figura 24.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en primavera-verano en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. **.....94**

**Figura 25.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en otoño-invierno en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas**. .....95**

**Figura 26.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en primavera-verano en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. ..... **96**

**Figura 27.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en diferentes estaciones en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. ..... **98**

**Figura 28.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en diferentes estaciones en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas. ..... **99**

**Figura 29.** Árbol de máxima verosimilitud construido a partir de secuencias parciales del gen 16S ARN ribosomal de especies de *Ehrlichia* que infectan garrapatas y aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia. La selección del modelo se basó en los criterios de información Akaike. El modelo de Tamura 3-parámetros con una distribución gamma discreta fue seleccionado como el mejor modelo (458 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, no se muestran los valores inferiores al 50%. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita, color verde (representando las secuencias parciales de 16S ARNr obtenidas de la Reserva Nacional y Municipal Los Manantiales, Río Ceballos, Córdoba; MA). Los códigos de acceso a GenBank de las secuencias se muestran entre paréntesis. ..... **110**

**Figura 30.** Árbol de máxima verosimilitud del gen *groEL* construido a partir de secuencias parciales de especies de *Ehrlichia* que infectan

garrapatas y aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia. La selección del modelo se basó en los criterios de información de Akaike. El modelo de Tamura-Nei, con una distribución gamma discreta (+G), fue seleccionado como el mejor modelo (974 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, no se muestran los valores inferiores al 50%. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita y diferenciadas por color (Bordó: Parque Nacional Mburucuyá [PNM] y Verde: Reserva Natural y Municipal Los Manantiales [MA]). Los códigos de acceso de GenBank se muestran entre paréntesis. **.....111**

**Figura 31.** Mapa de presencia de *Turdus rufiventris, Haemaphysalis juxtakochi,* "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" previamente reportadas y la cepa detectada en este estudio "*Ca.* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá reportadas en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023**. .....112**

**Figura 32.** Mapa de presencia de *Turdus rufiventris, Turdus chiguanco, Turdus nigriceps, Amblyomma tigrinum, Ehrlichia* sp. cepa San Luis y la cepa *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 reportadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. **.....113**

**Figura 33.** Mapa de presencia de *Turdus amaurochalinus, Turdus nigriceps, Amblyomma tigrinum, Amblyomma triste,* cepas de *Ehrlichia* sp. previamente reportadas (A: *Ehrlichia* sp. cepa Delta; B: *Ehrlichia* sp. cepa Moconá-M06) y cepas reportadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (*Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B), entre 2021-2023. **.....114**

**Figura 34.** Árbol de máxima verosimilitud construido a partir de secuencias parciales de ARN ribosomal 16S de especies de *Ehrlichia* que infectan aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia (901

posiciones en el conjunto de datos final). Los modelos de sustitución con mejor ajuste, utilizando la prueba de modelos de máxima verosimilitud, se determinaron con el criterio de información de Akaike. El modelo de Hasegawa-Kishino-Yano con una distribución gamma discreta fue seleccionado como el mejor modelo. Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, y no se muestran los valores inferiores al 50 %. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita. Los códigos de acceso a GenBank se muestran entre paréntesis. ..... **163**

**Figura 34.** Árboles de máxima verosimilitud construidos a partir de secuencias parciales de especies de *Ehrlichia* que infectan aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia: (a) secuencias *groEL* y (b) secuencias *dsb*. La selección del modelo se basó en los criterios de información de Akaike. El modelo de Hasegawa-Kishino-Yano, con una distribución gamma discreta (+G), fue seleccionado como el mejor modelo para secuencias groEL (1078 posiciones incluidas en el conjunto de datos final), mientras que el modelo de Tamura de 3 parámetros, con una distribución gamma discreta y sitios invariables (+G+I), fue seleccionado como el mejor modelo para secuencias dsb (317 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, y no se muestran los valores inferiores al 50 %. Secuencias Los datos generados en este estudio se muestran en negrita. Los códigos de acceso de GenBank se muestran entre paréntesis. ..... **165**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1.** Distribución de garrapatas duras (Ixodidae) en Argentina. **.....7**

**Tabla 2.** Volúmenes de Buffer TE estéril por cada estadio de garrapata. **42**

**Tabla 3.** Cebadores y protocolo de amplificación por PCR. TA: Tamaño del amplicón.**.....47**

**Tabla 4.** Garrapatas de vida libre recolectadas en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021 y 2023. **.54**

**Tabla 5.** Garrapatas recolectadas sobre hospedadores aviares en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. **.....55**

**Tabla 6.** Garrapatas colectadas sobre hospedadores mamíferos en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. **.....57**

**Tabla 7.** Garrapatas de vida libre colectadas en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023.**.....58**

**Tabla 8.** Garrapatas de vida libre colectadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. **.....60**

**Tabla 9.** Garrapatas de vida libre colectadas en Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. **.....62**

**Tabla 10.** Aves silvestres capturadas en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media. **65**

**Tabla 11.** Aves silvestres capturadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.....**73**

**Tabla 12.** Aves silvestres capturadas en y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.....**77**

**Tabla 13.** Análisis univariado de la Deviance (manyglm) para cada especie de larvas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El modelo aplicado fue: *abund_filtrada ~ Estacion + Lugar*. En negrita se encuentra resaltado las significancias.....**100**

**Tabla 14.** Comparaciones post hoc por Lugar y Estación de la abundancia de larvas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. En negrita se encuentra resaltado las significancias.....**101**

**Tabla 15.** Análisis univariado de la Deviance ("manyglm") para cada especie de ninfas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El modelo aplicado fue: *abund_data_ninfas_AA~ Estacion + Lugar*. En negrita se encuentra resaltado las significancias. .....**103**

**Tabla 16.** Comparaciones post hoc por Lugar y Estación de la abundancia de ninfas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. En negrita se encuentra resaltado las significancias. **104**

**Tabla 17.** Mamíferos silvestres capturados en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. I/Cm: número de mamíferos infestados/número de mamíferos capturados; P: prevalencia (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media. **106**

**Tabla 18.** Secuencias obtenidas en la presente tesis doctoral. TA: Tamaño del amplicón. **156**

**Tabla 19.** Orden, familia, especie y número de aves silvestres capturadas y garrapatas Ixodidae colectadas en los Parques Provinciales Moconá (PPM) y Piñalito (PPP) de la ecorregión de la Selva Paraense. C: Número de capturas; I/C: Número total de aves infestadas/Número total de aves capturadas; P: Prevalencia de infestación (%); N: Número de garrapatas capturadas; AM: Abundancia media. **168**

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

**ADN**: Ácido desoxirribonucleico.

**AG**: Surco anal.

**AIC**: Criterio de Información de Akaike.

**AM**: Abundancia media.

**AR**: Abundancia relativa.

**ARN**: Ácido ribonucleico.

**As:** Aloscutum = notum.

**B.C**: Basis capitulo.

**EDTA**: Ácido etilendiaminotetraacético.

**EEH**: Ehrlichiosis ewingii humana.

**EMC**: Ehrlichiosis monocítica canina.

**EMH**: Ehrlichiosis monocítica humana.

**ETG**: Enfermedades transmitidas por garrapatas.

**H'**: Índice de Shannon-Wiener.

**HVA**: Hospedador vertebrado amplificador.

**IM**: Intensidad media.

**G.A**: Apertura genital.

**MA**: Reserva Natural y Municipal Los Manantiales.

**MO:** Microorganismos.

**P**: Prevalencia.

**PCR**: Reacción en cadena de la polimerasa.

**PNM**: Parque Nacional Mburucuyá.

**SM**: Parque Provincial General San Martín.

**SP**.: Placa espiracular con espiráculo.

## RESUMEN

El objetivo de esta tesis doctoral fue investigar la distribución y dinámica de bacterias del género *Ehrlichia* mantenidas entre garrapatas y hospedadores vertebrados en tres ecorregiones de Argentina: Chaco Húmedo (representada por el Parque Nacional Mburucuyá, Mburucuyá, Corrientes: PNM), Chaco Seco (Reserva Natural y Municipal Los Manantiales, Río Ceballos, Córdoba: MA) y Espinal (Parque Provincial General San Martín, La Picada, Entre Ríos: SM) entre 2021 y 2023. Se colectaron 5946 garrapatas de la vegetación, 3232 de aves silvestres (n=1013) y 33 de mamíferos silvestres (n=27), además de obtenerse 866 muestras de sangre de aves y 27 de mamíferos. Todas las muestras se analizaron para la detección de *Ehrlichia* mediante PCR.

Se examinó la diversidad, abundancia y composición específica de las comunidades de garrapatas (en fase de vida libre y parasitando a hospedadores) en los tres sitios. El grupo dominante de aves parasitadas en los tres sitios correspondió al género *Turdus* (Turdidae), el cual hospedó todas las especies de garrapatas, independientemente del contexto ecológico, confirmando su papel relevante como hospedadores de estadios inmaduros de garrapatas en el Neotrópico.

El análisis molecular permitió identificar "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" en PNM, filogenéticamente cercanas a *Ehrlichia ewingii*, y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 relacionada con *Ehrlichia chaffeensis* sensu lato reportadas previamente en Argentina. Además, se detectaron *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A y 2B que podrían representar, junto con otras cepas no descritas formalmente, un nuevo haplotipo. Estas detecciones se obtuvieron de aves del género *Turdus,* y de larvas y ninfas que se encontraban parasitando a aves de este mismo género, subrayando la importancia de considerar a las aves y sus garrapatas asociadas como posibles eslabones en la ecoepidemiología de *Ehrlichia*. Si bien la proporción de muestras positivas fue baja (3/1013 aves), los resultados constituyen registros novedosos para el país y amplían el conocimiento sobre la diversidad de *Ehrlichia* en Argentina, lo que refuerza la necesidad de profundizar los estudios integradores en distintos escenarios ecológicos y con un enfoque multihospedador.

## ABSTRACT

The aim of this doctoral thesis was to investigate the distribution and dynamics of *Ehrlichia* maintained between ticks and vertebrate hosts in three ecoregions of Argentina: Humid Chaco (represented by Parque Nacional Mburucuyá, Mburucuyá, Corrientes), Dry Chaco (Reserva Natural y Municipal Los Manantiales, Río Ceballos, Córdoba), and Espinal (Parque Provincial General San Martín, La Picada, Entre Ríos) between 2021 and 2023. A total of 5,946 ticks were collected from vegetation, 3,232 from wild birds (n=1,013), and 33 from wild mammals (n=27). Additionally, 866 bird blood samples and 27 mammal blood samples were obtained. All samples were analyzed for *Ehrlichia* detection using PCR.

Tick diversity, abundance, and species composition were examined in both questing and host-parasitizing stages across the three sites, which differ in their degree of conservation. The dominant group of parasitized birds at all three sites belonged to the genus *Turdus* (Turdidae), which hosted different tick species regardless of the ecological context, confirming their key role as hosts for immature Neotropical ticks.

Molecular analysis identified "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" in PNM, phylogenetically related to *Ehrlichia ewingii*, and *Ehrlichia* sp. strain Manantiales 1, related to *Ehrlichia chaffeensis* sensu lato previously reported in Argentina. Additionally, *Ehrlichia* sp. strains Manantiales 2A and 2B were detected, which may represent, along with other undescribed strains, a new haplotype. These detections were obtained from birds of the genus *Turdus*, as well as from larvae and nymphs parasitizing birds of the same genus, highlighting the importance of considering birds and their associated ticks as potential components in the eco-epidemiology of *Ehrlichia*. Although the proportion of positive samples was low (3/1013 birds), the findings represent novel records for the country and expand the current knowledge of *Ehrlichia* diversity in Argentina, reinforcing the need to deepen integrative studies across different ecological settings and under a multi-host approach.

# *1. Introducción*

# 1 INTRODUCCIÓN

La epidemiología es el estudio de la distribución y los determinantes de los estados o eventos relacionados con la salud (incluidas las enfermedades), y la aplicación de este estudio al control de enfermedades y otros problemas de salud (Friis y Sellers, 2021). Los estudios ecológicos en la epidemiología (ecoepidemiología) de enfermedades transmitidas por vectores permiten analizar factores ambientales, biológicos y sociales que interactúan en la dinámica y distribución de los vectores y sus patógenos, facilitando así el diseño de estrategias de control más eficaces (Mills et al., 2010).

En este sentido, las enfermedades transmitidas por vectores se han impuesto como un desafío importante para la salud pública global ya que juegan un rol determinante con una tendencia a aumentar en el tiempo (Monsalve et al., 2009). Según la Organización Mundial de la Salud, este tipo de enfermedades afecta especialmente a las regiones tropicales y subtropicales (El-Sayed y Kamel, 2020; Usmani et al., 2023). Entre los distintos vectores de relevancia médica y veterinaria, las garrapatas destacan por su capacidad para transmitir una amplia diversidad de patógenos, incluyendo virus, bacterias y protozoos, que afectan tanto a la fauna silvestre como a animales domésticos y seres humanos (Jongejan y Uilenberg, 2004). Su biología, ciclo de vida y comportamiento alimenticio las convierte en vectores altamente competentes, desempeñando un papel central en la ecología de diversas enfermedades infecciosas (Estrada-Peña y De La Fuente, 2014; Sonenshine y Roe, 2014a). Como consecuencia, su presencia genera importantes pérdidas económicas, productivas y sanitarias.

## 1.1 GARRAPATAS DURAS (Acari: Ixodidae)

### 1.1.1 Aspectos generales

Las garrapatas son artrópodos ectoparásitos de distribución cosmopolita que parasitan una amplia variedad de vertebrados, incluidos anfibios, reptiles, aves y mamíferos. Su relevancia no radica únicamente en el daño directo que provocan por su alimentación hematófaga, sino también por su papel como vectores de microorganismos (MO) patógenos, como virus, bacterias y protozoos, que afectan tanto a los animales como a los humanos (Jongejan y Uilenberg, 2004; Nicholson et al., 2019).

Las garrapatas junto con los mosquitos, están entre los principales vectores de MO causantes de enfermedades por artrópodos a nivel mundial. Esta capacidad vectorial, sumada a su amplia distribución geográfica, les otorga una importancia sanitaria considerable (Nicholson et al., 2019).

La diversidad de las comunidades de garrapatas y la abundancia relativa de cada especie dentro de ellas están determinadas por una combinación de factores bióticos y abióticos (Sonenshine y Mather, 1994). Entre los factores bióticos, la diversidad y la abundancia de los hospedadores influyen directamente en la fase parasitaria. Mientras que los factores abióticos, como las condiciones climáticas microambientales, las características de la vegetación, el uso del suelo y la fragmentación del hábitat, afectan el desarrollo de la fase no parasitaria (Estrada-Peña y De La Fuente, 2014; Randolph, 2009; Sonenshine y Mather, 1994).

### 1.1.2 Clasificación taxonómica

Las garrapatas pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Subclase Acari, Orden Parasitiformes y Suborden Ixodida. El Suborden Ixodida incluye tres familias: Argasidae, que agrupa a las garrapatas blandas sin escudo de quitina en el dorso (5 géneros; 219 especies) (Guglielmone et al., 2021; Muñoz-Leal et al., 2020); Ixodidae, que comprende las garrapatas duras con el dorso total o parcialmente cubierto de un escudo quitinoso (14 géneros, 763 especies) y Nuttalliellidae, una familia monotípica considerada un fósil viviente y presente solo en África (Guglielmone et al., 2023).

La familia Ixodidae se divide en dos grandes grupos: el grupo Prostriata, que incluye exclusivamente al género Ixodes (267 especies) caracterizado por la posición anterior del surco anal y el grupo Metastriata, con el surco anal en posición posterior, compuesto por 495 especies distribuidas en 16 géneros: *Africaniella* (2 especies), *Amblyomma* (136), *Anomalohimalaya* (3), *Archaeocroton* (1), *Bothriocroton* (7), *Compluriscutula* (1 fósil), *Cornupalpatum* (1 fósil), *Cosmiomma* (1), *Dermacentor* (44), *Haemaphysalis* (176), *Hyalomma* (27), *Margaropus* (3), *Nosomma* (2), *Rhipicentor* (2), *Rhipicephalus* (89) y *Robertsicus* (1 especie) (Apanaskevich et al., 2022; Guglielmone et al., 2023; Nava et al., 2023).

En la región Zoogeografía Neotropical, se han registrado 136 especies pertenecientes a 5 géneros de la familia Ixodidae, de las cuales 44 están presentes en Argentina, resaltando la riqueza específica del país en este grupo de artrópodos (Guglielmone et al., 2023; Nava et al., 2023).

### 1.1.3 Distribución de Ixodidae en Argentina

En Argentina, el género más representado de la familia Ixodidae es *Amblyomma* con 25 especies, con 19 reportadas infestando humanos. Luego, le sigue *Ixodes* con 13 especies de las cuáles sólo hay un registro de *Ixodes pararicinus* reportada en humanos. Por último, en menor medida, pero todas halladas en humanos, 3 *Rhipicephalus* (todas exóticas), 2 especies de *Haemaphysalis* (ambas encontradas en humanos) y 1 de *Dermacentor* (Tabla 1) (Apanaskevich et al., 2022; Guglielmone et al., 2023, 2021; Nava et al., 2023; Sánchez-Montes et al., 2021; Venzal et al., 2025).

**Tabla 1.** Distribución de garrapatas duras (Ixodidae) en Argentina.

| | | Hospedadores de: | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Genero** | **Especie** | **Larvas** | **Ninfas** | **Adultos** | **Parasitismo en humanos** | **Provincias** |
| *Ixodes* | *I. rio* | Passeriformes | Passeriformes | Passeriformes | No | Buenos Aires, Tucumán |
| | *I. chacoensis* | Passeriformes | Passeriformes | Artiodactyla | No | Chaco, Corrientes, Formosa y Santa Fe |
| | *I. guglielmonei* | *Phalcoboenus australis* | *Phalcoboenus australis, Cinclodes fuscus* | *Phalcoboenus australis, Cinclodes fuscus* | No | Tierra del Fuego |
| | *I. longiscutatus* | Rodentia | Rodentia | Rodentia | No | Buenos Aires, Entre Ríos, Salta |
| | *I. loricatus* | Didelphimorphia, Rodentia | Didelphimorphia, Rodentia | Didelphimorphia | No | Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Entre Ríos, Corrientes, Formosa, Misiones y Santa Fe |
| | *I. lucidae* | Didelphimorphia, Rodentia | Didelphimorphia, Rodentia | Dromiciops fliroides | No | Jujuy, Salta y Tucumán |
| | *I. neuquenensis* | Microbiotheria | Microbiotheria | Microbiotheria | No | Neuquén y Rio Negro |
| | *I. nuttalli* | Rodentia | Rodentia | Rodentia | No | Mendoza |
| | *I. parari cinus* | Rodentia, Passeriformes | Rodentia, Passeriformes | Artilodactyla | 1 registro | Catamarca, Jujuy, Salta y Tucumán |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *I. schulzei* | Rodentia | Rodentia | Rodentia | No | Misiones |
| | *I. sigelos* | Rodentia | Rodentia | Rodentia | No | Catamarca, Chubut, Rio Negro Santa Cruz y Tucumán |
| | *I. silvanus* | Passeriformes | Passeriformes | Passeriformes | No | Jujuy, Salta y Tucumán |
| | *I. uriae* | Sphenisciformes | Sphenisciformes | Sphenisciformes | No | Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur |
| *Amblyomma* | *A. argentinae* | Testudines | Testudines | Testudines | No | Catamarca, Chaco, Córdoba, Formosa, Mendoza, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero, Tucumán |
| | *A. aureolatum* | Passeriformes | Passeriformes | Carnivora | Si | Buenos Aires, Chaco, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Entre Ríos, Misiones, Santa Fe |
| | *A. auricularium* | Cingulata | Cingulata | Cingulata | No | Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Chubut, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *A. boeroi* | Artilodactyla | Artilodactyla | Artilodactyla | No | Salta |
| | *A. brasiliense* | Múltiples ordenes de Mammalia | Múltiples ordenes de Mammalia | Múltiples ordenes de Mammalia | Si | Misiones |
| | *A. calcaratum* | Passeriformes | Passeriformes | Pilosa | 2 registros | Chaco, Formosa, Misiones |
| | *A. coelebs* | Carnivora, Didelphimorphia | Carnivora, Didelphimorphia | Perissodactyla | Si | Misiones |
| | *A. dissimile* | Anura, Squamata | Anura, Squamata | Anura, Squamata | Si | Chaco, Corrientes, Formosa y Santiago del Estero |
| | *A. dubitatum* | Rodentia | Rodentia | Rodentia | Si | Chaco, Corrientes, Formosa, Entre Ríos, Misiones y Santa Fe |
| | *A. hadanii* | Desconocido | Artiodactyla | Artiodactyla | Si | Jujuy y Salta |
| | *A. incisum* | Indeterminado | Indeterminado | Perissodactyla | Si | Misiones |
| | *A. longirostre* | Passeriformes | Passeriformes | Rodentia | Si | Misiones |
| | *A. neumanni* | Artiodactyla | Artiodactyla | Artiodactyla | Si | Catamarca, Chaco, Córdoba, Formosa, Jujuy, La Rioja, Salta, San Juan, Santiago del Estero, Tucumán |
| | *A. nodosum* | Passeriformes | Passeriformes | Pilosa | No | Chaco, Corrientes y Formosa |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *A. ovale* | Rodentia | Rodentia | Carnivora | Si | Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Mendoza, Misiones, La Rioja, Salta y Santa Fe |
| | *A. parvitarsum* | Squamata | Squamata | Artiodactyla | No | Catamarca, Chubut, Jujuy, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Salta, San Juan y Santa Cruz |
| | *A. parvum* | Rodentia | Rodentia | Múltiples ordenes de Mammalia | Si | Catamarca, Chaco, Córdoba, Formosa, Jujuy, La Rioja, Salta, San Luisy Santiago del Estero |
| | *A. pseudoconcolor* | Indeterminado | Indeterminado | Cingulata | 1 registro | Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Chubut, Córdoba, Formosa, La Rioja, Mendoza, Salta y Santiago del Estero |
| | *A. pseudoparvum* | Desconocido | Indeterminado | Rodentia | Si | Chaco, Formosa, Salta y Santiago del Estero |
| | *A. rotundatum* | Anura, Squamata | Anura, Squamata | Anura, Squamata | 1 registro | Corrientes y Formosa |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *A. sculptum* | Mammalia | Mammalia | Mammalia | Si | Chaco, Corrientes, Formosa Jujuy y Salta |
| | *A. tigrinum* | Passeriformes, Rodentia | Passeriformes, Rodentia | Carnivora | Si | Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Chubut, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, JUjuy, La Pampa, Mendoza, Misiones, Neuquén, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán |
| | *A. tonelliae* | Artiodactyla | Artiodactyla | Artiodactyla | Si | Chaco, Formosa, Jujuy, Salta y Santiago del Estero |
| | *A. triste* | Rodentia | Rodentia | Múltiples ordenes de Mammalia | Si | Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos y Formosa |
| | *A. yucumense* | Didelphimorphia | Didelphimorphia | Desconocido | No | Misiones |
| *Dermacentor* | *D. nitens* | Perissodactyla | Perissodactyla | Perissodactyla | Si | Corrientes, Jujuy y Salta |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Haemaphysalis* | *H. juxtakochi* | Rodentia, Passeriformes | Rodentia, Passeriformes | Artiodactyla | Si | Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe y Tucumán |
| | *H. leporispalustris* | Passeriformes | Passeriformes | Lagomorpha | Si | Misiones, Salta, Santa Fe y Tucumán |
| *Rhipicephalus* | *R. microplus* | Artiodactyla | Artiodactyla | Artiodactyla | Si | Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe, Santiago del estero, Tucumán |
| | *R. linnaei* | Perros domésticos | Perros domésticos | Perros domésticos | Si | Formosa |

*Continuación Tabla 1.*

| Género | Especie | Larvas | Ninfas | Adultos | Parasitismo en humanos | Provincias |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *R. sanguineus sensu lato* | | | Carnivora, Artiodactyla | Si | Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Chaco, Chubut, Córdoba, Corrientes, Formosa, Jujuy, Mendoza, Misiones, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe y Tucumán |

* **Parasitismo en humanos**: se considera cuando la garrapata fue hallada adherida y alimentándose activamente, cuando existen registros repetidos de esta interacción, o cuando se infiere un ciclo biológico compatible con el hospedador humano.

### 1.1.4 Ciclo de vida

El ciclo biológico de las garrapatas duras está compuesto por dos fases: una fase parasitaria, que es el período de tiempo que la garrapata transcurre parasitando a un hospedador vertebrado, y una fase de vida libre o no parasitaria que representa el 90% del tiempo en la vida de una garrapata (Sonenshine y Roe, 2014a).

Durante su desarrollo, las garrapatas atraviesan cuatro etapas, la de huevo embrionado y las tres etapas activas: larva (tres pares de patas), ninfa (4 pares de patas, sin desarrollo del sistema reproductor) y adulto (cuatro pares de patas, sistema reproductor desarrollado) (Sonenshine y Roe, 2014a). Se denominan etapas activas porque en alguna de esas etapas o en todas tienen que buscar a sus hospedadores para alimentarse. El dimorfismo sexual es evidente sólo en la etapa de adultos (Fig. 1).

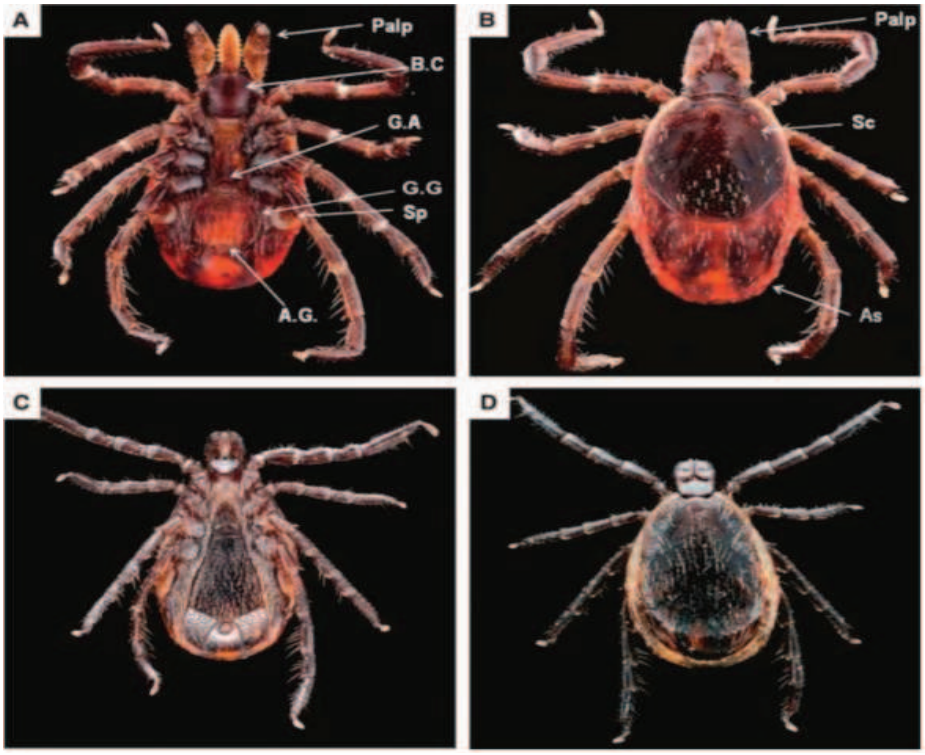


**Figura 1.** Morfología externa de una garrapata del género *Ixodes*. Las dos fotografías de arriba corresponden a una hembra en vista (A) ventral y (B) dorsal y las fotos de abajo corresponden a un macho en vista (A) ventral y (B) dorsal. A.G: surco anal; As: aloscutum = notum; B.C: basis capitulo; G.A: apertura genital; Sp: placa espiracular con espiráculo (Modificado de Sonenshine y Roe, 2014).

Las garrapatas Metastriata, como *Dermacentor, Amblyomma* y *Rhipicephalus*, alcanzan la madurez sexual y se aparean exclusivamente sobre el hospedador, mientras que, en las garrapatas del género *Ixodes* (Prostriata), la gametogénesis, comienza en el momento de la transformación de la ninfa en adultos, siendo los jóvenes adultos sexualmente activos tras finalizar la muda. Este hecho hace que la cópula entre los machos y las hembras del género *Ixodes* pueda tener lugar antes de la alimentación, cuando se hallan en la vegetación, o cuando se encuentran en el hospedador (Sonenshine y Roe, 2014a).

Una vez fecundada y alimentada, la hembra se desprende del hospedador hacia un microambiente húmedo y protegido (hojarasca, tronco caído o algún refugio hecho por el humano) para comenzar la oviposición. Tras un período de preoviposición, excepto en aquellas hembras con diapausa morfogenética, las hembras depositan varios miles de huevos en un ciclo continuo de oviposición. En general, la gran mayoría de los huevos son depositados en los primeros 10 días, alcanzando el pico de producción entre el tercer y el quinto día tras el comienzo de la postura, para ir descendiendo gradualmente tras la cual las hembras morirán (Sonenshine y Roe, 2014a). Si bien las proporciones varían entre las diferentes especies, más de la mitad del peso corporal de las hembras repletas fecundadas se convierte en huevos. Esta capacidad ovipositora de las garrapatas duras las sitúan entre las más prolíferas de todos los artrópodos (Sonenshine y Roe, 2014a).

De la eclosión del huevo, emergen las larvas que permanecen en el lugar evitando la desecación. Luego de aproximadamente una semana, comienzan la búsqueda activa de hospedadores, utilizando estímulos como olores, dióxido de carbono, luz, corrientes de aire, humedad y temperatura (Sonenshine y Roe, 2014a).

Tras alimentarse, las larvas caen al suelo para mudar a ninfa (o lo hacen sobre el hospedador, dependiendo del tipo de ciclo). Las ninfas siguen una dinámica similar, se alimentan y mudan nuevamente llegando al estadio adulto (Sonenshine y Roe, 2014a). En la etapa adulta, ocurre la diferenciación sexual. En el caso donde la muda del estadio de ninfa tiene lugar en el hospedador (garrapatas de un hospedador), algunos individuos emergen de la muda y se unen a otras zonas del hospedador desarrollándose como hembras, mientras que otros requieren alimentarse de sangre después de mudar para completar su diferenciación sexual, desarrollar la espermatogénesis y diferenciarse en machos (Nicholson et al., 2019). En el caso de

las garrapatas de tres hospedadores, cuyos adultos emergen del estadio ninfa en el suelo, el comportamiento es similar al observado en los estadios inmaduros: permanecen en el sitio donde mudaron evitando la desecación y luego comienzan la búsqueda activa de los hospedadores. Sin embargo, los adultos poseen una mayor resistencia a la desecación, lo que les permite mantenerse en el ambiente durante largos períodos sin alimentarse (Polanco Echeverry y Ríos Osorio, 2016). Luego de la cópula sobre el hospedador (en Metastriata), la hembra completa su alimentación, se repleta de sangre, cae a la vegetación, busca un lugar húmedo y protegido para oviponer, así se inicia un nuevo ciclo de vida (Polanco Echeverry y Ríos Osorio, 2016). La duración de este ciclo se encuentra condicionada por factores ambientales como la temperatura, humedad y la disponibilidad de hospedadores, como así también de la adaptación de cada especie (Nicholson et al., 2019; Sonenshine y Mather, 1994).

Como se nombró anteriormente, en las garrapatas duras, existen tres variantes del ciclo de vida determinadas por el número de hospedadores utilizados como fuente de alimento:

- *Ciclo de un solo hospedador*: Son especies que en sus tres estadios (larva, ninfa y adulto), se alimentan y mudan sobre el mismo hospedador. La garrapata nunca deja al hospedador desde su fijación como larva, hasta su desprendimiento como hembra repleta de sangre y grávida. La garrapata común del bovino (*Rhipicephalus microplus*) es un ejemplo de ello (Fig. 2).

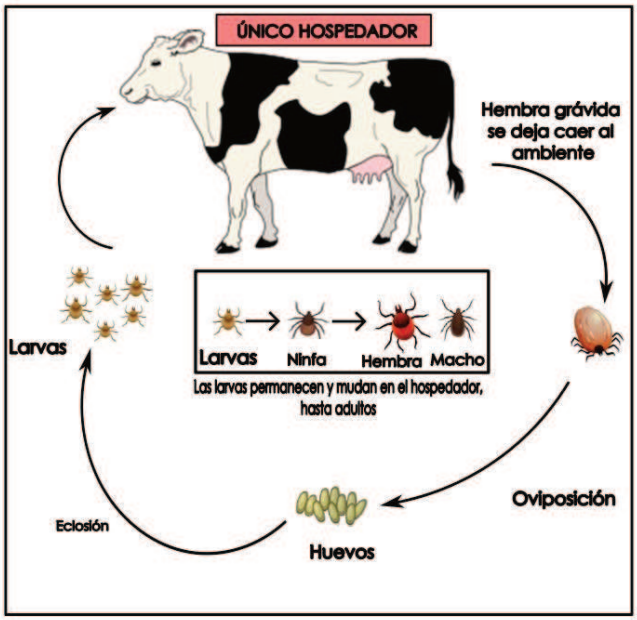


**Figura 2.** Ciclo de vida de garrapatas duras de un solo hospedador.

- *Ciclo de dos hospedadores*: Son aquellas especies de garrapatas en que la larva muda a ninfa sobre un primer hospedador y las ninfas mudan a adultos en el suelo, de modo que las garrapatas adultas, tienen que encontrar un segundo hospedador. Algunas de las especies del género *Hyalomma* de Asia y África, que parasitan el ganado bovino, tienen este tipo de ciclo de vida (Fig. 3).

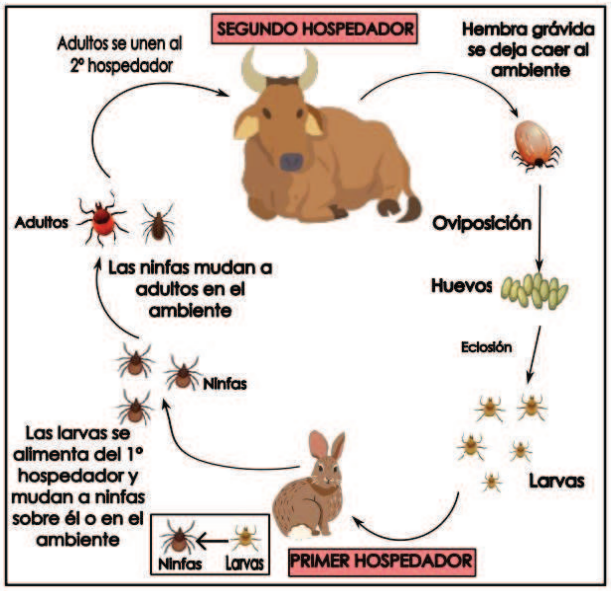


**Figura 3.** Ciclo de vida de garrapatas duras de dos hospedadores.

- *Ciclo de tres hospedadores*: Son aquellas especies en las que ambas mudas (larva a ninfa y ninfa a adulto) tienen lugar en el suelo, de modo que las garrapatas en estado de ninfa deben encontrar un segundo hospedador y las adultas un tercero. La mayoría de las especies del género *Amblyomma* que parasitan el ganado bovino, perros, ovejas y a los seres humanos, tienen este ciclo de vida (Fig. 4).

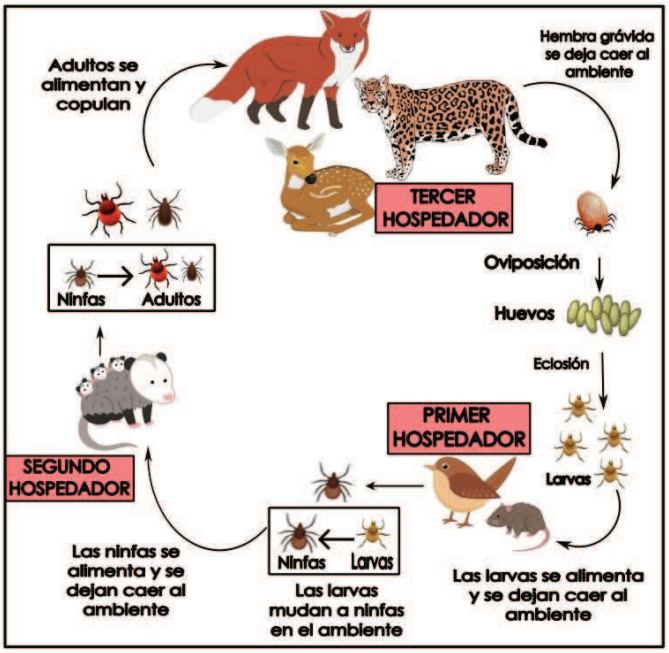


**Figura 4.** Ciclo de vida de garrapatas duras de tres hospedadores.

### 1.1.5 Garrapatas como vectores de patógenos

El conocimiento detallado del ciclo de vida de las garrapatas es fundamental para comprender su papel como vectores de diversos MO patógenos. Su hábito hematófago obligado, su estrecha relación con múltiples hospedadores a lo largo de su desarrollo y su prolongada longevidad, las convierte en un eslabón clave en la transmisión de enfermedades infecciosas (Jongejan y Uilenberg, 2004).

En particular, las enfermedades transmitidas por garrapatas (ETG) causadas por bacterias pertenecientes a la familia Anaplasmataceae han cobrado relevancia debido a su impacto en la salud humana y animal. Esta familia incluye géneros de importancia médica y veterinaria, como *Anaplasma* y *Ehrlichia*. Específicamente, especies del género *Ehrlichia* son responsables de las ehrlichiosis, zoonosis con distribución global (Rar y Golovljova, 2011). La incidencia de estas enfermedades ha mostrado un incremento sostenido en los últimos años, lo que expone la necesidad de comprender la ecología de los MO patógenos como así también de sus vectores (Nicholson et al., 2019). Este conocimiento es fundamental para desarrollar estrategias efectivas de vigilancia, prevención y control. Por esto, resulta crucial abordar los factores ecológicos y las interacciones entre vectores, hospedadores y MO patógenos que condicionan el riesgo de transmisión de las ETG.

## 1.2 Dinámica ecológica de las enfermedades transmitidas por garrapatas

Las ETG están fuertemente condicionadas por la distribución geográfica y los patrones estacionales de sus vectores. Estos ritmos estacionales se caracterizan por la alternancia entre períodos de alta actividad (búsqueda de hospedador, alimentación y comportamiento post-alimentación) y fases de inactividad (quiescencia y diapausa) (Sonenshine y Mather, 1994). Diversos estudios han señalado que las principales variables ambientales que regulan estos ciclos son la temperatura ambiental y el déficit de saturación, influyendo directamente en la dinámica poblacional de las garrapatas y, por ende, en el riesgo de transmisión de MO (Estrada-Peña y De La Fuente, 2014).

Para que ocurra la transmisión de un MO, deben cumplirse tres condiciones esenciales: (1) un hospedador vertebrado que desarrolle un nivel de bacteriemia adecuado para infectar a la garrapata durante la alimentación; (2) una garrapata que adquiera la infección (por alimentación sobre el hospedador, por co-alimentación de una garrapata a otra, o por el paso de la infección de un estadio al siguiente) y que sea capaz, en el mismo estadio o en el siguiente, de transmitir el MO a otro hospedador vertebrado; (3) un número adecuado de hospedadores vertebrados que sean susceptibles a la infección (Sonenshine y Roe, 2014b).

Esto forma una tríada epidemiológica compuesta por el artrópodo vector, el hospedador vertebrado susceptible y el MO patógeno (todo aquel MO capaz de producir enfermedad o daño a la biología de su hospedador). El hospedador primario es esencial para mantener la transmisión del MO, mientras que los hospedadores secundarios e incidentales, aunque no esenciales, pueden contribuir a la amplificación del patógeno o enfermarse (Barker y Reisen, 2019). En este contexto, se introduce el concepto de hospedador vertebrado amplificador (HVA), el cual se define como aquel que favorece el incremento de la carga patógena y la propagación del agente infeccioso, generando un mayor número de vectores infectados en un área determinada. Generalmente, los HVA no mantienen la infección por períodos prolongados y pueden o no enfermarse (Barker y Reisen, 2019).

El vector, por su parte, actúa como transportador de un MO de un hospedador a otro (Barker y Reisen, 2019). Sin embargo, para que un artrópodo sea considerado vector debe poseer competencia vectorial, es decir, la capacidad biológica intrínseca para

adquirir, replicar y transmitir el MO de manera eficiente (Cox et al., 2011). Esta competencia vectorial también está influenciada por los factores ecológicos (como la abundancia) y conductuales (como la preferencia alimentaria) que afectan la eficiencia en la transmisión del patógeno en un ambiente determinado. El proceso de transmisión se inicia cuando el vector se alimenta de un HVA en el que el MO se encuentra en circulación (bacteriemia) y, posteriormente, tras un periodo de replicación dentro del artrópodo, este puede transmitir el MO a un nuevo hospedador susceptible durante una alimentación posterior (Barker y Reisen, 2019).

La diversidad de garrapatas, en combinación con la variedad de hospedadores y condiciones climáticas que tiene Argentina, establece un escenario propicio para la circulación de MO patógenos de interés sanitario, como los del género *Ehrlichia*.

## 1.3 Bacterias del género *Ehrlichia*

Como se mencionó anteriormente, dentro del amplio grupo de las ETG, una de las de mayor relevancia en los últimos años son las ehrlichiosis, producidas por bacterias del género *Ehrlichia*. El género *Ehrlichia* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) incluye a especies de importancia sanitaria como *Ehrlichia chaffeensis, Ehrlichia ewingii* y *Ehrlichia canis,* que son mantenidas en la naturaleza a través de complejos ciclos de transmisión donde diferentes especies de garrapatas son los vectores principales y diferentes especies de vertebrados los hospedadores (Yu y Walker, 2006).

### 1.3.1 Aspectos generales

En 1945, Moshkovski propuso renombrar al organismo *Rickettsia canis* como *Erhlichia canis* en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich, estableciendo así un nuevo género en la familia Anaplasmataceae (McDade, 1990). Esta bacteria había sido descubierta en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard en el año 1935, quienes observaron que perros experimentales desarrollaban ocasionalmente una enfermedad febril grave caracterizada por anemia, particularmente en los infestados con la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Al examinar frotis de sangre de estos perros, teñidos con la técnica Giemsa, identificaron pequeños organismos similares a rickettsias dentro de los monocitos y la denominaron como *Rickettsia canis* (Donatien y Lestoquard, 1937).

Estos organismos son $\alpha$-proteobacterias Gram negativas intracelulares obligadas de 0,5-1,9 µm de diámetro, que residen solas o formando mórulas en las vacuolas citoplasmáticas de las células hematopoyéticas maduras o inmaduras de

hospedadores vertebrados como neutrófilos, monocitos, macrófagos y eritrocitos (Rar y Golovljova, 2011).

### 1.3.2 Clasificación taxonómica y patogénesis

Estudios basados en técnicas moleculares han identificado numerosas cepas de *Ehrlichia* en garrapatas de la familia Ixodidae y en hospedadores vertebrados, sugiriendo que el número de especies conocidas de esta bacteria está subestimado. La identificación de nuevas cepas se fundamenta principalmente en la comparación de secuencias parciales de genes característicos con registros previamente depositados en bases de datos públicas, así como en su agrupamiento filogenético. Aunque no existen criterios taxonómicos formalmente estandarizados para definir cepas dentro de este género, pequeñas diferencias nucleotídicas en regiones hipervariables y su asociación geográfica suelen considerarse suficientes para proponer nuevas variantes. Sin embargo, el género *Ehrlichia* tiene siete especies formalmente descritas (Cabezas-Cruz et al., 2019; Dumler et al., 2001; Lin et al., 2021):

#### 1.3.2.1. *Ehrlichia canis* (Donatien y Lestoquard 1935) Moshkovski, 1945

Esta especie infecta principalmente los monocitos de perros domésticos, aunque también ha sido detectada en monocitos humanos. Es el agente etiológico de la ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y de la ehrlichiosis humana venezolana, ambas enfermedades potencialmente fatales (Gutiérrez et al., 2016). La EMC se desarrolla en tres etapas clínicas. La fase aguda ocurre entre los 8 y 20 días posteriores a la picadura de la garrapata, con una duración entre 2 y 4 semanas y se manifiesta con signos clínicos leves como fiebre, depresión, disnea, anorexia, esplenomegalia, trombocitopenia, leucopenia, anemia leve e hipergammaglobulinemia. En la fase subclínica, que puede extenderse por semanas o años, los vertebrados pueden permanecer asintomáticos o presentar trombocitopenia leve e hiperglobulinemia. Durante este periodo *E. canis* se establece de manera persistente, alojándose principalmente en el hígado. La fase crónica, se diagnostica con mayor frecuencia y es de mayor gravedad clínica. Se caracteriza por letargia, anorexia, pérdida de peso y alteraciones hematológicas marcadas como hemorragias, hematuria y epistaxis.

Los principales vectores de esta bacteria son garrapatas del grupo de *R. sanguineus* y *Dermacentor* spp., mientras que los perros domésticos y cánidos salvajes actúan como hospedadores reservorios. Dada la amplia distribución de sus vectores y hospedadores, *E. canis* se encuentra distribuida a nivel global. En el presente es una de las ehrlichiosis de mayor importancia veterinaria, en particular en zonas tropicales y subtropicales (Rar y Golovljova, 2011). En Sudamérica, se la detectó en perros domésticos y en *R. sanguineus* (Aguiar et al., 2007). En Venezuela, se la detectó por primera vez en humanos en 1996 mediante técnicas moleculares y pruebas serológicas (Perez et al., 1996). Posteriormente, se reportó su presencia en humanos en Costa Rica, México, Venezuela, Perú y Panamá (Bouza-Mora et al., 2017; Daza et al., 2019; Moro et al., 2009; Perez et al., 1996; Silva et al., 2014; Unver et al., 2001).

#### 1.3.2.2. *Ehrlichia chaffeensis* Anderson et al., 1991

Esta especie es principalmente patógena de monocitos humanos y perros, causando ehrlichiosis monocítica humana (EMH). Esta enfermedad fue identificada por primera vez en Estados Unidos en 1986 en un caso grave de humano, donde se observaron inclusiones intracitoplasmáticas en monocitos (Dawson et al., 1991). En 1991, se aisló y caracterizó mediante un fragmento del gen ribosomal 16S ARN, diferenciándose de otras especies del género *Ehrlichia* (Anderson et al., 1991).

