



Universidad Nacional del Litoral
Facultad de Ciencias Veterinarias

Catedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. FCV- UNL

*Tesis presentada para acceder al grado académico de Doctora en Ciencias
Veterinarias*

**BIOLOGÍA DE LA GARRAPATA COMÚN DEL PERRO
RHIPICEPHALUS SANGUINEUS SENSU STRICTO (ACARI:
IXODIDAE) EN LA PROVINCIA DE SANTA FE, ARGENTINA.**

Autora: Viviana Orcellet
Director: Santiago Nava
Codirector: Pablo Beldoménico

2021

Poco conocimiento hace que las personas se sientan orgullosas.

Mucho conocimiento, que se sientan humildes.

Leonardo da Vinci

Agradecimientos

A la institución, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL, por darme la posibilidad de realizar el Doctorado en Ciencias Veterinarias.

A Santiago y Pablo que sin su apoyo no lo hubiese logrado.

A Mariano por instarme a desarrollar esta tesis.

A mis compañeros de cátedra por su constante apoyo.

A mis becarias Ana Sol, Sofía, a los pasantes de intercambio Wilson y Ángela, a todos los alumnos adscriptos que han colaborado en los muestreos.

A mis hijos, Aymar y Nahuel por su incondicional acompañamiento en todas las metas emprendidas.

A mi familia, madres y hermanos por estar siempre apoyando.

A José, Darío, Rafael, Guillermo y Juan por su colaboración.

Dedicatoria

*A mis hijos, Aymar y Nahuel
por ser el objetivo de mi vida.*

*A mi hermano Lalo
que desde el cielo me guía
para seguir adelante.*

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| ÍNDICE..... | I |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS..... | III |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | VII |
| ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS..... | X |
| RESUMEN..... | XI |
| ABSTRACT..... | XII |
| INTRODUCCIÓN GENERAL..... | 1 |
| HIPÓTESIS DE TRABAJO..... | 11 |
| OBJETIVO GENERAL:..... | 11 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS:..... | 11 |
| CAPÍTULO 1 | 12 |
| DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE LAS GARRAPATAS | 12 |
| INTRODUCCIÓN | 13 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 14 |
| RESULTADOS..... | 15 |
| DISCUSIÓN | 18 |
| CONCLUSIÓN | 18 |
| CAPÍTULO 2 | 19 |
| DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i> s. s. SOBRE LOS CANINOS | 19 |
| INTRODUCCIÓN | 20 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 23 |
| RESULTADOS..... | 28 |
| DISCUSIÓN | 59 |
| CONCLUSIÓN | 61 |
| CAPÍTULO 3 | 62 |
| ESTUDIO DE LOS PERÍODOS DE DESARROLLO DE <i>hipicephalus sanguineus</i> s.s. | 62 |
| INTRODUCCIÓN | 63 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 64 |
| RESULTADOS..... | 66 |
| DISCUSIÓN | 81 |
| CONCLUSIÓN | 84 |

| | |
|--|------------|
| CAPÍTULO 4 | 87 |
| DISTRIBUCIÓN ANATÓMICA DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.s. SOBRE LOS CANINOS DOMÉSTICOS..... | 87 |
| <i>INTRODUCCIÓN</i> | 88 |
| <i>MATERIALES y MÉTODOS</i> | 89 |
| <i>RESULTADOS</i> | 92 |
| <i>DISCUSIÓN</i> | 98 |
| <i>CONCLUSIÓN</i> | 99 |
| CAPÍTULO 5 | 100 |
| CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y LA PARASITOSIS CAUSADA POR <i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.s. SOBRE LOS CANINOS | 100 |
| <i>INTRODUCCIÓN</i> | 101 |
| <i>MATERIALES Y MÉTODOS</i> | 101 |
| <i>RESULTADOS</i> | 103 |
| <i>DISCUSIÓN</i> | 121 |
| <i>CONCLUSIÓN</i> | 121 |
| CAPÍTULO 6 | 122 |
| INFECCIÓN DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.s. CON <i>Ehrlichia canis</i> y <i>Anaplasma platys</i> | 122 |
| <i>INTRODUCCIÓN</i> | 123 |
| <i>MATERIALES Y MÉTODOS</i> | 125 |
| <i>RESULTADOS</i> | 126 |
| <i>DISCUSIÓN</i> | 126 |
| <i>CONCLUSIÓN</i> | 127 |
| <i>DISCUSIÓN GENERAL</i> | 128 |
| <i>CONCLUSIÓN GENERAL</i> | 135 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 138 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Argasidae..... | 2 |
| Figura 2-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Ixodidae (un hospedador). | 4 |
| Figura 3-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Ixodidae (tres hospedadores diferentes). | 4 |
| Figura 4-. Esquema del ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu stricto..... | 10 |
| Figura 5. Esquema del análisis filogenético de las secuencias del gen 16S. | 17 |
| Figura 6-. Plano de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina, donde se ubica la zona de muestreo. | 24 |
| Gráfico 1-. Prevalencia mensual de los machos de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 29 |
| Gráfico 2-. Prevalencia mensual de las hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 29 |
| Gráfico 3-. Prevalencia mensual de machos y hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo..... | 30 |
| Gráfico 4-. Prevalencia mensual de las ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 30 |
| Gráfico 5-. Prevalencia mensual de las larvas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 31 |
| Gráfico 6-. Prevalencia mensual de ninfas (NN) y larvas (LL) de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo..... | 31 |
| Gráfico 7-. Prevalencia estacional de cada estado de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas)..... | 33 |
| Gráfico 8-. Prevalencia estacional (% P) de los estados de machos, hembras y ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas) y las precipitaciones (mm). | 37 |
| Gráfico 9 -. Prevalencia estacional (%P) de los estados de machos, hembras, ninfas y larvas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas) y las temperaturas medias (°C). | 37 |
| Gráfico 10-. Prevalencia estacional (% P) de los estados adultos de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo..... | 38 |
| Gráfico 11-. Intensidad mensual de los machos (MM) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 39 |

| | |
|---|----|
| Gráfico 12-. Intensidad mensual de las hembras (HH) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 40 |
| Gráfico 13 -. Intensidad mensual de machos (MM) y hembras (HH) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 42 |
| Gráfico 14-. Intensidad mensual de ninfas (NN) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 42 |
| Gráfico 15-. Intensidad mensual de larvas (LL) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 43 |
| Gráfico 16-. Intensidad mensual de ninfas (NN) y larvas (LL) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 44 |
| Gráfico 17-. Intensidad mensual de todos los estados, machos (MM), hembras (HH) ninfas (NN) y larvas (LL) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo..... | 45 |
| Gráfico 18-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo..... | 46 |
| Gráfico 19-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios durante el período de muestreo, teniendo en cuenta las precipitaciones..... | 46 |
| Gráfico 20-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios durante el período de muestreo en relación a la temperatura media del mismo período. | 47 |
| Gráfico 21-. Intensidad media estacional de los estados de machos (MM), hembras (HH) y ninfas (NN) de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 48 |
| Gráfico 22-. Abundancia mensual de las hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 49 |
| Gráfico 23-. Abundancia mensual de las ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. | 50 |
| Gráfico 24-. Abundancia mensual de hembras, ninfas y larvas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo..... | 50 |
| Gráfico 25-. Abundancia estacional de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo. | 51 |
| Gráfico 26-. Abundancia estacional de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo en relación a las precipitaciones | 52 |
| Gráfico 27-. Abundancia estacional de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo en relación a las temperaturas medias (T°)..... | 52 |
| Gráfico 28-. Frecuencia de distribución de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos, durante el período de muestreo..... | 53 |

| | |
|--|-----|
| Gráfico 29-. Frecuencia de la distribución mensual de los estados adultos (machos, MM y hembras, HH) | 54 |
| Gráfico 30-. Frecuencia de la distribución mensual de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., colectados sobre los caninos durante el período de muestreo, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas)..... | 54 |
| Gráfico 31 -. Frecuencia de la distribución estacional de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas) | 55 |
| Gráfico 32-. Frecuencia de caninos parasitados y no parasitados durante el período de muestreo.. | 56 |
| Gráfico 33-. Precipitaciones mensuales (mm) durante el período de muestreo..... | 57 |
| Grafica 34-. Temperatura media durante el período de desarrollo del muestreo. | 57 |
| Grafica 35-. Humedad relativa media (%) durante los tres años de desarrollo del muestreo. | 58 |
| Grafica 36-. Temperaturas medias (°C) y humedad relativa media (%) durante los tres años de desarrollo del muestreo. | 58 |
| Figura 7-. Ficha Colección de Garrapatas sobre los caninos..... | 90 |
| Gráfico 37-. Distribución anatómica de los machos de <i>R. sanguineus</i> s.s., obtenidos de los caninos muestreados: CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital..... | 93 |
| Gráfico 38-. Distribución anatómica de hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 94 |
| Gráfico 39-. Distribución anatómica de los machos y hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 95 |
| Gráfico 40-. Distribución anatómica de ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 96 |
| Gráfico 41-. Distribución anatómica de larvas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 97 |
| Gráfico 42-. Distribución anatómica de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 98 |
| Gráfico 43-. Evaluación de la carga parasitaria versus la longitud del pelaje de los caninos muestreados..... | 103 |
| Gráfico 44-. Análisis de la asociación entre la presencia del estado ninfal de <i>R. sanguineus</i> s.s. sobre los caninos teniendo en cuenta las estaciones del año. | 105 |

| | |
|--|-----|
| Gráfico 45-. Comportamiento del recuento de glóbulos rojos en los 10 caninos durante el período de estudio..... | 106 |
| Gráfico 46-. Estadística descriptiva del análisis del recuento de glóbulos rojos en los caninos motivo de estudio..... | 106 |
| Gráfico 47-. Valores promedios de hematocrito, de cada uno de los caninos durante el período de estudio..... | 107 |
| Gráfico 48-. Comportamiento del hematocrito a lo largo del muestreo de los 10 caninos que participaron en el mismo..... | 108 |
| Gráfico 49-. Relación entre los valores de hematocrito y el tamaño de los animales muestreados (1= canino pequeño; 2= canino mediano, 3= caninos grandes). | 108 |
| Gráfico 50-. Comportamiento del hematocrito en relación a la edad de los caninos..... | 109 |
| Gráfico 51-. Valores promedios de hemoglobina (g%), de cada uno de los caninos durante el período de estudio..... | 109 |
| Gráfico 52-. Comportamiento de la hemoglobina expresada en gramos %, en los diferentes caninos, durante el período de muestreo..... | 110 |
| Gráfico 53-. Resultados del comportamiento de los análisis de las proteínas totales (g%) durante el período de estudio..... | 111 |
| Gráfico 54 -. Comportamiento serológico de la albúmina (g%) durante el período de muestreo... | 112 |
| Gráfico 55-. Comportamiento de los triglicéridos durante el período de muestreo. | 112 |
| Gráfico 56-. Distribución de frecuencias acumuladas de las cargas parasitarias en caninos..... | 114 |
| Gráfico 57-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Hematocrito..... | 116 |
| Gráfico 58-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Hemoglobina | 117 |
| Gráfico 59-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Glóbulos Rojos | 117 |
| Gráfico 60-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Triglicéridos. | 118 |
| Gráfico 61-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y con los glóbulos rojos..... | 119 |
| Gráfico 62-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de triglicéridos. | 119 |
| Gráfico 63-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de Globulinas. | 120 |
| Gráfico 64-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de la relación Albumina/Globulinas. | 120 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1-. Prevalencia estacional de cada estado de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas). Expresada en %. | 32 |
| Tabla 2-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas machos – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos | 34 |
| Tabla 3-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas hembras– estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos | 35 |
| Tabla 4-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas ninfas – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos. Efectos fijos: | 36 |
| Tabla 5-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas machos – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos | 39 |
| Tabla 6-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas hembras – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos | 41 |
| Tabla 7-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas ninfas – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos | 43 |
| Tabla 8-. Intensidad estacional de todos los estados durante el período de estudio | 45 |
| Tabla 9-. Intensidad media estacional de cada uno de los estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., durante el período de muestreo | 48 |
| Tabla 10-. Abundancia estacional de hembras (HH), ninfas (NN) y larvas (LL) durante el período de muestreo..... | 51 |
| Tabla 11-. Frecuencia de la distribución de los diferentes estados de <i>R. sanguineus</i> s.s., colectados sobre los animales en las estaciones de muestreo, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas) | 55 |
| Tabla 12-. Pesos promedios expresados en miligramos, de 10 hembras ingurgitadas colectadas en cada mes del año 2017. | 66 |
| Tabla 13-. Pesos promedios de las 10 hembras ingurgitadas de acuerdo a las estaciones del año 2017..... | 67 |
| Tabla 14-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos mensuales del exterior. | 67 |
| Tabla 15-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos estacionales de exterior. | 68 |
| Tabla 16-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos mensuales del interior..... | 68 |
| Tabla 17-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos estacionales de interior. | 68 |

| | |
|--|----|
| Tabla 18-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el exterior..... | 69 |
| Tabla 19-. Período de incubación de huevos en promedio en el exterior de acuerdo a las estaciones del año..... | 70 |
| Tabla 20-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a los meses de en el interior. | 70 |
| Tabla 21-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el interior | 71 |
| Tabla 22-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de <i>R. sanguineus</i> s.s., en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el exterior. | 71 |
| Tabla 23-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de <i>R. sanguineus</i> s.s., en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el exterior. | 72 |
| Tabla 24-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de <i>R. sanguineus</i> s.s., en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el interior. | 72 |
| Tabla 25-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de <i>R. sanguineus</i> s.s., en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el interior | 73 |
| Tabla 26-. Tasa de eclosión de huevos, datos mensuales del exterior | 74 |
| Tabla 27-. Tasa de eclosión de huevos, datos mensuales del interior..... | 74 |
| Tabla 28-. Período de muda de larvas alimentadas, datos mensuales del exterior..... | 75 |
| Tabla 29-. Período de muda de larvas alimentadas, datos estacionales del exterior. | 75 |
| Tabla 30-. Período de muda de larvas alimentadas a ninfas, datos mensuales del interior. | 75 |
| Tabla 31-. Período de muda de larvas alimentadas a ninfas, datos estacionales del interior..... | 76 |
| Tabla 32-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos mensuales del exterior. | 76 |
| Tabla 33-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos estacionales del exterior..... | 77 |
| Tabla 34-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos mensuales del Interior. | 77 |
| Tabla 35-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos estacionales del Interior..... | 78 |
| Tabla 36-. Índice de Producción de Huevos (EPI). | 79 |
| Tabla 37-. Índice nutricional. | 80 |
| Tabla 38-. Análisis estadístico de la distribución anatómica de los machos de <i>R. sanguineus</i> s.s.; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdígital. | 93 |

| | |
|---|-----|
| Tabla 39-. Distribución anatómica de las hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 94 |
| Tabla 40-. Distribución anatómica de las ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 96 |
| Tabla 41-. Distribución anatómica de las larvas de <i>R. sanguineus</i> s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital. | 97 |
| Tabla 42-. Datos de los animales que participaron en el muestreo. | 102 |
| Tabla 43-. Análisis de la asociación entre la presencia de hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s. sobre los caninos, en relación a la edad y las estaciones del año. | 104 |
| Tabla 44-. Análisis de la asociación entre la carga parasitaria del estado de machos de <i>R. sanguineus</i> s.s. sobre los caninos teniendo en cuenta la edad, tamaño de los animales y las estaciones del año. | 104 |
| Tabla 45-. Análisis de la asociación entre los resultados de las proteínas totales (g%), abundancia de los estados de machos y hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s. | 111 |
| Tabla 46-. Análisis de la asociación entre triglicéridos (mg/dl), abundancia de los estados de machos y hembras de <i>R. sanguineus</i> s.s., edad y estación del año. | 113 |
| Tabla 47. Parámetros estadísticos de la aplicación del MANOVA en la evaluación de la carga parasitaria sobre los componentes de la bioquímica sanguínea. | 115 |
| Tabla 48-. Resultados del ANOVA para aquellos componentes de la bioquímica sanguínea que se vieron afectados por la carga parasitaria. | 115 |

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ADN: ácido desoxirribonucleico

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EPI: índice de producción de huevos

ICIVET: Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral.