Los síntomas clínicos de la infección suelen aparecer en promedio el día nueve después de la picadura y varían desde fiebre leve a manifestaciones multisistémicas graves, como linfoadenopatía, meningitis o meningoencefalitis (Paddock y Childs, 2003).

Esta bacteria, en Norteamérica, se mantiene en la naturaleza en un ciclo enzoótico (Fig. 5) que involucra a las garrapatas *Amblyomma americanum* como vector y al ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) como el hospedador vertebrado (Rar y Golovljova, 2011). En Sudamérica, se han detectado vertebrados y garrapatas infectadas con ADN filogenéticamente cercanos a *E. chaffeensis*, pero su rol en el ciclo de mantenimiento no está completamente esclarecido (Cicuttin et al., 2017a; Eberhardt et al., 2023a; Martínez et al., 2008; Sacchi et al., 2012).

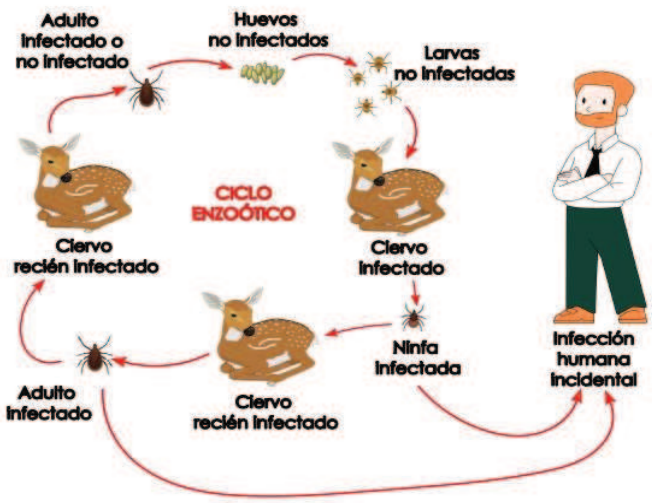


**Figura 5.** Ciclo enzoótico de *Ehrlichia chaffeensis*.

#### 1.3.2.3. *Ehrlichia ewingii* Anderson et al., 1992

Esta bacteria considerada inicialmente como una cepa de *E. canis*, fue reclasificada como una especie independiente en 1992 (Anderson et al., 1992). Infecta leucocitos granulocitos, provocando la ehrlichiosis ewingii humana (EEH) y, aunque la enfermedad suele ser más leve en comparación con la EMC y la EMH, puede presentar fiebre, leucopenia y disfunción hepática, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. En perros, puede estar en forma de síntomas subclínicos; sin embargo, las infecciones por *E. ewingii* a veces se caracterizan por poliartritis (Rar y Golovljova, 2011; Thomas et al., 2009).

En Norteamérica, el vector principal es *A. americanum* y el hospedador principal es el ciervo de cola blanca (*O. virginianus*) (Nichols Heitman et al., 2016). Además de Estados Unidos, su distribución incluye México, Guatemala, Guyana y Guyana Francesa, y se han reportado detecciones en Ecuador y Brasil, sin embargo, faltan datos concluyentes sobre su distribución y ecología (Chalco-Torres et al., 2023; Oliveira et al., 2009).

#### 1.3.2.4. *Ehrlichia japonica* Lin et al., 2022

Esta especie fue descubierta por investigadores en Japón, quienes inocularon homogeneizados de garrapatas en el sistema intraperitonial de ratones de laboratorio para detectar patógenos de la especie de garrapata *Ixodes ovatus*. De esta manera aislaron doce “cepas de HF” que luego, mediante aislamiento se formalizó al nombre *E. japonica* (Lin et al., 2021). Esta bacteria causa infección aguda mortal en ratones

de laboratorio y sólo ha sido detectada en ellos. Los principales vectores son las garrapatas de género *Ixodes.* Su distribución incluye Japón, Francia, Serbia y Rumanía (Lin et al., 2021).

#### 1.3.2.5. *Ehrlichia minasensis* Cabezas-Cruz et al., 2016

Esta especie es una bacteria principalmente patógena de monocitos de rumiantes. Fue aislada por primera vez en Brasil en el año 2012, a partir de hembras ingurgitadas de *R. microplus* (Cruz et al., 2012). Los síntomas clínicos incluyen fiebre, depresión, letargo y trombocitopenia (Aguiar et al., 2019). Aunque sus principales hospedadores son rumiantes, también ha sido detectada en perros (Cabezas-Cruz et al., 2019; Lobanov et al., 2012; Thompson et al., 2018). Su vector principal es la garrapata *R. microplus* (Lin et al., 2021).

La distribución es global, habiéndose reportado en Brasil, Francia, Pakistán, Etiopía, Sudáfrica e Israel (Cabezas-Cruz et al., 2019), hasta el momento no ha sido reportada en Argentina.

#### 1.3.2.6. *Ehrlichia muris* Wen et al., 1995

Esta especie infecta macrófagos de hospedadores múridos y fue detectada por primera vez en Japón en 1983 en un ratón silvestre (*Eothenomys kageus*) que presentaba esplenomegalia (Kawahara et al., 1993). En 1995, fue caracterizada como especie mediante técnicas moleculares de un fragmento ribosomal de 16S ARN, técnicas de serología y estudios morfológicos (Wen et al., 1995). Se la detectó en humanos y perros domésticos y los signos clínicos incluyen anorexia, esplenomegalia y linfadenopatía severa.

Su distribución comprende Norteamérica y Japón, y sus vectores principales son garrapatas de los géneros *Ixodes* y *Haemaphysalis,* y sus hospedadores suelen ser roedores (Hegarty et al., 2012; Johnson et al., 2015; Kawahara et al., 1993; Rar y Golovljova, 2011).

#### 1.3.2.7. *Ehrlichia ruminantium* (Cowdry 1925) Dumler et al., 2001

Esta bacteria infecta células endoteliales (particularmente en células endoteliales de los capilares cerebrales), neutrófilos y macrófagos de rumiantes, causando la enfermedad hidropericarditis, debido a la acumulación de líquidos en el pericardio que rodea el corazón (Allsopp et al., 2005). Este agente fue identificado por primera vez en Sudáfrica, en 1925 gracias a los experimentos de Cowdry (1925a, 1925b). Los

síntomas clínicos de esta enfermedad no son claros y dependen del hospedador. En humanos, puede ser letal, dando signos clínicos de encefalitis. Las lesiones cerebrales son típicas de las observadas en la hidropericarditis en rumiantes infectados (Allsop, 2005).

Los vectores principales son garrapatas del género *Amblyomma* y los hospedadores incluyen tanto rumiantes domésticos como silvestres. También hay estudios donde se ha demostrado que algunos hospedadores no rumiantes, como la gallina de Guinea (*Numida meleagris*), la tortuga leopardo (*Geochelone pardalis*) y la liebre de los matorrales (*Lepus saxitilis*) pueden mantener la bacteria en un estado de enfermedad subclínico, y cuando larvas y ninfas se alimentan de ellos se vuelven infecciosas (Allsopp, 2010). Hasta el momento su distribución parece estar limitada a África y al Caribe.

### 1.3.3 Replicación de bacterias del género *Ehrlichia*

Las etapas de replicación de las bacterias del género *Ehrlichia* tienen lugar tanto en los hospedadores vertebrados como en las garrapatas que actúan como vectores (Rar y Golovljova, 2011). Estas bacterias presentan divergencias en su ARN ribosomal, secuencias genéticas, composiciones proteicas y composiciones antigénicas. Sin embargo, todas ellas ocupan y se replican en inclusiones revestidas de membrana en el citoplasma (vacuolas) de los leucocitos de su hospedador específico, que generalmente son células efectoras primarias de defensa antimicrobiana. Por otro lado, en las garrapatas, la replicación ocurre en las células epiteliales del intestino medio (Barnewall et al., 1999; Ganta et al., 2009).

*Ehrlichia* presenta dos tipos morfológicos de células: las células de núcleo denso que miden entre 0,4 y 0,6 nm de diámetro, tienen una forma cocoide o elipsoide con ribosomas y ADN condensados; y las células reticulares que son alargadas con dimensiones de 0,4 a 0,6 nm por 0,7 a 1,9 nm y presentan ribosomas y filamentos de ADN distribuidos uniformemente por todo el citoplasma (Popov et al., 1995).

Un estudio de microscopía electrónica sobre la infección de cultivos celulares por *E. chaffeensis* reveló el ciclo de vida de estas bacterias (Zhang et al., 2007). El ciclo comienza con las células de núcleo denso, que constituyen la forma madura e infecciosa de la bacteria. Estas células se adhieren a la membrana celular del hospedador a través de la proteína de membrana externa EtpE-C, la cual actúa como adhesina (permite la unión a la célula huésped) y como invasina (induce la entrada

en la célula). La proteína EtpE-C interactúa con el receptor de membrana ADNasa X de las células hospedadoras, iniciando así el proceso de fagocitosis (Zhang et al., 2007).

Una vez dentro de la vacuola de la célula hospedadora, las células de núcleo denso se descomprimen y se transforman rápidamente en células reticulares, que constituyen la forma replicativa de la bacteria. Estas células reticulares se dividen por fisión binaria durante las primeras 48 horas. Posteriormente, a las 72 horas, las células reticulares maduran nuevamente en células de núcleo denso, que al madurar son liberadas mediante lisis celular o por protrusiones de filopodios que extienden las bacterias a células vecinas, reiniciando así un nuevo ciclo de infección (Fig. 6) (Rikihisa, 2015; Zhang et al., 2007).

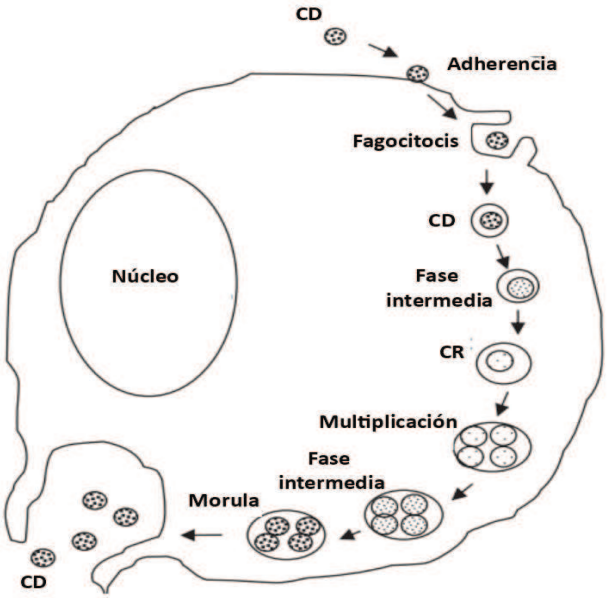


**Figura 6.** Replicación de *Ehrlichia* dentro de la célula huésped. **CD:** células densas; **CR:** células reticulares. Ilustración adaptada de Zhang et al. (2007).

### 1.3.4 Ciclo de mantenimiento de bacterias del género *Ehrlichia*

Las bacterias del género *Ehrlichia* son mantenidas en la naturaleza en un ciclo que involucra a mamíferos y posiblemente a aves como hospedadores vertebrados, y a garrapatas duras como vectores. El hospedador primario es esencial para mantener la transmisión de la bacteria, mientras que los hospedadores secundarios e incidentales, aunque no esenciales, pueden contribuir a la amplificación del patógeno (Barker y Reisen, 2019). *Ehrlichia* es capaz de causar una infección persistente en

los hospedadores vertebrados, lo que les permite actuar como reservorios de la bacteria.

Particularmente, en las garrapatas duras la alimentación se da luego del proceso de muda, por lo que la bacteria debe ser capaz de pasar de un estadio al siguiente para poder ser transmitida, proceso conocido como transmisión transestadial. Este tipo de transmisión se da de larvas a ninfas y de ninfas a adultos. En cambio, hasta la fecha no se ha observado transmisión transovárica, es decir, de hembras adultas a su descendencia (Rar y Golovljova, 2011). Una vez dentro de la garrapata, *Ehrlichia* se traslada a las glándulas salivales para invadir las células epiteliales. En las células epiteliales salivales, las bacterias pasan por el segundo ciclo de replicación y entran en la secreción de la glándula salival cuando la garrapata se alimenta del siguiente vertebrado hospedador (Rar y Golovljova, 2011).

Aunque los mamíferos son los principales vertebrados hospedadores de *Ehrlichia* a nivel mundial, la detección molecular de estas bacterias en órganos o sangre de ave sugiere que también éstas podrían ser hospedadores (Hornok et al., 2015; Machado et al., 2012; Muñoz-Leal et al., 2019).

## 1.4 *Ehrlichia* en Argentina

La primera evidencia de *Ehrlichia* en Argentina se registró en la localidad de Saladillo, provincia de Jujuy. Entre noviembre de 1993 y marzo de 1994 se analizaron 105 sueros de residentes locales, de los cuáles 15 resultaron positivos a anticuerpos reactivos a antígenos de *E. chaffeensis* por la técnica serológica de inmunofluorescencia indirecta (IFA). Aunque al momento del estudio, todas las personas resultaban asintomáticas, todas reportaron exposición a garrapatas, y algunas tenían antecedentes de enfermedades febriles compatibles con ehrlichiosis (Ripoll et al., 1999). Posteriormente en el año 2016, en la provincia de Córdoba se registró un caso presuntivo de EMH en un paciente humano de 12 años con antecedente de picadura de garrapata. El diagnóstico se basó inicialmente en una prueba serológica (inmunofluorescencia indirecta, IFI-IgM), que resultó positiva para *Ehrlichia* antigénicamente cercana a *E. chaffeensis.* Luego, se realizó una PCR para confirmar el género de la bacteria (Halac, 2016).

Por otro lado, el primer registro de *E. canis* en Argentina se documentó en el año 2013 a través de técnicas moleculares (PCR) aplicadas a perros de la ciudad de Buenos Aires (Eiras et al., 2013). A partir del 2015, comenzaron a realizarse más estudios en

perros domésticos y en sus garrapatas asociadas, permitiendo evidenciar una distribución más amplia de la bacteria en el país, detectada frecuentemente en Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Formosa, Mendoza y Santa Fe (Borrás et al., 2019; Cicuttin et al., 2017b, 2016, 2015; de Salvo et al., 2023; Guendulain et al., 2020; Tarragona et al., 2019).

Desde el 2008 se han reportado varias cepas de *Ehrlichia* en Argentina mediante el análisis de secuencias parciales de genes característicos de esta bacteria, asociadas a distintas especies de garrapatas y hospedadores vertebrados. El primer hallazgo molecular corresponde a *Ehrlichia* cf. c*haffeensis*, detectada en *Amblyomma parvum* recolectada sobre perros, zorros, cabras, vacas, humanos y vegetación en el departamento de Moreno, Santiago del Estero (Tomassone et al., 2008).

Posteriormente, Cicuttin et al. (2017a) reportaron la *Ehrlichia* sp. cepa Córdoba en *Amblyomma tigrinum*, colectadas sobre la vegetación en Salsipuedes, Córdoba. Además, en el mismo estudio se registró *Ehrlichia* sp. cepa San Luis en *A. tigrinum* parasitando perros en Merlo, San Luis. Esta última formó un clado con una cepa cercana filogenéticamente a *E. chaffeensis* previamente detectada en ciervos de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*), con un 99% de identidad (Sacchi et al., 2012).

Monje et al. (2019) reportaron nuevamente *Ehrlichia* sp. cepa San Luis, esta vez detectada en *A. parvum* recolectadas sobre la vegetación en la localidad de Los Milagros, Santiago del Estero. Los autores demostraron que las secuencias obtenidas del gen *dsb* eran idénticas a *Ehrlichia* sp. cepa San Luis reportada por Cicuttin et al. (2017a), y plantearon que dada la cercanía geográfica (33 km) y la ausencia de barreras naturales entre los sitios de muestreo, el agente ehrlichial identificado por Tomassone et al. (2008) probablemente corresponde a la misma *Ehrlichia* sp. cepa San Luis.

Fargnoli et al. (2020) registraron una nueva cepa, *Ehrlichia* sp. cepa La Dormida, en *Amblyomma neumanni* recolectada de la vegetación en San José de la Dormida, Córdoba, con cercanía filogenética a *E. ruminantum*. Ese mismo año, Eberhardt et al. (2020) detectaron *Ehrlichia* sp. cepa Iberá en *A. tigrinum* recolectadas sobre zorros que se encontraban atropellados en los Esteros del Iberá, Corrientes, formando un clado con "*Candidatus* Ehrlichia ornithorhynchi" de Australia y "*Candidatus* Ehrlichia khabarensis" del lejano este de Rusia. Por su parte, Cicuttin et al. (2020) identificaron *Ehrlichia* sp. cepa Delta en *Amblyomma triste* recolectadas de vegetación en

Campana, Buenos Aires, constituyendo un clado con *E. chaffeensis* y *E. muris* y con otras cepas que aún no han sido formalmente descriptas.

En 2022, Tarragona et al. (2022) documentaron dos cepas en la Reserva El Bagual, Formosa: *Ehrlichia* sp. cepa El Bagual en *Amblyomma ovale* sobre *Didelphis albiventris,* y *Ehrlichia* sp. cepa Natal detectada en sangre de *D. albiventris*. Esta última cepa ya había sido reportada en marsupiales de Brasil, como *D. albiventris* y *Gracilinanus agilis* (De Oliveira et al., 2020; Lopes et al., 2018). También en el 2022, Cicuttin et al. (2022) registra *Ehrlichia* sp. cepa G755 en una ninfa de *Ixodes auritulus* recolectada sobre la vegetación en la Reserva Ecológica Costanera Sur, Buenos Aires, genéticamente idéntica a una cepa de *Ehrlichia* reportada en la misma especie de garrapata en Uruguay y a otra detectada en pingüinos de Magallanes en Chile.

Asimismo, Sebastian et al. (2022) registraron la presencia de *Ehrlichia* sp. en *Amblyomma pseudoconcolor* parasitando un armadillo (*Chaetophractus villosus*) atropellado en Río Negro. La secuencia obtenida del gen 16S ARNr se agrupo junto a una cepa no cultivada detectada en la sangre de un caballo en Nicaragua y a otra cepa de *Ehrlichia* detectada en carpinchos de Brasil.

En el 2023, Eberhardt et al. (2023a) reportaron la presencia de "*Candidatus* Ehrlichia hydrochoerus" en *Amblyomma dubitatum* recolectadas sobre la vegetación en Corrientes, genéticamente relacionadas con cepas descritas en carpinchos en Brasil. En este mismo estudio, también se confirmó la presencia de *Ehrlichia* cf. *chaffeensis* en ninfas de esta misma especie de garrapata. Ese mismo año, Flores et al. (2024) identificaron "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" en *Haemaphysalis juxtakochi* recolectada de la vegetación en el Parque Provincial General San Martín, Entre Ríos, genéticamente idéntica a "*Ca.* E. pampeana" previamente reportada en Uruguay.

Por último, Winter et al. (2024) informaron la detección de *Ehrlichia* sp. cepa Iberá en *A. tigrinum* recolectada de un zorro (*Lycalopex gymnocercus*) atropellado y de la *Ehrlichia* sp. cepa Viedma en *A. tigrinum* recolectadas tanto de la vegetación como de un zorro, en Viedma, Río Negro. Esta última, cercana filogenéticamente a la cepa reportada por Sebastian et al. (2022) en el armadillo atropellado de la misma región.

A pesar del creciente número de estudios que evidencian la presencia de bacterias del género *Ehrlichia* en diversas ecorregiones de Argentina, la información aún es insuficiente. La detección de múltiples cepas en diferentes especies de garrapatas y en fauna silvestre sugiere que estos MO forman parte de complejos ciclos aún desconocidos. Determinar la diversidad de bacterias del género *Ehrlichia* y

comprender el papel de los HVA y de las garrapatas duras como vectores resulta clave para dimensionar el riesgo epidemiológico. En este contexto, se plantea la siguiente hipótesis:

# 2 HIPÓTESIS

Bacterias del género *Ehrlichia* de diferentes ecorregiones de la Argentina son mantenidas en la naturaleza en complejos ciclos de transmisión que involucran a garrapatas duras (Ixodidae) de importancia veterinaria y médica como vectores, y a vertebrados como hospedadores.

# *3. Objetivos*

# 3 OBJETIVOS

## 3.1 Objetivo general

Investigar aspectos relacionados a la distribución y dinámica de transmisión de bacterias del género *Ehrlichia* mantenidas entre garrapatas de importancia sanitaria, y hospedadores vertebrados en tres ecorregiones del país.

## 3.2 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia de bacterias del género *Ehrlichia* en garrapatas duras (Ixodidae) colectadas en fase de vida libre y parasitaria en tres ecorregiones de la Argentina (Chaco Seco, Chaco Húmedo y Espinal).
2. Determinar la presencia de bacterias del género *Ehrlichia* en mamíferos silvestres (roedores pequeños y medianos de la Familia Cricetidae, Caviidae y marsupiales Didelphidae) y aves en las tres ecorregiones.
3. Caracterizar genéticamente las bacterias del género *Ehrlichia* detectadas en los objetivos anteriores.
4. Determinar y analizar asociaciones entre garrapatas y hospedadores.
5. Inferir la distribución geográfica de las bacterias del género *Ehrlichia* detectadas y modelar la distribución geográfica más probable para cada relación garrapata-*Ehrlichia*, a fin de determinar las áreas de riesgo epidemiológico.

# *4. Materiales y métodos*

# 4 MATERIALES Y MÉTODOS

## 4.1 Áreas de estudio

Para responder a los objetivos planteados en el presente estudio, se realizó un trabajo observacional a campo en los años 2021 a 2023, en tres sitios representativos de diferentes ecorregiones de Argentina: Chaco Húmedo, Chaco Seco y Espinal (Burkart et al., 1999; Oyarzabal et al., 2018) (Fig. 7). Además, se analizaron muestras de ADN de garrapatas asociadas a aves y muestras de ADN obtenidas a partir de sangre de aves de un muestreo de tres días consecutivos realizado en el año 2021 en la ecorregión Selva Paranaense. Dado que dicho muestreo fue de carácter no sistemático y basado en un muestreo por conveniencia, los resultados se presentan en el Anexo II.

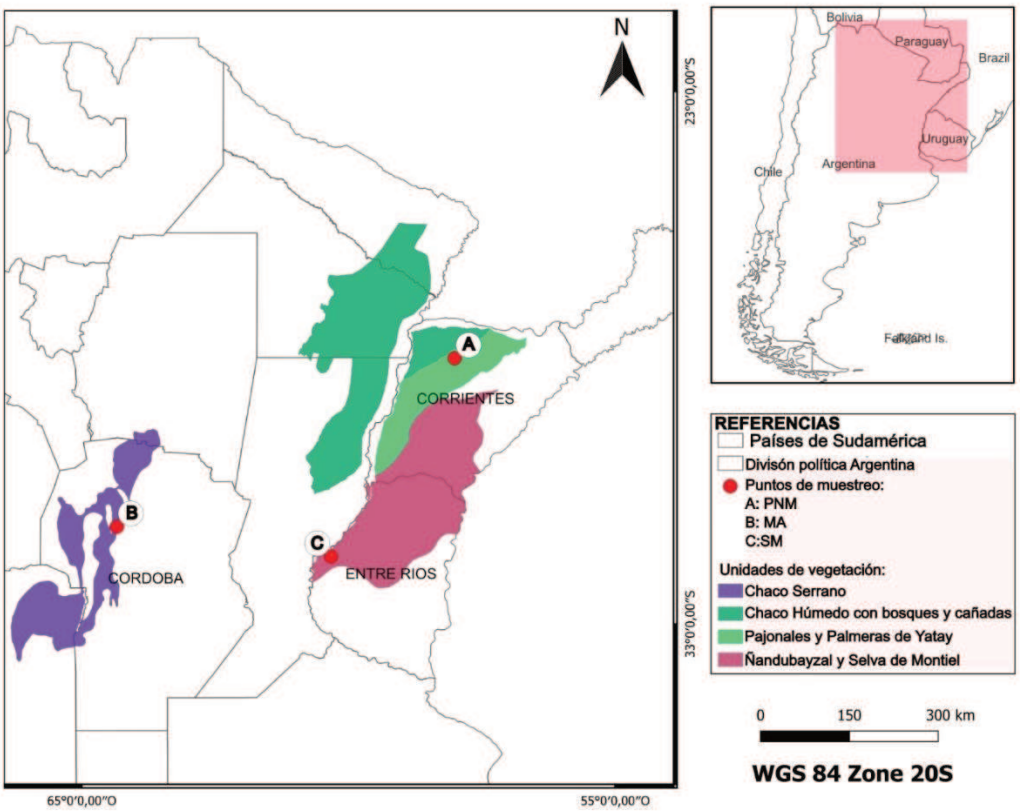


**Figura 7.** Sitios de muestreo (**A**: PNM, Parque Nacional Mburucuyá; **B**: MA, Reserva Natural y Municipal Los Manantiales; **C**: SM, Parque Provincial General San Martín) de la tesis doctoral en las unidades de vegetación de Argentina, según la definición de Oyarzabal et al. (2018).

### 4.1.1 Caracterización de las áreas de estudio

De acuerdo con la clasificación de Burkart et al. (1999) y Oyarzabal et al. (2018), se seleccionaron puntos de muestreo que representan dos provincias fitogeográficas y tres unidades de vegetación diferentes. La elección de estas áreas se basó en una revisión bibliográfica exhaustiva sobre las especies de garrapatas con antecedentes en la detección de *Ehrlichia* spp. o de bacterias filogenéticamente cercanas (Cicuttin et al., 2020, 2017a; Eberhardt et al., 2020; Fargnoli et al., 2020; Félix et al., 2021; Tomassone et al., 2008), así como en la disponibilidad de sitios accesibles y la presencia de áreas protegidas dentro de las regiones de interés.

#### 4.1.1.1 Provincia fitogeográfica Chaqueña

**Chaco Húmedo: con bosques y cañadas (Mosaico de Bosque de xerófitas, de mesófitas, Sabana y Selva de albardón)**

Representado, en este estudio, por el Parque Nacional Mburucuyá, Mburucuyá, Corrientes (PNM; coordenadas: -28.013888, -58.022222). Es relevante destacar que PNM se trata de una región de ecotono entre las provincias Paranaense, Chaqueña y Espinal, como se observa en la Fig. 8. Las actividades de campo se llevaron a cabo en parches de vegetación de origen paranaense de bosques de Chaco Húmedo, compuestos principalmente por laureles (*Ocotea acutifolia*), timbó (*Enterolobium contortisiliquum*), lapachos negro (*Handroanthus* spp.), aguaí (*Chrysophyllum gonocarpum*) y guayaibí (*Cordia americana*), con presencia de orquídeas (*Oeceoclades maculata* y *Sarcoglottis grandiflora*) y bromeliáceas terrestres (*Pseudananas sagenarius* y *Bromelia serra*) (Burkart et al., 1999; Oyarzabal et al., 2018; Romero y Chatellenaz, 2013a). El clima de esta región es subtropical cálido, con temperatura media anual que va desde los 23°C hasta cerca de los 18°C. El régimen pluvial es de hasta 1200 mm anuales. En esta área se ha documentado la presencia de garrapatas duras, tales como *A. dubitatum, A. nodosum, A. tigrinum, A. triste. A. ovale, Haemaphysalis juxtakochi, Ixodes chacoensis* y *Rhipicephalus microplus* (Eberhardt et al., 2023b; Flores et al., 2023; Guglielmone et al., 2021).

**Figura 8.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Mburucuyá, Corrientes (Imágenes cedida por: Valentín Vallespinos).

**Chaco Seco: Chaco Serrano (Bosque de xerófilas con *Schinopsis marginata*)**

Representado por la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales, Río Ceballos, Córdoba (MA; coordenadas: -31.170743, -64.341688), se caracteriza por una predominancia de bosques abiertos de xerófitas con quebracho colorado serrano (*Schinopsis marginata*), molle (*Lithraea molleoides*) y coco (*Zanthoxylum coco*). Sin embargo, en los últimos 40 años la composición florística ha cambiado significativamente debido a la pérdida y fragmentación del bosque nativo. Como consecuencia, se ha observado el avance de bosques secundarios con notable aumento de espinillo (*Vachellia caven*), garabato (*Senegalia gilliesii*) y algarrobo (*Neltuma* spp.), así como la proliferación de especies invasoras e introducidas como el siempre verde (*Ligustrum lucidum*), acer (*Acer* spp.) y olmo (*Ulmus* spp.) (Aguirre-Acosta et al., 2023; Oyarzabal et al., 2018) (Fig. 9). El clima es continental, cálido subtropical. La temperatura media anual va desde 23°C hasta cerca de los 18°C (Burkart et al., 1999). Las precipitaciones varían entre 500 y 700 mm anuales, marcadamente estivales, disminuyendo de forma acentuada hacia el límite sudoeste con la ecorregión del Monte. En esta región, hasta la fecha solo se encuentra reportada la presencia de la garrapata dura, *A. tigrinum* (Guglielmone et al., 2021).

**Figura 9.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), Río Ceballos, Córdoba.

#### 4.1.1.2 Provincia Fitogeográfica del Espinal

**Espinal: Ñandubayzal y Selva de Montiel (Bosque de esclerófilas con *Neltuma affinis*)**

Representada por el Parque Provincial General San Martín (SM; coordenadas: -31.732762, -60.325431), tiene formaciones vegetales características como son los bosques xerófitos abiertos, sabanas abiertas con gramíneas y palmares de *Butia yatay*. Las actividades de campo se llevaron a cabo en bosques xerófitos abiertos, caracterizado por vegetación dominada principalmente por algarrobo negro (*Neltuma nigra*), algarrobo blanco (*Neltuma alba*), ñandubay (*Neltuma affinis*), tala (*Celtis ehrenbergiana*), molle (*Schinus longifolius*) (Oyarzabal et al., 2018) (Fig. 10). Sin embargo, en la actualidad, la invasión de especies exóticas, como la acacia negra (*Gleditsia triacanthos*), mora (*Morus nigra*) y siempre verde (*Ligustrum lucidum*), han generado bosques altos caducifolios y cambios severos en la fisonomía en los últimos 50 años (Berduc et al., 2010). El clima es extremadamente variable debido a la amplia extensión de esta ecorregión, en el sitio de estudio presenta temperaturas medias que oscilan entre los 7 y 23 °C. Las precipitaciones superan los 1100-1200 mm anuales,

con valores mayores para los meses de verano (Pereyra, 2003). En esta región se reportó previamente la presencia de *Amblyomma aureolatum, A. dubitatum, A. ovale, A. tigrinum, A. triste, Haemaphysalis juxtakochi, R. microplus, R. sanguineus, Ixodes loricatus* (Fantozzi, 2019; Guglielmone et al., 2021).

**Figura 10.** Imágenes representativas del sitio de muestreo Parque Provincial General San Martín (SM), La Picada, Entre Ríos.

## 4.2. Recolección de datos

La recolección de datos se realizó mediante campañas estacionales de tres días consecutivos, durante las cuales se llevaron a cabo capturas de hospedadores, toma de muestra de sangre y recolección de garrapatas tanto en su fase de vida parasitaria como en fase de vida libre.

### 4.2.1 Garrapatas de vida libre

Las garrapatas duras pueden encontrarse dispersas en el ambiente, sin embargo, suelen concentrarse en senderos donde circulan activamente los animales y en los sitios donde los animales se detienen a comer o a dormir (Estrada-Peña et al., 2013). Por ello, para recolectar garrapatas de vida libre dos operarios realizaron un recorrido por los senderos marcados por los animales en una parcela de bosque durante una hora, empleando un paño de 1x1 m (técnica denominada "*dragging*" o "*flagging*"), a fin de colectar garrapatas que se encontraban sobre la vegetación o en el suelo a la espera de un hospedador. Todas las garrapatas colectadas se conservaron en alcohol

96% para luego trasladarlas al laboratorio y proceder a la identificación de las mismas hasta el nivel de especie.

### 4.2.2 Hospedadores

**Aves**

Para la captura de aves en cada sitio de muestreo se colocaron 10 redes de niebla (12 m de largo, 2,5 m de alto y 16 mm de malla) en lugares estratégicos, manteniéndose activas desde la mañana hasta el atardecer y revisadas cada 30 minutos. Las aves capturadas fueron trasladadas a un laboratorio de campo, en donde se las identificó siguiendo las guías de campo de Narosky e Yzurieta (2010) y se las clasificó según el criterio de Clements et al. (2024).

Cada ave fue examinada minuciosamente con pinzas de punta fina en busca de garrapatas. Posteriormente, se extrajo una muestra de sangre de la vena yugular o alar, no excediendo el 1% del peso corporal del individuo. Para las aves con un peso mayor a 20 gr, se tomaron 0,2 ml de sangre total; para aves con peso entre 10 y 20 gr, se extrajeron 0,1 ml. Las muestras se conservaron en tubos *Eppendorf* con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante y se almacenaron a 4°C hasta llegar al laboratorio y, se conservaron posteriormente a -20°C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades (LECEN – ICIVET Litoral). Las garrapatas recolectadas se conservaron en tubos con alcohol 96° para su posterior identificación. Todas las aves capturadas fueron liberadas en el sitio de captura.

**Marsupiales**

Se emplearon 50 trampas tipo Tomahawk (30x30x60 cm), dispuestas en 5 transectas lineales de 10 trampas cada una, separadas cada 6 metros. Las trampas fueron cebadas con menudos de pollo y manzana y revisadas dos veces al día (mañana y tarde). Las comadrejas capturadas fueron anestesiadas con el anestésico disociativo Ketamina 15 mg/kg (concentración: 50 mg/ml) y el miorrelajante Diazepam 0,5 mg/kg (concentración: 5 mg/ml) por vía intramuscular para luego ser pesadas, sexadas e identificadas en la oreja con una tatuadora (Tarragona et al., 2014). Se examinaron con pinzas de punta fina para la recolección de garrapatas, y se tomó una muestra de sangre por punción de la vena yugular, la cual fue colectada en tubos *Eppendorf* con EDTA, refrigerada a 4°C hasta llegar al laboratorio y conservada a -20°C hasta su

procesamiento. Tras recuperarse del efecto de la anestesia, cada individuo, fue liberado en el sitio de su captura. Las garrapatas colectadas de los hospedadores, fueron tratadas igual que las garrapatas colectadas de los hospedadores aviares. Para todo el procedimiento descrito se siguieron las "Pautas de la Sociedad Estadounidense de Mastozoología para el uso de mamíferos salvajes en investigación y educación" (Sikes y the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016) y la identificación de estos hasta especie fue llevada a cabo mediante la lista de especies de Argentina de Salazar-Bravo y Pinto (2007).

**Roedores**

Se utilizaron 400 trampas tipo Shermann (23x8x9,5 cm) dispuestas en 4 grillas de 10x10 separadas cada 5 metros. Las trampas fueron cebadas con una mezcla de caballa, pasta de maní y avena, envueltas en algodón, y revisadas por la mañana. El procesamiento en campo siguió los protocolos de bioseguridad descritos por Mills et al. (1995). Los roedores fueron sedados mediante inhalación de una dosis baja de isoflurano, pesados, sexados, identificados mediante la guía de campo taxonómica de Teta y Jayat (2021) y revisados en busca de garrapatas. Se tomó una muestra de sangre de 0,5 ml por sangrado del seno venoso orbital mediante la utilización de un capilar heparinizado y fue colectada en tubos con EDTA, y las garrapatas colectadas se conservaron en tubos con alcohol 96°. Luego de recuperarse del efecto del sedante, fueron liberados en su sitio de captura. Al igual que para la captura de marsupiales se siguió el protocolo descrito por Sikes y the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists (2016).

## 4.3. Identificación de garrapatas

La identificación a nivel de especie de las garrapatas recolectadas se realizó en el laboratorio mediante el uso de lupas binoculares y claves taxonómicas para adultos y ninfas (Nava et al., 2017). Para la identificación de las larvas se utilizaron descripciones específicas (Barbieri et al., 2013, 2008; Egizi et al., 2019; Estrada-Peña et al., 2005; Joan, 1930; Kohls, 1960; Nava et al., 2023; Saracho Bottero et al., 2021), además de comparaciones morfológicas con especímenes depositados en la colección de garrapatas del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela, Argentina.

Para confirmar la identificación de aquellas larvas cuya determinación morfológica de larvas resultó dificultosa, se realizó una PCR convencional dirigida al fragmento del gen 16S ARNr de garrapatas y se determinó el haplotipo respectivo de los especímenes mediante secuenciación, según lo descrito por Mangold et al. (1998).

## 4.4. Análisis de las muestras por biología molecular

### 4.4.1 Extracción de ácido desoxiribonucleico (ADN) genómico de garrapatas

La extracción de ADN de las garrapatas de vida libre se realizó de manera individual para estadios adultos y también de manera individual cuando se encontró un único individuo perteneciente a una especie y estadio inmaduro específico. En los casos en que se detectaron múltiples garrapatas de la misma especie y estadio, en el mismo sitio de colecta y estación, la extracción se llevó a cabo formando grupos de hasta 50 larvas y hasta 10 ninfas para aumentar la sensibilidad de detección en estos estadios con bajo contenido de ADN. Para las garrapatas recolectadas sobre los hospedadores, la extracción se realizó de la misma manera que para las garrapatas recolectadas sobre vegetación, solo que los grupos se procesaron teniendo en cuenta también el hospedador.

Previamente para eliminar todo el ADN ambiental (ADN de bacterias, hongos, plantas, algas, adheridas a la superficie de la cutícula de la garrapata y que no pertenece a la microbiota de la garrapata) que podría traer las garrapatas, se las sometió a lavados con hipoclorito de sodio al 10% durante 5 minutos y luego dos veces por agua destilada durante otros 5 minutos. Se secaron bien y se las colocó en tubos *Eppendorf* esterilizados hasta el momento de la extracción.

El ADN de las garrapatas se extrajo mediante dos métodos: kit comercial (*High Pure PCR Template Preparation Kit*, Roche, Germany) y el método de ebullición descrito por Horta et al. (2010).

Para la extracción con el kit comercial, a cada tubo individual se le añadió 40 µl de proteinasa K y 200 µl de buffer de lisis (Roche®). Luego, los especímenes fueron triturados utilizando la punta previamente sellada de un tip de 1000 µl hasta obtener un homogeneizado. La mezcla se incubó a 55°C durante 14 hs. Posteriormente, las muestras fueron transferidas a columnas de extracción y se centrifugaron a 8000 g durante un minuto. Se realizaron lavados con Wash Buffer (Roche®) y, finalmente, el ADN se eluyó de la columna en 50 µl de Elution Buffer (Roche®).

Para la extracción mediante el método de ebullición, a cada tubo con garrapata se le agregó la mitad del volumen final de buffer TE estéril (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0), según lo indicado en la Tabla 2. Las muestras fueron incubadas inicialmente a 90°C durante 15 minutos, luego trituradas con la punta previamente sellada de un tip de 500 µl. Antes de someterlas a una segunda incubación en termobloque a la misma temperatura durante otros 15 minutos, se le agregó la otra mitad de Buffer TE estéril para completar el volumen final.

**Tabla 2.** Volúmenes de Buffer TE estéril por cada estadio de garrapata.

| Estadio de la garrapata | Buffer TE inicial (µl) | Buffer TE total (µl) |
|---|---|---|
| Adultos ingurgitados | 250 | 500 |
| Adultos no ingurgitados | 100 | 200 |
| Ninfa individual | 15 | 30 |
| Grupo de ninfas | 30 | 60 |
| Larva individual | 10 | 20 |
| Grupo de larvas | 20 | 40 |

Todas las muestras de ADN obtenidas se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento para la detección molecular de *Ehrlichia*. Además, el ADN obtenido fue utilizado para corroborar la identidad genética de aquellas especies que no pudieron ser determinadas mediante observación y comparación morfológica.

### 4.4.2 Extracción de ADN genómico de hospedadores

Para la extracción de ADN a partir de sangre de aves, se desarrolló un protocolo basado en la modificación del método propuesto por Eberhardt et al. (2014). En este procedimiento, el ADN genómico total se obtuvo diluyendo 50 µL de sangre entera anticoagulada en 150 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS 0,1 M, pH: 7,2). A continuación, se añadieron 400 µl de buffer de lisis (Tris-HCl 10 mM, EDTA 100 Mm, dodecilsulfato de sodio [SDS] al 0,5%, pH 8,0) y 10 µl de proteinasa K (10

mg/ml). La mezcla se agitó en vortex y se centrifugó a 3000 g durante un minuto para recuperar la sangre adherida a las paredes del tubo. Posteriormente, se incubó en termobloque a 50°C durante 14 hs.

Luego de la incubación, se añadieron 200 µl de buffer de lisis, se mezcló y se centrifugó nuevamente a 3000 g durante un minuto. Para inactivar la proteinasa K, se realizó una incubación final a 90°C durante 5 minutos.

La extracción del ADN se llevó a cabo mediante el método estándar con fenol/cloroformo, donde el fenol se encarga de desnaturalizar y extraer las proteínas y el cloroformo se encarga de extraer los lípidos. Se añadieron 300 µl de fenol y 300 µl de cloroformo, se mezcló durante dos minutos y se dejó reposar a temperatura ambiente durante tres minutos. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 22000 g por 20 minutos a 4°C. Finalizada la centrifugación, se transfirió la fase acuosa a un *Eppendorf* nuevo, esterilizado y rotulado.

A la fase acuosa recuperada se le agregaron 400 µl de cloroformo, se mezcló vigorosamente y se dejó reposar tres minutos a temperatura ambiente. Luego, se realizó una segunda centrifugación de 22000 g durante 20 minutos a 4°C. La fase acuosa resultante se transfirió a un nuevo *Eppendorf* que contenía previamente 50 µl de acetato de sodio (3 M, pH: 5,3) y se mezcló por inversión. Para la precipitación del ADN, se añadió 800 µl de isopropanol, se mezcló nuevamente por inversión y se dejó reposar durante 15 minutos a -20°C.

Tras la incubación en frío, la mezcla se centrifugó a 22000 g durante 20 minutos a 4°C. Se eliminó el sobrenadante por decantación y el pellet obtenido se lavó con 1 ml de etanol al 75%, seguido de una centrifugación a 13000 g durante 10 minutos a 4°C. Luego, se descartó el sobrenadante y se secó el pellet completamente. Finalmente, el ADN se resuspendió en 50 µl de buffer TE estéril y se incubó a 45°C durante cinco minutos.

Para la extracción de ADN genómico de hospedadores mamíferos se siguió el mismo protocolo descrito por Eberhardt et al. (2014) sin modificaciones. En este caso, se utilizaron 200 µL de sangre entera anticoagulada como punto de partida.

El procedimiento de lisis celular, digestión enzimática, extracción de impurezas con fenol/cloroformo, precipitación del pellet con isopropanol y lavado del ADN con etanol fue idéntico al descrito para los hospedadores aviares, con la única diferencia en las

condiciones de centrifugación durante la extracción, donde se utilizó 13000 g por 10 minutos a 4°C en lugar de 22000 g.

Las concentraciones y los índices de pureza (260/280) de todos los ADN obtenidos se evaluaron mediante técnicas de espectrofotometría utilizando el espectrofotómetro SPECTROstar Nano del Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada (LBCMA, ICIVET-Litoral), utilizando el software MARS Data Analysis y obteniendo como lectura final la concentración expresada en ng/µl. Solo se utilizaron muestras con una relación 260/280 superior a 1,6, y se repitió la extracción de ADN para las muestras con valores inferiores a este umbral. Aquellas muestras que presentaron más de 200 ng/µl de concentración fueron diluidas en Bufffer TE y se volvieron a cuantificar hasta obtener valores entre 100 y 200 ng/µl.

### 4.4.3 Detección de *Ehrlichia* mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

**Ausencia de inhibidores de PCR e integridad**

Lo primero que se hizo fue chequear la ausencia de inhibidores de PCR y la integridad del ADN obtenido en las extracciones. Para esto, se amplificó mediante PCR en tiempo real un gen constitutivo en cada grupo de vertebrados.

• *Para garrapatas:* Se utilizó como control interno una porción del gen 16S ARNr utilizando los cebadores 16S ARN +1 y 16S ARN -1 y el programa propuesto por Mangold et al. (1998).

• *Para aves:* Se utilizó como control interno una porción del gen de Citocromo B, utilizando los cebadores Plo_Cytb1 y L14841 (Areta et al., 2016), para eso se puso a punto una PCR real time (Tabla 4.2).

• *Para mamíferos*: Se utilizó como control interno una porción del gen 18S ARN utilizando los cebadores 18S Fw y 18S Rv, y el programa propuesto por Monje et al. (2007).

**Cribado inicial e identificación molecular**

El cribado inicial para la detección de bacterias de la familia Anaplasmataceae en todas las muestras se realizó mediante PCR en tiempo real, amplificando un fragmento corto del gen ribosomal **16S ARNr** con los cebadores AE2 Fw y AE Rv (Monje et al., 2019). Estos cebadores amplifican específicamente a la familia

Anaplasmataceae y los productos de amplificación presentan puntos de fusión diferentes de acuerdo al género involucrado. El análisis de la curva del punto de fusión muestra un pico a 86,2°C para el género *Ehrlichia* y un pico en 86,7°C para *Anaplasma* (Eberhardt et al., 2023b). Dado que el 16S ARNr es un gen altamente conservado, su amplificación facilita la detección temprana de *Ehrlichia,* aunque no permite una caracterización a nivel de especie debido a su baja variabilidad (Yu et al., 2007).

Las muestras positivas para *Ehrlichia* fueron identificadas molecularmente a nivel de especie o cepa mediante PCR convencional, amplificando fragmentos de genes más polimórficos que el 16S ARNr, lo que permitió una mayor resolución en la identificación de especies. La detección de los productos amplificados se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% (buffer TAE), utilizando un marcador de peso molecular y controles positivos y negativos en cada corrida. En cada pocillo del gel se sembraron 5 µl de las muestras amplificadas y se realizó la corrida a 90 V constantes durante 30-45 min.