IEF: índice de eficiencia de fertilidad

IER: índice de eficiencia reproductiva

IN: índice nutricional

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

s.l.: sensu lato

s.s.: sensu stricto

RESUMEN

El objetivo de la presente tesis es generar conocimientos sobre la biología y capacidad vectorial de *R. sanguineus* s.s., en el centro de la provincia de Santa Fe, Argentina.

Mediante la ejecución de muestreos mensuales de caninos durante tres años (dic. 2013-dic.2016), que se realizaron en el Barrio La Orilla de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina, nos permitió conocer la estacionalidad de los diferentes estados de esta garrapata y proporcionar datos sobre su potencial distribución en la zona de estudio.

Se estableció la duración de cada estado tanto en su fase de vida libre como en la fase de vida parasitaria, como así también parámetros de infestación sobre sus hospedadores caninos, generando registros detallados de su ciclo parasitario y no parasitario. Asimismo, para el estudio del ciclo biológico de *R. sanguineus* s.s., la determinación de la duración de cada fase alimentada, sin alimentar y la duración de cada una de ellas, se realizaron observaciones de cultivos de cada estado, tanto en el interior como en el ambiente. En base a estos datos comprobamos que, para nuestra zona de estudio, el ciclo de vida de *R. sanguineus* s.s., se puede cumplir en 74 días.

Se determinó la correlación entre los parámetros sanguíneos con respecto a la carga parasitaria de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s, sobre los caninos, para ello se tomaron muestras de sangre, durante un año a los caninos de la zona de estudio, con la cual se realizaron hemograma completo, proteínas totales, glucemia, triglicéridos y albumina. Comprobándose que cargas superiores a 15 garrapatas adultas por animal, generan cambios significativos en los valores de los componentes hematológicos.

La realización de este estudio generó conocimientos sobre las características biológicas que condicionan la presencia y abundancia de la garrapata común del canino, *R. sanguineus* sensu stricto, en el centro de la provincia de Santa Fe.

Se espera que la información generada pueda contribuir al desarrollo y/o mejora de estrategias de control y brinde aportes a futuros estudios sobre la epidemiología de las enfermedades transmitidas por estas garrapatas.

ABSTRACT

The goal of this thesis was to generate knowledge about the biology and vector capacity of *R. sanguineus* s.s., in the center of Santa Fe province, Argentina.

Monthly sampling of dogs from La Orilla neighborhood of the city of Esperanza, Santa Fe, Argentina, was conducted for three years (Dec. 2013-Dec. 2016). The data allowed to establish the seasonality of the different stages of this tick and provided data on its potential distribution in the study area.

The duration of each stage was established both in its free life phase and in the parasitic phase, as well as infestation parameters on its canine hosts, generating detailed records of its parasitic and non-parasitic cycle. Likewise, for the study of the biological cycle of *R. sanguineus* s.s., the determination of the duration of feeding and non-feeding phase were made using cultures of each stage, both indoors and outdoors. Based on these data we verified that, for our study area, the life cycle of *R. sanguineus* s.s. can be fulfilled in 74 days.

The correlation between the blood parameters and the burdens of the different stages of *R. sanguineus* s.s. was determined. For this, blood samples were taken from each dog, to measure total proteins, complete blood count, glycemia, triglycerides and albumin. Loads greater than 15 adult ticks per animal generate significant changes in the values of the hematological components.

This study generated knowledge about the conditions that drive the presence and abundance of the common canine tick, *R. sanguineus* s. s. and its association with blood parameters. It is expected that the information generated may contribute to the development and / or improvement of control strategies and provide input to future studies on the epidemiology of diseases transmitted by these ticks.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos temporarios, tanto de animales domésticos como silvestres, causantes de perjuicios por el parasitismo *per se* o por la transmisión de una amplia gama de agentes patógenos que pueden causar enfermedades en animales y humanos. Se encuentran en segundo lugar, después de los mosquitos, como los artrópodos hematófagos más importantes en salud pública y veterinaria por su capacidad vectorial (Hoogstraal 1985; Sonenshine y col. 2002).

Las garrapatas taxonómicamente pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Subclase Acari, Orden Ixodida, Superfamilia Ixodoidea. Esta superfamilia contiene las Familias Argasidae, Ixodidae y Nuttalliellidae:

1 -. Argasidae (garrapatas blandas que no presentan escudo en el dorso) posee 193 especies y cinco géneros: *Antricola* (17), *Argas* (61), *Nothoaspis* (2), *Ornithodoros* (116) *Otobius* (2).

2 -. Ixodidae, (garrapatas duras que tienen el dorso total o parcialmente cubierto con un escudo) con 722 especies y 14 géneros; Género *Amblyomma* (Koch 1844) (284); Género *Anomalohimalaya* (Hoogstraal, Kaiser and Mitchell, 1970) (3); Género *Bothriocroton* (Keirans, King y Sharrad 1994) (7), Género *Compluriscutula* (Poinar and Buckley, 2008) (1); Género *Cornupalpatum* (Poinar and Brown, 2003) (1); Género *Cosmiomma*, (Schulze 1920) (1); Género *Dermacentor* (Koch 1844) (84); Género *Haemaphysalis* (Koch 1844) (259); Género *Hyalomma* (Koch 1844) (127); Género *Ixodes* (Latreille 1795) (545); Género *Margaropus*, (Krasch 1879) (5); Género *Nosomma* (Schulze 1920) (2); Género *Rhipicentor*, (Nuttall y Warburton 1908) (3) y el Género *Rhipicephalus*, (Koch 1844) (146).

3-. Nuttalliellidae (familia monotípica, con características compartidas de las dos familias antes mencionadas y otras propias) con su único representante *Nuttalliella namaqua* (Bedford, 1931) (Nava y col. 2017).

Los integrantes de la Familia Argasidae tienen un ciclo de vida que comprende los estados de huevo, larva, dos o más estados ninfales y adultos (machos y hembras). Muchas especies son nidícolas, se caracterizan por ser longevos y tener gran capacidad de ayuno. Poseen alta tolerancia a condiciones climáticas adversas y la capacidad de reducir drásticamente su metabolismo y de esa forma aumentar la supervivencia hasta

por 10 años según estudios realizados por Hoogstraal (1973). La muda ocurre fuera del hospedador, en grietas, fisuras o debajo de piedras cerca de los nidos. Las hembras se alimentan repetidamente y colocan pequeños aoves (hasta 500 huevos) después de cada ingestión de sangre (ciclos gonotróficos múltiples), con intervalos de varios meses entre ellos, aunque existen casos donde las hembras son autogénicas (oviponen sin alimentación previa). Las larvas ingurgitadas de algunas especies pueden mudar hasta dos veces sin necesidad de una alimentación adicional según estudios de Sonenshine y col. (2002), como así también hay especies donde ninfas de primer estado mudan al segundo sin alimentarse. Los Argásidos se adaptan fácilmente a hospedadores que retornan irregularmente o por períodos limitados de tiempo a sus refugios o nidos según Hoogstraal, (1978). Parasitan una amplia gama de vertebrados que incluyen aves, reptiles y mamíferos, Oliver (1989). En la figura 1, se esquematizan los posibles ciclos que puedan desarrollar las garrapatas de este grupo.

Figura 1-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Argasidae.