Los fragmentos genéticos amplificados fueron los siguientes:

- **Gen 16S ARNr**: Se amplificó un fragmento de 468 pb mediante PCR convencional con los cebadores 16SANA Fw y 16SANA Rv (Stuen et al., 2003). Este gen codifica la subunidad menor de los ribosomas y es el gen más utilizado en estudios filogenéticos y taxonomía bacteriana, a pesar de su bajo polimorfismo.
- **Gen *dsb*** (disulfuro oxidoreductasa): Se amplificó un fragmento de 409 pb con los cebadores dsb-330 y dsb-728 (Doyle et al., 2005). Este gen codifica una proteína implicada en la formación de enlaces disulfuro, fundamentales para la estabilidad estructural de proteínas en *Ehrlichia*. Es altamente específico y se ha utilizado ampliamente en estudios de detección e identificación molecular debido a su capacidad para diferenciar especies dentro del género.
- **Gen *groEL*** (proteína de choque térmico): Se amplificó un fragmento de 1224 pb mediante una PCR anidada, con los cebadores EHRgro 2 Fw y EHRgro 5 Rv en la primera reacción y los cebadores EHRgro 3 Fw y EHRgro 4 Rv (Vaschalde et al., 2023). *GroEL* es una chaperona molecular altamente conservada que participa en el plegamiento de proteínas bajo condiciones de estrés celular. Aunque es un gen conservado, su variabilidad entre especies

de *Ehrlichia* lo hace útil para análisis filogenéticos y diferenciación a nivel intraespecífico.

Todas las reacciones de PCR incluyeron como control positivo ADN de *Ehrlichia canis* de un perro infectado y como control negativo agua ultrapura. Los detalles sobre los cebadores y los ciclados de PCR se pueden encontrar en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Cebadores y protocolo de amplificación por PCR. TA: Tamaño del amplicón.

| | Gen | Cebadores | Secuencia 5'-3' | TA (pb) | Protocolo de amplificación por PCR | Tipo de PCR | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Control** | *citocromo B* | Plo_Cytb1 | AGGTTTCGGATTAGTCAGCC | 130 | 3' a 98ºC, 40 ciclos de 5'' a 98º C, 20'' a 55,5º C y 20' a 62,5º C | En tiempo real | Areta et al. (2016) |
| | | L14841 | CCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA | | | | |
| | *18S ARNr* | 18S Fw | CAACTTTCGATGGTAGTCGC | 285 | 5' a 95°C, 35 ciclos de 20'' a 95°C, 30'' a 58°C y 30''a 72°C | En tiempo real | Monje et al. (2007) |
| | | 18S Rv | CGCTATTGGAGCTGGAATTAC | | | | |
| **Garrapatas** | *16S ARNr* | 16S +1 | CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT | 451 | 5' a 94°C, 40 ciclos de 10'' a 94°C, 20'' a 49,5°C y 25'' a 72°C | Convencional | Mangold et al. (1998) |
| | | 16S -1 | GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT | | | | |

*Continuación Tabla 3.*

| | Gen | Cebadores | Secuencia 5'-3' | TA (pb) | Protocolo de amplificación por PCR | Tipo de PCR | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Anaplasmataceae** | *16S ARNr* | AE2 Fw | CGCAAGGYTKAGCTAATC CRTAAAAGT | 177 | 3' a 98 °C, 40 ciclos de 5'' a 98 °C, 20'' a 55.5 °C y 20'' a 62.5 °C | En tiempo real | Monje et al. (2019) |
| | | AE-Rv | RCACCAGCTTCGAGTTAA GCCAAT | | | | |
| **Anaplasmataceae** | *16S ARNr* | 16S ANA-F | CAGAGTTTGATCCTGGCT CAGAACG | 468 | 5' a 95°C, 40 ciclos de 25'' a 94°C, 30'' a 67°C y 30'' a 72°C | Convencional | Stuen et al. (2003) |
| | | 16S ANA-R | GAGTTTGCCGGGACTTCT TCTGTA | | | | |
| **Ehrlichia** | *dsb* | dsb330 | GATGATGTCTGAAGATAT GAAACAAAT | 409 | 3' a 94°C, 40 ciclos de 30'' a 94°C, 40'' a 50°C y 40'' a 72°C | Convencional | Doyle et al. (2015) |
| | | dsb728 | CTGCTCGTCTATTTTACTT CTTAAAGT | | | | |

*Continuación Tabla 3.*

| | Gen | Cebadores | Secuencia 5'-3' | TA (pb) | Protocolo de amplificación por PCR | Tipo de PCR | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Ehrlichia** | *groEL* | EHRgro 2Fw | TTCTCCTATACARCTTCCT GA* | 122 4 | 3' a 94°C, 40 ciclos de 30'' a 52°C, 30'' a 52°C y 40'' a 65°C | Anidada | Vaschalde et al. (2023) |
| | | EHRgro 5Rv | GCAAAATCAAATGCTATAC G* | | | | |
| | | EHRgro 3Fw | ATTGGCTCTTGCTATTGC** | | 3' a 94°C, 40 ciclos de 30'' a 52°C, 30'' a 52°C y 40'' a 65°C | | |
| | | EHRgro 4Rv | AAATGAGCAATAACACAT GG** | | | | |

*: Primera reacción.

**: Segunda reacción.

## 4.5 Estudios filogenéticos

Las muestras que resultaron positivas fueron purificadas mediante *AccuPrep Gel Purification Kit* (BIONEER, Corea) y secuenciadas utilizando los cebadores amplificadores en Macrogen (Seúl, Corea). Posteriormente, se corroboró la integridad de las regiones conservadas dentro de los fragmentos amplificados, asegurando la calidad de los datos antes del análisis filogenético mediante comparación con secuencias de interés.

El alineamiento de las secuencias se llevó a cabo con el programa BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999), utilizando el algoritmo Clustal W (Thompson et al., 1994). Luego, se realizó el cálculo de las distancias genéticas mediante el programa MEGA 7.0 y se determinó el modelo de evolución molecular más adecuado para los datos mediante el Criterio de Información de Akaike. Las relaciones evolutivas entre las secuencias se evaluaron mediante el enfoque filogenético: Maximum likelihood, aplicando un bootstrap de 1000 replicaciones para la fiabilidad de la filogenia (Kumar et al., 2016). Esto permitió inferir la estructura filogenética y evaluar la robustez de los agrupamientos, proporcionando información sobre la diversidad y la historia evolutiva de las secuencias analizadas. En este contexto, se define un clado, como un grupo de secuencias que comparten un ancestro en común y que incluyen a todos sus descendientes, reflejando una relación monofilética dentro de un árbol filogenético.

## 4.6 Análisis estadístico

La relación garrapata-hospedador fue evaluada calculando estimadores ecológicos propuestos por Bush et al. (1997):

*Prevalencia (P):* número de hospedadores infestados sobre el número de hospedadores examinados x 100.

*Abundancia media (AM):* número total de individuos de una especie de garrapata dividido el número total de hospedadores examinados.

*Abundancia relativa (AR):* número de garrapatas por especie y estadio dividido el total de garrapatas en la muestra, a nivel estacional y por sitio.

*Intensidad media (IM):* número total de garrapatas de una especie y un estadio dividido el número total de hospedadores infectados con esa garrapata.

Además, como medida de la diversidad de los ensambles de garrapatas de vida libre, de garrapatas de vida parasitaria y de los ensambles de aves para cada sitio, se calculó el *Índice de Shannon-Wiener (H')*, el cual mide la incertidumbre y se interpreta

como la probabilidad de escoger dos individuos al azar que pertenezcan o no a una misma especie. Este fue llevado a cabo con la función “diversity” del paquete “vegan” en R (Oksanen et al., 2025; R Core Team, 2024).

Para explorar patrones en la matriz de abundancia de garrapatas en aves, empleamos el paquete “mvabund” en R (R Core Team, 2024; Wang et al., 2022). Este paquete permite realizar modelos lineales generalizados (GLM) para analizar datos multivariantes de recuentos. A diferencia de otros métodos basados en matrices de distancia, “mvabund” mejora la potencia estadística al manejar series de especies o grupos con diferentes varianzas e incorpora un supuesto de relación media-varianza (Wang et al. 2022). Se modelaron dos subconjuntos de datos: uno para las larvas y otro para las ninfas, asumiendo una distribución binomial negativa con función de enlace logarítmico. La abundancia de cada especie de garrapatas fue considerada como la variable dependiente. Las variables explicativas evaluadas fueron lugar y estación. Se consideraron sólo aquellas especies presentes en cinco o más hospedadores. Los modelos resultantes fueron evaluados mediante el análisis del Criterio de Información de Akaike (AIC) (Palavecino et al., 2025).
Los supuestos del modelo se evaluaron mediante un gráfico de residuos vs predichos. Tras la selección del modelo con mejor ajuste, se extrajeron el resumen del modelo y el ANOVA de “manyglm”, incluyendo el valor p (Palavecino et al., 2025). Para facilitar la interpretación de los resultados de los modelos seleccionados, se realizaron análisis post hoc de comparaciones de medias ajustadas, con corrección para múltiples comparaciones.
Con el objetivo de explorar tanto los patrones generales de asociación entre aves y garrapatas como sus variaciones estacionales, se elaboraron diagramas de Sankey a partir de las abundancias de las garrapatas colectadas sobre las aves y las especies de aves implicadas. Estos diagramas fueron generados utilizando el paquete “networkD3”, en combinación con “dplyr” para el procesamiento de los datos en R (Allaire et al., 2025; R Core Team, 2024; Wickham et al., 2023). Los diagramas de Sankey son herramientas visuales que permiten representar flujos entre categorías, donde el grosor de los enlaces indica la magnitud de las conexiones. En este estudio, se utilizaron para visualizar de forma integrada y clara las asociaciones entre especies de aves y de garrapatas, permitiendo identificar vínculos predominantes y patrones temporales a lo largo de las estaciones.

## 4.7 Análisis espacial

Para describir la distribución geográfica de las detecciones de *Ehrlichia*, se utilizaron bases de datos georreferenciadas que contienen registros de presencia de las especies en las que se ha detectado esta bacteria. Los datos de ocurrencia fueron tomados del Sistema Global de Información sobre Biodiversidad (GBIF.org, 2025) y de bases de datos recientemente publicadas (Cuervo et al., 2021; Guglielmone et al., 2021).

Para estimar la distribución potencial de los hospedadores, se generaron polígonos mediante la aplicación de buffers de 1 km alrededor de cada registro georreferenciado. Los cuáles fueron disueltos para obtener un área continua que represente la distribución. Sobre esta capa se superpusieron los registros de presencia de garrapatas y las detecciones previas de cepas de *Ehrlichia* informadas en la literatura y que se encontraban cercanas filogenéticamente a las cepas reportadas en esta tesis.

Los sitios positivos se representaron como puntos sobre una capa base de los sitios muestreados, lo que permitió visualizar su distribución espacial relativa en relación con la ocurrencia de los hospedadores, las garrapatas y las cepas bacterianas previamente reportadas.

El análisis se llevó a cabo mediante el software de Sistema de Información Geográfica QGIS (versión 3.34.8).

## 4.8 Consideraciones éticas

Todos los procedimientos realizados en el marco de la tesis se desarrollaron según lo expresado en “Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education” y en “Guía para la utilización de aves silvestres en investigación” (Fair et al., 2010; Sikes y the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016). Los protocolos de trabajo fueron aprobados por el Comité Asesor de Ética y Seguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (Esperanza, Santa Fe), bajo el número de protocolo 676/21 en el marco del proyecto “Epidemiología de *Ehrlichia* spp. asociadas a garrapatas (Acari: Ixodidae) de importancia sanitaria en la Argentina”. Además, se cuentan con los permisos de cada parque al cuál se ha asistido.

# *5. Resultados*

# 5 RESULTADOS

## 5.1 Recolección de datos

Se realizaron un total de 20 campañas de muestreo, en las cuales se colectaron 11 especies diferentes de garrapatas duras (Ixodidae) de los géneros *Amblyomma, Haemaphysalis, Ixodes* y *Rhipicephalus.*

De vida libre se recolectaron 5946 garrapatas (4913 larvas, 912 ninfas y 121 adultos), pertenecientes a ocho especies de tres géneros: *A. aureolatum, A. dubitatum*, *A. ovale*, *A. tigrinum, A. triste*, *H. juxtakochi, I. chacoensis* e *I. silvanus*. El número de garrapatas recolectadas por especie y estadio sobre la vegetación durante los dos años de muestreo se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Garrapatas de vida libre recolectadas en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021 y 2023.

| **Especies de garrapatas** | **Estadio** | **PNM** | **MA** | **SM** |
|---|---|---|---|---|
| *Amblyomma aureolatum* | Larvas | | | 13 |
| | Ninfas | | | 8 |
| | Adultos | | | 24 |
| *Amblyomma dubitatum* | Larvas | 418 | | 142 |
| | Ninfas | 137 | | 11 |
| | Adultos | 3 | | |
| *Amblyomma ovale* | Larvas | 48 | | |
| | Ninfas | 4 | | |
| | Adultos | 2 | | |
| *Amblyomma tigrinum* | Larvas | | 1 | |
| | Ninfas | | 1 | |
| | Adultos | | 4 | |
| *Amblyomma triste* | Larvas | 5 | | |
| | Ninfas | 11 | | |
| | Adultos | 12 | | |

*Continuación Tabla 4.*

| Especies de garrapatas | Estadio | PNM | MA | SM |
|---|---|---|---|---|
| *Haemaphysalis juxtakochi* | Larvas | 3485 | | 37 |
| | Ninfas | 700 | | 30 |
| | Adultos | 74 | | 2 |
| *Ixodes chacoensis* | Larvas | 45 | | |
| *Ixodes silvanus* | Larvas | | 719 | |
| | Ninfas | | 10 | |

En las 20 campañas, se muestrearon 1013 aves silvestres pertenecientes a siete órdenes, 23 familias, 64 géneros y 80 especies. De estas, 310 individuos estaban infestados por garrapatas. En total se recolectaron 3232 garrapatas (2754 larvas, 476 ninfas y 2 hembras), correspondientes a diez especies: *A. aureolatum, Amblyomma calcaratum/nodosum, A. dubitatum, A. ovale, A. tigrinum, A. triste, H. juxtakochi, I. chacoensis, I. silvanus* y *R. microplus*. Además, se recolectaron especímenes de *Amblyomma* (dos larvas y una ninfas) que no pudieron ser identificados a nivel de especie. Los detalles de las especies de garrapatas recolectadas sobre estos hospedadores se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Garrapatas recolectadas sobre hospedadores aviares en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023.

| Especies de garrapatas | Estadio | PNM | MA | SM |
|---|---|---|---|---|
| *Amblyomma aureolatum* | Larvas | | | 30 |
| | Ninfas | | | 5 |
| *Amblyomma calcaratum/nodosum* | Larvas | 20 | | |
| | Ninfas | 22 | | |
| *Amblyomma dubitatum* | Larvas | 560 | | 21 |
| | Ninfas | 17 | | |
| *Amblyomma ovale* | Larvas | 7 | | |
| | Ninfas | 10 | | |

*Continuación Tabla 5.*

| Especies de garrapatas | Estadio | PNM | MA | SM |
|---|---|---|---|---|
| *Amblyomma tigrinum* | Larvas | | 272 | |
| | Ninfas | | 15 | |
| *Amblyomma triste* | Larvas | 129 | | 9 |
| | Ninfas | 31 | | |
| *Amblyomma tigrinum/triste* | Larvas | | | 13 |
| *Haemaphysalis juxtakochi* | Larvas | 1121 | | 11 |
| | Ninfas | 208 | | 2 |
| *Ixodes chacoensis* | Larvas | 462 | | |
| | Ninfas | 60 | | |
| *Ixodes silvanus* | Larvas | | 105 | |
| | Ninfas | | 96 | |
| | Adultos | | 2 | |
| *Rhipicephalus microplus* | Larvas | 1 | | |
| *Amblyomma* sp. | Larvas | 2 | | |
| | Ninfas | 1 | | |

En total se capturaron 27 mamíferos, pertenecientes a dos órdenes (Didelphimorphia y Rodentia), tres familias (Didelphidae, Caviidae y Cricetidae), siete géneros y siete especies. Las comadrejas (Didelphidae) que se capturaron fueron siete de la especie *Didelphis albiventris,* cinco en MA y dos en SM. Sólo las dos capturadas en SM, se encontraron infestadas, de las cuales se colectaron 22 garrapatas de dos especies: *A. dubitatum* e *Ixodes loricatus.*

De los 20 roedores capturados del orden Rodentia, 12 fueron identificados a nivel de especie (dos familias, seis especies) y ocho se llegó a nivel de género (tres géneros). Siete roedores se encontraron infestados por garrapatas, de los cuales se recolectó un total de 11 garrapatas (una larva y diez ninfas), pertenecientes a dos géneros y tres especies: *A. dubitatum, A. tigrinum* e *I. chacoensis*. Los detalles de las garrapatas recolectadas sobre mamíferos se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Garrapatas colectadas sobre hospedadores mamíferos en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023.

| Especies de garrapatas | Estadio | PNM | MA | SM |
|---|---|---|---|---|
| *Amblyomma dubitatum* | Larvas | | | 9 |
| | Ninfas | 1 | | 18 |
| *Amblyomma tigrinum* | Larvas | | 1 | |
| *Ixodes chacoensis* | Ninfas | 2 | | |
| *Ixodes loricatus* | Adultos | | | 2 |

## 5.2 Asociaciones

### 5.2.1 Composición de garrapatas de vida libre

De las 5946 garrapatas de vida libre recolectadas, el análisis de los índices de Shannon-Wiener mostró que PNM presentó el ensamble más diverso (H' = 1,12), seguido por SM (H' = 1,08), mientras que MA tuvo la menor diversidad (H' = 0,62).

En el PNM se colectaron un total de 4944 garrapatas (4001 larvas, 852 ninfas y 91 adultos), de cinco especies diferentes: *A. dubitatum, A. ovale, A. triste, H. juxtakochi* e *I. chacoensis*. La especie dominante fue *H. juxtakochi*, que representó el 86,14% del total de los especímenes recogidos. El análisis de la abundancia relativa de las larvas mostró que *H. juxtakochi* dominó en otoño, invierno y primavera, mientras que *A. dubitatum* lo hizo en verano. Además, se registró un pico de larvas de *A. ovale* e *I. chacoensis* en primavera (Tabla 7 y Fig. 11). Las ninfas, por su parte, mostraron el mismo patrón que las larvas, aunque en primavera *I. chacoensis* estuvo ausente. Además, en las ninfas se observó una mayor heterogeneidad en verano con la participación de *A. dubitatum, A. ovale* y *A. triste* (Fig. 11). No se recolectaron adultos durante el invierno, sin embargo, en otoño y primavera, los adultos de *H. juxtakochi* predominaron en vegetación, con algunos representantes de *A. dubitatum, A. ovale* y *A. triste*. En verano, en cambio, se destacaron los adultos de *A. triste* (Tabla 7 y Fig. 12). Cabe aclarar que los adultos de *A. triste* fueron colectados fuera del bosque, en pastizales que rodean los parches del bosque.

**Tabla 7.** Garrapatas de vida libre colectadas en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023.

| | | 2022 | | 2023 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Especie** | **Estadio** | **Otoño** | **Invierno** | **Primavera** | **Verano** | **Otoño** | **Invierno** | **Primavera** | **TOTAL** |
| *Amblyomma dubitatum* | Larva | 107 | | 44 | 25 | 189 | 17 | 36 | **418** |
| | Ninfa | 5 | | 53 | 48 | 11 | 1 | 19 | **137** |
| | Adulto | | | 1 | 1 | 1 | | | **3** |
| *Amblyomma ovale* | Larva | | | | | 4 | | 44 | **48** |
| | Ninfa | | | 3 | 1 | | | | **4** |
| | Adulto | | | 1 | | 1 | | | **2** |
| *Amblyomma triste* | Larva | 3 | | 2 | | | | | **5** |
| | Ninfa | 1 | | 6 | 1 | 2 | | 1 | **11** |
| | Adulto | | | 2 | 10 | | | | **12** |
| *Haemaphysalis juxtakochi* | Larva | 2498 | | 188 | | 507 | 194 | 98 | **3485** |
| | Ninfa | 118 | | 474 | | 19 | 15 | 74 | **700** |
| | Adulto | 14 | | 53 | | 3 | | 4 | **74** |
| *Ixodes chacoensis* | Larva | | | 42 | | 2 | | 1 | **45** |
| **TOTAL** | | **2746** | | **869** | **86** | **739** | **227** | **277** | **4944** |

En MA, se recolectaron un total de 735 garrapatas (720 larvas, 11 ninfas y cuatro adultos), de dos especies diferentes: *A. tigrinum* e *I. silvanus.* Esta última fue la especie dominante, representando el 99,18% del total de especímenes recolectados. Larvas de *I. silvanus* mostraron una estacionalidad registrando picos en invierno y otoño. Las ninfas de esta especie, sin embargo, se observaron en todas las estaciones, con un pico en primavera del año 2023 (Tabla 8 y Fig. 11). Los adultos recolectados de vida libre sólo se registraron en verano y primavera y correspondieron a la especie *A. tigrinum* (Tabla 8 y Fig. 12).

Para confirmar la identidad de *I. silvanus,* se sometieron a extracción de ADN y amplificación por PCR convencional dirigida al gen 16S ARNr (Mangold et al., 1998) a un grupo de diez larvas y a una hembra, cuyos resultados mostraron una coincidencia del 100% con el haplotipo de *I. silvanus* previamente reportado en la provincia fitogeográfica de las Yungas (Números de acceso a GenBank: PQ604648-PQ604649). Cabe destacar que el hallazgo de *I. silvanus* en la región del Chaco Serrano (MA) representa el primer registro de esta especie de garrapata fuera de su rango geográfico conocido (Vaschalde et al., 2025a). Todos los ejemplares de *I. silvanus* de vida libre fueron recolectados exclusivamente de la hojarasca en bosques dominados por la especie *Ligustrum lucidum* (Oleaceae).

**Tabla 8.** Garrapatas de vida libre colectadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023.

| | | 2021 | 2022 | | 2023 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Especie** | **Estadio** | **Primavera** | **Invierno** | **Verano** | **Otoño** | **Invierno** | **Primavera** | **TOTAL** |
| *Amblyomma tigrinum* | Larva | | | 1 | | | | **1** |
| | Ninfa | | 1 | | | | | **1** |
| | Adulto | 3 | | 1 | | | | **4** |
| *Ixodes silvanus* | Larva | | 536 | | 149 | 34 | | **719** |
| | Ninfa | | 1 | 2 | 2 | 1 | 4 | **10** |
| **TOTAL** | | **3** | **538** | **4** | **151** | **35** | **4** | **735** |

En SM, se recolectaron 267 garrapatas (192 larvas, 49 ninfas y 26 adultos) de las especies: *A. aureolatum, A. dubitatum* y *H. juxtakochi.* La especie dominante en los estadios de larva y ninfa fue *A. dubitatum,* representando un 57,30% del total de los especímenes recolectados (Tabla 9). Sin embargo, las larvas de *A. dubitatum* sólo fueron dominantes en primavera, mientras que *A. aureolatum* fue más abundante en invierno, y *H. juxtakochi* en verano. Las ninfas de *A. aureolatum* fueron las más abundantes en invierno, mientras que en primavera predominaron las ninfas de *H. juxtakochi.* En verano, la abundancia de las ninfas fue muy similar entre las tres especies anteriormente mencionadas (Tabla 9 y Fig. 11). Los adultos solo se recolectaron en primavera y estuvieron dominados por *A. aureolatum*, que fue la especie en estadio adulto más abundantes (8,99% del total) (Tabla 9 y Fig. 12).

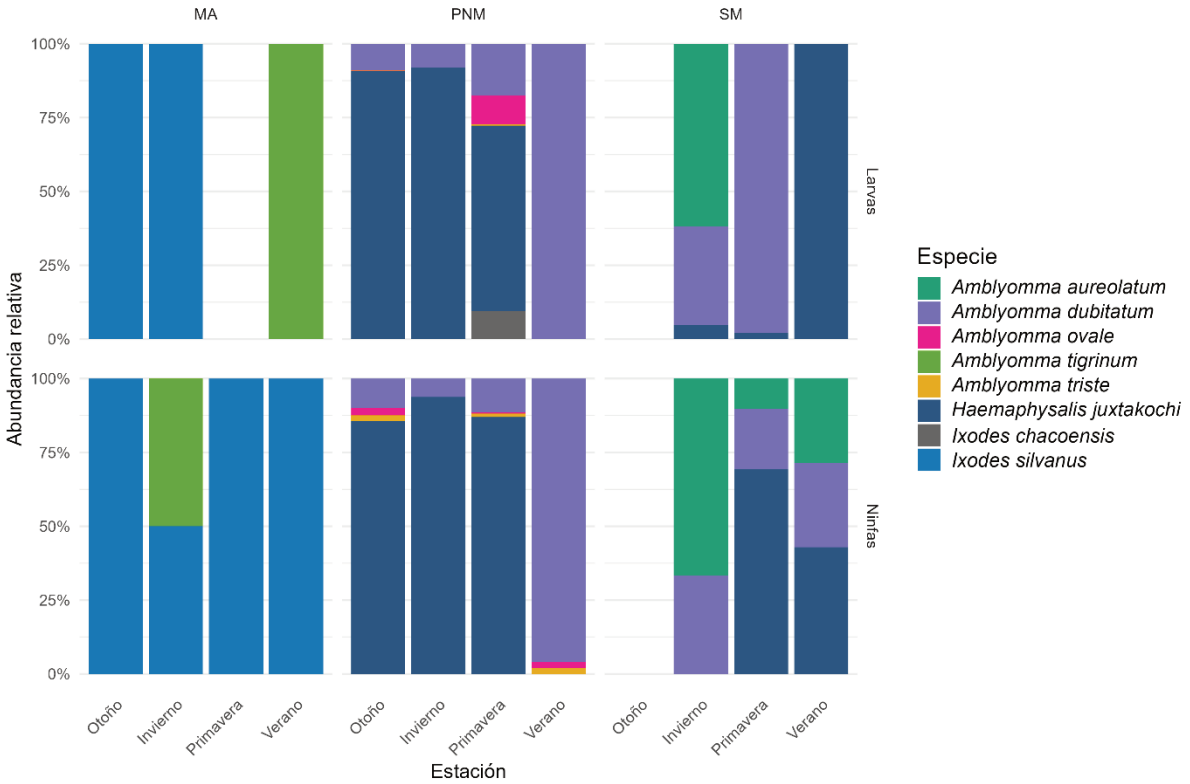


**Figura 11.** Abundancia relativa de garrapatas duras colectadas sobre vegetación separadas por larvas y ninfas, estación y sitio, entre 2021-2023. Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), Parque Provincial General San Martín (SM).

**Tabla 9.** Garrapatas de vida libre colectadas en Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023.

| | | 2021 | 2022 | 2023 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Especie** | **Estadio** | **Primavera** | **Invierno** | **Primavera** | **Verano** | **Invierno** | **TOTAL** |
| *Amblyomma aureolatum* | Larva | | | | | 13 | **13** |
| | Ninfa | 2 | | 2 | 2 | 2 | **8** |
| | Adulto | 24 | | | | | **24** |
| *Amblyomma dubitatum* | Larva | 135 | 1 | | | 6 | **142** |
| | Ninfa | 3 | 1 | 5 | 2 | | **11** |
| *Haemaphysalis juxtakochi* | Larva | 3 | 1 | | 33 | | **37** |
| | Ninfa | 23 | | 4 | 3 | | **30** |
| | Adulto | 1 | | 1 | | | **2** |
| **TOTAL** | | **191** | **3** | **12** | **40** | **21** | **267** |

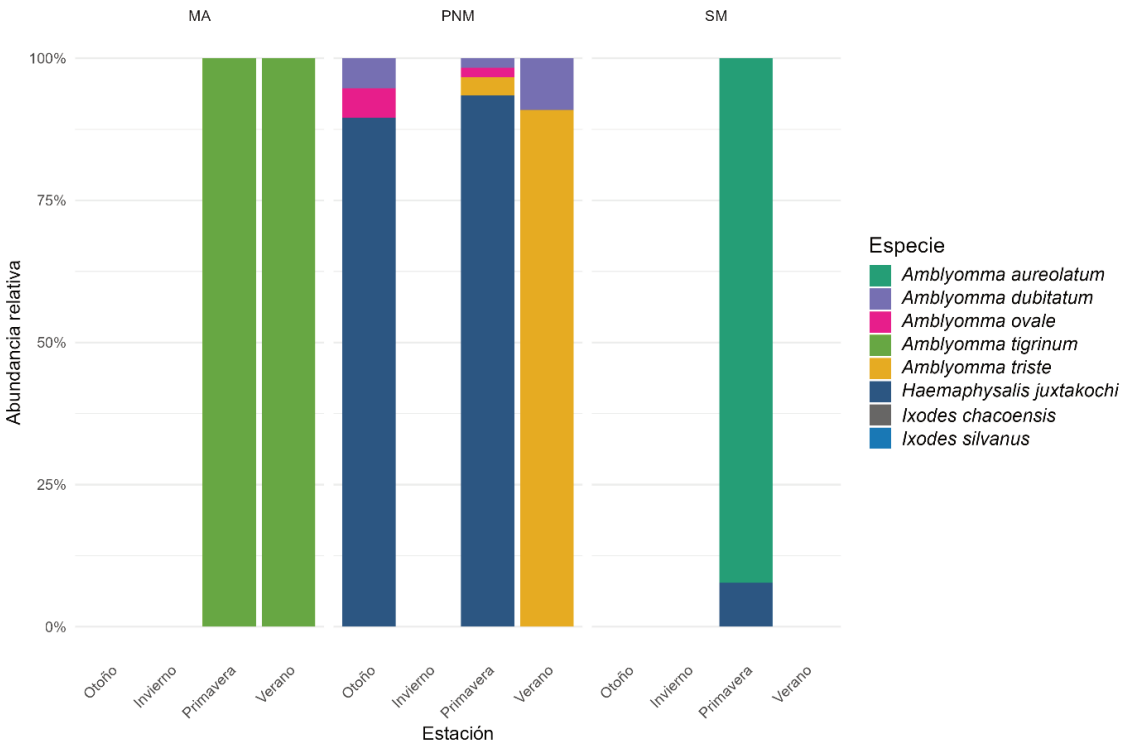


**Figura 12.** Abundancia relativa de garrapatas duras de vida libre adultas colectadas entre 2021-2023. Parque Nacional Mburucuyá (PNM), Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), Parque Provincial General San Martín (SM).

### 5.2.2 Asociación entre garrapatas y aves silvestres

Las aves capturadas en los tres sitios de muestreo (PNM, MA y SM), pertenecieron a siete órdenes, 23 familias, 64 géneros y 79 especies. Los índices de Shannon-Wiener indicaron una mayor diversidad en PNM (H': 1,80), seguido por MA (H': 1,75) y por último SM (H': 1,73), siendo el orden Passeriformes el más representado en términos de diversidad y abundancia en los tres sitios.

En PNM se capturaron 325 aves de cuatro órdenes: Accipitriformes (un individuo), Apodiformes (uno), Columbiformes (nueve) y Passeriformes (314). Dentro del orden Passeriformes que contenía 13 familias, se destacaron las familias Furnariidae (cinco especies), Thraupidae (seis especies) y Tyrannidae (diez especies). Sin embargo, la familia Turdidae fue la más abundante, representando el 36,31% (118/325) de las capturas, principalmente las especies *Turdus amaurochalinus* (69 capturas) y *Turdus rufiventris* (49 capturas).

En MA, se capturaron 295 aves de seis órdenes: Apodiformes (ocho individuos), Columbiformes (17 individuos), Passeriformes (248), Piciformes (nueve), Psittaciformes (11) y Strigiformes (dos). El orden Passeriformes, estuvo representado por 14 familias, destacándose Thraupidae (cinco especies), Turdidae (seis especies) y Tyrannidae (seis especies). Las especies más abundantes fueron nuevamente *T. amaurochalinus* (62 capturas), *T. rufiventris* (61 capturas).

En SM se capturaron 393 aves de cinco órdenes: Apodiformes (un individuo), Columbiformes (un individuo), Passeriformes (380), Piciformes (diez) y Psittaciformes (uno). En Passeriformes se registraron 16 familias y, de estas, se destacaron las familias Thraupidae (nueve especies) y Tyrannidae (seis especies). Al igual que en los otros sitios, la familia Turdidae fue la más abundante, con *T. amaurochalinus* (99 capturas) y *T. rufiventris* (49 capturas).

De estas aves, 310 se encontraron infestadas con garrapatas pertenecientes todas al orden Passeriformes, 12 familias, 29 géneros y 34 especies, la mayor riqueza de especies de garrapatas recolectadas se observó en PNM, con siete especies, seguido de SM con cuatro especies y, por último, MA con dos especies (Tabla 10, Tabla 11 y Tabla 12). La prevalencia general de infestación por garrapatas fue del 30,60%, observándose diferencias significativas entre los sitios ($X^2_{2gl}$= 261,12; $p < 0,001$). En PNM, la proporción de aves infestadas fue considerablemente mayor, con una prevalencia de 61,54% (200/325; IC 95%: 56,14 - 66,66%), seguida por MA con una prevalencia de 29,49% (87/295; IC 95%: 24,58 - 34,93%) y, finalmente, SM donde la prevalencia fue notablemente menor, del 5,85% (23/393; IC 95%: 3,93 - 8,63%) (Fig. 13).

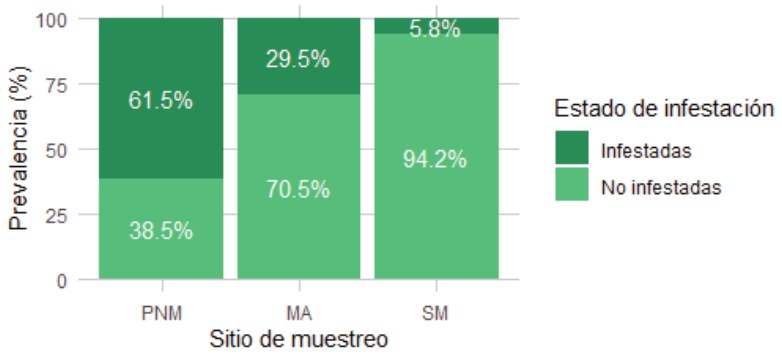


**Figura 13.** Prevalencia de infestación de garrapatas sobre aves silvestres en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023.

**Tabla 10.** Aves silvestres capturadas en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie de garrapata** | **Estadio** | **N** | **AM** | **IM** |
| Accipitriformes | Accipitridae | *Busarellus nigricollis* | 0/1 | | | | | | |
| Apodiformes | Trochilidae | *Hylocharis chrysura* | 0/1 | | | | | | |
| Columbiformes | Columbidae | *Columbina talpacoti* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Leptotila rufaxilla* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Leptotila verreauxi* | 0/5 | | | | | | |
| Passeriformes | Cardinalidae | *Cyanoloxia brissonii* | 3/4 | 25 | *Amblyomma calcaratum/nodosum* | Larva | 1 | 0,25 | 1 |
| | | | | 25 | *Amblyomma dubitatum* | Larva | 1 | 0,25* | 1 |
| | | | | 25 | *Amblyomma triste* | Larva | 3 | 0,75* | 3 |
| | | | | 75 | *Haemaphysalis juxtakochi* | Larva | 7 | 1,75 | 2,33 |
| | | | | | | Ninfa | 1 | 0,25* | 0,33 |
| | Corvidae | *Cyanocorax cyanomelas* | 1/1 | 100 | *Ixodes chacoensis* | Larva | 1 | 1,00* | 1 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Furnariidae | *Furnarius rufus* | 4/6 | 17 | *A. calcaratum/nodosum* | Larva | 1 | 0,17 | 1 |
| | | | | 33 | *A. dubitatum* | Larva | 12 | 2 | 6 |
| | | | | 33 | *A. triste* | Larva | 33 | 5,5 | 16,5 |
| | | | | 50 | *H. juxtakochi* | Larva | 7 | 1,17* | 2,33 |
| | | | | 50 | | Ninfa | 2 | 0,33 | 0,67 |
| | | | | 17 | *I. chacoensis* | Ninfa | 1 | 0,17 | 1 |
| | | *Lepidocolaptes angustirostris* | 4/4 | 25 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 1 | 0,25 | 1 |
| | | | | 25 | *Amblyomma ovale* | Larva | 1 | 0,25* | 1 |
| | | | | 75 | *I. chacoensis* | Larva | 3 | 0,75* | 1 |
| | | | | 75 | | Ninfa | 1 | 0,25 | 0,33 |
| | | *Synallaxis albescens* | 1/1 | 100 | *I. chacoensis* | Larva | 1 | 1,00* | 1 |
| | | | | 100 | | Ninfa | 2 | 2,00* | 2 |
| | | *Synallaxis frontalis* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Syndactyla rufosuperciliata* | 11/15 | 7 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 1 | 0,07 | 1 |
| | | | | 20 | *A. dubitatum* | Larva | 4 | 0,27* | 1,33 |
| | | | | 13 | *A. triste* | Larva | 1 | 0,07* | 0,5 |
| | | | | 13 | | Ninfa | 1 | 0,07* | 0,5 |
| | | | | 53 | *H. juxtakochi* | Larva | 41 | 2,73 | 5,13 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Furnariidae | *Syndactyla rufosuperciliata* | | 60 | *I. chacoensis* | Larva | 76 | 5,07* | 8,44 |
| | | | | 60 | | Ninfa | 13 | 0,87* | 1,44 |
| | Icteridae | *Agelaioides badius* | 1/1 | 100 | *A. triste* | Larva | 13 | 13* | 13 |
| | Parulidae | *Basileuterus culicivorus* | 2/16 | 13 | *I. chacoensis* | Ninfa | 2 | 0,13* | 1 |
| | | *Myiothlypis leucoblephara* | 12/26 | 15 | *A. dubitatum* | Larva | 50 | 1,92 | 12,5 |
| | | | | 4 | *A. ovale* | Ninfa | 1 | 0,04* | 1 |
| | | | | 15 | *A. triste* | Larva | 11 | 0,42* | 2,75 |
| | | | | 15 | | Ninfa | 15 | 0,58* | 3,75 |
| | | | | 31 | *H. juxtakochi* | Larva | 20 | 0,77* | 2,5 |
| | | | | 23 | *I. chacoensis* | Larva | 125 | 4,81 | 20,83 |
| | | | | 23 | | Ninfa | 2 | 0,08* | 0,33 |
| | Passerellidae | *Arremon flavirostris* | 11/17 | 6 | *A. dubitatum* | Larva | 2 | 0,12* | 2 |
| | | | | 12 | *A. ovale* | Larva | 2 | 0,12 | 1 |
| | | | | 12 | | Ninfa | 4 | 0,24 | 2 |
| | | | | 24 | *A. triste* | Larva | 4 | 0,24* | 1 |
| | | | | 24 | | Ninfa | 2 | 0,12* | 0,5 |
| | | | | 35 | *H. juxtakochi* | Larva | 79 | 4,65 | 13,17 |
| | | | | 35 | | Ninfa | 2 | 0,12 | 0,33 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Passerellidae | *Arremon flavirostris* | 11/17 | 12 | *I. chacoensis* | Larva | 12 | 0,71 | 6 |
| | | *Zonotrichia capensis* | 1/1 | 100 | *A. triste* | Larva | 2 | 2 | 2 |
| | Thamnophilidae | *Taraba major* | 3/7 | 29 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 2 | 0,29 | 1 |
| | | | | 29 | *A. dubitatum* | Larva | 53 | 7,57* | 26,5 |
| | | | | 29 | | Ninfa | 1 | 0,14* | 0,5 |
| | | | | 29 | *H. juxtakochi* | Larva | 47 | 6,71* | 23,5 |
| | | | | 29 | | Ninfa | 3 | 0,43* | 1,5 |
| | | | | 43 | *I. chacoensis* | Larva | 3 | 0,43 | 1 |
| | | *Thamnophilus caerulescens* | 3/4 | 25 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 1 | 0,25 | 1 |
| | | | | 25 | *H. juxtakochi* | Ninfa | 3 | 0,75* | 3 |
| | | | | 75 | *I. chacoensis* | Larva | 1 | 0,25* | 0,33 |
| | | | | 75 | | Ninfa | 3 | 0,75 | 1 |
| | Thraupidae | *Coryphospingus cucullatus* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Saltator coerulescens* | 8/12 | 17 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 2 | 0,17 | 1 |
| | | | | 8 | *A. dubitatum* | Larva | 1 | 0,08* | 1 |
| | | | | 8 | | Ninfa | 1 | 0,08* | 1 |
| | | | | 8 | *A. triste* | Larva | 1 | 0,08* | 1 |
| | | | | 50 | *H. juxtakochi* | Larva | 17 | 1,42* | 2,83 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Thraupidae | *Saltator coerulescens* | 8/12 | 50 | | Ninfa | 6 | 0,50* | 1 |
| | | | | 33 | *I. chacoensis* | Larva | 8 | 0,67* | 2 |
| | | | | 33 | | Ninfa | 2 | 0,17* | 0,5 |
| | | *Saltator similis* | 9/13 | 15 | *A. dubitatum* | Larva | 1 | 0,08* | 0,5 |
| | | | | 15 | | Ninfa | 1 | 0,08* | 0,5 |
| | | | | 8 | *A. triste* | Larva | 1 | 0,08* | 1 |
| | | | | 46 | *H. juxtakochi* | Larva | 30 | 2,31* | 5 |
| | | | | 23 | *I. chacoensis* | Larva | 2 | 0,15 | 0,67 |
| | | | | 23 | | Ninfa | 1 | 0,08 | 0,33 |
| | | *Tachyphonus rufus* | 15/16 | 6 | *A. calcaratum/nodosum* | Larva | 1 | 0,06 | 1 |
| | | | | 6 | | Ninfa | 1 | 0,06 | 1 |
| | | | | 25 | *A. dubitatum* | Larva | 9 | 0,56 | 2,25 |
| | | | | 6 | *A. triste* | Larva | 5 | 0,31* | 5 |
| | | | | 75 | *H. juxtakochi* | Larva | 26 | 1,63* | 2,17 |
| | | | | 19 | *I. chacoensis* | Larva | 3 | 0,19* | 1 |
| | | | | 19 | | Ninfa | 3 | 0,19 | 1 |
| | | *Thlypopsis sordida* | 1/1 | 100 | *I. chacoensis* | Larva | 3 | 3,00* | 3 |
| | | *Thraupis sayaca* | 0/6 | | | | | | |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Tityridae | *Pachyramphus viridis* | 0/2 | | | | | | |
| | Troglodytidae | *Troglodytes musculus* | 3/6 | 17 | *A. dubitatum* | Larva | 1 | 0,17* | 1 |
| | | | | 50 | *I. chacoensis* | Larva | 9 | 1,5 | 3 |
| | | | | 50 | | Ninfa | 2 | 0,33 | 0,67 |
| | Turdidae | *Turdus amaurochalinus* | 58/69 | 13 | *A. calcaratum/nodosum* | Larva | 8 | 0,12 | 0,89 |
| | | | | 13 | | Ninfa | 9 | 0,13 | 1 |
| | | | | 61 | *A. dubitatum* | Larva | 195 | 2,83 | 4,64 |
| | | | | 61 | | Ninfa | 7 | 0,1 | 0,17 |
| | | | | 10 | *A. ovale* | Larva | 4 | 0,06 | 0,57 |
| | | | | 10 | | Ninfa | 4 | 0,06 | 0,57 |
| | | | | 23 | *A. triste* | Larva | 39 | 0,57* | 2,44 |
| | | | | 1 | *Amblyomma* sp. | Larva | 1 | 0,01 | 1 |
| | | | | 1 | *Amblyomma* sp. | Ninfa | 1 | 0,01 | 1 |
| | | | | 55 | *H. juxtakochi* | Larva | 473 | 6,86 | 12,45 |
| | | | | 55 | | Ninfa | 83 | 1,2 | 2,18 |
| | | | | 33 | *I. chacoensis* | Larva | 91 | 1,32 | 3,96 |
| | | | | 33 | | Ninfa | 13 | 0,19* | 0,57 |
| | | | | 1 | *Rhipicephalus microplus* | Larva | 1 | 0,01* | 1 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Turdidae | *Turdus rufiventris* | 43/49 | 18 | *A. calcaratum/nodosum* | Larva | 10 | 0,2 | 1,11 |
| | | | | | | | | | |
| | | | | 18 | | Ninfa | 3 | 0,06 | 0,33 |
| | | | | 63 | *A. dubitatum* | Larva | 230 | 4,69 | 7,42 |
| | | | | 63 | | Ninfa | 7 | 0,14 | 0,23 |
| | | | | 2 | *A. ovale* | Ninfa | 1 | 0,02 | 1 |
| | | | | 24 | *A. triste* | Larva | 16 | 0,33 | 1,33 |
| | | | | 24 | | Ninfa | 13 | 0,27* | 1,08 |
| | | | | 2 | *Amblyomma* sp. | Larva | 1 | 0,02 | 1 |
| | | | | 73 | *H. juxtakochi* | Larva | 369 | 7,53 | 10,25 |
| | | | | 73 | | Ninfa | 105 | 2,14 | 2,92 |
| | | | | 47 | *I. chacoensis* | Larva | 125 | 2,55 | 5,43 |
| | | | | 47 | | Ninfa | 14 | 0,29 | 0,61 |
| | Tyrannidae | *Cnemotriccus fuscatus* | 1/1 | 100 | *A. dubitatum* | Larva | 1 | 1,00* | 1 |
| | | *Elaenia albiceps/parvirostris* | 0/2 | | | | | | |
| | | *Elaenia spectabilis* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Hemitriccus margaritaceiventer* | 1/3 | 33 | *I. chacoensis* | Larva | 1 | 0,33* | 1 |
| | | *Knipolegus cyanirostris* | 1/1 | 100 | *A. calcaratum/nodosum* | Ninfa | 1 | 1 | 1 |

*Continuación Tabla 10.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Tyrannidae | *Knipolegus cyanirostris* | 1/1 | 100 | *H. juxtakochi* | Larva | 3 | 3,00* | 3 |
| | | *Lathrotriccus euleri* | 1/4 | 25 | *I. chacoensis* | Ninfa | 1 | 0,25* | 1 |
| | | *Myiarchus tyrannulus* | 0/2 | | | | | | |
| | | *Myiodynastes maculatus* | 1/4 | 25 | *H. juxtakochi* | Larva | 2 | 0,50* | 2 |
| | | | | 25 | *H. juxtakochi* | Ninfa | 3 | 0,75* | 3 |
| | | *Myiophobus fasciatus* | 0/1 | | | | | | |
| | Tyrannidae | *Pitangus sulphuratus* | 0/12 | | | | | | |
| | Vireonidae | *Cyclarhis gujanensis* | 1/2 | 50 | *I. chacoensis* | Larva | 1 | 0,50* | 1 |
| | | *Vireo olivaceus* | 0/2 | | | | | | |

*: nueva asociación garrapata-ave.

**Tabla 11.** Aves silvestres capturadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.

| **Aves** | | | | | **Garrapatas** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie de garrapata** | **Estadio** | **N** | **AM** | **IM** |
| Apodiformes | Trochilidae | *Chlorostilbon lucidus* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Sappho sparganurus* | 0/5 | | | | | | |
| Columbiformes | Columbidae | *Leptotila verreauxi* | 0/8 | | | | | | |
| | | *Patagioenas maculosa* | 0/5 | | | | | | |
| | | *Zenaida auriculata* | 0/4 | | | | | | |
| Passeriformes | Cardinalidae | *Cyanoloxia brissonii* | 0/2 | | | | | | |
| | | *Piranga flava* | 0/1 | | | | | | |
| | Furnariidae | *Furnarius rufus* | 2/6 | 33 | *Amblyomma tigrinum* | Larva | 16 | 2,67 | 8 |
| | | *Pseudoseisura lophote* | 2/4 | 50 | *A. tigrinum* | Larva | 39 | 9,75 | 19,5 |
| | | | | | | Ninfa | 1 | 0,25 | 0,5 |
| | | *Synallaxis albescens* | 0/1 | | | | | | |
| | Icteridae | *Agelaioides badius* | 4/16 | 13 | *A. tigrinum* | Larva | 1 | 0,06 | 0,5 |
| | | | | | | Ninfa | 1 | 0,06 | 0,5 |
| | | | | 13 | *Ixodes silvanus* | Ninfa | 2 | 0,13* | 1 |
| | | *Molothrus bonariensis* | 1/4 | 25 | *I. silvanus* | Ninfa | 1 | 0,25* | 1 |

*Continuación Tabla 11.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Icteridae | *Molothrus rufoaxillaris* | 0/2 | | | | | | |
| | Mimidae | *Mimus saturninus* | 0/1 | | | | | | |
| | Parulidae | *Myioborus brunniceps* | 0/1 | | | | | | |
| | Passerellidae | *Zonotrichia capensis* | 1/4 | 25 | *I. silvanus* | Ninfa | 3 | 0,75 | 3 |
| | Polioptilidae | *Polioptila dumicola* | 0/1 | | | | | | |
| | Thamnophilidae | *Taraba major* | 1/3 | 33 | *I. silvanus* | Ninfa | 1 | 0,33 | 1 |
| | Thraupidae | *Coryphospingus cucullatus* | 1/1 | 100 | *A. tigrinum* | Larva | 2 | 2 | 2 |
| | | *Rauenia bonariensis* | 0/7 | | | | | | |
| | | *Saltator aurantiirostri* | 0/5 | | | | | | |
| | | *Sicalis flaveola* | 2/3 | 67 | *A. tigrinum* | Larva | 5 | 1,67 | 2,5 |
| | | | | | | Ninfa | 1 | 0,33* | 0,5 |
| | | *Sporophila caerulescens* | 0/2 | | | | | | |
| | | *Pachyramphus validus* | 0/1 | | | | | | |
| | Troglodytidae | *Troglodytes musculus* | 6/10 | 20 | *A. tigrinum* | Larva | 9 | 0,9 | 4,5 |
| | | | | | | Ninfa | 3 | 0,3 | 1,5 |
| | | | | 50 | *I. silvanus* | Larva | 10 | 1,00* | 2 |
| | | | | | | Ninfa | 4 | 0,40* | 0,8 |
| | Turdidae | *Catharus ustulatus* | 0/3 | | | | | | |

*Continuación Tabla 11.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Turdidae | *Turdus amaurochalinus* | 28/62 | 27 | *A. tigrinum* | Larva | 127 | 2,05 | 7,47 |
| | | | | 27 | | Ninfa | 6 | 0,10* | 0,35 |
| | | | | 27 | *I. silvanus* | Hembras | 1 | 0,02* | 0,06 |
| | | | | 27 | | Larva | 11 | 0,18* | 0,65 |
| | | | | 27 | | Ninfa | 31 | 0,50* | 1,82 |
| | | *Turdus chiguanco* | 4/11 | 9 | *A. tigrinum* | Larva | 3 | 0,27* | 3 |
| | | | | 27 | *I. silvanus* | Hembras | 1 | 0,09* | 0,33 |
| | | | | | | Larva | 36 | 3,27* | 12 |
| | | | | | | Ninfa | 1 | 0,09* | 0,33 |
| | | *Turdus nigriceps* | 2/9 | 22 | *I. silvanus* | Ninfa | 4 | 0,44 | 2 |
| | | *Turdus rufiventris* | 61 | 25 | *A. tigrinum* | Larva | 69 | 1,13* | 4,6 |
| | | | | 25 | | Ninfa | 3 | 0,05* | 0,2 |
| | | | | 36 | *I. silvanus* | Larva | 33 | 0,54 | 1,5 |
| | | | | 36 | *I. silvanus* | Ninfa | 49 | 0,8 | 2,23 |
| | Tyrannidae | *Elaenia albiceps* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Elaenia albiceps/parvirostris* | 0/8 | | | | | | |
| | | *Elaenia parvirostris* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Euscarthmus meloryphus* | 0/1 | | | | | | |

*Continuación Tabla 11.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Tyrannidae | *Myiarchus swainsoni* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Myiophobus fasciatus* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Pitangus sulphuratus* | 1/6 | 17 | *A. tigrinum* | Larva | 1 | 0,17* | 1 |
| | Vireonidae | *Cyclarhis gujanensis* | 1/4 | 25 | *I. silvanus* | Larva | 15 | 3,75* | 15 |
| Piciformes | Picidae | *Colaptes melanochloros* | 0/7 | | | | | | |
| | | *Picumnus cirratus* | 0/2 | | | | | | |
| Psittaciformes | Psittacidae | *Myiopsitta monachus* | 0/11 | | | | | | |
| Strigiformes | Strigidae | *Glaucidium brasilianum* | 0/2 | | | | | | |

*: nueva asociación garrapata-ave.

**Tabla 12.** Aves silvestres capturadas en y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. I/C: Número total de aves infestadas/Número de aves capturadas; P: prevalencia de infestación (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie de garrapata** | **Estadio** | **N** | **AM** | **IM** |
| Apodiformes | Trochilidae | *Hylocharis chrysura* | 0/1 | | | | | | |
| Columbiformes | Columbidae | *Columbina picui* | 0/1 | | | | | | |
| Passeriformes | Cardinalidae | *Cyanoloxia brissonii* | 0/3 | | | | | | |
| | Corvidae | *Cyanocorax chrysops* | 0/3 | | | | | | |
| | Cotingidae | *Phytotoma rutila* | 0/1 | | | | | | |
| | Furnariidae | *Furnarius rufus* | 0/6 | | | | | | |
| | | *Lepidocolaptes angustirostris* | 0/22 | | | | | | |
| | | *Synallaxis frontalis* | 0/2 | | | | | | |
| | Icteridae | *Agelaoiodes badius* | 2/12 | 8,3 | *A. dubitatum* | Larva | 1 | 8,33* | 3 |
| | | | | 8,3 | *A. triste/tigrinum* | Larva | 1 | 13 | 13 |
| | Parulidae | *Myiothlypis leucoblephara* | 0/18 | | | | | | |
| | | *Setophaga pitiayumi* | 0/3 | | | | | | |
| | Passerellidae | *Zonotrichia capensis* | 1/52 | 2 | *A. aureolatum* | Ninfa | 1 | 0,02 | 1 |
| | Passeridae | *Passer domesticus* | 0/1 | | | | | | |
| | Polioptilidae | *Polioptila dumicola* | 0/3 | | | | | | |

*Continuación Tabla 12.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Thamnophilidae | *Taraba major* | 2/3 | 33 | *A. aureolatum* | Larva | 19 | 6,33* | 19 |
| | | | | 33 | *A. dubitatum* | Larva | 3 | 1 | 3 |
| | Thraupidae | *Coryphospingus cucullatus* | 1/10 | 10 | *A. aureolatum* | Larva | 1 | 0,10* | 1 |
| | | *Microspingus melanoleucus* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Paroaria coronata* | 0/2 | | | | | | |
| | | *Rauenia bonariensis* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Saltator aurantiirostri* | 0/18 | | | | | | |
| | | *Saltator coerulescens* | 1/17 | 6 | *A. aureolatum* | Larva | 4 | 0,24* | 4 |
| | | *Saltator similis* | 0/9 | | | | | | |
| | | *Sicalis flaveola* | 0/8 | | | | | | |
| | | *Thraupis sayaca* | 0/3 | | | | | | |
| | Tityridae | *Pachyramphus polychopterus* | 0/1 | | | | | | |
| | Troglodytidae | *Troglodytes musculus* | 2/8 | 25 | *A. aureolatum* | Larva | 6 | 0,75 | 3 |
| | | | | 25 | | Ninfa | 1 | 0,13 | 0,5 |
| | Turdidae | *Turdus amaurochalinus* | 5/99 | 2 | *A. aureolatum* | Ninfa | 2 | 0,02 | 1 |
| | | | | 1 | *A. triste* | Ninfa | 9 | 0,09 | 9 |
| | | | | 2 | *H. juxtakochi* | Larva | 1 | 0,01 | 0,5 |
| | | | | | | Ninfa | 2 | 0,02 | 1 |

*Continuación Tabla 12.*

| **Aves** | | | | **Garrapatas** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Passeriformes | Turdidae | *Turdus rufiventris* | 9/49 | 2 | *A. aureolatum* | Ninfa | 1 | 0,02 | 1 |
| | | | | 12 | *A. dubitatum* | Larva | 15 | 0,31 | 2,5 |
| | | | | 8 | *H. juxtakochi* | Larva | 10 | 0,2 | 2,5 |
| | Tyrannidae | *Elaenia parvirostris* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Hemitriccus margaritaceiventer* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Lathrotriccus euleri* | 0/13 | | | | | | |
| | | *Phyllocartes ventralis* | 0/1 | | | | | | |
| | | *Pitangus sulphuratus* | 0/3 | | | | | | |
| | | *Serpophaga subcristata* | 0/2 | | | | | | |
| | Vireonidae | *Cyclarhis gujanensis* | 0/2 | | | | | | |

*: nueva asociación garrapata-ave.

#### 5.2.2.1. Análisis espacial de la asociación garrapata-aves

En PNM, las 200 aves que se encontraron infestadas por garrapatas, correspondieron a 12 familias, 24 géneros y 26 especies (Tabla 10). La familia Turdidae fue la más parasitada, tanto por larvas como por ninfas, con el 68,77% (1823/2651) de las garrapatas colectadas y el 85,59% (101/118) del total de las aves infestadas, siendo *T. amaurochalinus* y *T. rufiventris* las únicas especies de esta familia capturadas. Estas dos especies también presentaron la mayor diversidad de especies de garrapatas (Tabla 10; Fig. 14). Las garrapatas recolectadas sobre las aves pertenecieron a las especies *A. calcaratum/nodosum* (prevalencia total: 8,92%; 29/325), *A. dubitatum* (prevalencia total: 29,23%; 95/325), *A. ovale* (prevalencia total: 3,69%; 12/325), *A. triste* (prevalencia total: 14,15%; 46/325). *H. juxtakochi* (prevalencia total: 40,61%; 132/325), *I. chacoensis* (prevalencia total: 28,31%; 92/325) y *R. microplus* (prevalencia total: 0,31%; 1/325). Respecto a las larvas, *A. dubitatum, H. juxtakochi* e *I. chacoensis* fueron las más abundantes, registradas en un amplio espectro de hospedadores. Para las ninfas, tanto *H. juxtakochi* como *I. chacoensis* fueron las especies más representadas (Fig. 15).

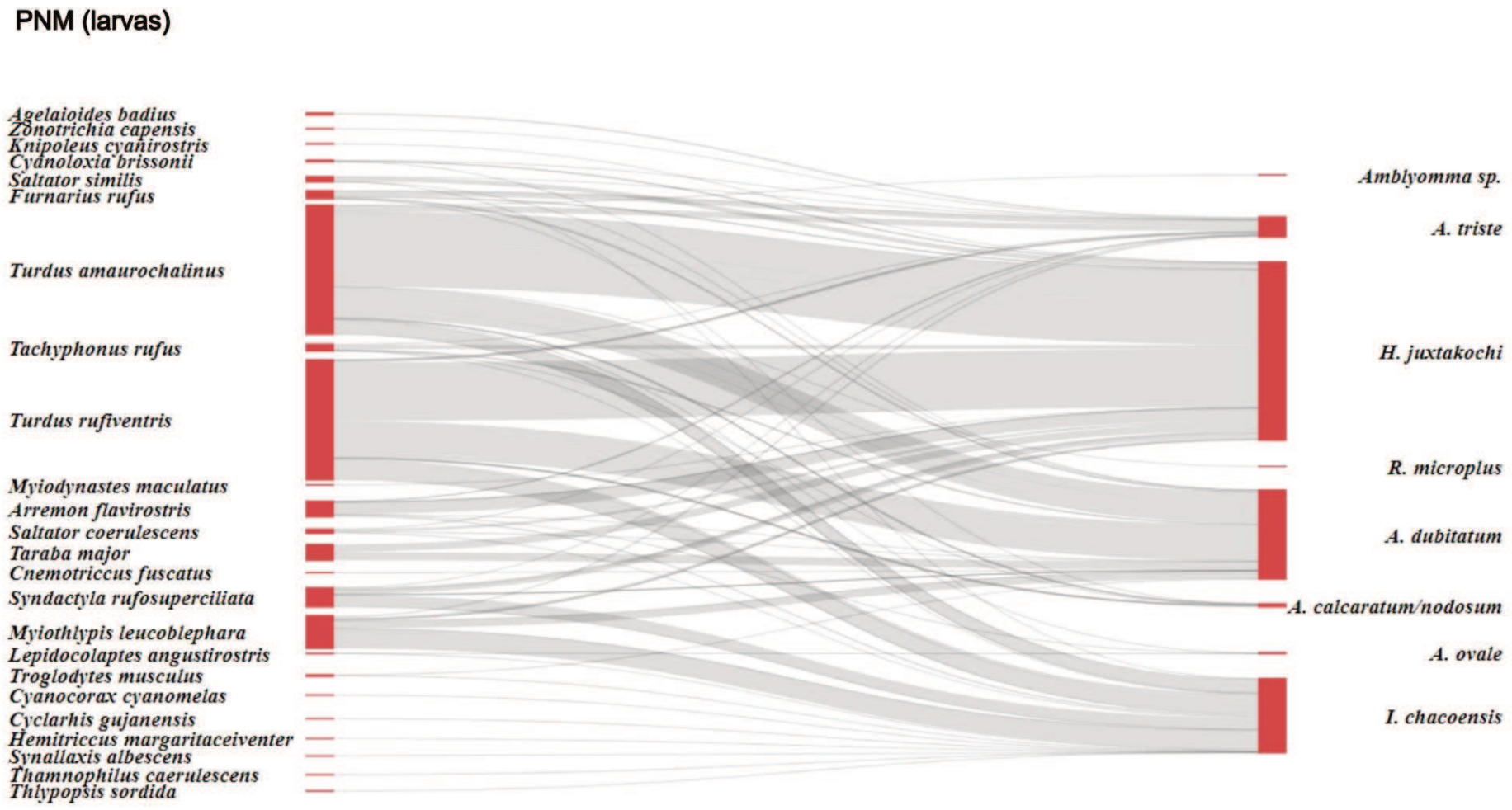


**Figura 14.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y larvas garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

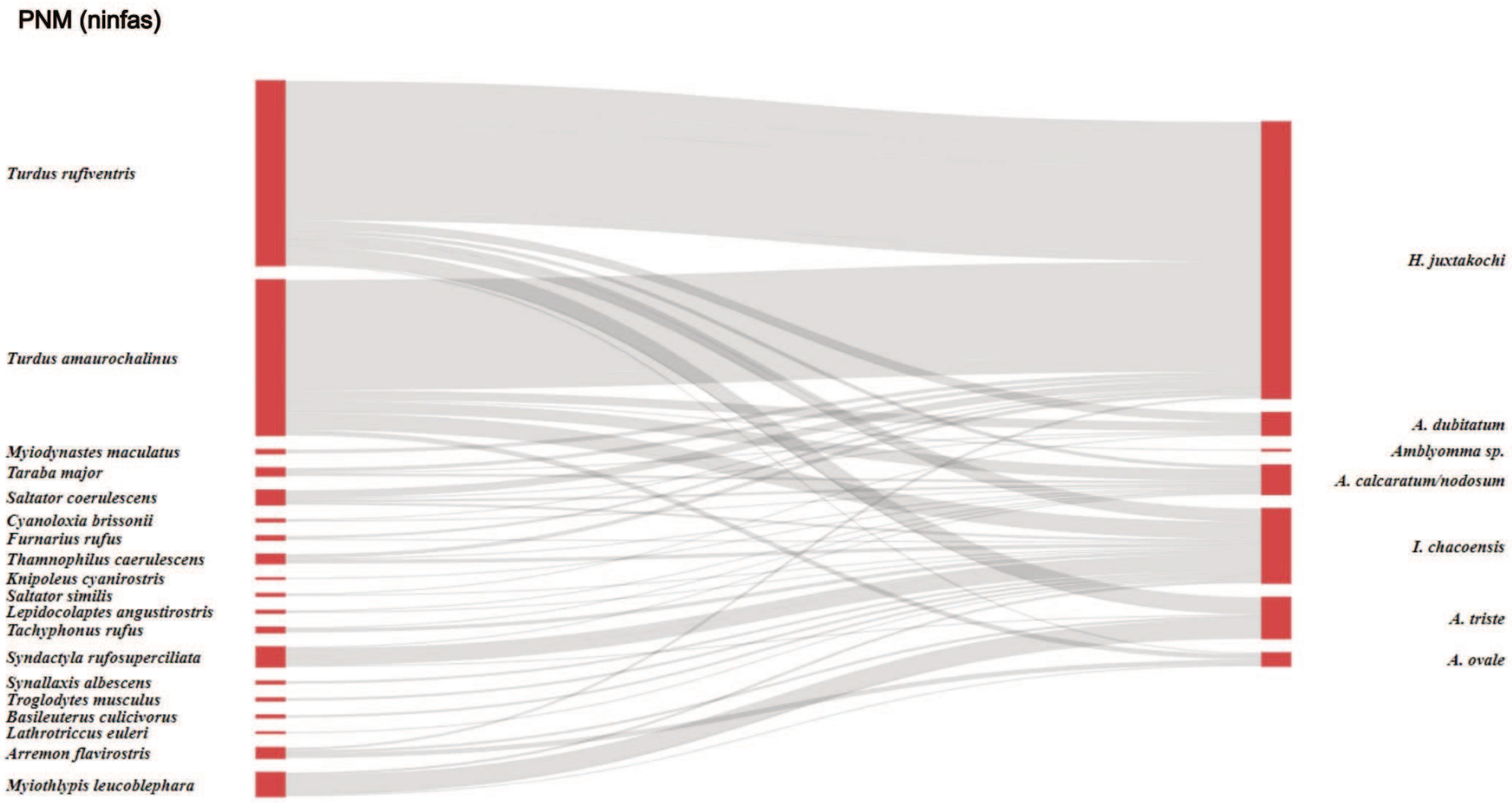


**Figura 15.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y ninfas de garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

En MA, los 87 individuos registrados infestados por garrapatas, correspondieron al orden Passeriformes, nueve familias, 12 géneros y 15 especies. Nuevamente, la familia Turdidae fue la más parasitada, con 375 de las 490 (76,53%) garrapatas colectadas y con 65 individuos de los 87 parasitados, siendo *T. amaurochalinus* y *T. rufiventris* las especies más capturadas y parasitadas (Tabla 11 y Fig. 16). Las garrapatas recolectadas sobre las aves pertenecieron a las especies *A. tigrinum* (prevalencia total: 15,93%; 47/295) e *I. silvanus* (prevalencia total: 18,64%; 55/295). Las larvas de *A. tigrinum* fueron más abundantes y se hallaron en un mayor número de especies hospedadoras que *I. silvanus*. Sin embargo, para las ninfas sucedió lo contrario, las ninfas de *I. silvanus* fueron las más abundantes y se encontraron asociada a más hospedadores que *A. tigrinum* (Fig. 16).

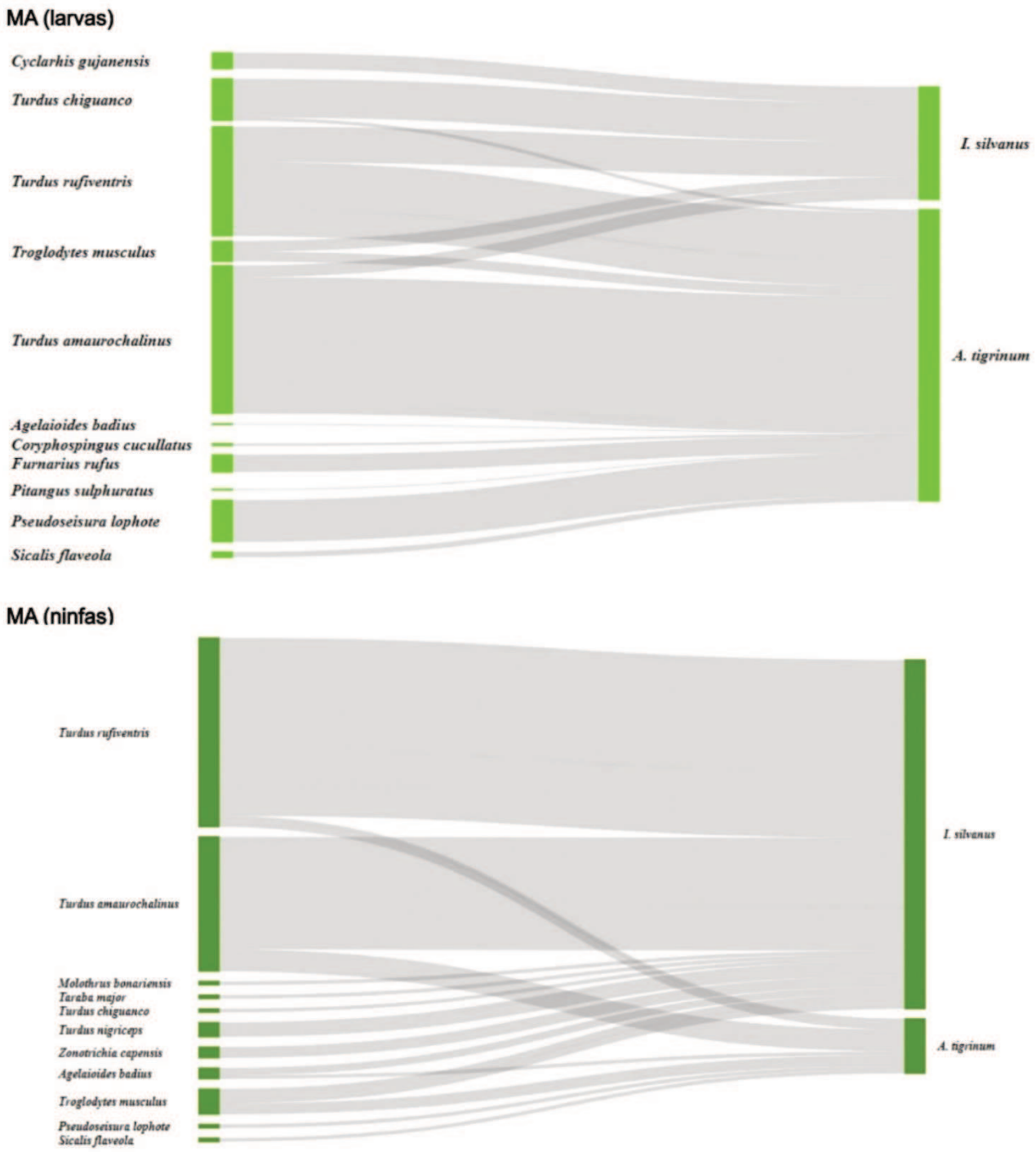


**Figura 16.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y garrapatas colectadas durante las capturas de aves en la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

En SM, las 23 aves que se encontraron infestadas con garrapatas, correspondieron a seis familias, siete géneros y ocho especies. Las garrapatas recolectadas sobre las aves pertenecieron a las especies *A. aureolatum* (prevalencia total: 2,29%; 9/393)*, A. dubitatum* (prevalencia total: 2,03%; 8/393)*, A. triste* (prevalencia total: 0,25%; 1/393) y *H. juxtakochi* (prevalencia total: 1,53%; 6/393). En el caso de las larvas, los hospedadores más frecuentes fueron *T. rufiventris* y *Taraba major* (familia Thamnophilidae) (Tabla 12 y Fig. 17). Para las ninfas, al igual que en los otros sitios, la familia Turdidae fue la más parasitada (14 individuos), siendo *T. amaurochalinus* la especie destacada (Fig. 17). Las larvas de *A. aureolatum* y *A. dubitatum* fueron las más abundantes y se asociaron con una mayor diversidad de hospedadores. En contraste, entre las ninfas, *A. triste* fue las más abundantes, asociada exclusivamente a *T. amaurochalinus* (Fig. 17).

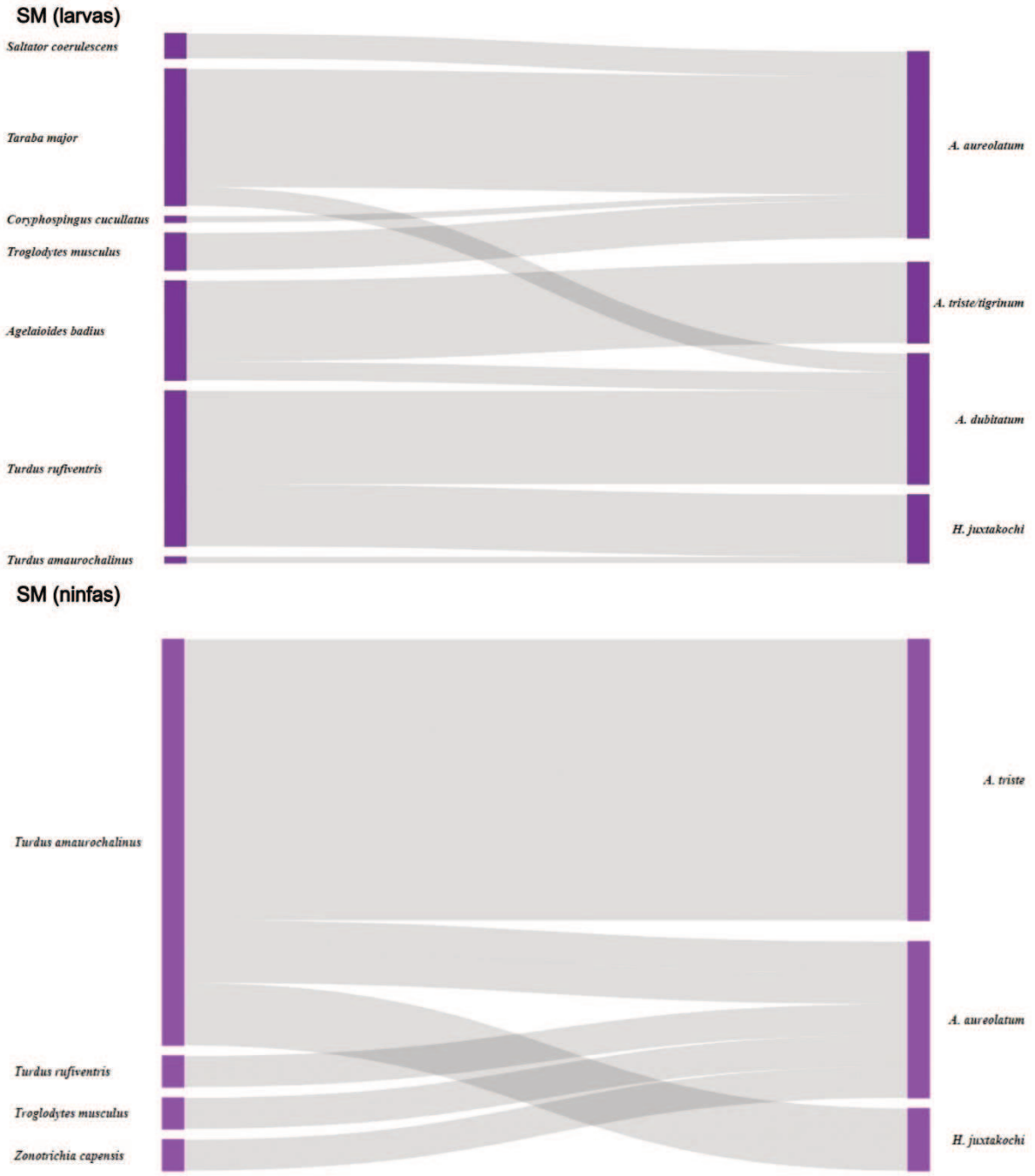


**Figura 17.** Diagrama de Sankey que vincula hospedadores y garrapatas colectadas durante las capturas de aves en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

#### 5.2.2.2. Análisis estacional de la asociación garrapata-aves

En PNM, los análisis de Sankey evidenciaron que en primavera y verano se registró la mayor diversidad de larvas, mientras que el otoño fue la estación donde se registraron menos larvas. Las larvas de *H. juxtakochi* fueron predominantes durante otoño, invierno y verano, asociadas a una amplia diversidad de especies hospedadoras. La mayor abundancia de larvas *I. chacoensis* se observó en primavera, con casi la misma cantidad de larvas de *A. dubitatum*, ambas asociadas a una amplia diversidad de hospedadores (Fig. 18; 19; 22). Las ninfas de *H. juxtakochi* dominaron en todas las estaciones, compartiendo en verano con las ninfas de *I. chacoensis* que alcanzaron abundancias comparables (Fig. 20). Las ninfas de *H. juxtakochi* en todas las estaciones mostraron una fuerte asociación con la familia Turdidae e *I. chacoensis* se encontró asociada a mayor diversidad de hospedadores, siendo en verano mayormente asociada a *Syndactyla rufosuperciliata* (Fig. 20; 21). En primavera se registró un *T. amaurochalinus* con seis de las siete especies presentes en aves (tres larvas de *A. calcaratum/nodosum,* cinco larvas de *A. dubitatum,* una ninfa de *A. ovale,* una larva de *A. triste,* una larva y cuatro ninfas *H. juxtakochi* y siete larvas y dos ninfas de *I. chacoensis*), en verano, otro ejemplar de esta especie presentó 114 garrapatas de cuatro especies diferentes (una larva y una ninfa de *A. dubitatum,* una ninfa de *A. ovale,* 108 larvas y dos ninfas de *H. juxtakochi* y una ninfa de *I. chacoensis*). No obstante, el caso de mayor infestación individual fue un *Myiothlypis leucoblephara* (Familia: Parulidae) que registró 152 garrapatas (35 larvas de *A. dubitatum,* nueve larvas y tres ninfas de *A. triste,* tres larvas de *H. juxtakochi* y 101 larvas y una ninfa de *I. chacoensis*).

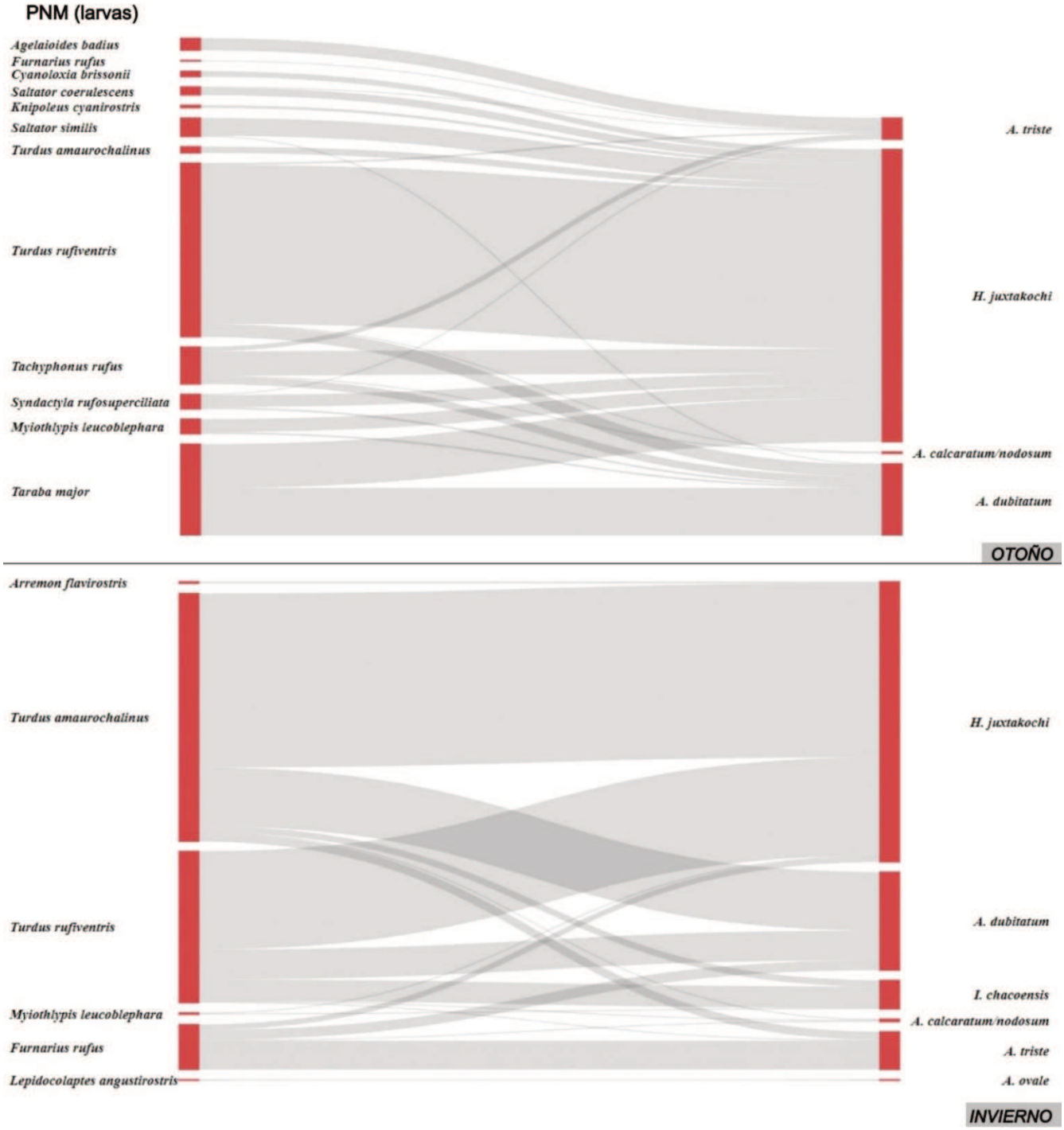


**Figura 18.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en otoño-invierno en Parque Nacional Murucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

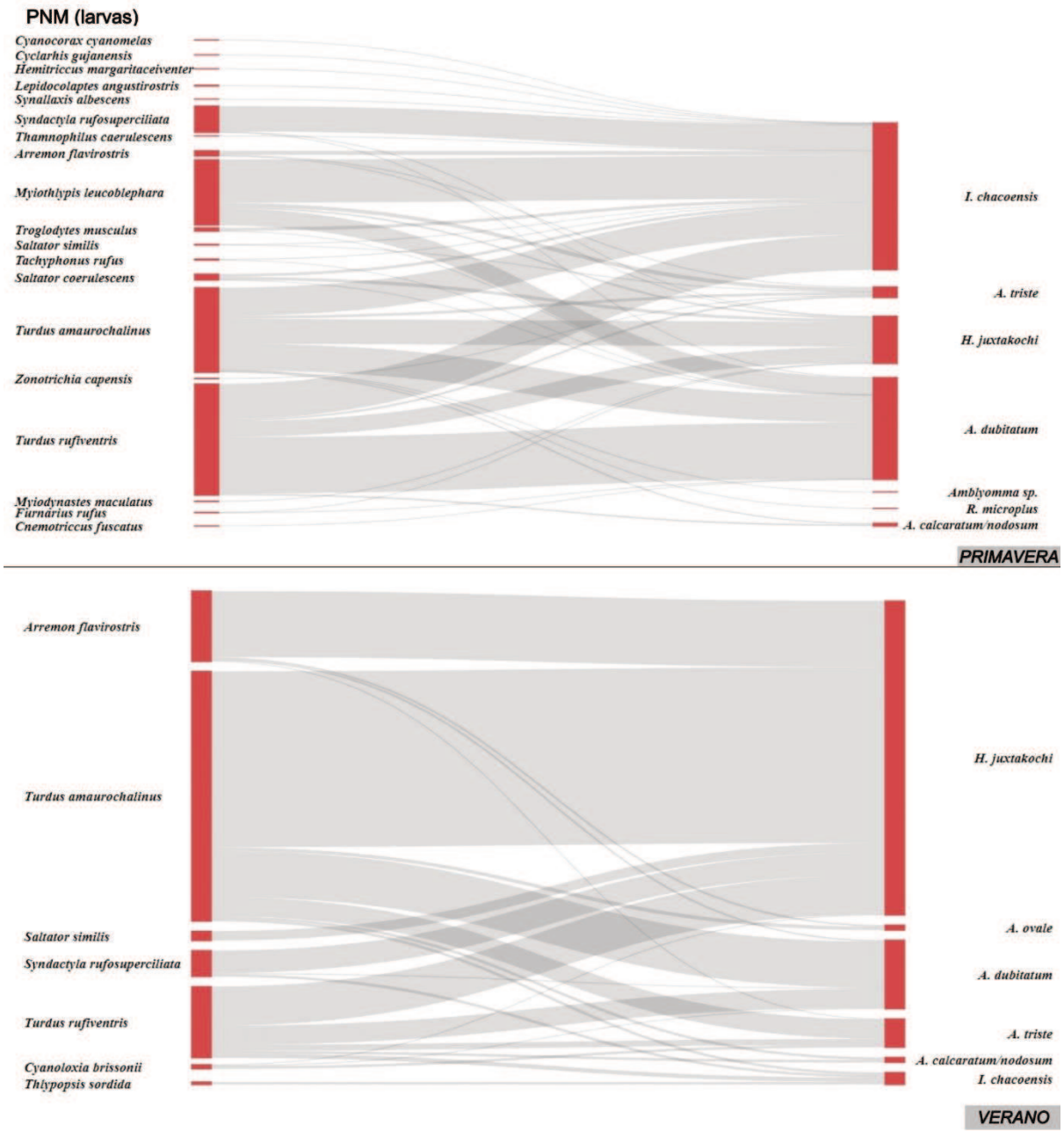


**Figura 19.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en primavera-verano en Parque Nacional Murucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

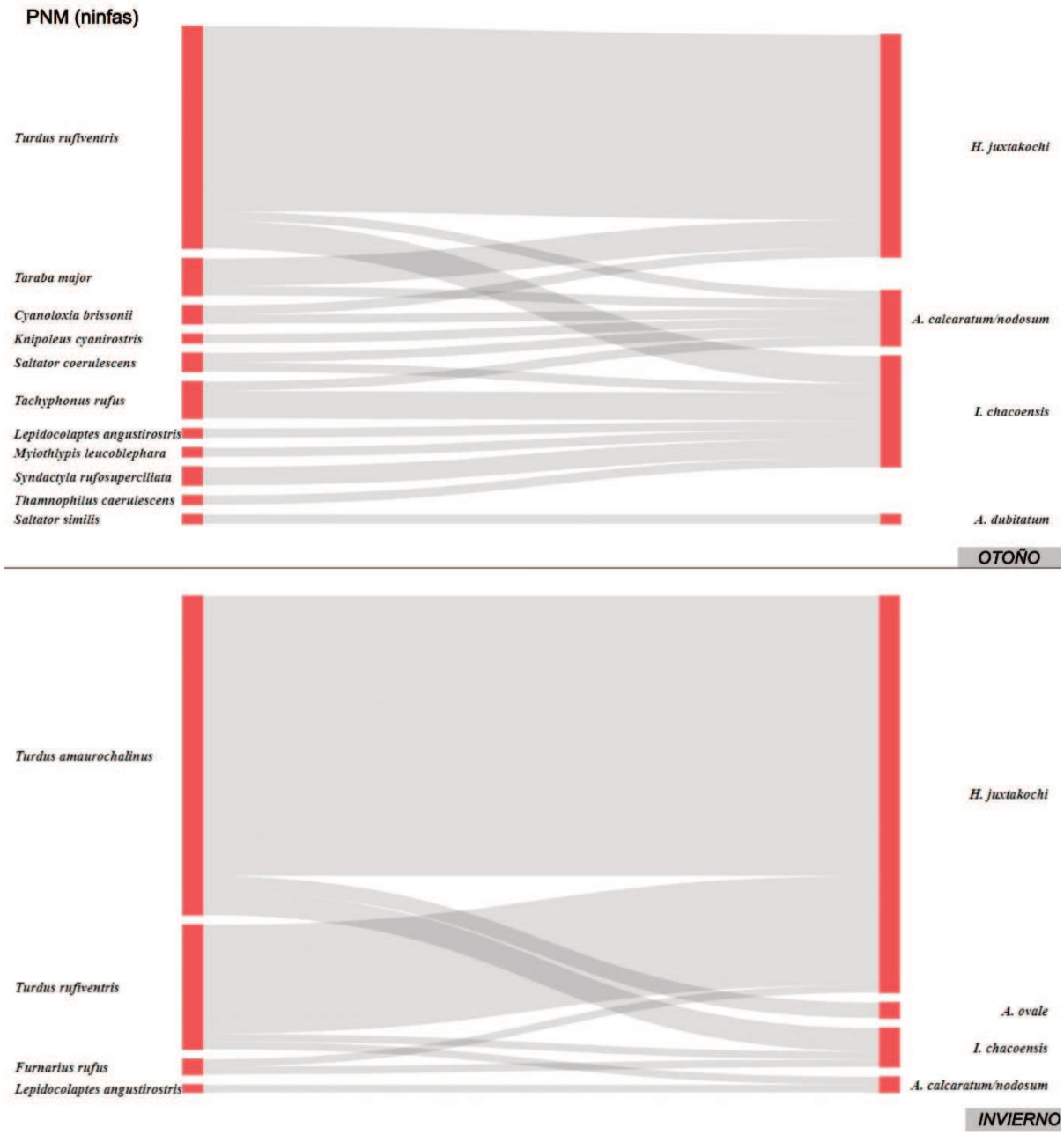


**Figura 20.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en otoño-nvierno en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

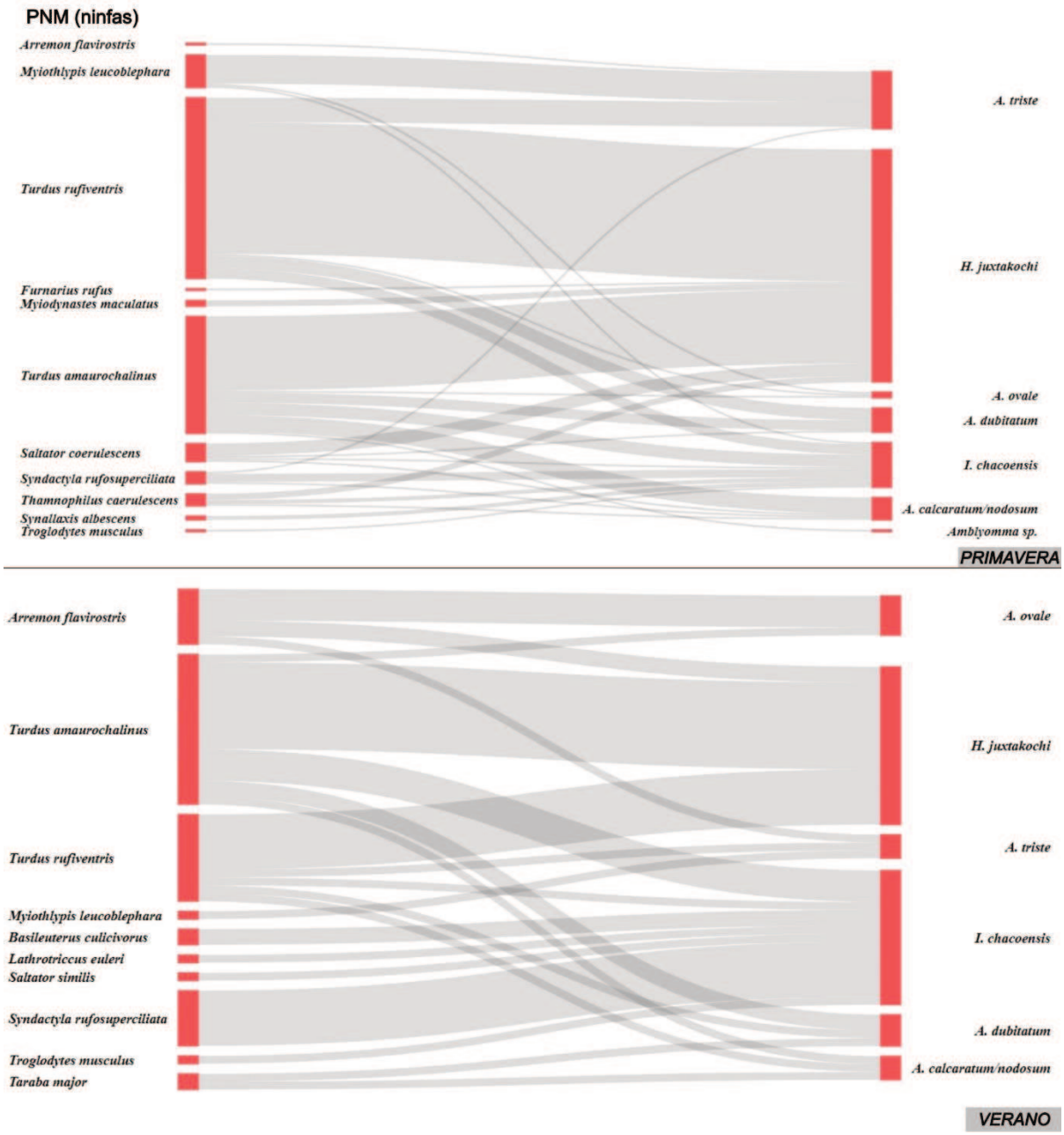


**Figura 21.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en primavera-verano en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

En MA, las larvas de *I. silvanus* se encontraron en otoño e invierno, asociadas principalmente a especies del género *Turdus,* aunque en invierno se observó en una mayor diversidad de hospedadores. En primavera dominó la presencia de larvas de *A. tigrinum* asociado a una amplia diversidad de hospedadores, mientras que en verano se registraron larvas de *A. tigrinum* asociadas únicamente a hospedadores del género *Turdus* (Fig. 22 y Fig. 23; 24). Las ninfas de *I. silvanus* estuvieron presentes durante todas las estaciones, siendo la única especie recolectada en otoño. Por otro lado, las ninfas de *A. tigrinum,* se encontraron en todas las estaciones excepto en el otoño, con una marcada predominancia en invierno (Fig. 25; 26). En otoño e invierno todas las ninfas recolectadas estuvieron fuertemente asociadas a aves del género *Turdus,* mientras que en primavera se observó la mayor diversidad de hospedadores (Fig. 25; 26). En invierno, se observó un caso en un individuo de *T. amaurochalinus* que presentó los tres estadios de *I. silvanus*: diez larvas, una ninfa y una hembra. No obstante, la mayor carga parasitaria se registró en un *Turdus chiguanco,* del cual se extrajeron 35 garrapatas de *I. silvanus* (34 larvas y una hembra).