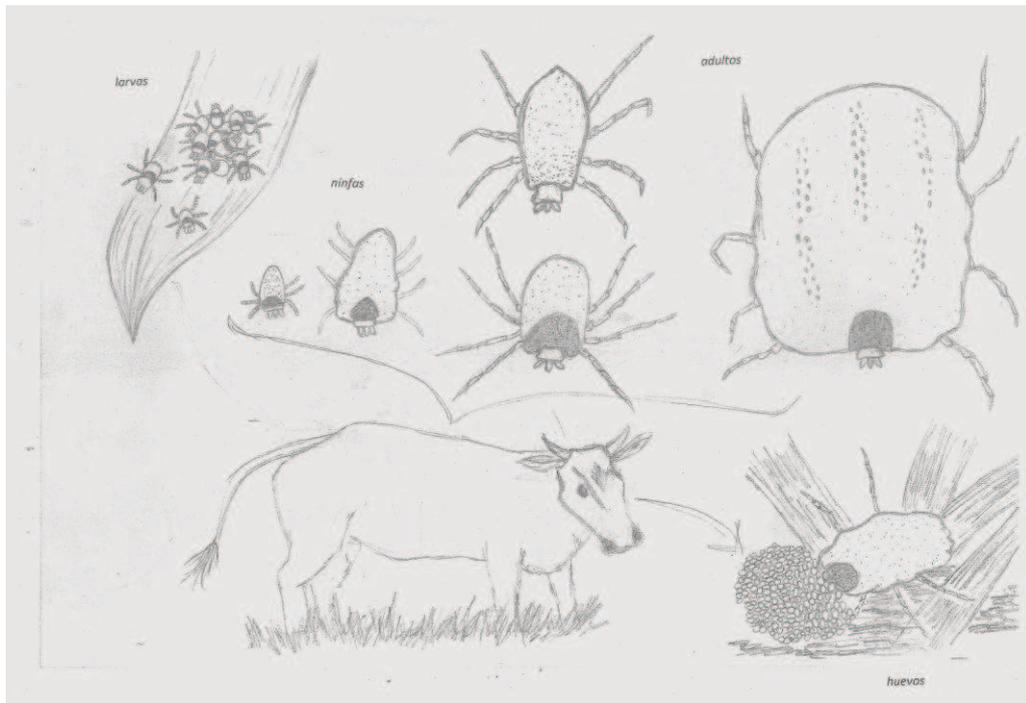


Aymar, 2019

En la Familia Ixodidae, existen dos grupos con aspectos morfológicos y biológicos bien definidos que son Prostriata, al que pertenece el género *Ixodes* (Latreille 1795), que se caracteriza por presentar un surco que rodea al ano anteriormente, ojos ausentes y 7 placas ventrales en los machos, los adultos pueden copular sobre o fuera del hospedador, los machos tienen la capacidad de producir células espermáticas sin alimentarse, la mayoría de las especies son nidícolas; y el grupo Metastriata incluye al resto de los géneros, este grupo presenta un surco que es posterior al ano y los machos no poseen las placas ventrales, ojos presentes a excepción del Género *Haemophysalis*, la cópula se realiza sobre el hospedador a excepción de *Amblyomma triguttatum* (Koch 1844), los machos solo producen espermátidas luego de alimentarse pero, *A. triguttatum*, *Bothriocroton hydrosauri* (Day 1843) y *B. concolor* (Neumann 1899) pueden producir espermátidas en ayunas (Guglielmone y Moorhouse 1986; Oliver y Stone 1983; Oliver 1989).

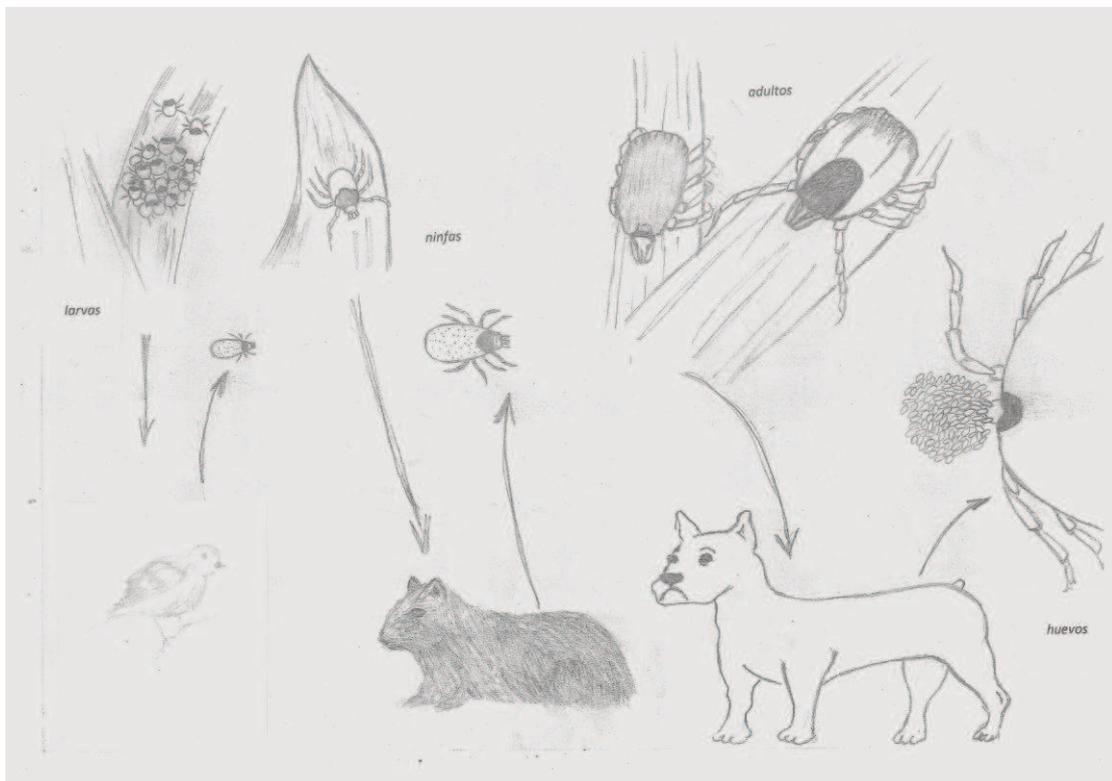
En cuanto al ciclo de vida de los Ixodidae, comprende los estados de huevos, larvas, ninfas y adultos (machos y hembras) este último, es el único estado con dimorfismo sexual. La mayor parte de las especies de esta familia, tienen ciclos biológicos trifásicos, requieren de tres hospedadores, uno para cada fase de su ciclo (larva, ninfa y adulto) que pueden o no pertenecer a la misma especie, de los cuales bajarían para mudar en el ambiente, salvo algunas excepciones en que la fase parasítica se desarrolla enteramente sobre uno o dos hospedadores. En las figuras 2 y 3, se esquematizan los posibles ciclos que puedan desarrollar las garrapatas de este grupo.

Figura 2-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Ixodidae (un hospedador).



Aymar, 2019

Figura 3-. Esquema de los posibles ciclos biológicos que pueden desarrollar las garrapatas de la Familia Ixodidae (tres hospedadores diferentes).



Aymar, 2019

Los adultos copulan sobre el hospedador, las hembras una vez que completan su alimentación, se desprenden, caen al piso, maduran y luego comienza la ovoposición en lugares protegidos; finalizada esta etapa mueren.

Dentro de este grupo se encuentran las garrapatas del complejo *R. sanguineus*, (= *R. sanguineus* sensu lato). Las mismas presentan una amplia distribución, tienen una alta especificidad por los caninos en ambientes urbanos, pueden realizar todo su ciclo sobre ellos sin la participación de otros hospedadores alternativos, y poseen capacidad para transmitir enfermedades a estos animales domésticos. Es de importancia veterinaria por ser la garrapata común del canino, *Canis lupus familiaris* (Linnaeus, 1758), que tiene a este mamífero doméstico como su hospedador principal para los tres estados (Walker y col. 2000). Asimismo, representa uno de los parásitos de animales de compañía más importante para la industria farmacéutica por la magnitud de la producción comercial de antiparasitarios externos destinados a controlar a esta garrapata (Graf y col. 2004).

R. sanguineus s.l. es un complejo de especies originarias del viejo mundo que han alcanzado una amplia distribución debido a las migraciones humanas que han transportado sus mascotas de un continente a otro. Las especies que conforman este complejo son endofílicas, y desarrollan sus ciclos biológicos en viviendas o construcciones humanas habitadas o frecuentadas por caninos. Esta característica le confiere a *R. sanguineus* s.l. una relativa independencia de las condiciones ambientales externas y explica su amplia distribución a lo largo de las diferentes regiones biogeográficas mundiales. El ciclo biológico está caracterizado por la presencia activa de todos los estados a lo largo del año, independientemente de la estación. Sin embargo, los picos de abundancia y las tasas de desarrollo varían de acuerdo a la región donde se encuentre una determinada población. En el caso particular del cono sur de Sudamérica, los estudios realizados sobre su ecología indican que la mayor abundancia de garrapatas se presenta en los meses más cálidos del año, durante la primavera y verano.

Dado que *R. sanguineus* s.l. es una garrapata que parasita los caninos y requiere en su ciclo de tres de ellos, la larva es el primer estado que sube para alimentarse, se ingurgita sobre un hospedador, luego se desprende, cae al suelo para mudar a ninfa, ésta pos muda, debe volver a subir a otro hospedador para alimentarse y así continuar su ciclo; este segundo hospedador si bien está definido que puede ser un canino, no necesariamente puede ser el mismo animal sobre el cual realizó su primer etapa de alimentación. Una vez que la ninfa está repleta, vuelve a bajar al piso para realizar la

última muda, diferenciarse en machos y hembras, subir a un nuevo hospedador, copular, alimentarse; una vez que la hembra está bien ingurgitada, baja a oviponer en el piso, luego muere. El hecho que esta garrapata utiliza en su ciclo tres hospedadores caninos, es de importancia epidemiológica en la potencialidad de la transmisión de agentes patógenos de animales infectados a no infectados. Por lo que resulta indispensable el conocimiento epidemiológico tanto de la garrapata en sí, como de los potenciales patógenos que pueden transmitir como vectores. Este conocimiento nos permitirá realizar programas de monitoreo y vigilancia epidemiológica de estos microorganismos patógenos.

Cada estado de *R. sanguineus* s.l. parasita un hospedador canino por algunos días. Para el caso de larvas y ninfas lo hacen por 3 a 7 días, para el caso de hembras adultas 5 a 10 días y para los machos más de 15 días. Durante la fase parasitaria se alimentan de sangre de su hospedador; finalizado el período de alimentación y una vez ingurgitadas se desprenden para caer al ambiente y mudar a su próximo estado evolutivo. Las hembras ingurgitadas que ya fueron fertilizadas por los machos sobre el hospedador, se desprenden para comenzar el período de postura en el ambiente. Cada hembra puede colocar aproximadamente 3.200 huevos entre los 7 a 28 días después de desprenderse del canino, que son incubados y eclosionan dentro de 3 a 10 semanas, dando origen a larvas hexápodas, que suben para alimentarse durante 3 a 7 días, luego se desprenden para mudar a ninfas dentro de 2 a 6 semanas. Las ninfas se ingurgitan en 3 a 7 días y mudan a adultos en 2 a 26 semanas. Las hembras se pueden ingurgitar en 7 días, pero pueden permanecer sobre el canino durante 3 semanas si no están acopladas, mientras que los machos permanecen en su vida parasitaria durante varios meses por repetidos apareamientos. El ciclo de vida se puede completar en 10 semanas en condiciones ideales (Barker y Walker 2014). La duración de las fases de vida libre (muda, ovoposición e incubación de los huevos) puede variar de unas pocas semanas a algunos meses, siendo inversamente proporcional a la temperatura ambiente. Las hembras ingurgitadas, trepan por las paredes y en las grietas colocan sus huevos o pueden hacerlo debajo de la cama de los caninos. Es posible más de un ciclo de vida al año; está adaptada a vivir en el ambiente como en los refugios caninos o casas de los humanos. La viabilidad de las fases de vida libre es influenciada principalmente por las condiciones microclimáticas (Labruna 2004; Barker y Walker 2014).

R. sanguineus s.l. es una garrapata de hábitos endofílicos, pasando sus fases de vida libre en las áreas de reposo de sus hospedadores caninos. Los estados ingurgitados presentan geotropismo negativo por lo que se desprenden de sus hospedadores propiciando que sus fases de desarrollo, muda, postura e incubación de los huevos sea en lugares donde viven los canes. Este comportamiento geotrópico negativo que tienen los estados ingurgitados permite localizarlas en muros o paredes. (Labruna, M. 2004). Según, este mismo autor, se considera a un 5% de la población de esta garrapata sobre el hospedador y el 95% restante en el ambiente desarrollando las fases de vida libre. Esto es de suma importancia al momento de implementar medidas de saneamiento o control del parásito.

Estudios de genética poblacional que utilizaron secuencias de genes mitocondriales (Moares-Filho y col. 2011; Nava y col. 2012) han demostrado la presencia de dos especies diferentes del complejo *R. sanguineus* en el continente americano; una distribuida al nivel o al norte del Trópico de Capricornio, y la otra abarcando una amplia área geográfica al sur de ese punto. De acuerdo a los resultados de los trabajos realizados por Moares-Filho y col. (2011); Nava y col. (2012) el taxón distribuido al norte del Trópico de Capricornio constituiría la misma entidad específica en Brasil, Perú, Colombia, Venezuela y los países de América Central (linaje tropical), mientras que la especie distribuida en áreas subtropicales y templadas del cono sur en Argentina, Chile, Uruguay y sur de Brasil está relacionada con las poblaciones del este de Europa y Estados Unidos (linaje templado). Recientemente, Nava y col. (2018) determinaron que las poblaciones del linaje templado representan a *R. sanguineus* sensu stricto (s.s.). Todo lo mencionado en este párrafo sobre el estatus taxonómico del complejo *R. sanguineus* en el Cono Sur de Sudamérica, evidencia la necesidad de enfocar estudios ecológicos y epidemiológicos comparativos en esta región de América para determinar si esta situación tiene implicancias epidemiológicas y si los dos taxones presentan patrones ecológicos diferentes.

El problema taxonómico descrito para *R. sanguineus* s.l. en América del Sur tiene implicaciones epidemiológicas, dado que existen diferencias en la competencia vectorial para *Ehrlichia canis* entre los dos linajes de *R. sanguineus* s.l. (Moares-Filho y col. 2011).

Los estudios ecológicos del complejo *R. sanguineus* s.l., en Argentina se restringen a análisis descriptivos de distribución estacional y de niveles de infestación sobre perros en las provincias de Salta, Buenos Aires y Corrientes (Guglielmone y col. 1989; González y col. 2004; Debárbora y col. 2011). Se la considera la garrapata común del canino, aunque eventualmente se la determinó en Argentina sobre zorros del género *Cerdocyon* (Kuhne y col. 1986), bovinos (Guglielmone y col. 1989), humanos (Guglielmone y col. 1991), caprinos, conejos, equinos (Ivancovich y Luciani, 1992), comadreja overa (Santa Cruz y col. 1998) y mara o liebre patagónica (*Dolichotis patagonum*) (Zerpa y col. 2003). Fue determinada en provincias del dominio Amazónico, las provincias del Chaco, Espinal y Pampeana (dominio Chaqueño) y la provincia Patagónica (Andino-Patagónico) para Buenos Aires, Chaco, Chubut, Córdoba, Corrientes, Formosa, Salta, Santa Fe y Tucumán, pero se considera que su distribución es más vasta que la registrada. (Ruiz y col. 2003; Guglielmone y col. 2005; Nava y col. 2017).