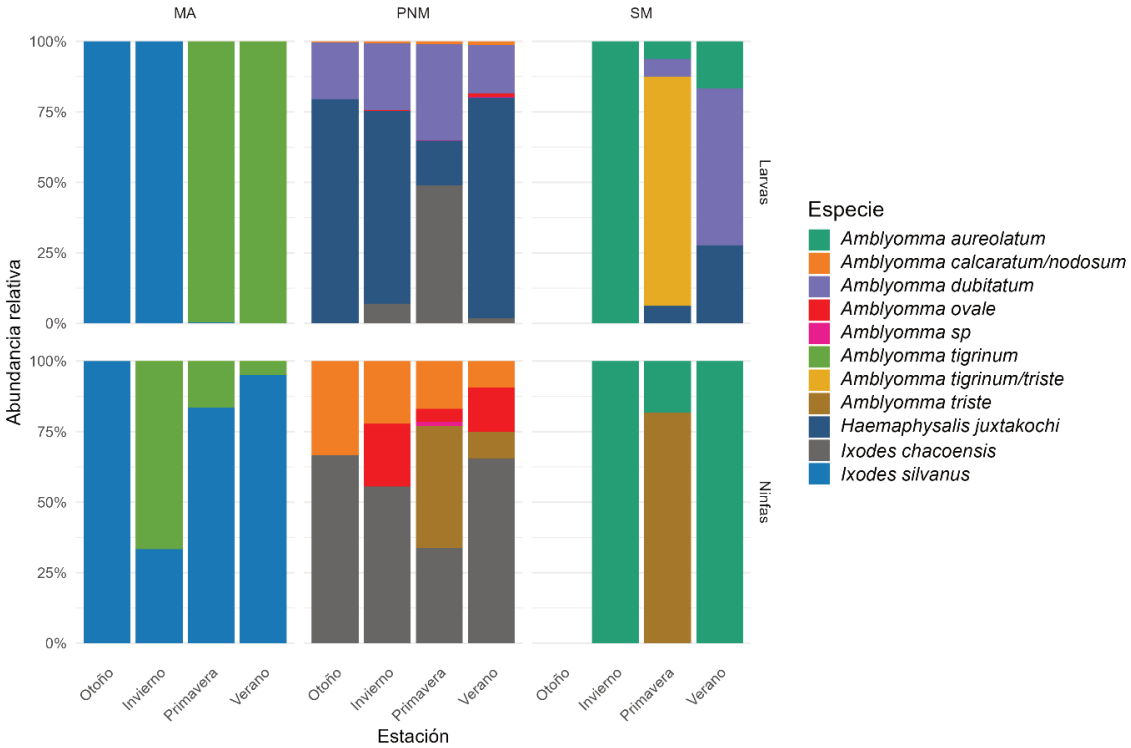


**Figura 22.** Abundancia relativa de garrapatas duras colectadas sobre aves silvestres separada por estadio, por especie, por estación y por sitio en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023.

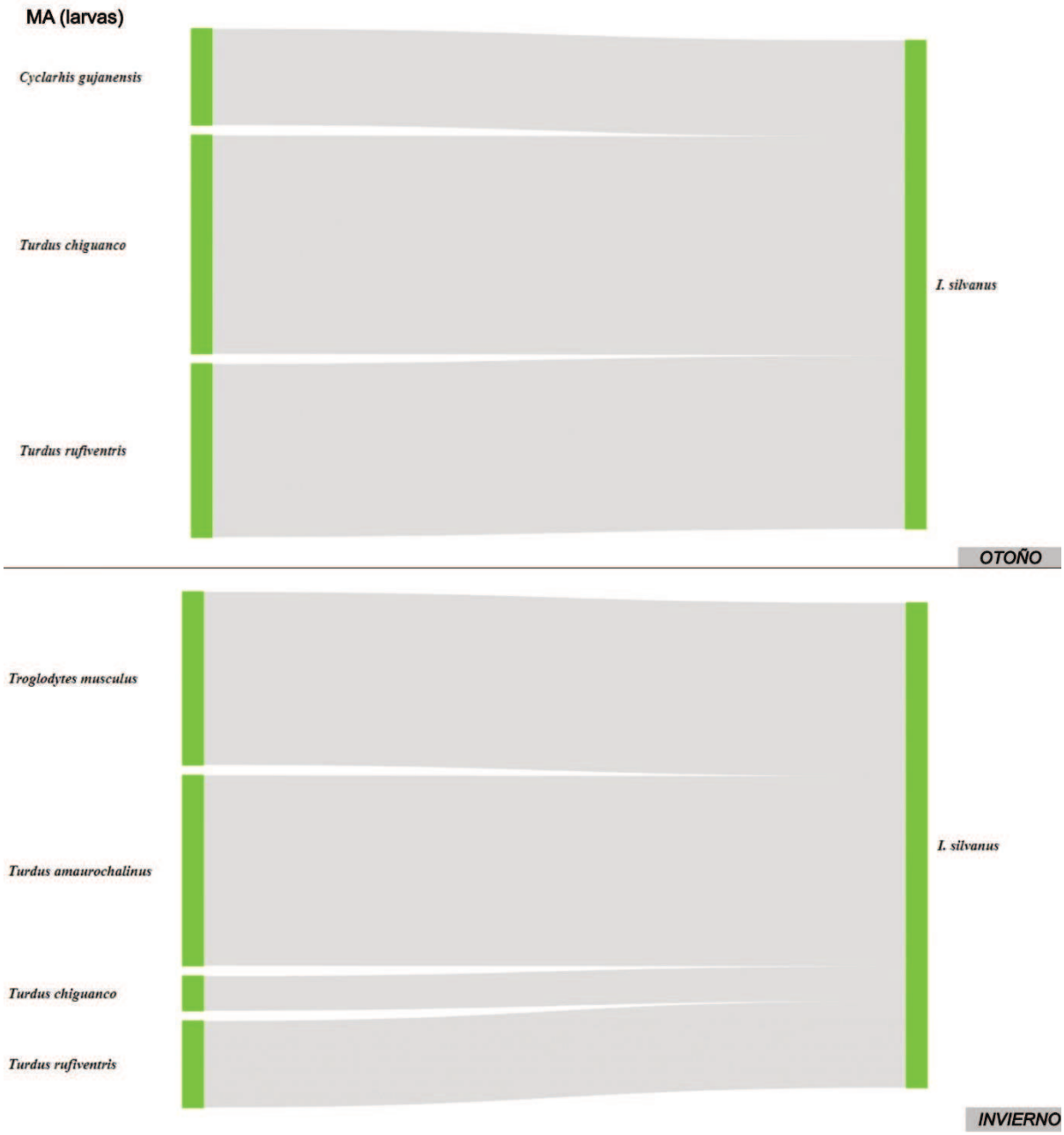


**Figura 23.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en otoño-invierno en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

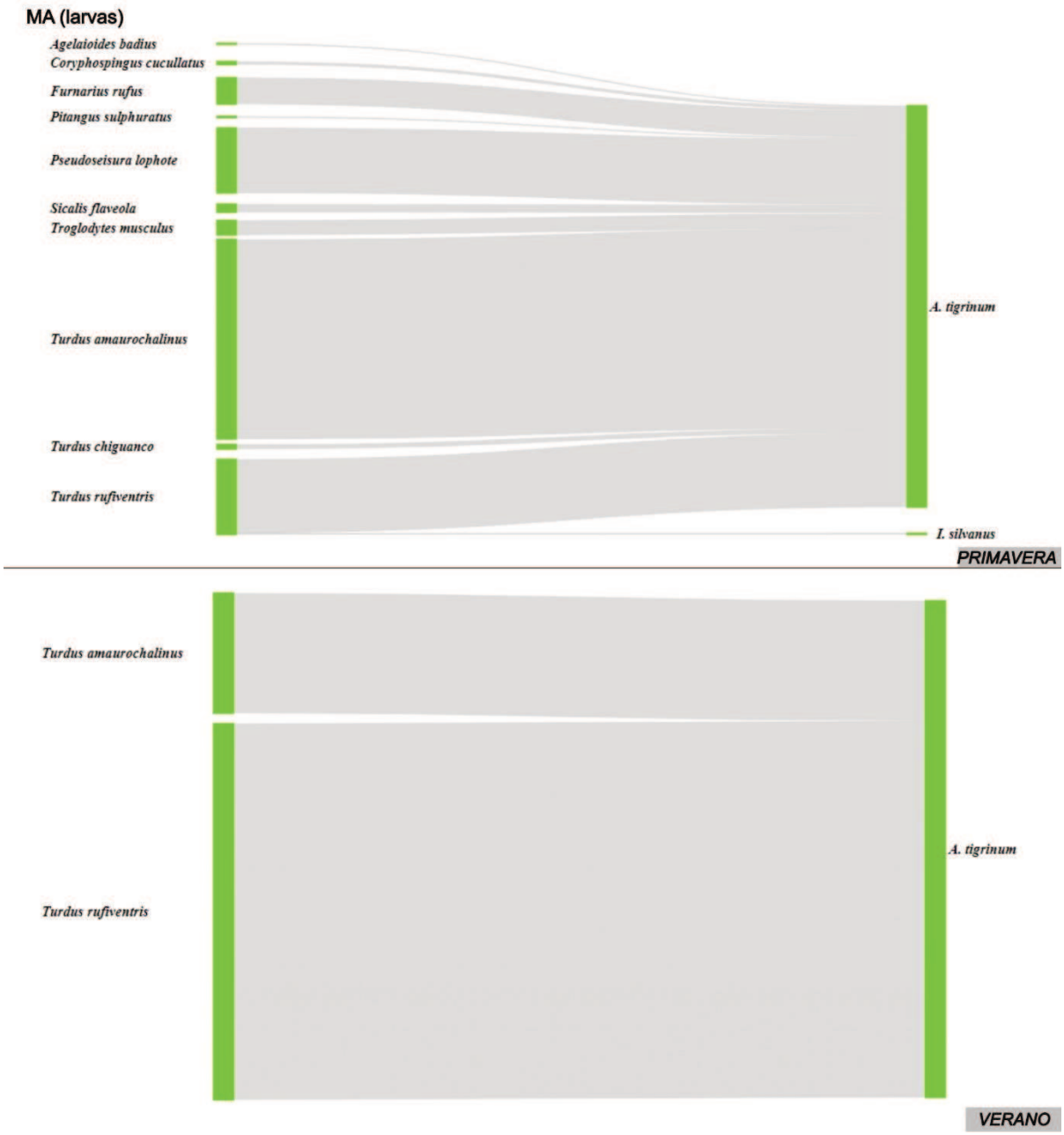


**Figura 24.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en primavera-verano en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

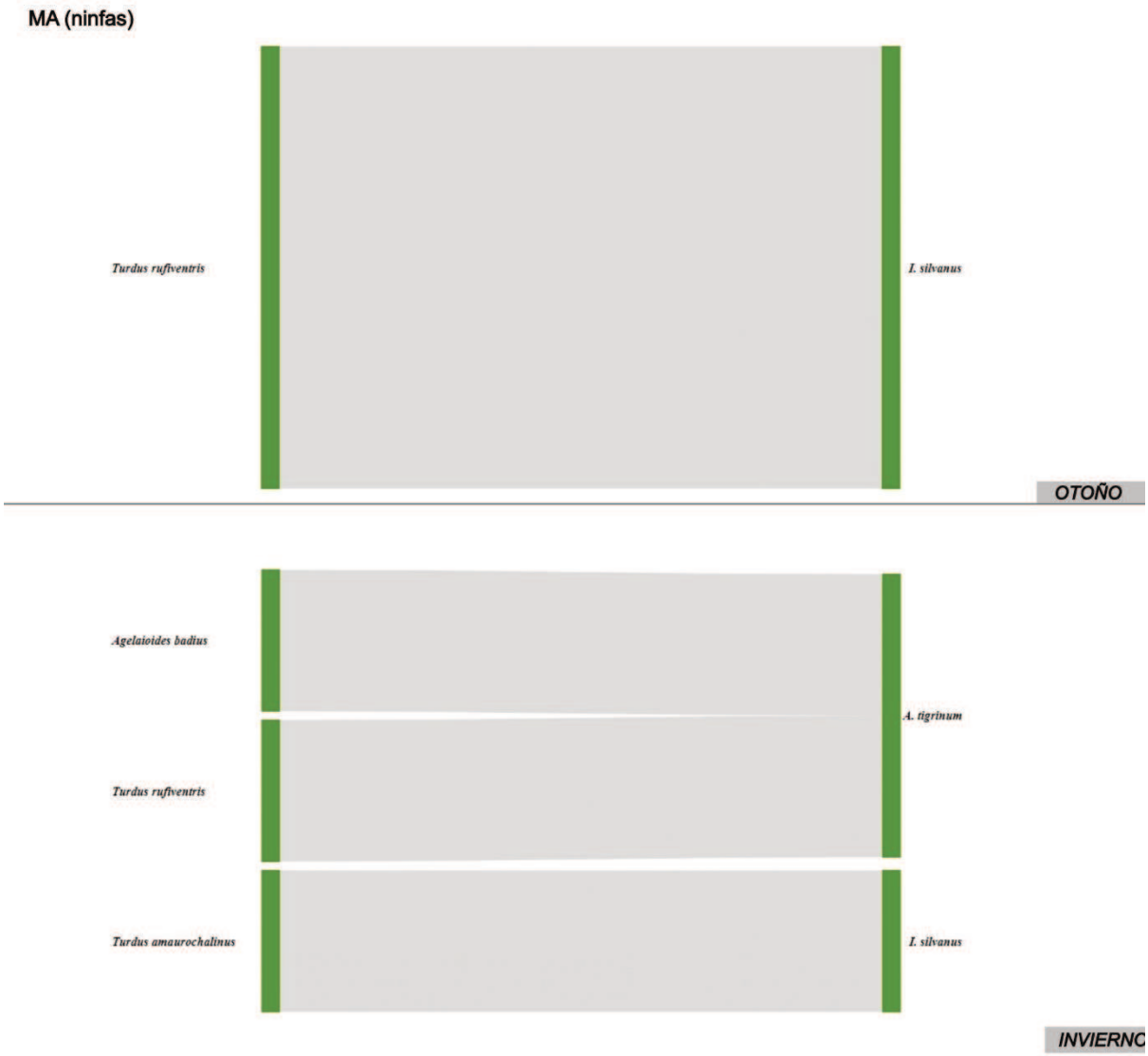


**Figura 25.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en otoño-invierno en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

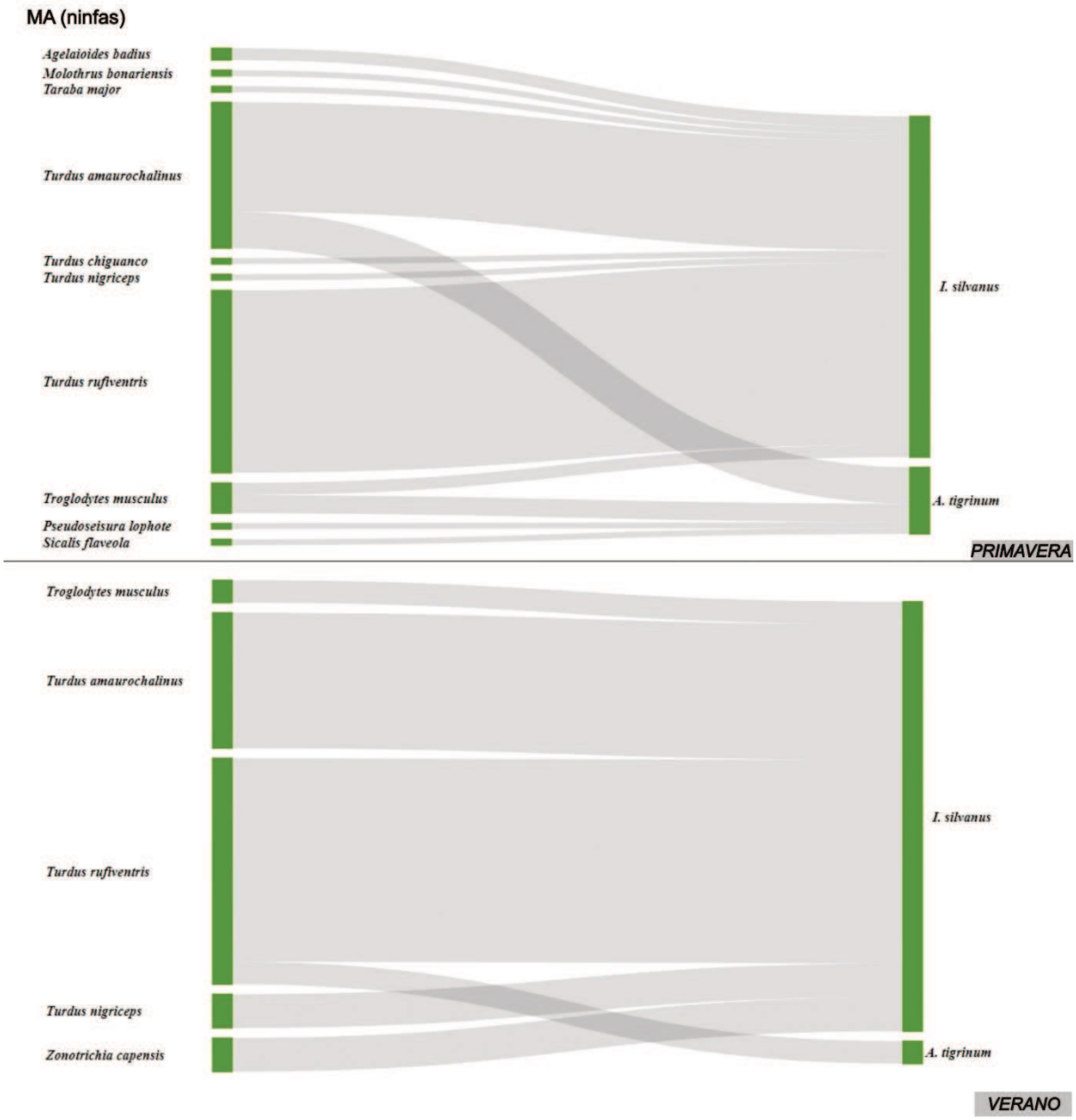


**Figura 26.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en primavera-verano en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

En SM, las larvas de *A. aureolatum* estuvieron presentes en invierno, primavera y verano, siendo las únicas registradas en invierno en dos hospedadores aviares. En primavera se registraron las cuatro especies presentes en este sitio, siendo las larvas de *A. tigrinum/triste* las de mayor abundancia, todas recolectadas sobre un único hospedador: *Agelaioides badius.* Las larvas de *A. dubitatum* fueron las de mayor abundancia en verano, asociadas mayormente a *T. rufiventris,* seguidas por *H. juxtakochi* y finalmente por *A. aureolatum* (Fig. 22 y Fig. 27). Al contrario de los otros dos sitios de muestreo, aquí las familias Thraupidae (*Saltator coerulescens*) y Thamnophilidae (*Taraba major*) fueron las más infestadas por larvas (Fig. 27). En invierno las ninfas se comportaron igual que las larvas en invierno, registrando exclusivamente a *A. aureolatum,* pero en un hospedador distinto que al de larvas (Fig. 28). En primavera, dominó también *A. triste* y no hubo registro de ninfas de *A. dubitatum.* En invierno y primavera sólo especies del género *Turdus* fueron las infestadas En verano únicamente se registraron ninfas de *A. aureolatum* sobre dos especies hospedadoras. Por último, tanto las larvas como las ninfas de *H. juxtakochi,* colectadas solamente en primavera y verano, se encontraron únicamente asociadas a aves del género *Turdus* (Fig. 28). La mayor carga parasitaria se registró en invierno en un ejemplar de *Taraba major*, con 19 larvas de *A. aureolatum.*

**Figura 27.** Diagrama de Sankey que vincula aves y larvas colectadas en diferentes estaciones en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

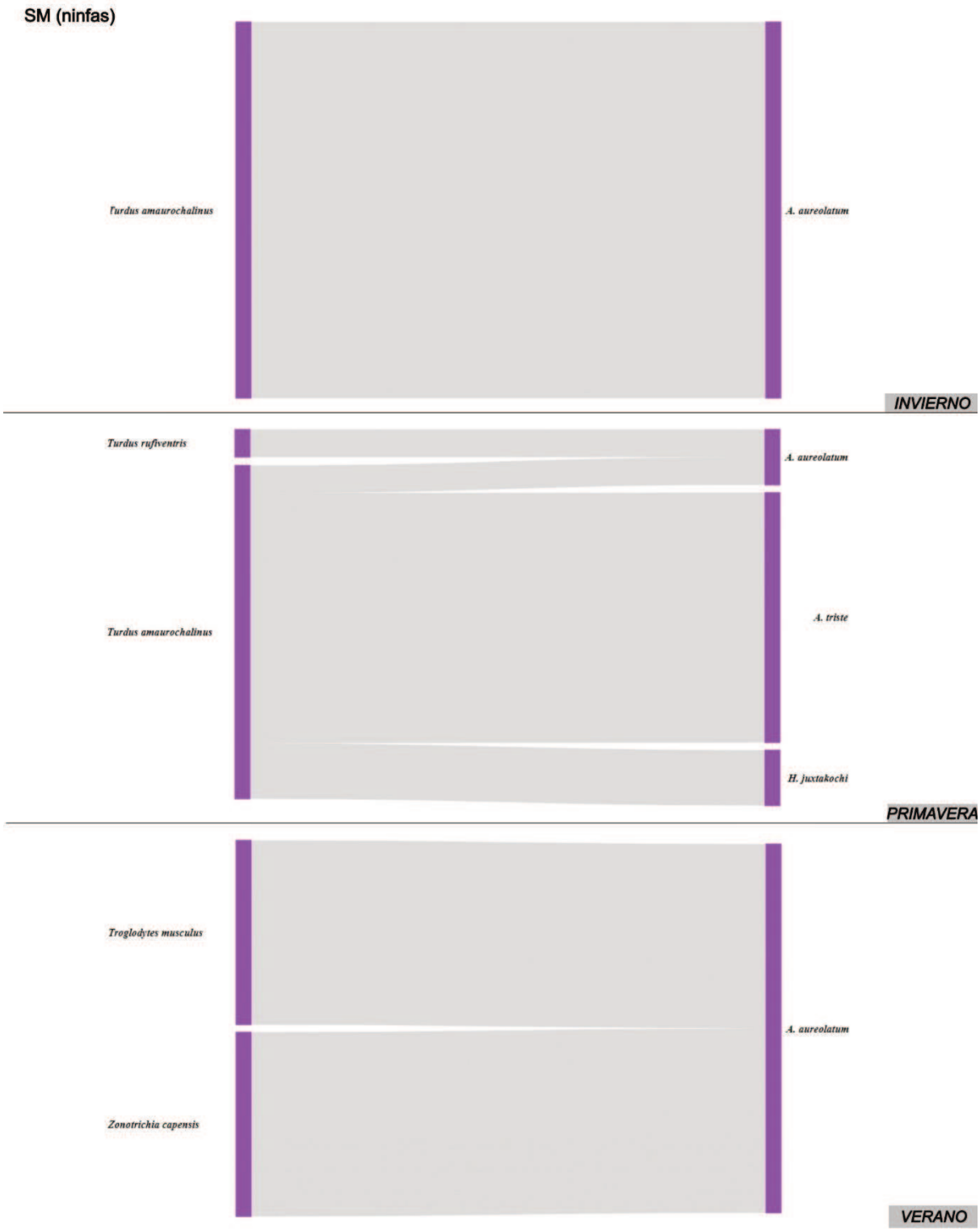


**Figura 28.** Diagrama de Sankey que vincula aves y ninfas colectadas en diferentes estaciones en el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El grosor de las líneas representa el número de garrapatas.

#### 5.2.2.3. Abundancia relativa de garrapatas en aves silvestres

Por último, los modelos multivariados ajustados mediante “manyglm” confirmaron efectos significativos del lugar como de la estación sobre la abundancia de garrapatas, tanto en sus estadios de larvas como de ninfas.

Para las larvas recolectadas sobre las aves, los efectos del lugar (Dev = 746,8; p = 0,01) y la estación (Dev = 152,8; p = 0,01) resultaron significativos en el modelo multivariado, indicando que la abundancia de larvas de garrapatas recolectadas sobre las aves varía según el sitio y la época del año. A nivel univariado, el lugar influyó significativamente sobre todas las especies, indicando que la variabilidad espacial es un factor relevante a tener en cuenta. La estación fue significativa sobre todas las especies, excepto para *A. aureolatum, A. calcaratum/nodosum* y *A. triste,* sugiriendo patrones estacionales para la mayoría de ellas (Tabla 13).

**Tabla 13.** Análisis univariado de la Deviance (manyglm) para cada especie de larvas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El modelo aplicado fue: *abund_filtrada ~ Estacion + Lugar*. En negrita se encuentra resaltado las significancias.

| Variable | Estación(p-valor) | Lugar (p-valor) |
|---|---|---|
| *A. aureolatum* | 0,86 | **0,02** |
| *A. calcaratum/nodosum* | 0,98 | **0,01** |
| *A. dubitatum* | 0,86 | **0,01** |
| *A. ovale* | 0,19 | **0,02** |
| *A. triste* | 0,86 | **0,01** |
| *A. tigrinum* | **0,01** | **0,01** |
| *H. juxtakochi* | **0,01** | **0,01** |
| *I chacoensis* | **0,01** | **0,01** |
| *I. silvanus* | **0,01** | **0,01** |

Las comparaciones *post hoc* para estaciones mostraron diferencias significativas importantes entre invierno, primavera y verano para las larvas. Las variaciones temporales tienen un efecto significativo sobre la abundancia de las larvas, en particular, primavera-verano se diferencian de invierno-otoño, afectando las especies en el estadio de larvas. También esta prueba refuerza que sí existe diferencias específicas entre sitios (principalmente entre MA y PNM). Esto sugiere que, podría ser que las características ambientales de cada sitio (como vegetación, fauna hospedadora, o condiciones microclimáticas) estén influyendo de manera diferenciada en las especies de larvas, especialmente en ciertas especies más sensibles a esos factores. (Tabla 14).

**Tabla 14.** Comparaciones *post hoc* por Lugar y Estación de la abundancia de larvas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. En negrita se encuentra resaltado las significancias.

| **Comparación** | **Multivariado (p)** | **Variables con diferencias significativas** |
|---|---|---|
| **Lugar** | | |
| MA vs PNM | **0,001** | *A. calcaratum/nodosum, A. dubitatum, A. ovale, A. triste, A. tigrinum, H. juxtakochi, I. chacoensis e I. silvanus* |
| MA vs SM | **0,001** | *A. dubitatum, H. juxtakochi* e *I. silvanus* |
| PNM vs SM | **0,001** | *A. calcaratum/nodosum, A. dubitatum, A. ovale, A. triste, H. juxtakochi e I. chacoensis* |
| **Estación** | | |
| Invierno vs Otoño | 0,13 | Ninguna significancia |
| Invierno vs Primavera | **0,001** | *A. tigrinum, H. juxtakochi, I. chacoensis, I. silvanus* |
| Invierno vs Verano | **0,003** | *H. juxtakochi, I. silvanus* |

*Continuación Tabla 14.*

| Comparación | Multivariado (p) | Variables con diferencias significativas |
|---|---|---|
| Otoño vs Primavera | **0,001** | *A. tigrinum, H. juxtakochi, I. chacoensis, I. silvanus* |
| Otoño vs Verano | **0,001** | *H. juxtakochi, I. silvanus* |
| Primavera vs Verano | **0,001** | *A. ovale, A. tigrinum* e *I. chacoensis* |

Para las ninfas, también se encontraron efectos significativos del lugar (Dev = 485,2; p = 0,01) como de la estación (Dev = 65,9; p = 0,01), indicando que la abundancia de ninfas recolectadas sobre las aves varía según el sitio y la época del año. A nivel univariado, el lugar influyó sobre todas las especies evaluadas, sugiriendo que las condiciones de cada ambiente tienen un impacto significativo en la abundancia de las ninfas en este estudio. Mientras que la estación afectó a menos especies de forma significativa, pero igual detecta patrones estacionales claros en *A. triste* (p = 0,01) e *I. silvanus* (p = 0,01), indicando que las estaciones pueden estar influyendo en la dinámica de estas especies (Tabla 15).

**Tabla 15.** Análisis univariado de la Deviance ("manyglm") para cada especie de ninfas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. El modelo aplicado fue: *abund_data_ninfas_AA~ Estacion + Lugar*. En negrita se encuentra resaltado las significancias.

| Variable | Estación (p-valor) | Lugar (p-valor) |
|---|---|---|
| *A. aureolatum* | 0,86 | **0,02** |
| *A. calcaratum/nodosum* | 0,61 | **0,01** |
| *A. triste* | **0,01** | **0,01** |
| *A. tigrinum* | 0,61 | **0,01** |
| *H. juxtakochi* | 0,14 | **0,01** |
| *I. chacoensis* | 0,35 | **0,01** |
| *I. silvanus* | **0,01** | **0,01** |

Los análisis *post hoc* reforzaron estas observaciones, destacando diferencias significativas en las comunidades de ninfas entre MA y los otros dos sitios, especialmente con PNM. En cuanto a las estaciones, el invierno se diferencia significativamente de las estaciones cálidas, especialmente asociadas a *A. triste* e *I. silvanus* y la primavera se diferencia significativamente del verano por las ninfas de *H. juxtakochi* (Tabla 16).

**Tabla 16.** Comparaciones *post hoc* por Lugar y Estación de la abundancia de ninfas recolectadas sobre las aves en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Hídrica y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. En negrita se encuentra resaltado las significancias.

| Comparación | Multivariado (p) | Variables con diferencias significativas |
|---|---|---|
| **Lugar** | | |
| MA vs PNM | **0,001** | *A. calcaratum/nodosum, A. triste, A. tigrinum, H. juxtakochi e I. chacoensis* |
| MA vs SM | **0,001** | *A. aureolatum, A. tigrinum e I. silvanus* |
| PNM vs SM | **0,001** | *A. aureolatum, A. calcaratum/nodosum, H. juxtakochi e I. chacoensis* |
| **Estación** | | |
| Invierno vs Otoño | **0,014** | *I. chacoensis* |
| Invierno vs Primavera | **0,004** | *A. triste e I. silvanus* |
| Invierno vs Verano | **0,002** | *I. silvanus* |
| Otoño vs Primavera | 0,019 | Ninguna significancia |
| Otoño vs Verano | **0,001** | *I. silvanus* |
| Primavera vs Verano | **0,017** | *H. juxtakochi* |

### 5.2.3 Asociación entre garrapatas y mamíferos

Los mamíferos capturados en los tres sitios de muestreo (PNM, MA y SM), pertenecieron a dos órdenes, tres familias, siete géneros y siete especies. En PNM se capturaron tres mamíferos, todos pertenecientes al orden Rodentia, de la familia

Cricetidae: *Oligoryzomys flavescens* y *Pseudoryzomys simplex*. En MA, se capturaron ocho mamíferos, de los órdenes Didelphimorphia y Rodentia, de tres familias (Didelphidae, Caviidae y Cricetidae), con una especie por familia: *Didelphis albiventris*, *Galea leucoblephara* y *Calomys venustus*. En SM se capturaron 16 mamíferos de dos órdenes (Didelphimorphia y Rodentia) y dos familias (Didelphidae y Cricetidae), representado por cinco géneros: *Didelphis, Akodon, Calomys, Oligoryzomys* y *Oxymycterus.*

De estos mamíferos, cinco se encontraron infestados con garrapatas pertenecientes a los dos órdenes, dos familias, cinco géneros y cinco especies (Tabla 17). La mayor riqueza de especies de garrapatas recolectadas sobre estos mamíferos se observó tanto en SM con dos especies como en PNM también con dos especies, seguido de MA con una única especie. La prevalencia general de infestación por garrapatas fue del 33,33%, observándose una prevalencia de 100% (3/3) en PNM, seguida por SM con una prevalencia del 31,25% (5/16) y, finalmente, MA donde la prevalencia fue del 12,50% (1/8).

En PNM los tres roedores capturados estaban infestados, uno con una ninfa de *A. dubitatum* y dos con una ninfa de *I. chacoensis.* En MA, solo un roedor (*C. venustus*) presentó una larva de *A. tigrinum.* En SM, se detectó en dos comadrejas la presencia de larvas y ninfas de *A. dubitatum* y en una de ellas además se recolectaron adultos de *Ixodes loricatus*. Con respecto a los roedores de la familia Cricetidae de SM, tres se encontraron infestados, todos registraron ninfas de *A. dubitatum*.

No se pudo realizar análisis estadísticos de asociaciones estacionales ni espaciales, debido a la escasa cantidad de individuos parasitados y la ausencia de patrones estacionales consistentes. Esto limita la posibilidad de aplicar pruebas robustas.

**Tabla 17.** Mamíferos silvestres capturados en el Parque Nacional Mburucuyá (PNM), la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA) y el Parque Provincial General San Martín (SM), entre 2021-2023. I/Cm: número de mamíferos infestados/número de mamíferos capturados; P: prevalencia (%); N: número de garrapatas capturadas; AM: abundancia media; IM: intensidad media.

| | Mamíferos | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/Cm** | **P** | **Especie de garrapata** | **Estadio** | **N** | **AM** | **IM** |
| PNM | Rodentia | Cricetidae | *Oligoryzomys flavescens* | 1/1 | 100 | *Amblyomma dubitatum* | Ninfa | 1 | 1* | 1 |
| | | | *Pseudoryzomys simplex* | 2/2 | 100 | *Ixodes chacoensis* | Ninfa | 2 | 1* | 1 |
| MA | Didelphimorphia | Didelphidae | *Didelphis albiventris* | 0/5 | | | | | 0 | |
| | Rodentia | Caviidae | *Galea leucoblephara* | 0/1 | | | | | 0 | |
| | Rodentia | Cricetidae | *Calomys venustus* | 1/2 | 50 | *Amblyomma tigrinum* | Larva | 1 | 0,5* | 1 |
| SM | Didelphimorphia | Didelphidae | *Didelphis albiventris* | 1/2 | 50 | *A. dubitatum* | Larva | 9 | 4,5 | 9 |
| | | | | | | | Ninfa | 11 | 1 | 2 |
| | | | | | | *Ixodes loricatus* | Adultos | 2 | 5,5 | 11 |
| | Rodentia | Cricetidae | *Akodon* sp. | 0/4 | | | | | | |
| | | | *Akodon azarae* | 0/3 | | | | | | |
| | | | *Calomys* sp. | 0/2 | | | | | | |
| | | | *Oligoryzomys* sp. | 2/2 | 100 | *A. dubitatum* | Ninfa | 6 | 3 | 3 |
| | | | *Oxymycterus rufus* | 1/3 | 33 | *A. dubitatum* | Ninfa | 1 | 0,3* | 1 |

*: nueva asociación garrapata-mamíferos

## 5.3 *Ehrlichia* en garrapatas duras

### 5.3.1 Garrapatas de vida libre

Las 5946 garrapatas de vida libre, fueron analizadas en 311 muestras de ADN agrupados según el sitio de colecta, la estación, la especie de garrapata y el estadio de desarrollo. En PNM se obtuvieron 248 muestras de ADN, en MA 29 y en SM 34, todas resultaron negativas para la presencia de ADN de *Ehrlichia* en el cribado inicial en la PCR en tiempo real.

### 5.3.2 Garrapatas en fase parasitaria

De las 3265 garrapatas colectadas sobre hospedadores, se obtuvieron 618 muestras de ADN. En PNM se obtuvieron 516 (2618 garrapatas), en MA 71 (494 garrapatas) y en SM 31 (98 garrapatas).

En el cribado inicial para la detección de *Ehrlichia* en el análisis de PCR en tiempo real resultaron positivas ocho muestras de PNM, cinco de MA y ninguna de SM. Estas muestras se sometieron a pruebas de PCR convencional, en PNM se logró amplificar un fragmento largo de 16S ARNr de una muestra compuesta por 47 larvas de *H. juxtakochi* recolectadas sobre un *Turdus rufiventris*. Además, se logró amplificar un fragmento del gen *groEL* para esta misma muestra. En MA se amplificó el fragmento largo de 16S ARNr (468 pb) en una ninfa de *I. silvanus* recolectada sobre un *Turdus nigriceps* y un fragmento del gen *groEL* para un grupo de cuatro ninfas de *I. silvanus* recolectadas sobre un *T. rufiventris*. No se logró amplificar genes adicionales de *Ehrlichia* en las muestras de SM.

## 5.4 *Ehrlichia* en hospedadores

### 5.4.1 Aves

Del total de aves silvestres muestreadas, se obtuvieron 866 muestras de sangre que fueron procesadas para la obtención de ADN. En PNM se analizaron 279 muestras mediante un cribado inicial del gen 16S ARNr por PCR en tiempo real. Aquellas muestras que resultaron amplificadas, se compararon los puntos de fusión específicos con los del control positivo de *Ehrlichia*. En este análisis preliminar, se identificaron 12 muestras que presentaron perfiles compatibles con la presencia de *Ehrlichia*, las

cuales se las sometió a PCR convencional dirigida a fragmentos largos de los genes 16S ARNr, *dsb, groEL* y *p28*. Todas las muestras analizadas de PNM resultaron negativas para estos fragmentos.

En MA, se analizó un total de 252 muestras de ADN y se amplificaron 14 muestras mediante PCR en tiempo real. A estas, se las sometió a PCR convencional y se obtuvieron dos muestras positivas para el fragmento largo del gen 16S ARNr y una para el gen *groEL*. Las aves positivas para 16S ARNr fueron un *Turdus chiguanco* y un *Turdus rufiventris*, ambos de la familia Turdidae, orden Passeriformes. De estas muestras no se logró amplificar *dsb* ni *groEL*. La muestra positiva del gen *groEL* correspondió a otro ejemplar de *T. rufiventris*. En SM, se analizaron 335 muestras de ADN, se amplificaron 21 muestras en el cribado inicial, sin embargo, todas resultaron negativas para los genes amplificados en PCR convencionales.

### 5.4.2 Mamíferos

De todas las capturas que se realizaron se logró tomar muestra de sangre. Las 27 muestras de ADN obtenidas resultaron negativas para la presencia de ADN de *Ehrlichia* en el cribado inicial en la PCR en tiempo real.

## 5.5 Caracterización filogenética de *Ehrlichia* detectadas

En PNM el análisis de comparación del fragmento del gen 16S ARNr obtenido de la muestra de ADN proveniente del grupo de 47 larvas de *H. juxtakochi* (identificado como **"*Candidatus* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá**) reveló una identidad del 99,50% (396/398 pb) con "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" reportada en *H. juxtakochi* de Uruguay (Número de acceso de GenBank: MZ733621; Félix et al., 2021) y del 99,49% (391/393 pb) con dos cepas de *E. ewingii* reportadas en *Haemaphysalis flava* de China (MN148615, MN148608). El fragmento de *groEL* obtenido de la correspondiente muestra también mostró un 99,55% de identidad con "*Ca.* Ehrlichia pampeana" reportada en *H. juxtakochi* recolectada de la vegetación en Entre Ríos, Argentina (OR372493; Flores et al., 2023). El análisis filogenético ubicó esta secuencia formando un clado junto a otras previamente reportadas en *H. juxtakochi* tanto en Argentina y en Uruguay (OR372493 y MZ7799094-MZ77990988, respectivamente) y dentro del clado de *E. ewingii*, claramente separadas de otras

especies de *Ehrlichia* con un soporte del 99%, indicando una alta confiabilidad en la agrupación observada. El árbol construido a partir de las secuencias del gen *groEL* de esta secuencia se puede observar en la Fig. 30.

Por otro lado, las secuencias del gen 16S ARNr obtenidas en MA de *T. rufiventris* y *T. chiguanco,* junto con la obtenida de una ninfa de *Ixodes silvanus* positiva de *Ehrlichia* (identificada todas como ***Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-1**) revelaron un porcentaje de identidad del 100% entre sí. Además, estas secuencias presentaron un 97,56% de similitud con cepas de *Ehrlichia chaffeensis* detectadas en sangre de humanos en Norteamérica (439/450 pb, CP007476-80). El análisis filogenético posicionó a las secuencias obtenidas de 16S ARNr formando un clado con *Candidatus* Ehrlichia shimanensis (97,56% de identidad) reportada en *Haemaphysalis japonica* de China (MT843268) y con *Ehrlichia chaffeensis* (CP007475-79), aunque con bajo soporte (Fig. 29).

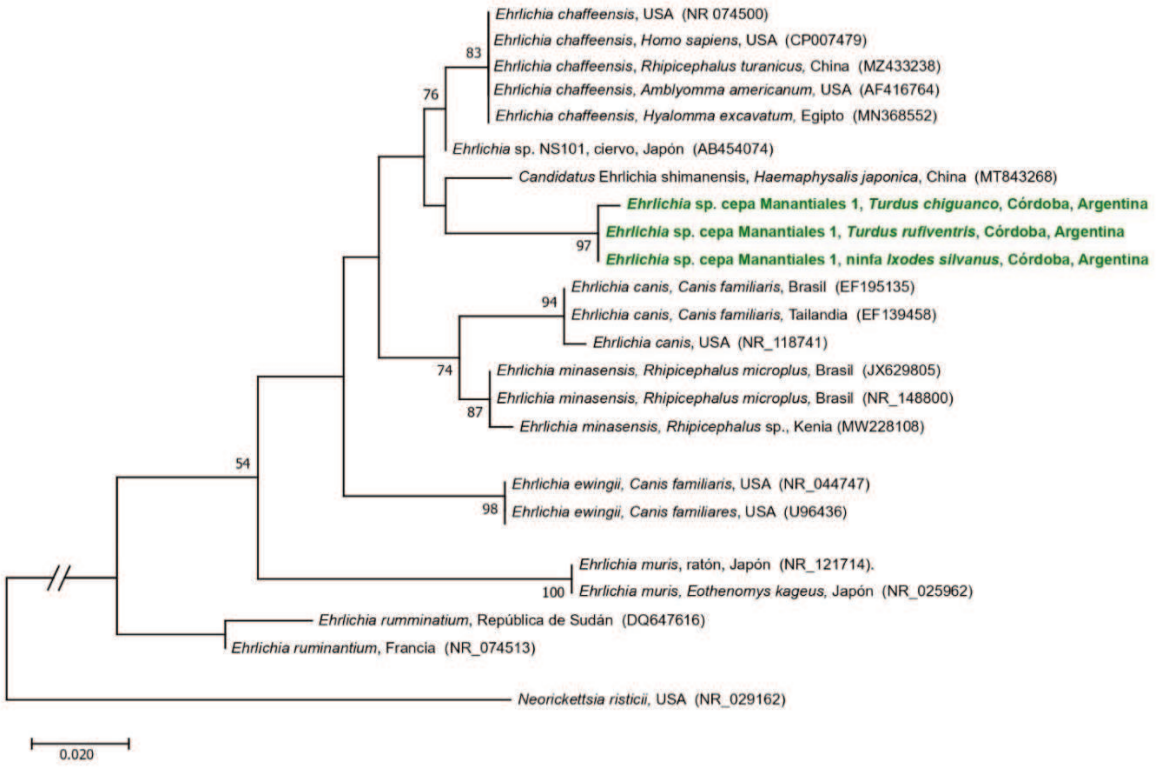


**Figura 29.** Árbol de máxima verosimilitud construido a partir de secuencias parciales del gen 16S ARN ribosomal de especies de *Ehrlichia* que infectan garrapatas y aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia. La selección del modelo se basó en los criterios de información Akaike. El modelo de Tamura 3-parámetros con una distribución gamma discreta fue seleccionado como el mejor modelo (458 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, no se muestran los valores inferiores al 50%. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita, color verde (representando las secuencias parciales de 16S ARNr obtenidas de la Reserva Nacional y Municipal Los Manantiales, Río Ceballos, Córdoba; MA). Los códigos de acceso a GenBank de las secuencias se muestran entre paréntesis.

Asimismo, los fragmentos obtenidos de *groEL* de las muestras de MA tanto del grupo de cuatro ninfas de *I. silvanus* (identificada como ***Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A**), como de la sangre de un *Turdus amaurochalinus* (identificadas como ***Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B**) revelaron un 99,33% (885/891 pb) de identidad entre sí, y presentaron un 95,80% de identidad con *Ehrlichia* sp. cepa Delta (MT681330). El análisis filogenético posicionó a estas secuencias formando un clado con dos cepas detectadas previamente en Argentina: *Ehrlichia* sp. cepa Delta reportada infectando

*A. triste* en la ecorregión del Delta e Islas del Paraná y *Ehrlichia* sp. cepa Moconá-M06 reportada infectando la sangre de un *Syndactyla rufosuperciliata* en la ecorregión Selva Paranaense, dentro de un clado monofilético (Cicuttin et al., 2020; Vaschalde et al., 2024) (Fig. 30).

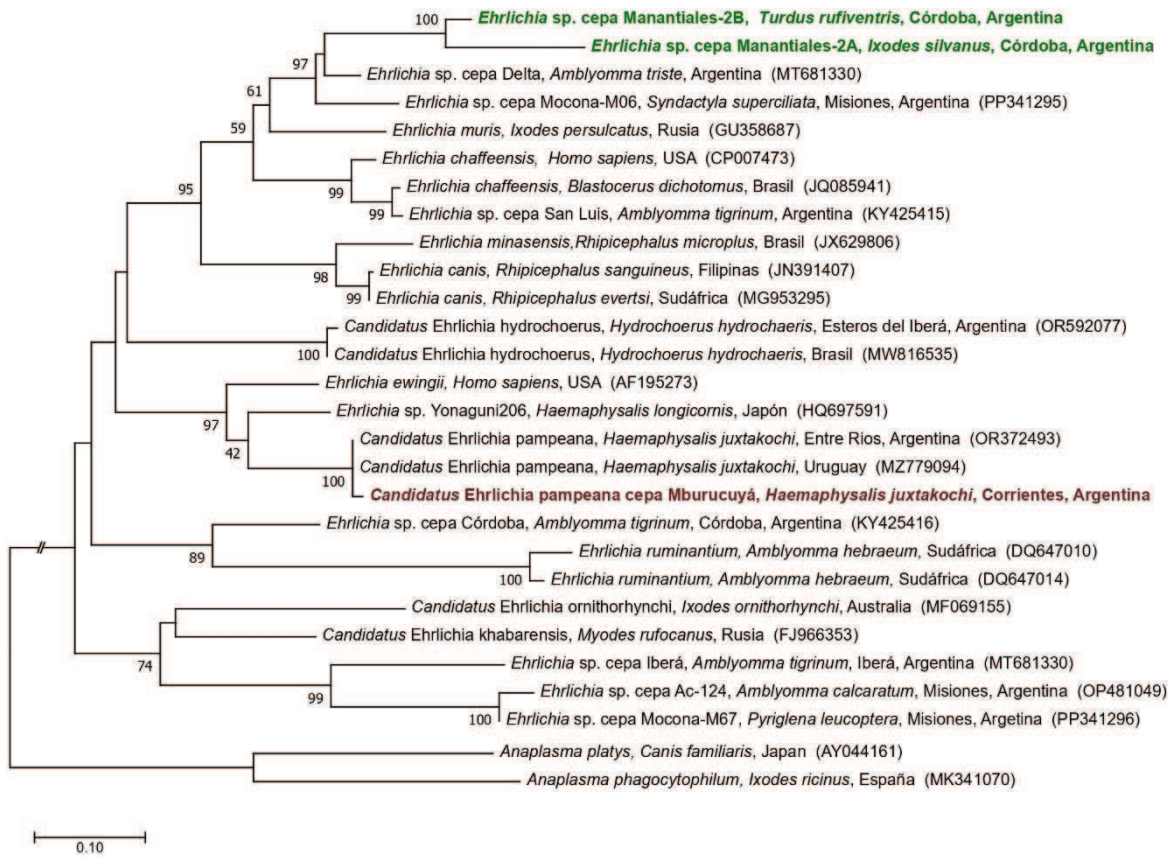


**Figura 30.** Árbol de máxima verosimilitud del gen *groEL* construido a partir de secuencias parciales de especies de *Ehrlichia* que infectan garrapatas y aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia. La selección del modelo se basó en los criterios de información de Akaike. El modelo de Tamura-Nei, con una distribución gamma discreta (+G), fue seleccionado como el mejor modelo (974 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, no se muestran los valores inferiores al 50%. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita y diferenciadas por color (Bordó: Parque Nacional Mburucuyá [PNM] y Verde: Reserva Natural y Municipal Los Manantiales [MA]). Los códigos de acceso de GenBank se muestran entre paréntesis.

Todos los fragmentos parciales de los genes 16S ARNr y *groEL* se encuentran en el Anexo I.

## 5.6 Distribución geográfica de las bacterias del género *Ehrlichia* detectadas

En PNM, se detectó "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá, representada en la Fig. 31. En la misma figura se muestra la presencia conocida del ave *T. rufiventris* (potencial hospedador) de la cual se recolectaron las larvas de *H. juxtakochi*, así como los registros geográficos de esta especie de garrapata, potencial vector de "*Ca.* Ehrlichia pampeana". También se incluyen detecciones previas de "*Ca.* Ehrlichia pampeana" en Argentina y Uruguay. La superposición espacial entre la presencia de *T. rufiventris* y *H. juxtakochi*, junto con los sitios con reportes previos de esta especie de *Ehrlichia*, permiten contextualizar su circulación en un escenario ecológico compatible con la transmisión de esta bacteria en el noreste argentino.

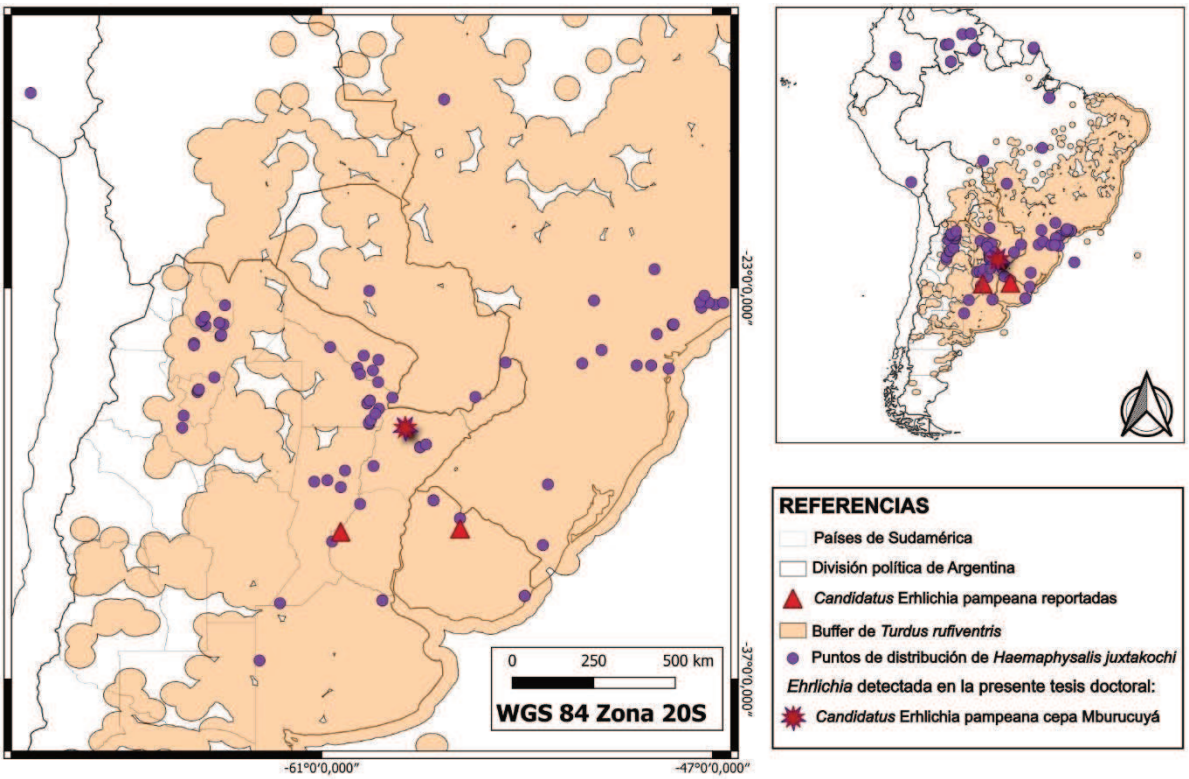


**Figura 31.** Mapa de presencia de *Turdus rufiventris, Haemaphysalis juxtakochi,* "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" previamente reportadas y la cepa detectada en este estudio "*Ca.* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá reportadas en Parque Nacional Mburucuyá (PNM), entre 2021-2023.

La presencia de la cepa detectada en MA, *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-1, se representa en la Fig. 32, donde también se indican las áreas de solapamiento entre las presencias de las especies del género *Turdus* y los registros de *A. tigrinum*. Asimismo, se indican las detecciones relevantes de *Ehrlichia* sp. cepa San Luis reportadas previamente en el centro del país.

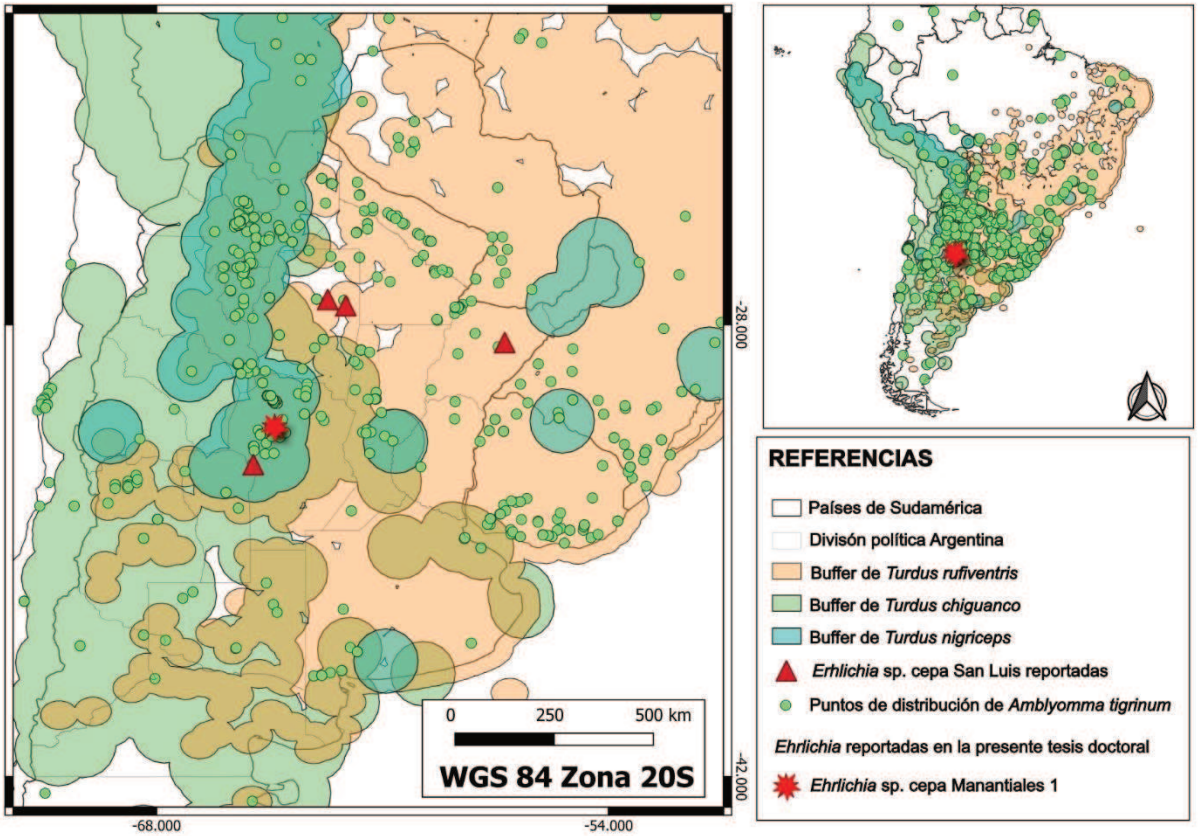


**Figura 32.** Mapa de presencia de *Turdus rufiventris, Turdus chiguanco, Turdus nigriceps, Amblyomma tigrinum, Ehrlichia* sp. cepa San Luis y la cepa *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 reportadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (MA), entre 2021-2023.

Por otra parte, las otras dos cepas detectadas en MA, *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-2A y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-2B, se representa en la Fig. 33. Aquí se tuvo en cuenta la presencia de las especies del género *Turdus* donde se detectaron las cepas, así como también los registros de *A. tigrinum* y de *A. triste*, especies de garrapatas previamente reportadas con cepas de *Ehrlichia*. Asimismo, se indican a *Ehrlichia* sp. cepa Delta y *Ehrlichia* sp. cepa Moconá-M06, las cuáles son cercanas filogenéticamente a las cepas detectadas en la presente tesis.

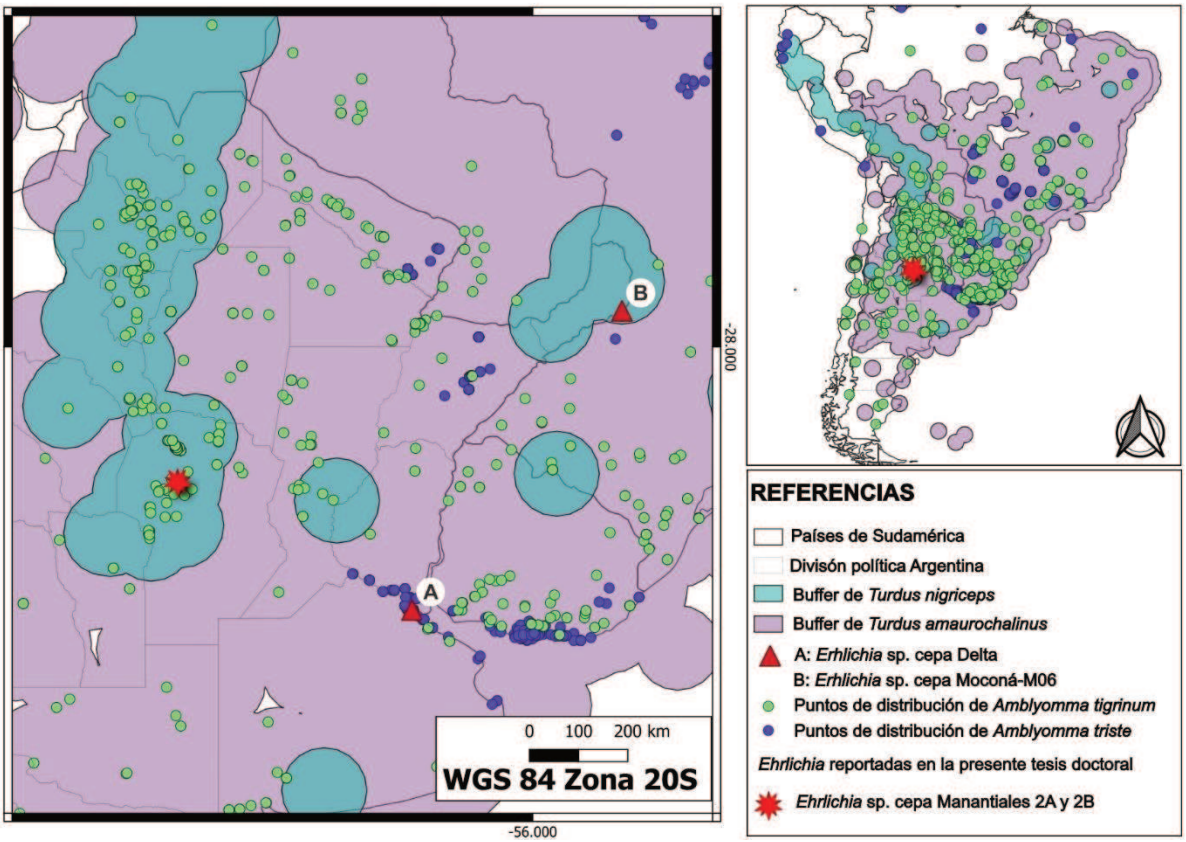


**Figura 33.** Mapa de presencia de *Turdus amaurochalinus, Turdus nigriceps, Amblyomma tigrinum, Amblyomma triste,* cepas de *Ehrlichia* sp. previamente reportadas (A: *Ehrlichia* sp. cepa Delta; B: *Ehrlichia* sp. cepa Moconá-M06) y cepas reportadas en la Reserva Natural y Municipal Los Manantiales (*Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B), entre 2021-2023.

# *6. Discusión*

# 6. DISCUSIÓN

## 6.1 Consideraciones generales

El enfoque de esta tesis se enmarca dentro de una perspectiva ecoepidemiológica, que considera tanto a la biología de los organismos involucrados (garrapatas, hospedadores y *Ehrlichia*) como los factores ambientales que modulan sus interacciones. Desde esta perspectiva, no se aborda únicamente la detección de *Ehrlichia*, sino también la comprensión de los procesos ecológicos que determinan su distribución, circulación y riesgo potencial para la salud pública y veterinaria.

Los resultados presentados a lo largo de esta tesis fueron organizados para responder a los cinco objetivos específicos, los cuales responden a la hipótesis planteada sobre la circulación de *Ehrlichia* en diferentes ambientes. La presente discusión se estructura en torno a estos objetivos, articulando los hallazgos obtenidos con el conocimiento existente y destacando las implicancias ecológicas y sanitarias del sistema estudiado.

## 6.2 Estructura y dinámica de las comunidades de garrapatas

Las comunidades de garrapatas recolectadas sobre vegetación de los tres sitios de muestreo (PNM, MA y SM) mostraron diferencias marcadas en términos de riqueza específica, composición y estacionalidad.

En términos de riqueza, en el PNM se observó la mayor diversidad de especies de garrapatas de vida libre, con cinco especies reportadas. La especie dominante fue *H. juxtakochi,* seguida por *A. dubitatum*, sugiriendo una fuerte adaptación de ambas al ambiente y a sus hospedadores principales: el guazuncho (*S. gouazoubira*) y el carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*), respectivamente. Tanto el guazuncho como el carpincho se encuentran en grandes densidades poblacionales en el PNM (Romero y Chatellenaz, 2013a, 2013b). Los estadios inmaduros de ambas especies de garrapatas han sido reportados en una larga lista de hospedadores, incluyendo las aves y pequeños mamíferos (Guglielmone et al., 2021; Flores et al., 2023). En este estudio, las larvas de ambas especies fueron más abundantes en otoño e invierno, y las ninfas y los adultos en primavera, siendo consistente con lo reportado por Debárbora et al. (2014) y Eberhardt et al. (2023b) en los Esteros del Iberá y por Lamattina et al. (2018) en el norte de la provincia de Misiones. Otras especies, como *A. ovale, A. triste* e *I. chacoensis*, también aportaron a la riqueza en PNM, con una

marcada estacionalidad, pero con menor abundancia. La especie *A. ovale* se suma a la diversidad de especies de la familia Ixodidae del Parque Nacional Mburucuyá. Esta especie había sido reportada para la provincia de Corrientes previamente, pero sólo en el área periurbana de la ciudad de Corrientes (Debárbora et al., 2011; Di Benedetto et al., 2013).

En MA, se encontró la menor riqueza de especies de garrapatas de vida libre, con solo dos especies identificadas. Sin embargo, el hallazgo de *I. silvanus* representa un aporte al conocimiento de la diversidad de garrapatas en esta zona de Chaco Seco, región donde previamente sólo se había reportado la presencia de *A. tigrinum*. La comunidad de garrapatas estuvo dominada por *I. silvanus*, una especie previamente no registrada para la región, constituyendo el primer hallazgo de esta garrapata fuera de su rango geográfico conocido (Vaschalde et al., 2025). Esta especie neotropical fue recientemente descrita en la provincia fitogeográfica de las Yungas (Saracho Bottero et al., 2021) y representa la única especie argentina del subgénero *Trichotoixodes*. Todos los estadios de este subgénero se encuentran asociados a aves y, particularmente, *I. silvanus* se asocia con aves Passeriformes (Saracho Bottero et al., 2021). Dennis et al. (1998) propusieron que una población de garrapatas se considera establecida en una localidad si se recolectan al menos seis individuos o al menos dos etapas de vida diferentes. Nuestros hallazgos cumplen con estos criterios, lo que indica que el rango de distribución de *I. silvanus* ahora incluye la unidad de vegetación del Chaco Serrano. Cabe destacar que todos los especímenes de *I. silvanus* se recolectaron exclusivamente de la hojarasca en bosques dominados por *L. lucidum. Ligustrum lucidum*, es una especie arbórea invasora originaria de China, con éxito global presente en Norteamérica, Sudamérica, Europa, Asia, África y Oceanía (Fernandez et al., 2020). Como toda especie invasora, altera significativamente los procesos ecosistémicos del lugar y reduce la riqueza de especies, incluida las aves (Almada y Sarquis, 2016; Gurvich y Villegas, 2020; Segura et al., 2019). Dado que las garrapatas pasan gran parte de su vida fuera del hospedador y pueden establecerse en cualquier lugar que tenga condiciones microclimáticas adecuadas (Cumming y Van Vuuren, 2006), planteamos la posibilidad de que el establecimiento de *I. silvanus* podría deberse a una invasión facilitada por la modificación del entorno causada por la especie invasora *L. lucidum*. En esta tesis, las larvas de *I. silvanus* mostraron una mayor abundancia en otoño-invierno y las

ninfas en primavera-verano, lo cual coincide con los patrones observados en las Yungas por Bottero et al. (2021).
La otra especie presente en MA fue *A. tigrinum*, la cual se encontró en baja abundancia. Esta baja abundancia podría no reflejar necesariamente una escasa presencia en el ambiente, sino más bien una subestimación relacionada con el método de muestreo empleado, ya que es poco frecuente colectarla con el método de “dragging” o “flagging", sobre todo en estadios inmaduros (Flores, comunicación personal). Esta especie es una de las de mayor distribución en nuestro país debido a su gran plasticidad que le permite adaptarse a amplios rangos de temperatura, estando presente desde la provincia de Santa Cruz hasta Salta y Formosa (Cuervo et al., 2021; Nava et al., 2009).

Por su parte, SM presentó una riqueza intermedia de garrapatas de vida libre, con tres especies. Se observó una baja abundancia en general y diferencias estacionales notorias. Si bien este sitio se encuentra más alejado del ejido urbano que MA, presenta una gran fragmentación debido a que en los últimos 50 años ha sufrido una invasión paulatina de especies leñosas exóticas y, por lo tanto, una modificación del hábitat y fisionomía del monte nativo, afectando la abundancia de las especies de vertebrados (Berduc et al., 2010). Los estadios inmaduros de *A. aureolatum* dominaron en invierno, similar a lo observado para otras especies de *Amblyomma*, sin embargo, los estudios de esta especie en Argentina son escasos (Cicuttin et al., 2017c; Flores et al., 2023). *Amblyomma dubitatum* mostró una dominancia de los estadios inmaduros en primavera coincidiendo con los patrones fenológicos previamente reportados para esta especie (Debárbora et al., 2014; Guglielmone et al., 2021). Por último, la dominancia de las larvas y ninfas de *H. juxtakochi* se observó en primavera y verano, diferente a lo observado en PNM y por Lamattina et al. (2018). Sin embargo, los patrones estacionales observados en SM deben interpretarse con cautela, dado que la baja abundancia registrada para estas especies limita la confiabilidad de las tendencias estacionales registradas.

Como conclusión de esta sección, se observa que algunas especies de garrapatas se encontraron exclusivamente en determinados sitios. En el PNM, se recolectaron *A. ovale* e *I. chacoensis,* en MA: *A. tigrinum* e *I. silvanus* y en SM: *A. aureolatum*. Únicamente *A. dubitatum* e *H. juxtakochi* se registraron tanto en PNM como en el SM,

lo que sugiere un vínculo con la presencia de sus hospedadores principales en ambos sitios (Labruna, 2009). Estrada-Peña et al. (2013) resumen que la fenología de las garrapatas en fase de vida libre está fuertemente influenciada por variables microclimáticas como la temperatura, la precipitación y, en especial, por el déficit de saturación, aunque también por la disponibilidad de hospedadores. Si bien, en este estudio no se tomaron medidas microclimáticas de cada sitio, a grandes rasgos los resultados se encuentran en concordancia con lo planteado por Estrada-Peña et al. (2013). En particular, aunque las temperaturas medias entre ecorregiones son similares, los rangos de amplitud de estas temperaturas son distintos. Por ejemplo, la baja riqueza de especies en MA, donde las temperaturas mínimas llegan a -3°C, podría reflejar la limitante fisiológica que imponen las condiciones extremas a la supervivencia de muchas especies (Randolph, 2004). En contraste, la mayor estabilidad térmica y humedad en PNM y SM favorecería la presencia de especies con menor tolerancia a la variabilidad ambiental (Randolph, 2004). Además, las diferencias en los niveles de precipitación entre los sitios podrían explicar las variaciones en la dinámica estacional y la composición de las comunidades de garrapatas. Estudios previos han demostrado que la humedad del suelo y la vegetación son críticas para la supervivencia de las larvas y ninfas (Cumming, 2002; Hancock et al., 2011), respaldando la hipótesis de que la invasión por *L. lucidum* en MA podría haber modificado las condiciones del microhábitat, facilitando el establecimiento de *I. silvanus.*

## 6.3 Asociaciones garrapata-hospedador

Conocer las asociaciones entre garrapatas e individuos de las comunidades de aves y mamíferos es fundamental para comprender la dinámica de los ciclos de mantenimiento de microorganismos transmitidos por garrapatas (Barker y Reisen, 2019). En este estudio se identificaron múltiples especies de garrapatas parasitando aves y mamíferos silvestres, con variaciones marcadas en la riqueza, prevalencia y composición por sitio, lo que refleja la influencia del ensamblaje de hospedadores.

En el PNM se registró la mayor riqueza de especies de aves, y la mayor riqueza y prevalencia de garrapatas asociadas a ellas. La prevalencia de infestación en aves fue del 61,54%, significativamente superior a la de los otros sitios. Esto podría vincularse al alto grado de conservación del ambiente, que favorece una mayor abundancia de hospedadores, uno de los factores claves para la presencia de

garrapatas (Estrada-Peña y De La Fuente, 2014). La familia Turdidae fue la más parasitada, representando el 85,60% de las aves infestadas y el 68,80% de las garrapatas recolectadas, confirmando su papel clave como hospedadores de garrapatas (Flores et al., 2023; Guglielmone et al., 2021).

Las aves estuvieron parasitadas por todas las especies de garrapatas registradas en la vegetación, y además se identificaron dos especies adicionales: *Amblyomma calcaratum/nodosum* y *R. microplus*, lo que eleva a siete el total de especies encontradas en el PNM. La larva de *R. microplus* se encontró en un *T. amaurochalinus* y representa el primer registro en aves passeriformes para Sudamérica. Este resultado se suma al reportado en Brasil, donde se halló un adulto y una larva de *R. microplus* en dos aves rapaces, *Milvago chimachina* y *Rupornis magnirostris* respectivamente (Teixeira et al., 2020). Considerando que el ciclo de vida de *R. microplus* es de un hospedador, fuertemente asociadas al ganado, el hallazgo de larvas sobre *T. amaurochalinus* sugiere un evento incidental. Este evento podría estar relacionado con la presencia de campos ganaderos en las áreas adyacentes al PNM, así como al comportamiento de forrajeo terrestre característico de las aves del género *Turdus,* lo cual las expone al contacto con garrapatas (Gasperin and Aurélio Pizo, 2009; Guglielmone et al., 2021). Eberhardt et al. (2023b) registraron la presencia de larvas de *R. microplus* en la vegetación del PNM, lo que refuerza la idea de que esta especie puede estar presente en el ambiente, incluso fuera de los hábitat ganaderos estrictos, aumentando las oportunidades de encuentros incidentales con aves silvestres. Este registro destaca la necesidad de monitorear interacciones atípicas en la interfaz silvestre-doméstica, particularmente en áreas protegidas cercanas a sistemas ganaderos.

Al igual que lo observado en las garrapatas de vida libre, las especies dominantes en PNM fueron *H. juxtakochi* y *A. dubitatum*, coincidiendo con la estacionalidad previamente mencionada. Sin embargo, otra especie muy abundante sobre las aves fue *I. chacoensis,* la cual en la vegetación se la encontró en baja abundancia. Esta especie fue formalmente descrita hace relativamente poco tiempo por Nava et al. (2023), donde reporta que sus hospedadores principales para estadios adultos estarían asociados al guazuncho (*S. gouazoubira*) y al ganado, y las aves del orden Passeriformes son los únicos descritos como hospedadores de sus estadios inmaduros, coincidiendo con la fuerte asociación que se encontró en esta tesis.

La reserva MA, presentó una diversidad intermedia de aves, pero una baja riqueza de especies de garrapatas asociadas a ellas en concordancia con el bajo número de especies detectadas en vida libre en este sitio. La comunidad aviar estuvo dominada por Passeriformes, con la familia Turdidae nuevamente como la más representada en términos de capturas y parasitismo. La reserva se encuentra dentro de un entorno residencial, con un alto grado de urbanización y con una gran cantidad de vegetación exótica como *L. lucidum*, *Ulmus* sp. y *Acer* sp. *Ligustrum lucidum,* influyendo en las poblaciones de aves al proporcionar frutos durante períodos de escasez de alimento, creando así nuevos hábitats adecuados para algunas pocas especies de aves (Gurvich y Villegas, 2020; Vergara Tabares y Rojas, 2016).

La prevalencia total de infestación fue del 29,49% (85/295) y las especies de garrapatas fueron las mismas que se encontraron en la vegetación. Se observó una clara dominancia de estas en distintas estaciones. Las larvas de *A. tigrinum* fueron más abundantes en primavera y verano, coincidiendo con lo reportado por Nava et al. (2009), quienes señalan que, si bien los estadios inmaduros de esta garrapata están presentes durante todo el año, las larvas tienen un pico de mayor abundancia en primavera-verano. Las ninfas de *A. trigrinum* se registraron únicamente durante el invierno, contrastando con lo reportado por Nava et al. (2009), quienes encontraron ninfas principalmente en *Galea musteloides,* durante todo el año pero con mayor abundancia en meses fríos. Estos resultados podrían deberse a las diferencias en las comunidades de hospedadores, ya que, en nuestro estudio, la ausencia de capturas de *G. musteloides* sugiere que las ninfas podrían estar utilizando aves como hospedadores alternativos, cuando sus hospedadores principales son escasos o inaccesibles. Resaltando la plasticidad ecológica de *A. tigrinum* (Guglielmone et al., 2000).

*Ixodes silvanus* fue reportada parasitando aves migratorias australes como *Turdus nigriceps, Pachyramphus validus* y *Zonotrichia capensis* en la ecorregión de las Yungas (Saracho Bottero et al., 2021), sugiriendo que su distribución podría ser más amplia. En esta tesis *I. silvanus* se encontró parasitando dos de estas especies migratorias australes (*T. nigriceps* y *Z. capensis*) en la región de Chaco Seco, lo que refuerza la hipótesis de que los movimientos estacionales de estas aves podrían haber facilitado su introducción en esta zona. Alternativamente, se podría pensar que la expansión del área de distribución de *I. silvanus* no se debe únicamente al transporte por aves migratorias, sino también al crecimiento reciente de las

poblaciones de sus principales hospedadores, especialmente del género *Turdus* cuya expansión en Argentina ha sido documentada en las últimas décadas (Vazquez et al., 2023).

En SM, se registró la menor diversidad de aves y una diversidad intermedia de garrapatas. Como en los anteriores sitios, esta comunidad de aves también estuvo dominada por el orden Passeriformes, con una alta abundancia de la familia Turdidae. Sin embargo, fue el sitio con la menor prevalencia de infestación (5,85%). Sobre las aves se identificaron cuatro especies de garrapatas, las mismas tres colectadas de la vegetación (*A. aureolatum, A. dubitatum* y *H. juxtakochi*), más *A. triste*. Las larvas de *A. aureolatum* fueron las más frecuentes, particularmente en invierno, con infestaciones sobre especies de aves de las familias Thraupidae y Thamnophilidae. Las larvas de *A. dubitatum* y *H. juxtakochi* mostraron asociaciones similares a las reportadas en PNM. En primavera, se registró la mayor riqueza de larvas y ninfas, aunque con muy baja intensidad. Las ninfas de *A. triste* fueron dominantes en primavera, asociadas exclusivamente a *T. amaurochalinus*, al contrario de PNM donde las ninfas también se encontraron en primavera-verano pero asociadas a una mayor diversidad de aves. Esto podría deberse a que en PNM la diversidad de hospedadores competentes para el parasitismo de las garrapatas es mayor, permitiendo que las ninfas de *A. triste* infesten múltiples especies (Nava y Guglielmone, 2013). Nuevamente, la familia Turdidae y particularmente el género *Turdus* fueron importantes como hospedadores con 14 aves infestadas de las 23 infestadas totales.

Los análisis estadísticos confirmaron que tanto la riqueza específica como la abundancia relativa de garrapatas variaron significativamente entre los sitios de muestreo y a lo largo de las estaciones del año. En particular, los modelos multivariados aplicados a las larvas y ninfas recolectadas sobre aves mostraron efectos significativos del sitio ($p = 0,01$) y de la estación del año ($p = 0,01$) sobre la abundancia de garrapatas. A nivel univariado para las larvas, se registraron diferencias significativas por lugar en todas las especies, y por estación en *A. tigrinum, H. juxtakochi, I. chacoensis* e *I. silvanus* que fueron las de mayor prevalencia en general. En el análisis post hoc para la abundancia de larvas, se identificaron contrastes marcados entre invierno y las estaciones cálidas (primavera y verano),

especialmente para *I. silvanus*, *A. triste* e *I. chacoensis*. También se evidenciaron diferencias entre sitios. Estos patrones estadísticamente significativos refuerzan la interpretación ecológica propuesta: las comunidades de garrapatas duras están estructuradas por gradientes ambientales, disponibilidad de hospedadores y condiciones microclimáticas, y responden de forma diferencial a los cambios estacionales (Estrada-Peña et al., 2013; Estrada-Peña y De La Fuente, 2014).

En los tres sitios, el grupo dominante de aves parasitadas correspondió al orden Passeriformes, particularmente a la familia Turdidae y, dentro de ella, al género *Turdus*. Las aves de este género estuvieron parasitadas por todos los estadios de todas las especies de garrapatas identificadas, independientemente de las diferencias en la composición de la comunidad de las garrapatas, el grado de perturbación antrópica y las diferencias en la estructura vegetal de cada sitio. Este resultado confirma el papel relevante del género *Turdus* como hospedadoras de los estadios inmaduros de diversas especies de garrapatas duras del neotrópico (Guglielmone et al., 2021; Flores et al., 2023). Esta asociación podría explicarse por su comportamiento de forrajeo terrestre, que las expone frecuentemente a estadios inmaduros (Flores et al., 2023; Ogrzewalska et al., 2011), así como por su alta abundancia en los ensamblajes aviares neotropicales (Gasperin y Aurélio Pizo, 2009).

Además de confirmar asociaciones previamente reportadas en la literatura, este estudio permitió documentar nuevas interacciones entre especies de garrapatas y aves paseriformes. En total, se registraron 76 asociaciones no documentadas previamente en Argentina, las cuales están detalladas en las Tablas 10, 11 y 12. Estas observaciones amplían el conocimiento sobre el papel de las aves como hospedadores de las garrapatas inmaduras y refuerzan la necesidad de considerar su movilidad y plasticidad ecológica en la dispersión potencial de las especies de garrapatas asociadas y los microorganismos que transmiten.

Por último, las capturas de pequeños y medianos mamíferos mostraron tasas de parasitismo variables y muy bajas, posiblemente influenciadas por el tipo de trampas empleadas, el tipo de cebo o el lugar donde se las colocó, a pesar del alto esfuerzo de muestreo realizado. No obstante, estas especies actúan como hospedadores de las especies de garrapatas recolectadas, por lo que no puede descartarse su

participación en la ecología de garrapatas, especialmente en relación con los estadios inmaduros (Guglielmone et al., 2021).

En PNM se capturaron tres roedores de la familia Cricetidae, en los cuales se registraron dos nuevas asociaciones con ninfas de las especies *A. dubitatum* e *I. chacoensis.* Las larvas de *A. dubitatum* ya han sido previamente descritas parasitando a *Oligoryzomys flavescens,* el hallazgo de ninfas representa una nueva asociación. En el caso de las ninfas de *I. chacoensis* es el primer registro de la especie en la familia Cricetidae, ya que hasta el momento los estadios inmaduros solo habían sido reportado en aves (Nava et al., 2023).

En MA, se registró por primera vez la interacción entre *Calomys venustus* y larvas de *A. tigrinum.* Este hallazgo representa el primer registro de este estadio parasitando a *C. venustus*, aportando así nuevas asociaciones garrapata-roedores. Esta nueva asociación refuerza el carácter generalista de *A. tigrinum* (Nava et al., 2009; Guglielmone et al., 2021)

En SM, se encontraron comadrejas overas (*D. albiventris*) parasitadas con *I. loricatus.* Esta garrapata ha sido ampliamente asociada en todos sus estadios a la comadreja overa (Guglielmone et al., 2021). Además, se encontró larvas y ninfas de *A. dubitatum* sobre las comadrejas. Si bien, en Brasil se encuentra reportada esta asociación, para Argentina representa el primer registro de esta asociación (Guglielmone et al., 2021; Sebastian et al., 2025). Por último, se reporta una nueva asociación entre *Oxymycterus rufus* y ninfas de *A. dubitatum* (Guglielmone et al., 2021).

## 6.4 Presencia de *Ehrlichia* en garrapatas duras y hospedadores

En la presente tesis doctoral se detectó la presencia de *Ehrlichia* sp. tanto en aves como en garrapatas que se encontraban parasitándolas. Las detecciones de estas bacterias en garrapatas inmaduras recolectadas sobre las aves, fueron en dos de los tres sitios de muestreo, en el PNM, representando la ecorregión Chaco Húmedo y en MA, representando la ecorregión Chaco Seco.

Diversas cepas de *Ehrlichia* han sido reportadas en garrapatas duras en todo el mundo (Rar y Golovljova, 2011). En Argentina, hasta la fecha se ha reportado la presencia de diversas cepas de *Ehrlichia* en nueve especies de garrapatas duras: *A. dubitatum, A. neumanni, A. ovale, A. parvum, A. pseudoconcolor, A. tigrinum, A. triste, H. juxtakochi* e *Ixodes auritulus,* como ya se nombró anteriormente en la sección de Introducción.

Por otro lado, en esta tesis también se reporta la detección de *Ehrlichia* en sangre de hospedadores aviares en MA. Tradicionalmente, los mamíferos han sido considerados los únicos hospedadores naturales del género *Ehrlichia* (Dumler et al., 2001), posiblemente debido a que gran parte de los estudios sobre asociaciones garrapata-hospedador han estado históricamente centrados en este grupo. Sin embargo, estudios recientes en Sudamérica han detectado *Ehrlichia* sp. en bazo de pingüinos *Spheniscus magellanicus* en el sur de Chile (Muñoz-Leal et al., 2019), mientras que Machado et al. (2012) detectaron la presencia de cepas de *Ehrlichia* en sangre entera de tres especies de aves: *Falcos sparverius, Coragyps atratus* y *Neochen jubata*. En Argentina, Vaschalde et al. (2025b), reportaron diferentes cepas en aves passeriformes: *Lepidocolaptes falcinellus, Pyriglena leucoptera* y *Syndactyla rufosuperciliata* en la provincia de Misiones (ver Anexo II).

En SM, correspondiente a la ecorregión del Espinal, no se detectó *Ehrlichia* ni en garrapatas ni en hospedadores. Sin embargo, esto no implica necesariamente la ausencia de circulación en esta región, ya que un estudio previo, realizado en octubre del año 2023 en este mismo sitio registró la presencia de "*Ca.* Ehrlichia pampeana" en un macho de *H. juxtakochi* recolectado sobre la vegetación (Flores et al., 2024). La falta de detección en esta tesis puede estar relacionada a la baja cantidad de garrapatas de *H. juxtakochi* colectadas (30 ninfas en los dos años), mientras que, en el trabajo nombrado, analizaron 23 ejemplares de *H. juxtakochi* colectados en un único muestreo, uno de los cuales resultó positivo.

A pesar de la baja prevalencia de *Ehrlichia* registrada en la presente tesis, la detección de cepas circulantes subraya la importancia de continuar investigando su ecología. Sería importante completar la identificación genética de las cepas detectadas mediante el uso de marcadores adicionales o mediante estrategias de secuenciación completa. No obstante, esta tarea es compleja, ya que muchas veces no es posible amplificar múltiples loci a partir del ADN extraído de las muestras, debido a la baja carga bacteriana, al polimorfismo genético entre cepas o a la degradación del material (Eberhardt et al., 2023a, 2020; Wilson, 1997). En este contexto, es posible que se esté subestimando la presencia y diversidad de *Ehrlichia,* considerando que en este estudio se obtuvieron 60 detecciones positivas mediante el cribado inicial de la PCR

en tiempo real dirigida al fragmento corto de 16S ARNr de Anaplasmataceae, las cuales no pudieron ser confirmadas mediante PCR convencionales dirigidas a otros genes más polimórficos. Este resultado podría deberse a la mayor sensibilidad de la PCR en tiempo real, que permite detectar cargas infecciosas muy bajas, mientras que las PCR convencionales, presentan en general una menor sensibilidad.
Desde el punto de vista ecológico, es importante resaltar que todas las secuencias procedieron de estadios inmaduros de garrapatas colectadas en paseriformes del género *Turdus,* o bien de la sangre de este género aves.

## 6.5 Caracterización filogenética y potencial zoonótico

Los análisis filogenéticos revelan la circulación en Argentina de nuevas cepas de *Ehrlichia*. Algunas de ellas como nuevos reportes para determinadas ecorregiones, como "*Candidatus* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá detectada en PNM. Esta cepa se agrupó con alto soporte filogenético junto con la cepa aún no formalmente descrita, "*Ca.* Ehrlichia pampeana", mostrando un 100% de identidad. Este grupo, se encuentra filogenéticamente próximo al clado de *E. ewingii*, una especie zoonótica.
Otras secuencias obtenidas en esta tesis, 100% iguales entre sí y nombradas acá como *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-1, pudieron ser caracterizadas únicamente a partir del gen 16S ARNr. El porcentaje de mayor homología fue con *E. chaffeensis*, con un 97,8% de identidad, lo cual representa un valor relativamente bajo para este gen altamente conservado (Monje et al., 2019). El análisis filogenético ubicó a *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales-1 en un clado cercano al de *E. chaffeensis.* Este hallazgo sugiere que esta cepa podría formar parte de un complejo Sudamericano de *E. chaffeensis* sensu lato, como propusieron recientemente Eberhardt et al. (2023a).
Por último, otras cepas detectadas en MA, *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B, se observaron formando un clado filogenético junto con las cepas *Ehrlichia* sp. cepa Delta y *Ehrlichia* sp. cepa M006, con un alto soporte y con un 95,8% de identidad, sugiriendo una suficiente divergencia para considerar que podría tratarse de un nuevo haplotipo.

La existencia de estos linajes en PNM y MA confirma que la diversidad de *Ehrlichia* en Argentina está subestimada. Dos de las cepas descritas aquí pueden tener un potencial zoonótico, ya que se encuentran filogenéticamente cercanas con *Ehrlichia*

previamente reportadas como patógenas y zoonóticas. Esto incrementa el interés sanitario de sus vectores y hospedadores locales. Es relevante continuar con los estudios en el laboratorio, como el aislamiento de las bacterias y estudios de capacidad vectorial que permitan confirmar las especies de garrapatas vectores. Hasta el momento, si bien algunas especies de garrapatas y vertebrados fueron detectados infectados con *Ehrlichia*, esto no permite asumir que actúen como vectores competentes o como hospedadores amplificadores. Todos los artrópodos hematófagos pueden ingerir microorganismos presentes en la sangre de los hospedadores reservorios y esto no significa que tengan la capacidad de transmitirlos a otro hospedador (Estrada-Peña et al., 2013). Así como la detección de ADN de microorganismos en un vertebrado no es suficiente para demostrar la capacidad como hospedadores amplificadores (Baker y Reisen, 2019). Todas las detecciones de *Ehrlichia* en garrapatas en la presente tesis correspondieron a garrapatas en fase de vida parasitaria, no se encontraron infecciones en garrapatas de vida libre, lo cual limita aún más la posibilidad de establecer con certeza el rol vectorial de las garrapatas involucradas. Si *Ehrlichia* solo se detectó en garrapatas alimentadas (parasitarias), es posible que simplemente hayan ingerido el ADN bacteriano de un hospedador infectado, sin que eso indique que sean vectores competentes. Por el contrario, detectar *Ehrlichia* en garrapatas de vida libre (es decir, no alimentadas) daría un indicio más fuerte de que están infectadas de forma persistente y, por tanto, que podrían tener un rol vectorial.

## 6.6 Distribución y riesgo ecológico-epidemiológico

La integración de los resultados moleculares y filogenéticos con la procedencia geográfica de las muestras permite realizar inferencias de los patrones espaciales de circulación de *Ehrlichia* en las ecorregiones estudiadas, así como la evaluación de potenciales riesgos ecológicos y epidemiológicos asociados a los linajes detectados. En este sentido resulta importante destacar que, a excepción de *I. chacoensis* e *I. silvanus,* todas las especies anteriormente mencionadas han sido registradas parasitando humanos, y la mayoría han sido reportadas infectadas con bacterias de la familia Anaplasmataceae en Sudamérica (Bermúdez et al., 2024).