Además de la patología causada a los caninos por el parasitismo *per se* y por su potencialidad para causar parálisis en estos animales, *R. sanguineus* s.s. puede actuar como vector de numerosos patógenos que afectan a su hospedador principal. Las garrapatas del complejo *R. sanguineus* pueden ser vectores de *Babesia canis vogeli*, *Babesia gibsoni*, *Rangelia vitalii* (*Babesia vitalii*), *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia massiliae*, *Anaplasma platys*, *Bartonella* spp. y del filarioideo *Dipetalonema reconditum*, entre otros patógenos. Asimismo, y debido a que esta garrapata, ha sido encontrada parasitando humanos, su potencial rol en la transmisión de *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia massiliae* y *Rickettsia felis* la implica como una garrapata con importancia en medicina humana. (Labruna y col. 2011; Nava y col. 2012; Eiras y col. 2014).

Si bien aún continúan los estudios, Coutinho y col. (2005) mencionan a *R. sanguineus* como posible vector de Leishmaniosis canina visceral, pero según Paz y col. (2010), parece algo improbable que el mantenimiento y la multiplicación de *Leishmania* ocurra dentro *R. sanguineus* por lo que no podemos hasta el momento certificar la transmisión vectorial de este patógeno.

Como se mencionó anteriormente, entre los patógenos más importantes transmitidos por las garrapatas del complejo *R. sanguineus* se encuentran *A. platys* y *E. canis*. Estas

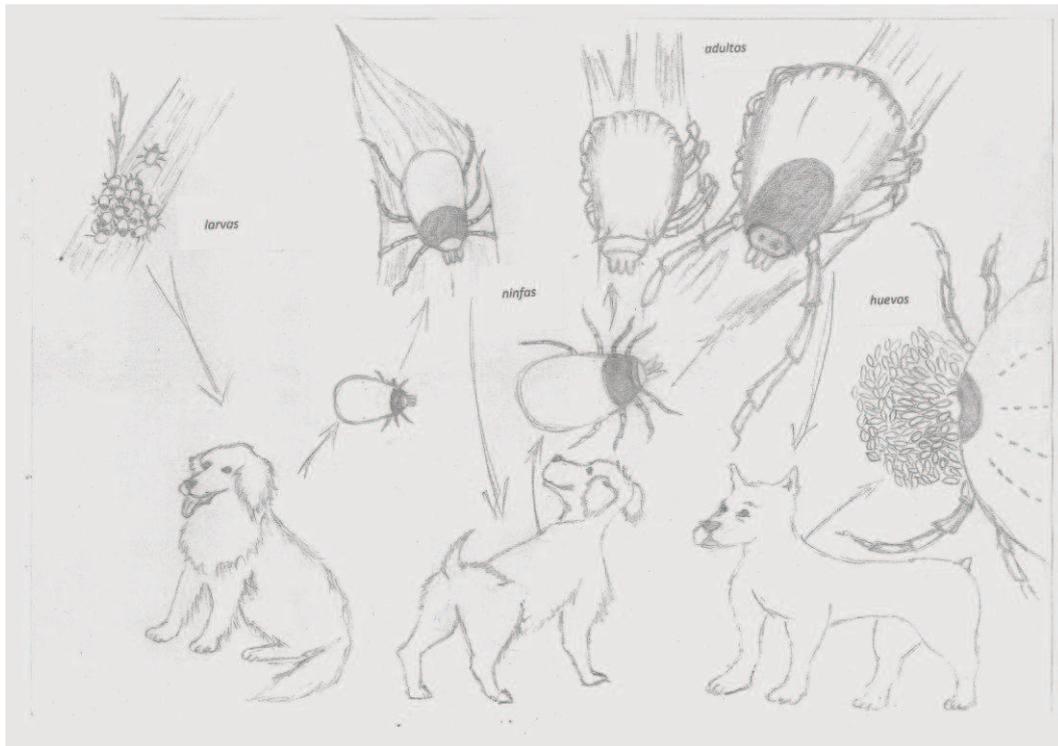
son bacterias intracelulares obligados de la Familia Anaplasmataceae que causan enfermedades infecciosas en caninos (Dumler y col. 2001).

A. platys es el agente causal de la trombocitopenia cíclica en los caninos, y *R. sanguineus* se sospecha de estar involucrados como su principal vector (Sanogo y col. 2003; Abarca y col. 2007). La infección con *A. platys* en *R. sanguineus* s.l. se informó en diferentes países de Asia, África y Europa (Sanogo y col. 2003; Ybañez y col. 2012; Latrofa y col. 2014; Ramos y col. 2014). Ésta fue reportada en distintas localidades de Argentina (Oscherov y col. 2011; Cicuttin y col. 2014, 2015)

E. canis es el agente etiológico de la ehrlichiosis monocítica canina, y se transmite principalmente por ninfas y adultos de *R. sanguineus* s.l. (Stich y col. 2008). *E. canis* fue encontrado infectando *R. sanguineus* en Asia, África (Socolovschi y col. 2012; Ybañez y col. 2012), en América del Sur en Brasil y Venezuela (Unver y col. 2001; Aguiar y col. 2007). En Argentina, en *R. sanguineus* s.l se ha detectado tanto *A. platys* como *E. canis* (Oscherov y col. 2011; Cicuttin y col. 2014, 2017). *E. canis* representa uno de los patógenos de los caninos transmitido por garrapatas con mayor importancia sanitaria en América Latina (Aguiar y col. 2007; Saito y col. 2008; Costa Vieira y col. 2011), y su presencia en Argentina infectando a *R. sanguineus* s.l, fue diagnosticada en Formosa y Buenos Aires (Cicuttin y col. 2015; 2017). También *E. canis* fue detectada en muestras de sangre de caninos en la provincia de Buenos Aires (Eiras y col. 2013). Sin embargo, no existen estudios epidemiológicos sobre el rol de *R. sanguineus* s.s. como potenciales vectores de todos estos patógenos en la provincia de Santa Fe.

La realización de un estudio integral de aspectos ecológicos y biológicos de las garrapatas, como la dinámica estacional, los factores que afectan las fases de desarrollo en sus etapas de vida libre, la oferta de hospedadores, son indispensables a fin de comprender el ciclo de vida de estos parásitos en condiciones naturales, por lo que el presente trabajo brinda detalles sobre las características ecológicas que condicionan la presencia y abundancia de *R. sanguineus* s.s., se dan a conocer datos para el área de estudio, describe la distribución estacional de todos los estados en su fase parasitarias y de vida libre, como así también los parámetros de infestación de sus hospedadores y la influencia en la bioquímica sanguínea de acuerdo a la carga parasitaria, generando detalles del ciclo biológico de esta garrapata, insumo necesario para la aplicación de tratamientos estratégicos para su control. En la figura 4, se esquematiza el ciclo que desarrolla esta garrapata.

Figura 4-. Esquema del ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto.



Aymar, 2019

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Bajo la hipótesis que variaciones en el ambiente, estado de los hospederos, influyen en la dinámica poblacional de *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto, se realizaron estudios para determinar las circunstancias que hacen a la circulación de este parásito y por ende el potencial riesgo de patógenos que puedan transmitir.

OBJETIVO GENERAL:

Generar conocimientos sobre la biología y potencial rol como vector de *R. sanguineus* s.s., en el centro de la provincia de Santa Fe, Argentina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar por medio de secuencias de los genes mitocondriales 16S y 12S a qué linaje pertenecen las poblaciones de *R. sanguineus* en el centro de Santa Fe.

Determinar la distribución estacional y niveles de abundancia de todos los estados de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos.

Estudiar los períodos de desarrollo de cada uno de los estados en su fase no parasitaria, como así también determinar cuáles son los factores ambientales que inciden sobre la duración de dichos períodos.

Determinar la distribución corporal de todos los estados parasíticos de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos.

Determinar la correlación entre los parámetros sanguíneos con respecto a la carga parasitaria.

Determinar la presencia de infección con las bacterias patógenas de los caninos, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*.