La *Ehrlichia* detectada en el PNM, "*Ca.* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá en larvas de *Haemaphysalis juxtakochi* recolectadas sobre un ejemplar de *T. rufiventris*,

representa el primer registro de esta bacteria en el Chaco Húmedo. Este registro amplió el rango ecológico conocido de esta bacteria que fue reportada en las Pampas de Uruguay (Félix et al., 2021) y en el Espinal de la provincia de Entre Ríos de Argentina (Flores et al., 2024). El primer reporte de esta bacteria, "*Ca*. Ehrlichia pampeana", provino del bazo de un guazuncho (*S. gouazoubira*), como así también en ninfas y adultos de *H. juxtakochi* recolectadas sobre este hospedador y de la vegetación en Uruguay (Félix et al., 2021). Luego, Flores et al. (2024), la reportaron por primera vez en Argentina, en adultos de *H. juxtakochi* colectadas de la vegetación. La asociación entre *Ehrlichia* y cérvidos ha sido ampliamente estudiada en Norteamérica, donde se han identificado dos especies zoonóticas, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*, que utilizan al ciervo de cola blanca (*O. virginianus*) como principal reservorio vertebrado (Paddock y Childs, 2003). En este contexto, la detección de "*Ca.* Ehrlichia pampeana" en *H. juxtakochi*, una garrapata fuertemente asociada a cérvidos, y en el guazuncho, sugiere que estos podrían ser los principales hospedadores y reservorios naturales de esta bacteria. Sin embargo, el hallazgo de larvas infectadas de *H. juxtakochi* sobre *T. rufiventris*, amplía el espectro conocido de potenciales hospedadores. Dado que no se ha documentado transmisión transovárica de *Ehrlichia* hasta el momento (Rar y Golovljova, 2011), es razonable suponer que la infección detectada en las larvas se habría adquirido a través de la ingesta de sangre del ave parasitada. El hospedador, sin embargo, resultó negativo para la presencia de *Ehrlichia,* lo que podría deberse a una baja bacteriemia al momento de tomar la muestra.

Cabe destacar que *T. rufiventris* presenta una distribución amplia, que abarca desde el sur de Brasil hasta Uruguay, Paraguay, Bolivia y el centro-norte argentino (Aves del Mundo, 2025; GBIF.org, 2025) coincidiendo con el rango de distribución del guazuncho (GBIF.org, 2025) y de *H. juxtakochi* en Sudamérica (Guglielmone et al., 2021). Esta superposición geográfica podría estar relacionada con la distribución de "*Ca.* Ehrlichia pampeana". Aunque la patogenicidad de "*Ca*. Ehrlichia pampeana" para humanos es incierta, los análisis filogenéticos indican que esta bacteria se encuentra estrechamente relacionada con *E. ewingii*, una especie zoonótica reconocida (Félix et al., 2021). Esto, sumado a que existen reportes de ninfas y adultos de *H. juxtakochi* parasitando a humanos (Guglielmone et al., 2021), enciende una alarma acerca del posible riesgo para la salud pública. Cabe destacar que muchas especies del género *Ehrlichia* provocan cuadros clínicos con síntomas inespecíficos, como fiebre, cefalea,

malestar general y mialgias, que pueden confundirse fácilmente con otras infecciones más comunes y no suelen ser incluidos en los diagnósticos diferenciales (Ismail y McBride, 2017). Esta inespecificidad clínica, junto con la falta de vigilancia activa y el desconocimiento del personal de salud, hace que estas infecciones queden frecuentemente fuera del radar sanitario y sean subdiagnosticadas o mal identificadas. Por ello, la identificación de nuevas cepas en garrapatas potencialmente antropofílicas debe ser considerada una señal de alerta que justifica estudios más exhaustivos en salud humana, especialmente en regiones donde la exposición a garrapatas es frecuente.

Una de las dos *Ehrlichia* detectadas en MA (*Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1), detectada en sangre de dos aves: *T. rufiventris* y *T. chiguanco,* y en una ninfa de *I. silvanus* recolectada sobre un individuo de *T. nigriceps*, se agrupó filogenéticamente en un clado cercano a diferentes cepas de *E. chaffeensis* reportadas en sangre de humanos en Estados Unidos, así como a "*Candidatus* Ehrlichia shimanensis" reportada en una garrapata, *Haemaphysalis japonica*, detectada en China. Esta relación filogenética con cepas patógenas conocidas es consistente con lo informado por Cicuttin et al. (2017a), quienes reportaron a *Ehrlichia* sp. cepa San Luis en adultos de *A. tigrinum* recolectados en el centro de Argentina (Merlo, San Luis). Posteriormente, Monje et al. (2019) volvieron a reportar la cepa San Luis en adultos de *Amblyomma parvum* colectados en Los Milagros, Santiago del Estero. Debido a la proximidad geográfica de este sitio con el de la detección del agente ehrlichial identificado por Tomassone et al. (2008), solo 33 km de distancia y a la ausencia de barreras naturales evidentes, los autores propusieron que corresponde a la misma *Ehrlichia*. Recientemente, Eberhardt et al. (2023a) reportaron la presencia de *Ehrlichia* cf. *chaffeensis* en ninfas de *A. dubitatum* recolectadas en la vegetación de los Esteros del Iberá, región del noreste argentino. Estos antecedentes sugieren que este clado de *Ehrlichia* cercanas filogeneticamente a *E. chaffeensis* reportadas mantiene una circulación activa en múltiples ecorregiones del país. Las secuencias de los genes *dsb* y *groEL*, obtenidas por Eberhardt et al. (2023a) mostraron entre 97,6 % y 99,99% de identidad con *Ehrlichia chaffeensis* de referencia, y se agruparon con cepas reportadas en ciervos de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) en Brasil (Sacchi et al., 2012), reforzando la existencia de un clado sudamericano de *Ehrlichia chaffeensis* sensu lato con potencial zoonótico.

La presencia de esta *Ehrlichia* en *T. rufiventris, T. chiguanco* y en la ninfa de *I. silvanus* colectada de *T. nigriceps*, plantea la potencial participación de estas tres especies como hospedadores en el mantenimiento del ciclo enzoótico. Dado que todos los estadios de *I. silvanus* se encuentran asociados exclusivamente a aves, es probable que la infección la haya adquirido de un ave en el estadio de larva o desde la sangre del *T. nigriceps*. El género *Turdus* presenta una amplia distribución geográfica y son hospedadores comunes de estadios inmaduros de varias especies de garrapatas, como *A. tigrinum* y *A. parvum*. Si las aves de la familia Turdidae actúan como hospedadores amplificadores de estas cepas de *Ehrlichia*, entonces podría facilitar su circulación entre distintas regiones y entre diferentes especies de garrapatas al alimentarse de aves infectadas. Esta situación representa una importancia sanitaria, ya que tanto *A. tigrinum* como *A. parvum* son especies que frecuentemente parasitan a humanos en su etapa adulta (Guglielmone et al., 2021), planteando un potencial riesgo para la salud pública.

No obstante, aún se requieren estudios filogenéticos adicionales que utilicen otros marcadores moleculares para confirmar la identidad completa de estas cepas, particularmente para determinar si esta cepa puede ser parte de un complejo de *E. chaffeensis* sensu lato, como se sugiere en Eberhardt et al. (2023a). Cabe destacar que no se dispone de fragmentos largos de secuencias del gen 16S ARNr para estas *Ehrlichia*, lo cual limita la resolución filogenética.

En MA, también se detectó *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A en un grupo de ninfas *de I. silvanus* recolectada de un *T. nigriceps* y *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B en la sangre de un ejemplar de *T. amaurochalinus*. Las secuencias del gen *groEL* detectadas en esta tesis, se agruparon en un clado junto con *Ehrlichia* sp. cepa Delta y *Ehrlichia* sp. cepa M006, previamente detectadas infectando adultos de *A. triste* en Delta e Islas del Paraná (Campana, Buenos Aires) y en el ave *S. rufosuperciliata* en la Selva Paraense (Parque Provincial Moconá, Misiones), respectivamente (Cicuttin et al., 2020; Vaschalde et al., 2025b). Ni la garrapata *A. triste* ni el hospedador *S. rufosuperciliata* presentan distribución en el centro norte de Argentina (Cuervo et al., 2021; GBIF.org, 2025), lo cual sugiere que deberían participar otros hospedadores y vectores que permitan la persistencia de estas cepas en la naturaleza. *Turdus amaurochalinus* es una especie de amplia distribución en Sudamérica, abarcando

Bolivia, el centro y sur de Brasil, Paraguay, Uruguay, el sur de Perú y gran parte del centro y norte de Argentina. Esta especie de ave ha sido documentada como hospedadora de estadios inmaduros de *A. tigrinum, A. triste* y otras especies de garrapatas (Guglielmone et al., 2021; Flores et al., 2023; este estudio), por lo que, de llegar a ser un hospedador competente, podría estar implicado en el mantenimiento o dispersión de esta cepa de *Ehrlichia.* La patogenicidad de estas cepas de *Ehrlichia* no ha sido demostrada.

En síntesis, los resultados obtenidos en esta tesis muestran la complejidad de los ciclos de transmisión de *Ehrlichia.* La marcada variabilidad espacial y temporal en la composición de garrapatas, la estrecha relación con aves del género *Turdus* y la detección de diferentes cepas, refuerzan la necesidad de considerar estos sistemas como redes dinámicas influenciadas tanto por factores abióticos como bióticos.

# *7. Conclusión*

# 7. CONCLUSIÓN

La presente tesis se enfocó en investigar la presencia de *Ehrlichia* y los aspectos ecológicos y epidemiológicos de las garrapatas en tres ecorregiones de la Argentina (Chaco Húmedo, Chaco Seco y Espinal). A través de dos años de muestreo de garrapatas en su fase de vida libre y parasitaria, la captura de vertebrados hospedadores y la detección de *Ehrlichia*, se cumplió con los cinco objetivos propuesto en este trabajo.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian una marcada variabilidad ecológica entre los tres sitios muestreados, tanto en la estructura de las comunidades de garrapatas y de aves, como en las asociaciones entre ellas. Las diferencias en riqueza y composición específica reflejan no solo los contrastes ambientales entre ecorregiones, sino también la influencia de la estacionalidad sobre la dinámica de las garrapatas. Las aves, se destacan como hospedadores de larvas y ninfas de muchas especies de garrapatas, desempeñando un papel importante en el mantenimiento y dispersión. A su vez, la fuerte asociación entre ciertas especies de garrapatas con los sitios, como *H. juxtakochi* en PNM, *I. silvanus* en MA y *A. aureolatum* en SM, indican que el ensamble de estas comunidades está condicionado por variables locales y temporales. Esta variación en la comunidad de garrapatas también puede estar vinculada a la historia natural de las especies presentes, algunas de las cuales poseen requerimientos ambientales estrictos, mientras que otras muestran una mayor plasticidad ecológica.

Desde el punto de vista filogenético, se identificaron diferentes cepas de *Ehrlichia,* algunas genéticamente cercanas a especies zoonóticas como *E. chaffeensis* y *E. ewingii* y otras, formando un clado con cepas formalmente no descritas todavía. La baja prevalencia en general registrada, no disminuye la relevancia epidemiológica de los hallazgos. La existencia de cepas filogenéticamente cercanas a *Ehrlichia* sp. patógenas de humanos y animales, de posibles vectores y de posibles hospedadores, sugiere la existencia de ciclos enzoóticos activos en nuestro país. Estas detecciones amplían el conocimiento actual sobre la ecología del género *Ehrlichia.*

Desde un enfoque ecológico, estos resultados se alinean con lo propuesto por Estrada-Peña y De la Fuente (2014), quienes sostienen que las garrapatas deben

comprenderse como redes dinámicas estructuradas por la interacción entre la biología del vector, la disponibilidad espacio-temporal de hospedadores y la configuración del paisaje. En este marco, la fragmentación del hábitat, el grado de antropización y la presencia de vegetación exótica alteran las condiciones microclimáticas y la conectividad funcional del ecosistema, afectando indirectamente la distribución y abundancia de las garrapatas. Asimismo, la simple presencia de vectores no equivale a riesgo de transmisión, dado que este se ve condicionado por múltiples factores ecológicos y epidemiológicos que interactúan en diferentes escalas espaciales y temporales. Por lo tanto, es imprescindible adoptar un enfoque multiescalar e integrador para evaluar el riesgo potencial asociado a las garrapatas y los microorganismos que transmiten, particularmente en contextos de cambio ambiental y expansión urbana.

Los datos obtenidos permiten avanzar en la caracterización de la diversidad filogenética del género *Ehrlichia* en Argentina y constituyen un punto de partida para estudios futuros que integren biología molecular, ecología de hospedadores y distribución geográfica.

Aportes relevantes de esta tesis:

- Se aportó información de relevancia de las asociaciones garrapata-hospedador con 73 nuevas asociaciones garrapata-aves y cuatro garrapata-mamífero.
- Se corroboró una fuerte asociación entre todas las especies de garrapatas y las especies del género *Turdus* colectadas.
- Se destaca la detección de *Ixodes chacoensis* en roedores *Pseudoryzomys simplex*. Para esta especie sólo se conocía a las aves como hospedadores de larvas y ninfas.
- Se detecta por primera vez a *Rhipicephalus microplus* en un ave del orden Passeriformes en el Neotrópico.
- Se aporta información de relevancia para *Amblyomma aureolatum* en aves, incluyendo los primeros registros en aves fuera de la Ciudad de Buenos Aires.
- Se determinó la presencia y establecimiento de *Ixodes silvanus* en una nueva ecorregión.

- Se aporta nueva información geográfica de la distribución de *Amblyomma ovale*.
- Se determinó la circulación de tres *Ehrlichia* sp. detectada en sangre de aves y en garrapatas asociadas a estas aves. Estas son las primeras detecciones de bacterias del género *Ehrlichia* en sangre de hospedadores aviares en Argentina.
- Se identificó a especies del género *Turdus* como potenciales hospedadoras de las *Ehrlichia* detectadas.

## BIBLIOGRAFÍA


Aguiar DM, Araujo JP, Nakazato L, Bard E, Cabezas-Cruz A. 2019. Complete Genome Sequence of an *Ehrlichia minasensis* Strain Isolated from Cattle. Microbiol. Resour. Announc. 8, e00161-19. https://doi.org/10.1128/MRA.00161-19

Aguiar DM, Cavalcante GT, Pinter A, Gennari SM, Camargo LMA, 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. https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[126:poecra]2.0.co;2

Aguirre-Acosta N, Urdampilleta JD, Otero JT, Aguilar R. 2023. Genetic diversity of an invasive tree across time and contrasting landscape conditions. For. Ecol. Manag. 548, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121429

Allaire J, Gandrud C, Russell K, Yetman C. 2025. networkD3: D3 JavaScript Network Graphs from R

Allsopp B. 2010. Natural history of *Ehrlichia ruminantium*. Vet. Parasitol. 167, 123–135. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.014

Allsopp MTE, Louw M, Meyer EC. 2005. *Ehrlichia ruminantium*: An Emerging Human Pathogen? Ann. N. Y Acad. Sci. 1063, 358–360. https://doi.org/10.1196/annals.1355.060

Almada MS, Sarquis JA. 2016. Araneofauna (Arachnida: Araneae) de suelo en bosques nativos, exóticos y pajonales del Parque General San Martín, Entre Ríos Argentina. Ecol. Austral. 26, 286–292. https://doi.org/10.25260/EA.16.26.3.0.204

Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH. 1991. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 29, 2838–2842. https://doi.org/10.1128/jcm.29.12.2838-2842.1991

Anderson BE, Greene CE, Jones DC, Dawson JE. 1992. *Ehrlichia ewingii* sp. nov., the Etiologic Agent of Canine Granulocytic Ehrlichiosis. Int. J. Syst. Bacteriol. 42, 299–302. https://doi.org/10.1099/00207713-42-2-299

Apanaskevich DA, Apanaskevich MA, Klimov PB, Edgy BM, Bermúdez SE, Labruna MB, Korzeev AI, Barker SC. 2022. Description of eight new species of *Ixodes* Latreille, 1795 (Acari: Ixodidae) and redescription of *I. auritulus* Neumann, 1904, parasites of

birds in the Australasian, Nearctic and Neotropical Regions. Zootaxa. 5173, 1–73. https://doi.org/10.11646/zootaxa.5173.1.1

Areta JI, Piacentini VDQ, Haring E, Gamauf A, Silveira LF, Machado E, Kirwan GM. 2016. Tiny Bird, Huge Mystery—The Possibly Extinct Hooded Seedeater (*Sporophila melanops*) Is a Capuchino with a Melanistic Cap. PLOS ONE. 11, e0154231. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154231

Barbieri FS, Brito LG, Labruna MB, Barros-Battesti DM, Camargo LMA, Famadas KM. 2013. Description of the larva of *Amblyomma calcaratum* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae) by light and scanning electron microscopy. Ticks Tick-Borne Dis. 4, 531–536. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.07.004

Barbieri FS, Brito LG, Labruna MB, Barros-Battesti DM, Camargo LMA, Famadas KM. 2008. Description of the larva of *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) by light and scanning electron microscopy. Syst. Appl. Acarol. 13, 109. https://doi.org/10.11158/saa.13.2.3

Barker CM, Reisen WK. 2019. Epidemiology of Vector-Borne Diseases. En: Medical and Veterinary Entomology. Mullen GR, Durden LA. Elsevier, Londres. 33–49. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00004-2

Barnewall RE, Ohashi N, Rikihisa, Y. 1999. *Ehrlichia chaffeensis* and *E. sennetsu* but Not the Human Granulocytic Ehrlichiosis Agent, Colocalize with Transferrin Receptor and Up-Regulate Transferrin Receptor mRNA by Activating Iron-Responsive Protein 1. Infect. Immun. 67, 2258–2265. https://doi.org/10.1128/IAI.67.5.2258-2265.1999

Berduc A, Bierig PL, Donello AV, Walker CH. 2010. Lista Actualizada y Análisis Preliminar del Uso de Hábitat de Medianos y Grandes Mamíferos en un Área Natural Protegida del Espinal con Invasión de Leñosas Exóticas, Entre Ríos, Argentina. FABICIB. 14, 9–27. https://doi.org/10.14409/fabicib.v14i1.848

Bermúdez S, Zieman EA, Tarragona E, Martins TF, Faccini-Martínez AA, Thomas R, Guzmán-Cornejo C, Muñoz-Leal S. 2024. Tick-Borne Microorganisms in Neotropical Vertebrates. En: Ecology of Wildlife Diseases in the Neotropics. Acosta-Jamett G, Chaves A. Springer International Publishing, Cham. 345–379. https://doi.org/10.1007/978-3-031-50531-7_13

Billerman SM, Keeney BK, Kirwan GM, Medrano F, Sly ND, Smith MG. 2025. Aves del Mundo. Lab. Ornitol. Cornell Ithaca NY EE UU.

Borrás P, Sanchez J, Guillemi E. 2019. Detección de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Anaplasma* y *Rickettsia* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l en Pergamino, Argentina. Rev. Argent. de Salud Pública. 10, 8–13. https://rasp.msal.gov.ar/index.php/rasp/article/view/99

Bouza-Mora L, Dolz G, Solórzano-Morales A, Romero-Zuñiga JJ, Salazar-Sánchez L, Labruna MB, Aguiar DM. 2017. Novel genotype of *Ehrlichia canis* detected in samples of human blood bank donors in Costa Rica. Ticks Tick-Borne Dis. 8, 36–40. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.012

Brouqui P & Matsumoto K. 2007. Bacteriology and phylogeny of Anaplasmataceae. En: Rickettsial diseases. Raoult D y Parola P. Informa Healthcare. NewYork y Londres. 179–198.

Burkart R, Bárbaro N, Sánchez RO, Gómez DA. 1999. Ecorregiones de la Argentina. Administración de Parques Nacionales. Secretaria de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable. Presidencia de la Nación.

Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. 1997. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. J. Parasitol. 83, 575–583. https://doi.org/10.2307/3284227

Cabezas-Cruz A, Zweygarth E, Aguiar DM. 2019. *Ehrlichia minasensis*, an old demon with a new name. Ticks Tick-Borne Dis. 10, 828–829. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.018

Chalco-Torres LE, Guerrero-López AE, Sánchez-Prado RG, Pérez Rodríguez JE, Oliveira C, Gómez JA, Lenin-Aguilar F, Nirchio-Tursellino M. 2023. Detección molecular de coinfección por *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia ewingii* en un perro en Ecuador. Rev. Científica Fac. Cienc. Vet. XXXIII. 33, 1–6. https://doi.org/10.52973/rcfcv-e33219

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

Cicuttin G, 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. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.07.001

Cicuttin G, De Salvo MN, Pérez PD, Silva D, Félix ML, Venzal JM, Nava S. 2020. A novel *Ehrlichia* strain (Rickettsiales: Anaplasmataceae) detected in *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae), a tick species of public health importance in the Southern Cone of America. Pathog. Glob. Health. 114, 318–322. https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1795579

Cicuttin G, 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. FAVE Sección Cienc. Vet. 16, 93–96. https://doi.org/10.14409/favecv.v16i2.6910

Cicuttin G, De Salvo MN, Venzal JM, Nava S. 2022. *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* sp. and *Candidatus* midichloria sp. associated to ticks from a protected urban area in Buenos Aires City (Argentina). Exp. Appl. Acarol. 86, 271–282. https://doi.org/10.1007/s10493-022-00684-0

Cicuttin G, Salvo MD, Nava S. 2017c. Especies de garrapatas duras en un área urbana protegida de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 8, 7–12. https://rasp.msal.gov.ar/index.php/rasp/article/view/113

Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Nava S. 2015. 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. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.06.006

Clements JF, Rasmussen PC, Schulenberg TS, Iliff MJ, Fredericks TA, Gerbracht JA, Lepage D, Spencer A, Billerman SM, Sullivan BL, Wood CL. 2024. EBirdClements Checkl. Birds World V2024 Downloaded https://www.birdscornelleduclementschecklist.download.

Cowdry EV. 1925a. Studies on the etiology of heartwater: II. *Rickettsia ruminantum* (N. sp.) in the tissues of ticks transmitting the disease. J. Exp. Med. 42, 253–274. https://doi.org/10.1084/jem.42.2.253

Cowdry EV. 1925b. Studies on the etiology of heartwater: I. observation of a *Rickettsia, Rickettsia ruminantum* (N. sp.), in the tissues of infected animals. J. Exp. Med. 42, 231–252. https://doi.org/10.1084/jem.42.2.231

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. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001172

Cruz AC, Zweygarth E, Ribeiro MFB, Da Silveira JAG, De La Fuente J, Grubhoffer L, Valdés JJ, Passos LMF. 2012. New species of *Ehrlichia* isolated from *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* shows an ortholog of the *E. canis* major immunogenic glycoprotein gp36 with a new sequence of tandem repeats. Parasit. Vectors. 5, 291. https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-291

Cuervo PF, Flores FS, Venzal JM, Nava S. 2021. Niche divergence among closely related taxa provides insight on evolutionary patterns of ticks. J. Biogeogr. 48, 2865–2876. https://doi.org/10.1111/jbi.14245

Cumming GS. 2002. Comparing climate and vegetation as limiting factors for species ranges of African ticks. Ecology. 83, 255–268. https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[0255:CCAVAL]2.0.CO;2

Cumming GS, Van Vuuren DP. 2006. Will climate change affect ectoparasite species ranges? Glob. Ecol. Biogeogr. 15, 486–497. https://doi.org/10.1111/j.1466-822X.2006.00241.x

Dawson JE, Anderson BE, Fishbein DB, Sanchez JL, Goldsmith CS, Wilson KH, Duntley CW. 1991. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 29, 2741–2745. https://doi.org/10.1128/jcm.29.12.2741-2745.1991

Daza C, Osorio J, Hurtado A, Suárez J, Santamaria A, Bermúdez Castillero SE. 2019. Caracterización del primer caso de infección humana por *Ehrlichia canis* en Panamá. Rev. Médica Panamá. 38. https://doi.org/10.37980/im.journal.rmdp.2018765

De Oliveira GMB, Da Silva IWG, Da Cruz Ferreira Evaristo AM, De Azevedo Serpa MC, Silva Campos AN, Dutra V, Nakazato L, De Aguiar DM, Bahia Labruna M, Horta M.C. 2020. Tick-borne pathogens in dogs, wild small mammals and their ectoparasites

in the semi-arid Caatinga biome, northeastern Brazil. Ticks Tick-Borne Dis. 11, 101409. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101409

de Salvo M, Díaz Pérez P, Martin P, Cicuttin G. 2023. Ehrlichiosis monocítica canina en el Área Metropolitana de Buenos Aires. Fave Sección Cienc. Vet. 22. https://doi.org/10.14409/favecv.2023.22.e0027

Debárbora V, Oscherov E, Guglielmone AA, Nava S. 2011. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. InVet. 13, 45–51. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179121179005

Debárbora VN, Mangold AJ, Oscherov EB, Guglielmone AA, Nava S. 2014. Study of the life cycle of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) based on field and laboratory data. Exp. Appl. Acarol. 63, 93–105. https://doi.org/10.1007/s10493-014-9767-1

Dennis DT, Nekomoto TS, Victor JC, Paul WS, Piesman J. 1998. Forum: Reported Distribution of *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the United States. J. Med. Entomol. 35, 629–638. https://doi.org/10.1093/jmedent/35.5.629

Di Benedetto I, Nava S, Oscherov E. 2013. Primer registro de *Didelphis albiventris* Lund, 1841 (Didelphimorphia: Didelphidae) como hospedador para adultos y ninfas de *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) en Argentina. Rev Arg Parasitol 1, 45–48. http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/150815

Donatien AL, Lestoquard F. 1937. Particularités des *Rickettsia* des Monocytes. Bull. Académie Vét. Fr. 90, 183–187. https://doi.org/10.3406/bavf.1937.15949

Doyle CK, Labruna MB, Breitschwerdt EB, Tang YW, Corstvet RE, Hegarty BC, Bloch KC, Li P, Walker DH, McBride JW. 2005. Detection of Medically Important *Ehrlichia* by Quantitative Multicolor TaqMan Real-Time Polymerase Chain Reaction of the dsb Gene. J. Mol. Diagn. 7, 504–510. https://doi.org/10.1016/S1525-1578(10)60581-8

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 combinations and designation of *Ehrlichia equi* and “HGE agent” as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 2145–2165. https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145

Eberhardt AT, Fernandez C, Fargnoli L, Beldomenico PM, Monje LD. 2020. A putative novel strain of *Ehrlichia* infecting *Amblyomma tigrinum* associated with Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in Esteros del Iberá ecoregion, Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 11, 101318. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101318

Eberhardt AT, Manzoli DE, Fernandez C, Zurvera D, Monje LD. 2023a. Capybara density and climatic factors as modulators of *Ehrlichia* prevalence in questing ticks in the Iberá wetlands, Argentina. Sci. Rep. 13, 12237. https://doi.org/10.1038/s41598-023-39557-w

Eberhardt AT, Manzoli DE, Fernandez C, Zurvera D, Monje LD. 2023b. *Anaplasma* species infecting questing ticks in the Iberá wetlands ecoregion, Argentina. Exp. Appl. Acarol. 89, 485–496. https://doi.org/10.1007/s10493-023-00788-1

Eberhardt AT, Monje LD, Zurvera DA, Beldomenico PM. 2014. Detection of *Trypanosoma evansi* infection in wild capybaras from Argentina using smear microscopy and real-time PCR assays. Vet. Parasitol. 202, 226–233. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.043

Egizi AM, Robbins RG, Beati L, Nava S, Evans CR, Occi JL, Fonseca DM. 2019. A pictorial key to differentiate the recently detected exotic *Haemaphysalis longicornis* Neumann, 1901 (Acari, Ixodidae) from native congeners in North America. ZooKeys. 818, 117–128. https://doi.org/10.3897/zookeys.818.30448

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, 169–173. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.11.008

El-Sayed A, Kamel M. 2020. Climatic changes and their role in emergence and re-emergence of diseases. Environ. Sci. Pollut. Res. 27, 22336–22352. https://doi.org/10.1007/s11356-020-08896-w

Estrada-Peña A, De La Fuente J. 2014. The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. Antiviral Res. 108, 104–128. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.016

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. https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00029

Estrada-Peña A, Venzal JM, Mangold AJ, Cafrune MM, Guglielmone AA. 2005. The *Amblyomma maculatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae: Amblyomminae) tick group: diagnostic characters, description of the larva of *A. parvitarsum* Neumann, 1901, 16S rDNA sequences, distribution and hosts. Syst. Parasitol. 60, 99–112. https://doi.org/10.1007/s11230-004-1382-9

Fair J, Paul E, Jones J, Clark A, Davie C, Kaiser G. 2010. Guía para la utilización de aves silvestres en investigación. En: El consejo Ornitológico. Tercera Edición. Wash. DC. https://wou.edu/iacuc/files/2024/06/Guidelines-to-the-Use-of-Wild-Birds-in-Research-September-2023.pdf

Fantozzi M. 2019. Dinámica de infección en roedores silvestres: influencia de la condición a nivel individual y poblacional. FCV-UNL, Esperanza, Santa Fe. http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/handle/11185/1196?locale-attribut

Fargnoli L, Fernandez C, Monje LD. 2020. Novel *Ehrlichia* Strain Infecting Cattle Tick *Amblyomma neumanni*, Argentina, 2018. Emerg. Infect. Dis. 26, 1027–1030. https://doi.org/10.3201/eid2605.190940

Félix ML, Muñoz-Leal S, Carvalho LA, Queirolo D, Remesar S, Armúa-Fernández MT, Venzal JM. 2021. Characterization of "*Candidatus* Ehrlichia Pampeana" in *Haemaphysalis juxtakochi* Ticks and Gray Brocket Deer (Mazama gouazoubira) from Uruguay. Microorganisms. 9, 2165. https://doi.org/10.3390/microorganisms9102165

Fernandez RD, Ceballos SJ, Aragón R, Malizia A, Montti L, Whitworth-Hulse J, Castro-Díez P, Grau HR. 2020. A Global Review of *Ligustrum Lucidum* (OLEACEAE) Invasion. 86, 93–118. https://doi.org/10.1007/s12229-020-09228-w

Flores FS, Saracho-Bottero MN, Tarragona EL, Sebastian PS, Copa GN, Guardia L, Mangold AJ, Venzal JM, Nava S. 2023. Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) associated with wild birds in Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 14, 102135. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102135

Flores FS, Sebastian PS, Nava S. 2024. Molecular detection of *Candidatus* Ehrlichia pampeana (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in *Haemaphysalis juxtakochi* (Acari:

Ixodidae) from central Argentina. Vet. Res. Commun. 48, 585–589. https://doi.org/10.1007/s11259-023-10219-6

Friis RH, Sellers TA. 2021. Epidemiology for public health practice, Sixth edition. Jones y Bartlett Learning. Burlington, MA, Estados Unidos.

Ganta RR, Peddireddi L, Seo GM, Dedonder SE, Cheng C, Chapes SK. 2009. Molecular characterization of *Ehrlichia* interactions with tick cells and macrophages. Front. Biosci. 14, 3259-3273. https://doi.org/10.2741/3449

Gasperin G, Aurélio Pizo M. 2009. Frugivory and habitat use by thrushes (*Turdus* spp.) in a suburban area in south Brazil. Urban Ecosyst. 12, 425–436. https://doi.org/10.1007/s11252-009-0090-2

GBIF.org, 2025. Descarga de ocurrencia de GBIF https://doi.org/10.15468/dl.qm9dy3.

Guendulain C, Tamiozzo P, Bessone A, Giménez F, Cabello S, Bonacci M. 2020. Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs from different locations of the province of Córdoba, Argentina. Revista Ab Intus. 7. https://www.ayv.unrc.edu.ar/ojs/index.php/Ab_Intus/article/view/31

Guglielmone AA, Mangold AJ, Viñabal AE. 2000. *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in Relation to Phytogeography of Central-Northern Argentina with Notes on Hosts and Seasonal Distribution. Exp. Appl. Acarol. 24, 983–989. https://doi.org/10.1023/a:1010775528628

Guglielmone AA, Nava S, Robbins RG. 2023. Geographic distribution of the hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) of the world by countries and territories. Zootaxa. 5251, 1–274. https://doi.org/10.11646/zootaxa.5251.1.1

Guglielmone AA, Nava S, Robbins RG. 2021. Neotropical Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae): A Critical Analysis of Their Taxonomy, Distribution, and Host Relationships. Springer International Publishing. Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-72353-8

Gurvich DE, Villegas F. 2020. Asociaciones entre las coberturas del suelo y las comunidades de aves en las Sierras Chicas de Córdoba (Argentina). Fund. Azara Univ. Maimonides Hist. Nat. 10, 85–111. https://fundacionazara.org.ar/revista-historia-natural-volumen-10-numero-3-2020/

Gutiérrez CN, Pérez-Ybarra L, Agrela IF. 2016. Ehrlichiosis canina. Saber. 28, 641–665.

Halac E. 2016. Infección por *Ehrlichia* en un niño: características clínicas y revisión de la bibliografía. Arch. Argent. Pediatr. 114. https://doi.org/10.5546/aap.2016.e199

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp. Ser. 41.

Hancock PA, Brackley R, Palmer SCF. 2011. Modelling the effect of temperature variation on the seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* tick populations. Int. J. Parasitol. 41, 513–522. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.12.012

Hegarty BC, Maggi RG, Koskinen P, Beall MJ, Eberts M, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. 2012. *Ehrlichia muris* Infection in a Dog from Minnesota. J. Vet. Intern. Med. 26, 1217–1220. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00968.x

Hornok S, Takács N, Szőke K, Kunz B. 2015. First record of *Ixodes ariadnae* in Germany — Short communication. Acta Vet. Hung. 63, 347–351. https://doi.org/10.1556/004.2015.032

Horta MC, Sabatini GS, Moraes-Filho J, Ogrzewalska M, Canal RB, Pacheco RC, Martins TF, Matushima ER, Labruna MB. 2010. Experimental Infection of the Opossum *Didelphis aurita* by *Rickettsia felis, Rickettsia bellii*, and *Rickettsia parkeri* and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*. Vector-Borne Zoonotic Dis. 10, 959–967. https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0149

Ismail N, McBride JW. 2017. Tick-Borne Emerging Infections. Clin. Lab. Med. 37, 317–340. https://doi.org/10.1016/j.cll.2017.01.006

Joan T. 1930. El *Amblyomma* [sic] de Cooper y demás garrapatas de los carpinchos. 5ª Reunión Soc. Argent. Patol. Reg. Norte 1168–1179.

Johnson DKH, Schiffman EK, Davis JP, Neitzel DF, Sloan LM, Nicholson WL, Fritsche TR, Steward CR, Ray JA, Miller TK, Feist MA, Uphoff TS, Franson JJ, Livermore AL, Deedon AK, Theel ES, Pritt BS. 2015. Human Infection with *Ehrlichia muris* –like Pathogen, United States, 2007–20131. Emerg. Infect. Dis. 21, 1794–1799. https://doi.org/10.3201/eid2110.150143

Jongejan F, Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. Parasitology. 129, 3–14. https://doi.org/10.1017/S0031182004005967

Kawahara M, Suto C, Rikihisa Y, Yamamoto S, Tsuboi Y. 1993. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse. J. Clin. Microbiol. 31, 89–96. https://doi.org/10.1128/jcm.31.1.89-96.1993

Kohls GM. 1960. Records and New Synonymy of New World Haemaphysalis Ticks, with Descriptions of the Nymph and Larva of *H. juxtakochi* Cooley. J. Parasitol. 46, 355. https://doi.org/10.2307/3275499

Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol. Biol. Evol. 33, 1870–1874. https://doi.org/10.1093/molbev/msw054

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

Lamattina D, Venzal JM, Costa SA, Arrabal JP, Flores S, Berrozpe PE, González-Acuña D, Guglielmone AA, Nava S. 2018. Ecological characterization of a tick community across a landscape gradient exhibiting differential anthropogenic disturbance in the Atlantic Forest ecoregion in Argentina. Med. Vet. Entomol. 32, 271–281. https://doi.org/10.1111/mve.12295

Lin M, Xiong Q, Chung M, Daugherty SC, Nagaraj S, Sengamalay N, Ott S, Godinez A, Tallon LJ, Sadzewicz L, Fraser C, Dunning Hotopp JC, Rikihisa Y. 2021. Comparative Analysis of Genome of Ehrlichia sp. HF, a Model Bacterium to Study Fatal Human Ehrlichiosis. BMC Genomics. 22, 11. https://doi.org/10.1186/s12864-020-07309-z

Lobanov VA, Gajadhar AA, Al-Adhami B, Schwantje HM. 2012. Molecular Study of Free-ranging Mule Deer and White-tailed Deer from British Columbia, Canada, for Evidence of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp.: Evidence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* Infections in Wild Deer. Transbound. Emerg. Dis. 59, 233–243. https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01259.x

Lopes MG, Muñoz-Leal S, De Lima JTR, Fournier GFDSR, Acosta IDCL, Martins TF, Ramirez DG, Gennari SM, Labruna MB. 2018. Ticks, rickettsial and erlichial infection in small mammals from Atlantic forest remnants in northeastern Brazil. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 7, 380–385. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.10.001

Machado RZ, André MR, Werther K, De Sousa E, Gavioli FA, Alves Junior JRF. 2012. Migratory and Carnivorous Birds in Brazil: Reservoirs for *Anaplasma* and *Ehrlichia* Species? Vector-Borne Zoonotic Dis. 12, 705–708. https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0803

Mangold AJ, Bargues MD, Mas-Coma S. 1998. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). Parasitol. Res. 84, 478–484. https://doi.org/10.1007/s004360050433

Martínez MC, Gutiérrez CN, Monger F, Ruiz J, Watts A, Mijares VM, Rojas MG, Triana-Alonso FJ. 2008. *Ehrlichia chaffeensis* in Child, Venezuela. Emerg. Infect. Dis. 14, 519–520. https://doi.org/10.3201/eid1403.061304

McDade JE. 1990. Ehrlichiosis-A Disease of Animals and Humans. J. Infect. Dis. 161, 609–617. https://doi.org/10.1093/infdis/161.4.609

Mills JN, Gage KL, Khan AS. 2010. Potential Influence of Climate Change on Vector-Borne and Zoonotic Diseases: A Review and Proposed Research Plan. Environ. Health Perspect. 118, 1507–1514. https://doi.org/10.1289/ehp.0901389

Mills JN, Yates TL, Childs JE, Parmenter RR, Ksiazek TG, Rollin PE, Peters CJ. 1995. Guidelines for Working with Rodents Potentially Infected with Hantavirus. J. Mammal. 76, 716. https://doi.org/10.2307/1382742

Monje L, Varayoud J, Luque EH, Ramos JG. 2007. Neonatal exposure to bisphenol A modifies the abundance of estrogen receptor α transcripts with alternative 5′-untranslated regions in the female rat preoptic area. J. Endocrinol. 194, 201–212. https://doi.org/10.1677/JOE-07-0014

Monje LD, Fernandez C, Percara A. 2019. Detection of *Ehrlichia* sp. strain San Luis and *Candidatus* Rickettsia andeanae in *Amblyomma parvum* ticks. Ticks Tick-Borne Dis. 10, 111–114. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.09.008

Monsalve S, Mattar VS, González TM. 2009. Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. REVISTA MVZ CORDOBA. 14, 1762–1773.

Moro PL, Shah J, Li O, Gilman RH, Harris N, Moro MH. 2009. Serologic Evidence of Human Ehrlichiosis in Peru. Am. J. Trop. Med. Hyg. 80, 242–244. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.80.242

Muñoz-Leal S, Clemes YS, Lopes MG, Acosta ICL, Serpa MCA, Mayorga LFSP, Gennari SM, González-Acuña D, Labruna MB. 2019. 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, 101256. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.015

Muñoz-Leal S, Martins MM, Nava S, Landulfo GA, Simons SM, Rodrigues VS, Ramos VN, Suzin A, Szabó MPJ, Labruna MB. 2020. *Ornithodoros cerradoensis* n. sp. (Acari: Argasidae), a member of the *Ornithodoros talaje* (Guérin-Méneville, 1849) group, parasite of rodents in the Brazilian Savannah. Ticks Tick-Borne Dis. 11, 101497. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101497

Narosky T, Yzurieta D. 2010. Aves de Argentina y Uruguay: guía de identificación = Birds of Argentina & Uruguay: a field guide, Decimosexta edición. 16th edition. ed. Vazquez Mazzini Editores, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Nava S, Beati L, Venzal JM, Durden LA, Bermudez SE, Tarragona EL, Mangold AJ, Gleason D, Mastropaolo M, Guglielmone AA. 2023. Description of two new species in the *Ixodes ricinus* complex from the New World (Acari: Ixodidae), and redescription of *Ixodes affinis* Neumann, 1899. Zootaxa 5361, 53–73. https://doi.org/10.11646/zootaxa.5361.1.2

Nava S, Guglielmone AA. 2013. A meta-analysis of host specificity in Neotropical hard ticks (Acari: Ixodidae). Bull. Entomol. Res. 103, 216–224. https://doi.org/10.1017/S0007485312000557

Nava S, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2009. Seasonal distribution of larvae and nymphs of *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). Vet. Parasitol. 166, 340–342. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.009

Nava S, Venzal JM, Martins TF, Guglielmone AA, González Acuña D. 2017. Ticks of the southern cone of America: diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press. Elsevier, Londres, San Diego, CA.

Nichols Heitman K, Dahlgren FS, Drexler NA, Massung RF, Behravesh CB. 2016. Increasing Incidence of Ehrlichiosis in the United States: A Summary of National Surveillance of *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* Infections in the United States, 2008–2012. Am. Soc. Trop. Med. Hyg. 94, 52–60. https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0540

Nicholson WL, Sonenshine DE, Noden BH, Brown RN. 2019. Ticks (Ixodida). En: Medical and Veterinary Entomology. Elsevier. Londres, San Diego, CA. 603–672. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00027-3

Ogrzewalska M, Pacheco RC, Uezu A, Richtzenhain LJ, Ferreira F, Labruna MB. 2009. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in an Atlantic rain forest region of Brazil. Journal of Medical Entomology. 46, 1225–1229. https://doi.org/10.1603/033.046.0534

Ogrzewalska M, Uezu A, Labruna MB. 2011. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the Atlantic Forest in northeastern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. Parasitol. Res. 108, 665–670. https://doi.org/10.1007/s00436-010-2111-8

Oksanen J, Simpson G, Blanchet G, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens H, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B. 2025. vegan: Community Ecology Package.

Oliveira LS, Oliveira KA, Mourão LC, Pescatore AM, Almeida MR, Conceição LG, Galvão MAM, Mafra C. 2009. First report of *Ehrlichia ewingii* detected by molecular investigation in dogs from Brazil. Clin. Microbiol. Infect. 15, 55–56. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02635.x

Oyarzabal M, Clavijo J, Oakley L, Biganzoli F, Tognetti P, Barberis I, Maturo HM, Aragón R, Campanello PI, Prado D, Oesterheld M, León RJC. 2018. Unidades de vegetación de la Argentina. Ecol. Austral. 28, 040–063. https://doi.org/10.25260/EA.18.28.1.0.399

Paddock CD, Childs JE. 2003. *Ehrlichia chaffeensis:* a Prototypical Emerging Pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 16, 37–64. https://doi.org/10.1128/CMR.16.1.37-64.2003

Palavecino CC, Cuervo PF, Fantozzi MC, Bontempi IA, Ruiz MF, Marengo RE, Beldomenico PM, Racca AL. 2025. Environmental Challenges and Co-Infection Modulate Resistance and Tolerance Against *Trypanosoma Cruzi* and *Trichinella*

*Spiralis* in Rats. J. Exp. Zool. Part Ecol. Integr. Physiol. 343, 438–451. https://doi.org/10.1002/jez.2902

Pereyra F. 2003. Ecoregiones de la Argentina. Buenos Aires, Servicio Geológico Minero Argentino.

Perez M, Rikihisa Y, Wen B. 1996. *Ehrlichia canis*-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. J. Clin. Microbiol. 34, 2133–2139. https://doi.org/10.1128/jcm.34.9.2133-2139.1996

Polanco Echeverry DN, Ríos Osorio LA. 2016. Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. Cienc. Tecnol. Agropecu. 17, 81–95. https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num1_art:463

Popov VL, Chen SM, Feng HM, Walker OH. 1995. Ultrastructural variation of cultured *Ehrlichia chaffeensis*. J. Med. Microbiol. 43, 411–421. https://doi.org/10.1099/00222615-43-6-411

R Core Team. 2024. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Randolph SE. 2009. Tick-borne disease systems emerge from the shadows: the beauty lies in molecular detail, the message in epidemiology. Parasitology. 136, 1403–1413. https://doi.org/10.1017/S0031182009005782

Randolph SE. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. Parasitology. 129, S37–S65. https://doi.org/10.1017/S0031182004004925

Rar V, Golovljova I. 2011. *Anaplasma, Ehrlichia*, and "*Candidatus* Neoehrlichia" bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. Infect. Genet. Evol. 11, 1842–1861. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.09.019

Rikihisa Y. 2015. Molecular Pathogenesis of *Ehrlichia chaffeensis* Infection. Annu. Rev. Microbiol. 69, 283–304. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104411

Ripoll CM, Remondegui CE, 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. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.61.350

Romero VL, Chatellenaz ML. 2013a. Estructura social y densidad poblacional de Carpinchos (*Hydrochoerus Hydrochaeris*, Rodentia: Caviidae) en el Parque Nacional Mburucuya (Corrientes, Argentina). FACENA. 29, 39. https://doi.org/10.30972/fac.290873

Romero VL, Chatellenaz ML. 2013b. Densidad de *Mazama gouazoubira* (artiodactyla, cervidae) en un Parque Nacional del Nordeste de Argentina. Acta Zool. Mex. 388–399.

Sacchi ABV, Duarte JMB, André MR, Machado RZ. 2012. Prevalence and molecular characterization of Anaplasmataceae agents in free-ranging Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 35, 325–334. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.02.001

Salazar-Bravo J, Pinto C. 2007. Mamíferos de la Argentina: Sistemática y distribución. Mastozoología Neotropical. https://www.biodiversitylibrary.org/part/113543

Sánchez-Montes S, Salceda-Sánchez B, Bermúdez SE, Aguilar-Tipacamú G, Ballados-González GG, Huerta H, Aguilar-Domínguez M, Mora JDL, Licona-Enríquez JD, Mora DDL, López-Pérez AM, Torres-Castro MA, Alcántara-Rodríguez V, Becker I, Colunga-Salas P. 2021. *Rhipicephalus sanguineus* Complex in the Americas: Systematic, Genetic Diversity, and Geographic Insights. Pathogens. 10, 1118. https://doi.org/10.3390/pathogens10091118

Saracho Bottero MNS, Beati L, Venzal JM, Guardia L, Thompson CS, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2021. *Ixodes silvanus* n. sp. (Acari: Ixodidae), a new member of the subgenus Trichotoixodes Reznik, 1961 from northwestern Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 12, 101572. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101572

Sebastian PS, Lamattina D, Vaschalde PJ, Flores FS, Torrents J, Tarragona EL. 2025. Babesia sp. of the “South American Marsupialia Group”: First molecular detection in *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae) from Argentina. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep. 58, 101205. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2025.101205

Sebastian PS, Winter M, Abate SD, Tarragona EL, Nava S. 2022. Molecular Detection of *Candidatus* Rickettsia andeanae and *Ehrlichia* sp. in *Amblyomma pseudoconcolor* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) from the Argentinian Patagonia. Animals. 12, 3307. https://doi.org/10.3390/ani12233307

Segura EM, Lescano JN, Giorgis MA. 2019. Efecto de la invasión de *Ligustrum lucidum* sobre las comunidades de anfibios del Bosque Chaqueño Serrano de Córdoba. Ciencias Biológicas. Centro de Zoología Aplicada. Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba., Córdoba.