CAPÍTULO 1

DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE LAS GARRAPATAS

INTRODUCCIÓN

Mediante estudios de genética poblacional que utilizaron secuencias de genes mitocondriales obtenidas de poblaciones argentinas de *R. sanguineus* s.l. (Szabó y col. 2005; Moraes-Filho y col. 2011; Nava y col. 2012; Cicuttin y col. 2015), se ha demostrado la presencia de dos especies diferentes del complejo *R. sanguineus*, una distribuida al norte del Trópico de Capricornio (linaje tropical) y la otra abarcando una amplia área geográfica al sur de ese punto (linaje templado).

De acuerdo a la información disponible, para Argentina las poblaciones de *R. sanguineus* de Santa Fe deberían corresponder al linaje templado o *R. sanguineus* s.s. (Nava y col. 2012, 2008).

El análisis de secuencia de ADN es en la actualidad una de las herramientas más utilizadas para resolver las relaciones filogenéticas entre grupos de parásitos de distintos niveles taxonómicos. Esta metodología tiene varias ventajas sobre aquellas que utilizan caracteres morfológicos o bioecológicos: *primero*, el ADN está formado por cuatro tipos de nucleótidos (adenina, guanina, timina, citosina), los cuales pueden ser usados para comparar cualquier tipo de organismos, hecho que es imposible realizar con caracteres morfológicos o bioecológicos; *segundo*, el patrón es a menudo de cambio evolutivo del ADN, esto permite usar modelos matemáticos para expresar las diferentes secuencias de ADN entre los organismos. Por el contrario, el cambio evolutivo de caracteres morfológicos es extremadamente complejo, aun para tiempos evolutivos cortos; *tercero*, los genomas de todos los organismos consisten en largas secuencias de nucleótidos y contienen una cantidad mayor de información filogenética que los caracteres morfológicos (Nei and Kumar, 2000).

En muchas ocasiones los cambios morfológicos conectados al ciclo de vida del parásito tienden a oscurecer las afiliaciones filogenéticas en distintos niveles taxonómicos, y la utilización de caracteres moleculares pueden ser una solución para estos casos (Hypsa, 2006).

Las clasificaciones e inferencias filogenéticas del suborden Ixodida se basaron tradicionalmente en caracteres morfológicos, biológicos y ecológicos de las distintas especies. Sin embargo, en los últimos 15 años se aplicaron considerables modificaciones a los esquemas de clasificación previos al incorporar a los análisis filogenéticos, los marcadores moleculares. De esta manera se reconsideraron el status

taxonómico y la posición filogenética de numerosas especies de garrapatas. (Nava y col. 2017).

Los estudios realizados por (Black y Piesman, 1994; Norris y col. 1999; Klompen y col. 1993) han demostrado que los genes 16S y 12S de las garrapatas de la familia Ixodidae, son adecuados para la resolución de las relaciones filogenéticas a nivel intra-genérico e intra-específico, aunque no lo son para niveles taxonómicos mayores debido a la alta tasa de mutación en el genoma mitocondrial de las garrapatas.

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, además de la determinación por caracteres morfológicos, el objetivo de este capítulo fue analizar las secuencias del gen mitocondrial 16S obtenidas de especímenes representativos de *R. sanguineus* s.l. colectados en el muestreo, con la finalidad de confirmar si efectivamente las garrapatas incluidas en este estudio pertenecen al taxón *R. sanguineus* s.s.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la determinación del taxón al que pertenecen las garrapatas se tuvieron en cuenta los caracteres morfológicos y moleculares. Las determinaciones por caracteres morfológicas se hicieron bajo lupa binocular siguiendo las descripciones de Nava y col. (2017, 2018), Walker y col. (2000). En relación a la determinación molecular, se obtuvieron secuencias del gen mitocondrial 16S.

El ADN de las garrapatas (n: 39) se extrajo mediante la digestión proteolítica con la enzima proteinasa K, colocando cada espécimen en una solución formada por: 340 µl de una solución (TRIS 10 mM a pH 8; EDTA 100 mM; ClNa 100 mM), 40 µl de SDS (sodio-dodecil fosfato) al 20 % y 20 µl de proteinasa K, 500 µg/ml (Invitrogen®). La purificación del ADN se realizó con fenol y cloroformo-alcohol isoamílico para desnaturalizar y precipitar las proteínas; la precipitación se hizo con etanol absoluto y finalmente el ADN extraído se disolvió en una solución amortiguadora TE (10nM Tris a PH 7,6; 0,1 mM EDTA). El ADN se amplificó con la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los cebadores (“*primers*”) y condiciones de PCR descritos por (Mangold y col. 1998). Las secuencias obtenidas se alinearon con BIOEDIT SEQUENCE ALIGNMENT EDITOR (Hall 1999) aplicando el programa CLUSTAL W (Thompson y col. 1994) y se compararon entre sí y con aquellas depositadas en el GenBank usando el programa MEGA versión 5.0 (Tamura y col.

2011). Las relaciones evolutivas se examinaron con el método de Maximum Likelihood (ML) utilizando el programa MEGA 5.0 (Tamura y col. 2011). En el caso de ML, el modelo de sustitución nucleotídica que se aplicó fue determinado con MODELTEST v.3.7 (Posada y Crandall, 1998); las posiciones con *gaps* se excluyeron y la fiabilidad de las filogenias también se evaluó con el procedimiento de muestreo repetitivo (*bootstrap test*) con 1000 repeticiones.

RESULTADOS

Todas las garrapatas analizadas durante este estudio fueron morfológicamente compatibles con los especímenes descritos por Nava y col. (2018) para *R. sanguineus* s.s. A continuación, se presenta la descripción morfológica para cada estado:

Macho:

El contorno corporal es piriforme; surcos cervicales profundos y cortos; coloración marrón, escudo sin ornamentación, con puntuaciones irregularmente distribuidas y variables en densidad; ojos suavemente abultados; líneas marginales profundas y puntuadas, delimitando los dos primeros festones y extendiéndose anteriormente hasta el nivel posterior a los ojos; tres surcos en la porción posterior del escudo, uno pósteromediano y dos pósterolaterales; once festones sin placas quitinosas en ventral. Superficie ventral con 4 placas, dos adanales (elongadas y subtriangulares, truncadas o redondeadas posteriormente) y dos placas adanales accesorias más pequeñas. Base del capítulo dorsalmente hexagonal, con el borde posterior suavemente cóncavo y cornuas pequeñas. Palpos e hipostoma cortos, con dentición 3/3. Patas: Coxa I con dos espinas anchas y largas, subiguales, la externa algo más ancha que la interna; coxas II-IV con una sola espina ubicada en la porción pósterolateral de cada coxa. Placa espiracular elongada, con una prolongación dorsal que a veces es visible dorsalmente.

Hembra:

Contorno corporal oval; escudo sin ornato, más largo que ancho, con el borde posterior sinuoso, y con pocas puntuaciones (mayores en los márgenes laterales); ojos no orbitados. Apertura genital al nivel de la coxa II, con forma de U o V. Base del capítulo dorsalmente hexagonal, con el borde posterior suavemente cóncavo, cornuas