Sikes RS. the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016. 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education: J. Mammal. 97, 663–688. https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078

Silva ÁB, Canseco SP, Silva AM, Mayoral MÁ, Mayoral LPC, Martínez JL. 2014. Infección humana asintomática por contacto con perros. Un caso de ehrlichiosis humana. Gac. Médica México. 2, 171–174.

Sonenshine DE, Mather TN. 1994. Ecological dynamics of tick-borne zoonoses. Oxford University Press, New York.

Sonenshine DE, Roe M. 2014a. Biology of ticks. Volume 1. 2nd ed. ed. Oxford university press, New York.

Sonenshine DE, Roe M. 2014b. Biology of ticks. Volume 2. Second edition. ed, Ebrary online. Oxford University Press, Oxford New York.

Stuen S, Nevland S, Moum T. 2003. Fatal Cases of Tick-Borne Fever (TBF) in Sheep Caused by Several 16S rRNA Gene Variants of *Anaplasma phagocytophilum*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 990, 433–434. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07407.x

Tarragona EL, Zurvera D, Manzoli DE, Correa AI, Delgado AM, Magni C, Beldomenico PM. 2014. Inmovilización química y evaluación fisiológica de comadreja overa, *Didelphis albiventris* (Lund, 1841) silvestres de la provincia de Santa Fe, Argentina. Fac. Cienc. Vet, InVet. 16, 79–85.

Tarragona EL, Flores FS, Herrera CL, Dalinger M, Aguirre N, Monje LD, Nava S. 2019. Primer reporte de un caso de ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Santa Fe, Argentina. FAVE Sección Cienc. Vet. 18, 49–54. https://doi.org/10.14409/favecv.v18i2.8438

Tarragona EL, Flores FS, Lamattina D, Torrents J, Sebastian PS, Nava S. 2022. Two novel *Ehrlichia* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) strains detected in ticks (Ixodida,

Ixodidae) and opossums (Didelphimorphia: Didelphidae) in Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 13, 102043. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102043

Teixeira RHF, Luz HR, Pacheco RC, Onofrio VC, Amorim M, Gazêta GS, Da Silva PDJ, Bitencourth K, Marques S, Mattos Jr MO, Hernandes LSI, Milanelo L, Furuya HR, Da Silva VP, Petri B, Fitorra LS, Das Dores FT, Sanches TC, Zwarg T, Joppert AMJ, Navas-Soares PE, Fagundes-Moreira R, Soares JF, Da Costa ALM, Galassi GG, Spina MA, Horta MC, Faccini JLH, Labruna MB, Martins TF. 2020. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild raptors in Brazil. Int. J. Acarol. 46, 357–363. https://doi.org/10.1080/01647954.2020.1802512

Teta P, Jayat JP. 2021. Identification keys to murid rodents of Argentina. Therya. 12, 501–526. https://doi.org/10.12933/therya-21-1110

Thomas RJ, Dumler JS, Carlyon JA. 2009. Current management of human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis and *Ehrlichia ewingii* ehrlichiosis. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 7, 709–722. https://doi.org/10.1586/eri.09.44

Thompson CS, Mangold AJ, Félix ML, Carvalho L, Armúa-Fernández MT, Venzal JM. 2018. Molecular evidence of *Babesia* species in Procyon cancrivorus (Carnivora, Procyonidae) in Uruguay. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep. 13, 230–233. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.07.008

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: 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. https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673

Tomassone L, Nuñez P, Gürtler RE, Ceballos LA, Orozco MM, Kitron UD, Farber M. 2008. Molecular Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in *Amblyomma parvum* Ticks, Argentina. Emerg. Infect. Dis. 14, 1953–1955. https://doi.org/10.3201/eid1412.080781

Unver A, Perez M, Orellana N, Huang H, Rikihisa Y. 2001. Molecular and Antigenic Comparison of *Ehrlichia canis* Isolates from Dogs, Ticks, and a Human in Venezuela. J. Clin. Microbiol. 39, 2788–2793. https://doi.org/10.1128/JCM.39.8.2788-2793.2001

Usmani M, Rizvi F, Shakir M, Mahmood N, Numan M, Abdullah R, Tahir J, Shafiq M, Hameed H. 2023. Factors Influencing the Emergence and Re-emergence of Zoonotic

Infectious Diseases in Livestock and Human Populations. Int. J. Agric. Biosci. 316–326. https://doi.org/10.47278/book.zoon/2023.023

Vaschalde PJ, Barolin J, Monje LD, Flores FS. 2025a. Established populations of *Ixodes silvanus* (Acari: Ixodidae) in the Chaco Serrano, Argentina. Exp. Appl. Acarol. 94, 12. https://doi.org/10.1007/s10493-024-00983-8

Vaschalde PJ, Flores FS, Facelli Fernández MC, Barolin J, Tauro LB, Monje LD. 2023. Anaplasmataceae presence in *Amblyomma calcaratum* associated with anteaters (*Tamandua tetradactyla*) in the rainforest ecoregion, Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 14, 102222. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102222

Vaschalde PJ, Flores FS, Tauro LB, Monje LD. 2025b. Wild birds as hosts of ticks (Acari: Ixodidae) and Anaplasmataceae (Rickettsiales) in the Atlantic rainforest ecoregion, Argentina. Med. Vet. Entomol. 39, 187–199. https://doi.org/10.1111/mve.12772

Vazquez MS, Scorolli AL, Zalba SM. 2023. Benefiting from change: range-expanding native thrushes in Argentina. Ornithology Research. 8, 1-11 https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3353117/v1

Venzal JM, Félix ML, Olmos A, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2005. A collection of ticks (Ixodidae) from wild birds in Uruguay. Experimental & Applied Acarology. 36, 325–331. Available from: https://doi.org/10.1007/s10493-005-8433-z

Venzal JM, Tarragona EL, Flores FS, Félix ML, Cicuttin GL, Sebastian PS, Labruna MB, Guglielmone AA, Nava S. 2025. The *Ixodes auritulus* complex (Acari: Parasitiformes: Ixodidae) in the Southern Cone of America. Syst. Parasitol. 102, 35. https://doi.org/10.1007/s11230-025-10230-2

Vergara Tabares DL, Rojas TN. 2016. Year-round presence of Slaty Thrush (*Turdus nigriceps nigriceps*) in mountains of central Argentina. Soc. Bras. Ornitol. Ararajuba 24.

Wang Y, Naumann U, Eddelbuettel D, Wilshire J, Warton D. 2022. mvabund: Statistical Methods for Analysing Multivariate Abundance Data.

Wen B, Rikihisa Y, Mott J, Fuerst PA, Kawahara M, Suto C. 1995. *Ehrlichia muris* sp. nov., Identified on the Basis of 16S rRNA Base Sequences and Serological,

Morphological, and Biological Characteristics. Int. J. Syst. Bacteriol. 45, 250–254. https://doi.org/10.1099/00207713-45-2-250

Wickham H, François R, Henry L, Müller K, Vaughan D. 2023. dplyr: A Grammar of Data Manipulation.

Wilson IG. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. Appl. Environ. Microbiol. 63, 3741–3751. https://doi.org/10.1128/aem.63.10.3741-3751.1997

Winter M, Sebastian PS, Tarragona EL, Flores FS, Abate SD, Nava S. 2024. Tick-borne microorganisms in *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) from the Patagonian region of Argentina. Exp. Appl. Acarol. 92, 151–159. https://doi.org/10.1007/s10493-023-00874-4

Yu X, McBride JW, Walker DH. 2007. Restriction and expansion of *Ehrlichia* strain diversity. Vet. Parasitol. 143, 337–346. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.027

Yu XJ, Walker DH. 2006. The Order Rickettsiales. En: The Prokaryotes. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E. Springer. New York. 493–528. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_20

Zhang J, Popov VL, Gao S, Walker DH, Yu X. 2007. The developmental cycle of *Ehrlichia chaffeensis* in vertebrate cells. Cell. Microbiol. 9, 610–618. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00812.x

# ANEXO I

**Tabla 18.** Secuencias obtenidas en la presente tesis doctoral. TA: Tamaño del amplicón.

| Nombre de la cepa | Gen | Fragmento | TA (pb) | Hospedador |
|---|---|---|---|---|
| *"Candidatus* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá | 16S ARNr | TGCAGTCGAACGAATAATTATTTGTAGCCTCGGCTATAAGTAATTGTTAGTGGCAGACG GGTGAGTAATGCGTAGGAATCTACCTAGTAGTATGGAATAGCCATTAGAAATGATGGGT AATACTGTATAATCCCTGCGGGGGAAAGATTTATCGCTATTAGATGAGCCTACGTTAGA TTAGCTAGTTGGTAAGGTAATGGCTTACCAAGGCTATGATCTATAGCTGGTCTGAGAGG ACGATCAGCCACACTGGAACTGAGATACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG GGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCTATGCCGCGTGAGTGAAGAAG GCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAATAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAAGAA GTC | 411 | 47 larvas de *H. juxtakochi* |
| *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 | 16S ARNr | CGGATAATTTTTTATAGCCTTTTGGCTATAAGTGATTGTTAGTGGCAGACGGGTGAGTA ATGCGTAGGAATCTACCTAGTAGTATGGAATAGCCATTAGAAATGATGGGTAATACTGT ATAATCCCTGCGGGGGAAAGATTTATCGCTATTAGATGAGCCTACGTTAGATTAGCTAG TTGGTAGGGTAATGGCTTACCAAGGCTATGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCA GCCACACTGGAACTGAGATACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATA TTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCTATGCCGCATGAGTGAAGAAGGCCTTCG GGTTGTAAAACTCTTTCAATAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAAGAAGTCCCGG G | 408 | *Turdus rufiventris* |

*Continuación Tabla 18.*

| **Nombre de la cepa** | **Gen** | **Fragmento** | **TA (pb)** | **Hospedador** |
|---|---|---|---|---|
| *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 | 16S ARNr | AATTTTTCTATAGCCTTTTGGCTATAAGTGATTGTTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGC GTAGGAATCTACCTAGTAGTATGGAATAGCCATTAGAAATGATGGGTAATACTGTATAA TCCCTGCGGGGGAAAGATTTATCGCTATTAGATGAGCCTACGTTAGATTAGCTAGTTGG TAGGGTAATGGCTTACCAAGGCTATGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCA CACTGGAACTGAGATACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGG ACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCTATGCCGCATGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTT GTAAAACTCTTTCAATAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAAGAAGTCC | 400 | *Turdus chiguanco* |
| *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 1 | 16S ARNr | GGACAGAGGCAGCGGGGAAGCCAGGAATTCATCATTCAGTACAGAAGAATTCCCGGC CAACTCAGATCTACCTAGTAGTATGGAATAGCCATTAGAAATGATGGGTAATACTGTAT AATCCCTGCGGGGGAAAGATTTATCGCTATTAGATGAGCCTACGTTAGATTAGCTAGTT GGTAGGGTAATGGCTTACCAAGGCTATGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGC CACACTGGAACTGAGATACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT GGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCTATGCCGCATGAGTGAAGAAGGCCTTCGGG TTGTAAAACTCTTTCAATAGGGAAGATAATGACGGTACCTACAGAAGAAGTCCCGGGC | 405 | 1 ninfa *I. silvanus* |

*Continuación Tabla 18.*

| **Nombre de la cepa** | **Gen** | **Fragmento** | **TA (pb)** | **Hospedador** |
|---|---|---|---|---|
| *"Candidatus* Ehrlichia pampeana" cepa Mburucuyá | *groEL* | ATGATAAGTTGGTGATGGAACAACTTACATTGTTTCCTATCTTGACTGCAAAAGTCTATA<br>GAAGAAAGTATCTAAAGCTAAAGCTGCTGGAGCTGATATTGTTTCGTATCAAAGAAGGA<br>GTACTTAAGGCTAAAGAAGCTGTATTAGAAGCTTTAATGTCTATGAAGCGTGAAGTGCT<br>ATCTGAAGAGGAAATTGCTCAAGTTGCTACTATTTCTGCTAATGGAGATAAGAATATAG<br>GTGGTAAGATTGCACAGTGTGTTAAAGAAGTTGGTAAAGATGGAGTTATTACAGTTGAG<br>GAAAGTAAAGGATTTAAGGAATTAGATGTTGAAAAAACTGATGGTATGCAGTTTGATCG<br>TGGATACCTTTCTCCTTATTTTGTTACTAATTCAGAAAAAATGTTAGTGGAGTTTGAAAAT<br>CCTTATATTTTACTAACAGAAAAAAAACTTAATATAATACAACCTATACTACCAATTTTAG<br>AAAATGTAGCTAGATCAGGAAGACCTCTTTTAATTATTGCAGAAGATGTAGAAGGTGAA<br>GCACTTAGTACTCTTGTATTAAATAAATTACGTGGTGGATTGCATGTTGCAGCAGTTAAA<br>GCGCCAGGATTTGGTGATAGAAGAAAAGATATGTTAGGCGATATTGCAATCTTAACTGG<br>AGCTAAACATGTCATTAACGATGAACTTGCAATAAAAATGGAAGACCTAACTTTGGCTG<br>AATTAGGAACAGCTAAGAATGTACGTATTACAAAAGATACTACTACTATTATTGGTAGTG<br>TAGATAATAGCTCTACTAATGTACAAAATAGAATTAATCATATTAAAGTACAAATTGAATC<br>TTCTACTTCAGATTATGATAAAGAAAAATTAAGAGAACGTTTGGCTAAACTTTCAGGTGG<br>TGTTGCTGTATTAAAAGTAGGCGGATCTAGTGAAGTTGAAGTTAAAGAACGTAAAGATC<br>GTGTTGAAGATGCTCTGCATGCCACTAGAGCTGCTGTTGAAGAAGGTGTTGTACCAGG<br>GAGGAGGTGCTGCATTATTGTATACATTATCAGTTCTTGACAATTTCACGAGCAATAATG<br>ATGATGACCAATTGGGCATTAACTTGGGAAACATGCATTAGAGCTCCTATCACCCTCCA<br>CTAAAATTCGGAACG | 1146 | 47 larvas de *H. juxtakochi* |

*Continuación Tabla 18.*

| **Nombre de la cepa** | **Gen** | **Fragmento** | **TA (pb)** | **Hospedador** |
|---|---|---|---|---|
| *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2B | *groEL* | GTGATGAATCGACTTCTCATTGGTATGATAAGTTGGGGATGGAACAACTACATGTTCTATTTTAA<br>CTGCAAAAGTTATAGAAGAAGTATCTAAAGCGAAAGCTGCTGGAGCAGATATTGTATGTATAAA<br>AGAAGGTGTGCTAAAAGCTAAAGAAGCTGTGCTAGAAGCGTTAATGTCCATGAAGCGTGAAGT<br>ATTGTCTGAAGAAGAAATTGCTCAAGTTGCTACTATTTCAGCTAATGGAGATAAGAACATAGGT<br>AGTAAAATTGCACAATGTGTTCAGGAGGTTGGTAAAGATGGGGTTATTACAGTTGAAGAAAGCA<br>AAGGCTTCAAAGAGTTAGATGTTGAAAAAACTGATGGTATGCAGTTCGATCGCGGATACCTTTC<br>TCCTTATTTTGTGACTAACTCAGAAAAGATGTTGGTAGAATTTGAAAATCCTTATATCTTATTAAC<br>AGAAAAGAAACTTAATATAATACAGCCTATATTACCAATTTTAGAAAATGTAGCTAGATCAGGAA<br>GGCCTCTTTTAATTATTGCAGAGGATGTAGAAGGTGAAGCACTGAGCACTCTTGTTTTAAATAA<br>ATTACGTGGTGGATTGCATGTAGCAGCAGTTAAAGCGCCAGGATTTGGTGATAGAAGAAAAGA<br>TATGCTAGGTGATATTGCTATTTTAACTGGAGCTAAGCATGTAATAAGTGACGATCTTGCAATAA<br>AGATGGAAGATTTAACTTTAGCTGAATTGGGTACTGCTAAGAATATACGTATTACAAAGGATACT<br>ACTACTATTATTGGTAGTGTAGATAATAGTTCTGTTAATGTGCAAAGTAGAATTAATCAAATTAAA<br>ATGCAAATTGAAACTTCTACTTCAGATTATGATAAAGAAAAATTAAGAGAGCGTTTGGCTAAATT<br>ATCAGGTGGTGTTGCTGTATTAAAAGTTGGTGGATCTAGTGAAGTTGAAGTTAAGGAACGTAAA<br>GACCGTGTTGAGGATGCTTTGCATGCAACTAGAGCTGCTGTTGAAGAAGGTGTTGTGCCAGGA<br>GGCGGTGCTGCATTATTATATACATAATCGGTTCTTGAAAGTTTAAAAGCAGAAATGATGATGA<br>ACATTAGGTATTAATATTGTAGAACGTGCTTAACAGACTCCCATTAACCCCCCCTCAAAATTCTG<br>GATCGAAGATGCTCAGTGTATGTCTAGTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | 1220 | *Turdus amaurochalinus* |

*Continuación Tabla 18.*

| **Nombre de la cepa** | **Gen** | **Fragmento** | **TA (pb)** | **Hospedador** |
|---|---|---|---|---|
| *Ehrlichia* sp. cepa Manantiales 2A | *groEL* | GGCCCGCCGGCCCACCTAGTTAATCGTATTTGTTATAACCCTGGATCTTCTACCTCCTT TCAATTTTAACTGCAAAAGTTATAGAAGAAGTATCTAAAGCGAAAGCTGCTGGAGCAGA TATTGTATGTATAAAAGAAGGTGTGCTAAAAGCTAAAGAAGCTGTGCTAGAAGCGTTAA TGTCCATGAAGCGTGAAGTATTGTCTGAAGAAGAAATTGCTCAAGTTGCTACTATTTCA GCTAATGGAGATAAGAACATAGGTAGTAAAATTGCACAATGTGTTCAGGAGGTTGGTAA AGATGGGGTTATTACAGTTGAAGAAAGCAAAGGCTTCAAAGAGTTAGATGTTGAAAAAA CTGATGGTATGCAGTTCGATCGCGGATACCTTTCTCCTTATTTTGTGACTAACTCAGAA AAGATGTTGGTAGAATTTGAAAATCCTTATATCTTATTAACAGAAAAGAAACTTAATATAA TACAGCCTATATTACCAATTTTAGAAAATGTAGCTAGATCAGGAAGGCCTCTTTTAATTA TTGCAGAGGATGTAGAAGGTGAAGCACTGAGCACTCTTGTTTTAAATAAATTACGTGGT GGATTGCATGTAGCAGCAGTTAAAGCGCCAGGATTTGGTGATAGAAGAAAAGATATGC TAGGTGATATTGCTATTTTAACTGGAGCTAAGCATGTAATAAGTGACGATCTTGCAATAA AGATGGAAGATTTAACTTTAGCTGAATTGAGTACTGCTAAGAATATACGTATTACAAAGG ATACTACTACTATTATTGGTAGTGTAGATAATAG | 805 | 4 larvas *I. silvanus* |

# ANEXO II

## SELVA PARANAENSE

Previo al comienzo de las campañas de muestreo y en el marco de los objetivos planteados en la presente tesis, fue de suma importancia analizar muestras provenientes de diversas ecorregiones. Gracias a una colaboración entre el Dr. Fernando S. Flores y la Dra. Laura Tauro, se han examinado muestras de aves y garrapatas, recolectadas durante un muestreo de tres días consecutivos en abril del 2021, en el Parque Provincial Moconá (PPM; -27,151699; -53,901759) y el Parque Provincial Piñalito (PPP; -26,428815; -53,843059). Ambos sitios se encuentran en la ecorregión Selva Paranaense, Misiones, Argentina, caracterizado por un clima tropical húmedo sin una marcada estación seca y reconocido por su notable diversidad y endemismo de varias especies (Marques y Grelle, 2021).

Para la captura, identificación de especie, recolección de muestra de sangre, recolección de garrapatas y posterior liberación de los ejemplares, se siguió el mismo protocolo detallado en la sección de Materiales y Métodos de esta tesis. Las capturas fueron realizadas con la correspondiente autorización de las autoridades argentinas del Ministerio de Ecología y Recursos Naturales Renovables de Misiones (n.º: 9959-12-2021-1).

En el laboratorio, las garrapatas recolectadas fueron identificadas taxonómicamente y se procedió a la extracción de ADN de garrapata utilizando el Kit High Pure PCR Template Preparation (Roche, Germany), se realizó individualmente cuando solo se encontró una garrapata de una especie o estadio en un hospedador, o en grupos de dos a cinco garrapatas cuando se encontraron varias garrapatas de la misma especie y estadio en un hospedador. La extracción de ADN a partir de sangre entera de las aves, se realizó según el protocolo descrito previamente en la sección de Materiales y Métodos. Del mismo modo, el cribado inicial para la detección de miembros de la familia Anaplasmataceae, así como las PCR convencionales realizadas sobre las muestras positivas, se llevaron a cabo según lo especificado en dicha sección. Las secuencias obtenidas fueron posteriormente analizadas mediante herramientas de filogenia molecular, siguiendo el procedimiento ya descrito.

De este muestreo, se capturaron un total de 142 aves (68 del PPM y 74 del PPP), representando 34 especies, 28 géneros, 15 familias y cinco órdenes (un individuo de Caprimulgiformes, uno de Columbiformes, uno de Strigiformes, uno de Piciformes y

30 Passeriformes). Treinta y tres de estas aves (23,24%; 19 especies y 14 géneros), todas del orden Passeriformes, fueron encontradas parasitadas por garrapatas duras. Las familias Turdidae (26 individuos de cuatro especies) y Thraupidae (44 individuos de cinco especies) presentaron el mayor número de aves infestadas por garrapatas, con una prevalencia del 30,8% y del 15,9%, respectivamente. En el MPP, se encontró que 15 aves (22,1%; IC del 95%: 13,9-33,3), representativas de 12 especies y seis familias, estaban parasitadas por ejemplares inmaduros de *A. calcaratum* (cuatro larvas y tres ninfas), *Amblyomma longirostre* (12 larvas y dos ninfas) y *Haemaphysalis leporispalustris* (cinco larvas). De manera similar, en PPP, 18 aves (24,3 %) pertenecientes a 12 especies y ocho familias fueron parasitadas por *A. calcaratum* (nueve larvas y una ninfa), *A. longirostre* (19 larvas y dos ninfas) y *A. ovale* (una larva y una ninfa). Además, se recolectaron 39 *A. calcaratum* (una ninfa, 34 machos y cuatro hembras) sobre un ejemplar atropellado de *Tamandua tetradactyla* revisado *in situ*, hallado al costado de la Ruta Provincial 2 (-27,214580; -54,030876).

Se analizaron un total de 50 muestras de sangre de aves y 26 garrapatas (17 muestras: 13 individuos y cuatro grupos) de MPP y 55 muestras de sangre de aves y 32 garrapatas (19 muestras: 12 individuos y siete grupos) de PPP. Además, 39 muestras de garrapatas recolectadas del *T. tetradactyla.* Todas las muestras de ADN de aves dieron positivo en la PCR del gen cytB, significando que la integridad del ADN. Se detectó ADN de Anaplasmataceae en cuatro muestras de aves de cuatro especies: tres aves del MPP (*Lepidocolaptes falcinellus*, *Pyriglena leucoptera* y *Syndactyla rufosuperciliata*) y un macho de *A. calcaratum* recolectada sobre *T. tetradactyla* dieron positivo para *Ehrlichia*. Todas las garrapatas recolectadas sobre aves dieron negativo para Anaplasmataceae.

De las muestras de aves positivas para *Ehrlichia*, se obtuvieron fragmentos largos del gen ARNr 16S de *L. falcinellus* (identificado como *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M66; PP314017) y *P. leucoptera* (identificado como *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M67; PP314016), pero no se pudo obtener un fragmento de *S. rufosuperciliata*. Del macho de *A. calcaratum* recolectada del *T. tetradactyla*, se obtuvo también un fragmento largo de 16S ARNr (identificado acá como *Ehrlichia* sp. cepa Ac-124; OQ682485). El análisis filogenético posicionó las secuencias de ARNr 16S obtenidas en un clado monofilético (Figura 33).

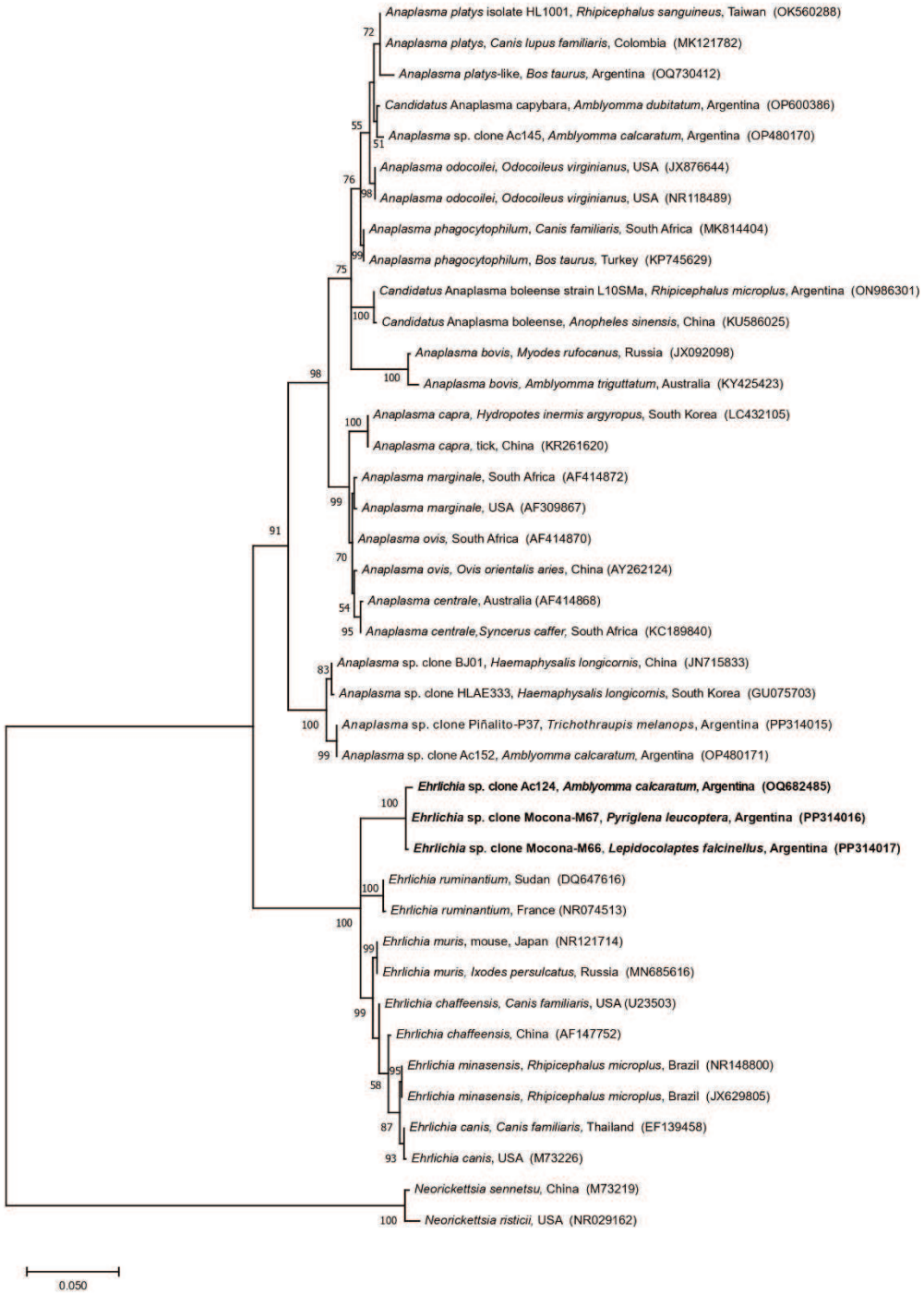


**Figura 34.** Árbol de máxima verosimilitud construido a partir de secuencias parciales de ARN ribosomal 16S de especies de *Ehrlichia* que infectan aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia (901 posiciones en el conjunto de datos final). Los modelos de sustitución con mejor ajuste, utilizando la prueba de modelos de máxima verosimilitud, se determinaron con el criterio de información de Akaike. El

modelo de Hasegawa-Kishino-Yano con una distribución gamma discreta fue seleccionado como el mejor modelo. Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, y no se muestran los valores inferiores al 50 %. Las secuencias generadas en este estudio se muestran en negrita. Los códigos de acceso a GenBank se muestran entre paréntesis.

Se obtuvieron dos secuencias *groEL* de las muestras *S. rufosuperciliata* (identificada como *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M06; PP341295) y *P. leucoptera* (correspondiente a *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M67; PP341296) y del macho de *A. calcaratum* del *T. tetradactyla* (correspondiente a *Ehrlichia* sp. cepa Ac-124; OP481049), pero no de *L. falcinellus*. El análisis filogenético con secuencias *groEL* ubicó a *Ehrlichia* sp. clon Mocona-M06 en el mismo clado que *Ehrlichia* cepa Delta (identidad groEL: 96,37 %; acceso a GenBank: MT681330), reportada en *Amblyomma triste* Koch, 1844 (Ixodida: Ixodidae) recolectada sobre la vegetación en el Delta del río Paraná (Cicuttin et al., 2020), mientras que *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M67 se posicionó en el mismo clado que *Ehrlichia* sp. cepa Ac-124 (identidad groEL: 98,55 %; acceso a GenBank: OP481049) y *Ehrlichia* sp. cepa Iberá (identidad groEL: 91,79 %; acceso a GenBank: MN266482), detectada infectando a un adulto de *Amblyomma tigrinum* en la ecorregión de los humedales del Iberá (Eberhardt et al., 2020) (Figura 34). Entre las tres muestras de aves positivas para *Ehrlichia*, solo *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M06 (PP328527) amplificó el gen *dsb*, cuya secuencia estaba relacionada con la secuencia correspondiente a *Ehrlichia* sp. cepa Delta (identidad: 90,23 %; acceso a GenBank: MT681330). El análisis filogenético de las secuencias *dsb* también posicionó a *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M06 en un clado separado con *Ehrlichia* sp. cepa Delta (Figura 34).

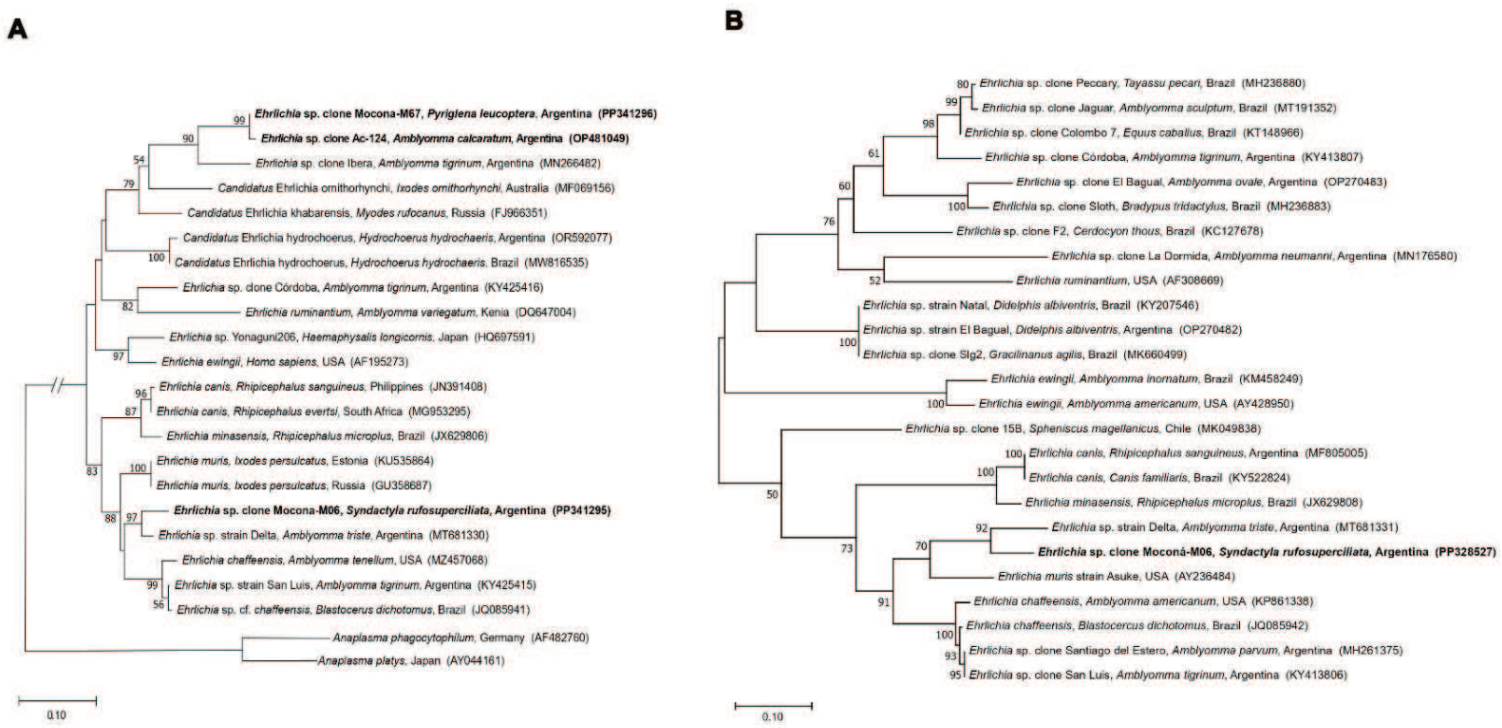


**Figura 34.** Árboles de máxima verosimilitud construidos a partir de secuencias parciales de especies de *Ehrlichia* que infectan aves en Argentina, en comparación con cepas de referencia: (a) secuencias *groEL* y (b) secuencias *dsb*. La selección del modelo se basó en los criterios de información de Akaike. El modelo de Hasegawa-Kishino-Yano, con una distribución gamma discreta (+G), fue seleccionado como el mejor modelo para secuencias groEL (1078 posiciones incluidas en el conjunto de datos final), mientras que el modelo de Tamura de 3 parámetros, con una distribución gamma discreta y sitios invariables (+G+I), fue seleccionado como el mejor modelo para secuencias dsb (317 posiciones incluidas en el conjunto de datos final). Los números representan el soporte de bootstrap generado a partir de 1000 repeticiones, y no se muestran los valores inferiores al 50 %. Secuencias Los datos generados en este estudio se muestran en negrita. Los códigos de acceso de GenBank se muestran entre paréntesis.

Los hallazgos de este estudio representan el primer reporte de cepas de *Ehrlichia* infectando a aves paseriformes y a adultos de *A. calcaratum* en Sudamérica (Vaschalde et al., 2024). Las cepas del género *Ehrlichia* (Ehrlichia sp. clones Mocona-M66 y Ehrlichia sp. clones Mocona-M67) reportadas en *L. falcinellus* y *P. leucoptera*, están estrechamente relacionadas con las detectadas en adultos de *A. calcaratum* recolectados en osos hormigueros de collar a 15 km del sitio de muestreo de las aves paseriformes (Vaschalde et al., 2023). Dado que no se ha demostrado la transmisión transovárica de Ehrlichia (Brouqui & Matsumoto, 2007) y considerando que las aves paseriformes son hospedadores comunes de ninfas y larvas de *A. calcaratum* (Guglielmone et al., 2021), se puede plantear la hipótesis de que *A. calcaratum* podría actuar como vector y algunas especies de aves paseriformes como hospedadores de los ciclos enzoóticos de las bacterias del género *Ehrlichia* aquí descritas. Sin embargo, su papel aún no se ha demostrado experimentalmente. En cuanto a la distribución geográfica de las especies de aves infectadas con estos agentes (*L. falcinellus, P. leucoptera* y *T. melanops*), esta se limita a la ecorregión del bosque atlántico de Argentina, junto con partes de Brasil, Paraguay y Uruguay, sin extenderse hacia el sur (BirdLife International, 2024), lo que coincide con la distribución de *A. calcaratum* (Nava et al., 2017).

Además, la cuarta secuencia detectada en aves en este estudio, *Ehrlichia* sp. cepa Mocona-M06, esta filogenéticamente relacionada con *Ehrlichia* sp. cepa Delta, previamente reportada en adultos de *A. triste* recolectados de la vegetación de la ecorregión del Delta y las Islas del Paraná, a 900 km al sur de los sitios estudiados (Cicuttin et al., 2020). A diferencia de la distribución de las especies de aves infectadas con las otras cepas de *Ehrlichia*, el rango geográfico de la especie de *S. rufosuperciliata* infectada con esta *Ehrlichia* se extiende más allá de la ecorregión del Bosque Atlántico, extendiéndose hacia el sur para incluir la ecorregión del Delta y las Islas del Paraná (BirdLife International, 2024).

En este estudio, las aves pertenecientes a las familias Turdidae y Thraupidae presentaron la mayor prevalencia de infestación por garrapatas, con un 30,77 % y un 15,91 %, respectivamente, lo que concuerda con investigaciones previas (Flores et al., 2023; Ogrzewalska et al., 2009; Venzal et al., 2005) y con los resultados de esta tesis. Estas familias, como se nombró anteriormente, son los hospedadores más importantes de las garrapatas duras neotropicales, lo que podría atribuirse a sus hábitos alimenticios, ya que estas aves pasan gran parte de su tiempo buscando

alimento en el suelo y entre los arbustos (Burns et al., 2014; Gasperin y Aurélio Pizo, 2009; Guglielmone et al., 2021; Narosky y Yzurieta, 2010).

Por último, en la Tabla 19 se pueden ver las nuevas asociaciones parásito-huésped para *A. calcaratum* y *A. longirostre* descritas en este trabajo (Vaschalde et al., 2024). Como se dijo anteriormente, estos hallazgos resaltan la diversidad de especies de aves que actúan como hospedadoras de estas garrapatas, las cuales están ampliamente distribuidas en la región neotropical y se alimentan principalmente de aves paseriformes durante sus etapas inmaduras (Guglielmone et al., 2021; Nava et al., 2017).

**Tabla 19.** Orden, familia, especie y número de aves silvestres capturadas y garrapatas Ixodidae colectadas en los Parques Provinciales Moconá (PPM) y Piñalito (PPP) de la ecorregión de la Selva Paraense. C: Número de capturas; I/C: Número total de aves infestadas/Número total de aves capturadas; P: Prevalencia de infestación (%); N: Número de garrapatas capturadas; AM: Abundancia media.

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPM** | COLUMBIDAE | Columbiformes | *Leptotila verreauxi* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PASSERIFORMES | Cardinalidae | *Cyanoloxia brissonii* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Cyanoloxia glaucocaerulea* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Conopophagidae | *Conopophaga lineata* | 1/1 | 100 | *Amblyomma calcaratum* | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | | Furnariidae | *Dendrocolaptes platyrostris* | 1/2 | 50 | *Amblyomma longirostre* | 0 | 1 | 0 | 0,5* |
| | | | *Lepidocolaptes falcinellus* | 1/3 | 33,3 | *Amblyomma longirostre* | 3 | 0 | 1* | 0 |
| | | | *Sittasomusgriseica pillus* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Synallaxis cinerascens* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Continuación Tabla 19.*

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPM** | PASSERIFORMES | Furnariidae | *Syndactyla rufosuperciliata* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Parulidae | *Myiothlypis bivittata* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Myiothlypis leucoblephara* | 1/4 | 25 | *Amblyomma calcaratum* | 1 | 0 | 0,25* | 0 |
| | | Pipridae | *Chiroxiphiacaudata* | 1/2 | 50 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,5 | 0 |
| | | | *Piprafasciicauda* | 1/4 | 25 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,25 | 0 |
| | | Thamnophilidae | *Dysithamnus mentalis* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Pyriglena leucoptera* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Thraupidae | *Saltator similis* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Tachyphonus coronatus* | 1/2 | 50 | *Amblyomma calcaratum* | 1 | 0 | 0,5* | 0 |

*Continuación Tabla 19.*

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPM** | PASSERIFORMES | Thraupidae | *Tachyphonus coronatus* | 1/2 | 50 | *Amblyomma longirostre* | 3 | 0 | 1,5 | 0 |
| | | | *Thlypopsis pyrrhocoma* | 1/2 | 50 | *Amblyomma calcaratum* | 1 | 0 | 0,5 | 0 |
| | | | | 1/2 | 50 | *Amblyomma longirostre* | 0 | 1 | 0 | 0,5 |
| | | | *Trichothraupis melanops* | 1/19 | 5,3 | *Amblyomma calcaratum* | 0 | 1 | 0 | 0,053 |
| | | | | 2/19 | 10,5 | *Amblyomma longirostre* | 2 | 0 | 0,11 | 0 |
| | | Tityridae | *Schiffornis virescens* | 0/3 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Turdidae | *Turdus albicollis* | 1/2 | 50 | *Amblyomma calcaratum* | 1 | 0 | 0,5 | 0 |
| | | | *Turdus leucomelas* | 1/6 | 16,7 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,17 | 0 |
| | | | *Turdus rufiventris* | 1/5 | 20 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,2 | 0 |

*Continuación Tabla 19.*

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPM** | PASSERIFORMES | Turdidae | *Turdus rufiventris* | 1/5 | 20 | *Haemophysalis leporispalustris* | 5 | 0 | 1 | 0 |
| | | Tyrannidae | *Leptopogon amaurocephalus* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | | | | | | |
| **PPP** | COLUMBIDAE | Columbiformes | *Leptotila verreauxi* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PASSERIFORMES | Cardinalidae | *Habia rubica* | 1/1 | 100 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | | *Cyanoloxia glaucocaerulea* | 1/1 | 100 | *Amblyomma calcaratum* | 0 | 1 | 0 | 1* |
| | | Conopophagidae | *Conopopha galineata* | 0/4 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Furnariidae | *Sittasomus griseicapillus* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Synallaxis cinerascens* | 1/2 | 50 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,5* | 0 |
| | | | *Synallaxis ruficapilla* | 1/1 | 100 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 1 | 0 |

*Continuación Tabla 19.*

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPP** | PASSERIFORMES | Passerellidae | *Zonotrichia capensis* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Parulidae | *Myiothlypis bivittata* | 1/5 | 20 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,2* | 0 |
| | | | *Myiothlypis leucoblephara* | 4/5 | 80 | *Amblyomma calcaratum* | 7 | 0 | 1,4* | 0 |
| | | Pipridae | *Chiroxiphia caudata* | 1/4 | 25 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,25 | 0 |
| | | Thamnophilidae | *Mackenzia enasevera* | 1/1 | 100 | *Amblyomma longirostre* | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | | Thraupidae | *Haplospiza unicolor* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Tachyphonus coronatus* | 1/8 | 12,5 | *Amblyomma calcaratum* | 2 | 0 | 0,25* | 0 |
| | | | *Trichothraupis melanops* | 1/9 | 11,1 | *Amblyomma longirostre* | 4 | 0 | 0,44 | 0 |
| | | Trochilidae | *Phaethornis eurynome* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Continuación Tabla 19.*

| | Aves | | | | | Garrapatas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | N | | AM | |
| **Sitio** | **Orden** | **Familia** | **Especie** | **I/C** | **P** | **Especie** | **Larva** | **Ninfa** | **Larva** | **Ninfa** |
| **PPP** | PASSERIFORMES | Tityridae | *Schifforni svirescens* | 1/4 | 25 | *Amblyomma longirostre* | 1 | 0 | 0,25 | 0 |
| | | Turdidae | *Turdus albicollis* | 1/5 | 20 | *Amblyomma longirostre* | 3 | 0 | 0,6 | 0 |
| | | | | 2/5 | 40 | *Amblyomma ovale* | 1 | 1 | 0,2 | 0,2 |
| | | | *Turdus amaurochalinus* | 1/1 | 100 | *Amblyomma longirostre* | 5 | 0 | 5 | 0 |
| | | | *Turdus leucomelas* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Turdus rufiventris* | 1/6 | 16,7 | *Amblyomma longirostre* | 0 | 1 | 0 | 0,17 |
| | | Tyrannidae | *Leptopogon amaurocephalus* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | *Mionectes rufiventris* | 0/2 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PICIFORMES | Picidae | *Celeus galeatus* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | STRIGIFORMES | Strigidae | *Glaucidium brasilianum* | 0/1 | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |

*: Nueva asociación garrapata-ave.

# ANEXO III

## PUBLICACIONES REALIZADAS EN RELACIÓN A LA PRESENTE TESIS

- Vaschalde PJ, Barolin J, Monje LD, Flores FS. 2025. Established populations of *Ixodes silvanus* (Acari: Ixodidae) in the Chaco Serrano, Argentina. Exp. Appl. Acarol. 94. 12. https://doi.org/10.1007/s10493-024-00983-8
- Vaschalde PJ, Flores FS, Tauro L, Monje LD. 2025. Wild birds as hosts of ticks (Acari: Ixodidae) and Anaplasmataceae (Rickettsiales) in the Atlantic rainforest ecoregion, Argentina. Medical and Veterinary Entomology. 1–13. https://doi.org/10.1111/mve.12772
- Vaschalde PJ, Flores FS, Facelli Fernandez MC, Barolin J, Tauro L, Monje LD. 2023. Anaplasmataceae presence in *Amblyomma calcaratum* associated with anteaters (*Tamandua tetradactyla*) in the rainforest ecoregion, Argentina. Ticks and Tick-borne Diseases 14, 102222. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102222