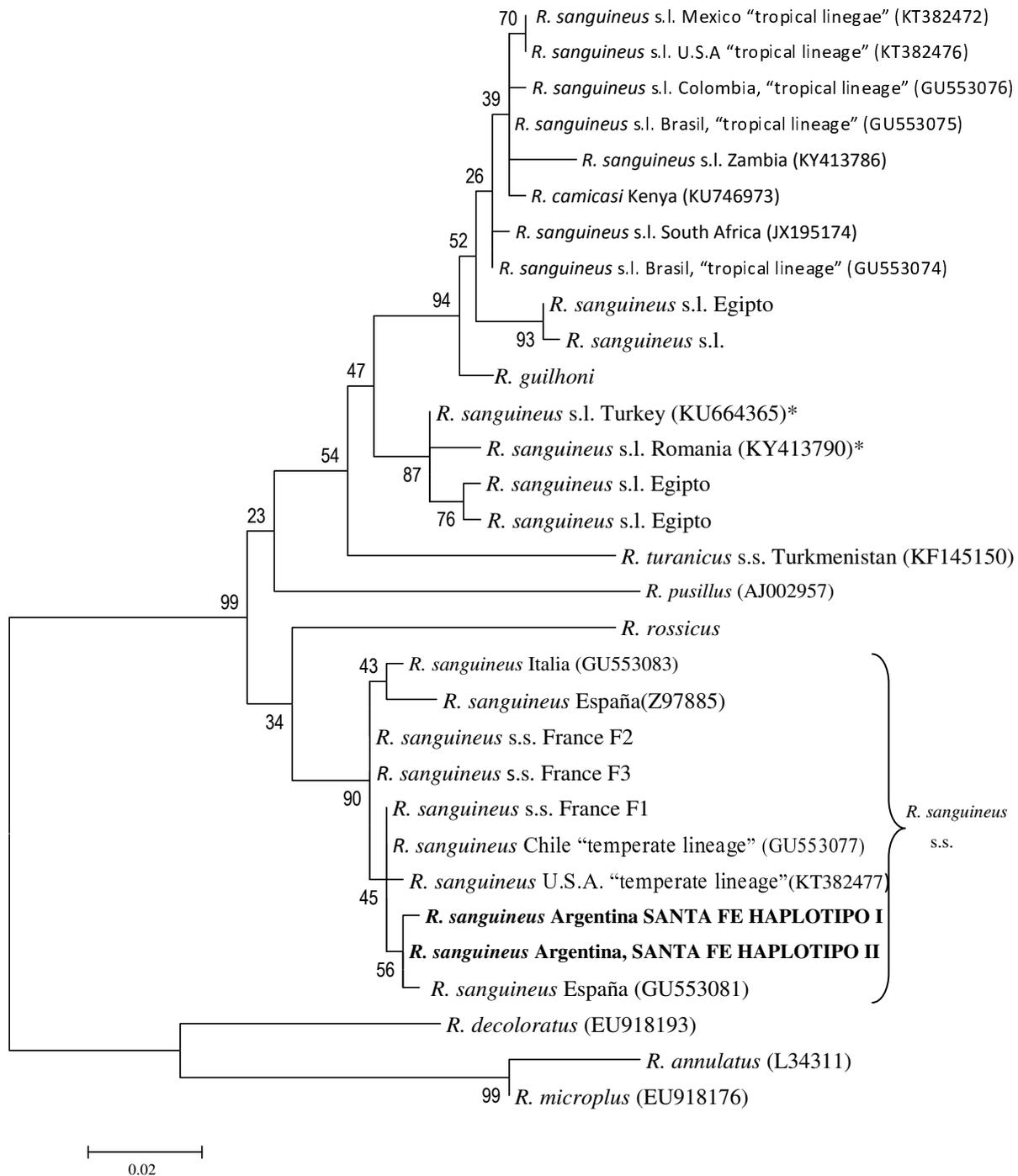
pequeñas, y áreas porosas pequeñas. Hipostoma corto con dentición 3/3, y palpos algo más largos que los de los machos, con el extremo apical más estrecho que el basal. Patas: Coxa I con dos espinas anchas y largas, sub-iguales, la externa algo más ancha que la interna; coxas II-IV con una sola espina ubicada en la porción póstero-lateral de cada coxa. Placa espiracular elongada, con una prolongación dorsal que a veces es visible dorsalmente.

Ninfa:

Contorno corporal ovalado; escápula redondeada; surcos cervicales profundos anteriormente y superficiales hacia posterior, con forma sigmoidea; escudo no ornamentado, márgenes laterales casi rectos, margen posterior redondeado; Notum y superficie ventral cubiertos por setas blanquecinas. Ojos pequeños y planos. Base del capítulo sub-triangular dorsalmente, cornuas ausentes, presencia de procesos ventrales, palpos cortos con el extremo apical agudo. Hipostoma corto, con fórmula dental 2/2. Coxa I con dos espinas triangulares, la externa más larga que la interna; coxas II-III con una espina corta y externa.

El análisis filogenético de las secuencias del gen 16S obtenidas (todas corresponden a dos únicos haplotipos) en este estudio se muestra en la Figura 5, dónde se observa que las mismas se agrupan en el mismo clado que las secuencias de *R. sanguineus* s.s. de Francia (localidad tipo), España, Italia, Estados Unidos, Uruguay y Chile. Las diferencias intraespecíficas entre todas estas secuencias fueron menores al 2%, una magnitud que está dentro del rango de las diferencias intraespecíficas para este taxón (Szabó y col. 2005; Nava y col. 2018).

Figura 5. Esquema del análisis filogenético de las secuencias del gen 16S.



Nava y col, 2018

DISCUSIÓN

Muchas descripciones morfológicas de *R. sanguineus*, se basan en garrapatas provenientes de diferentes poblaciones, mostrando, en algunos casos, incompatibilidad biológica y divergencia genética significativa (Oliveira y col. 2005; Szabó y col. 2005; Burlini y col. 2010; Moraes-Filho y col. 2011; Levin y col. 2012; Nava y col. 2012; Dantas-Torres y col. 2013; Liu y col. 2013; Nava y col. 2015; Sanches y col. 2016; Zemtsova y col. 2016; Chitimia y col. 2017; Dantas y col. 2017; Labruna y col. 2017; Coimbra y col. 2018; Díaz y col. 2018). La redefinición de *R. sanguineus* s.s. (Nava y col. 2018) ha permitido sortear estas dificultades y determinar fehacientemente a las especies pertenecientes al complejo *R. sanguineus*.

CONCLUSIÓN

Teniendo en cuenta estos nuevos avances, el análisis morfológico y molecular de las garrapatas de Santa Fe incluidas en este estudio, permite afirmar como conclusión que todas ellas pertenecen al taxón *R. sanguineus* s.s.

CAPÍTULO 2

DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE *Rhipicephalus sanguineus* s. s. SOBRE LOS CANINOS

INTRODUCCIÓN

Los parásitos y sus hospedadores son parte de sistemas biológicos y ecológicos complejos cuyos componentes afectan la dinámica de las poblaciones y aunque la importancia relativa de los diferentes componentes difiere entre los sistemas, todos ellos interactúan en una escala espacial y temporal específica. Así, la estructura del ciclo biológico de las garrapatas dependerá de factores intrínsecos y extrínsecos que cobrarán menor o mayor importancia relativa de acuerdo a las fases parasitarias del ciclo de la garrapata (Horwitz y Wilcox, 2005).

La morfología, el modo del desarrollo de los procesos secuenciales de alimentación, los mecanismos endócrinos, el comportamiento de diapausa, la edad fisiológica, la estructura y función de los sistemas nerviosos y digestivos, el potencial reproductivo y las estrategias de búsqueda del hospedador, son características intrínsecas de las garrapatas que inciden sobre su ciclo biológico (Nava y col. 2009).

Además, dado su condición de parásitos hematófagos, parte de su ambiente fisiológico incluye al propio hospedador, el cual constituye un medio biótico que reacciona a la presencia del parásito imponiéndole presiones fisiológicas, poblacionales y evolutivas (Randolph, 2004). Uno de los mecanismos más importantes activados por el hospedador ante la presencia de una garrapata, es la resistencia inmunológicamente adquirida, que afectará la dinámica poblacional de éstas al provocar modificaciones decisivas en rasgos biológicos tales como la reducción del volumen de sangre ingerido, un menor peso de ingurgitamiento, retraso del tiempo de alimentación, disminución de la producción y viabilidad de los huevos, inhibición de la muda y muerte de la garrapata (Wikel, 1996).

Aunque son parásitos específicos de los caninos domésticos, las garrapatas del taxón *R. sanguineus* s.l. también han sido halladas parasitando otros mamíferos como zorros del género *Cerdocyon*, (Kuhne y col. 1986), bovinos (Guglielmone y col. 1989), humanos (Guglielmone y col. 1991), caprinos, conejos, equinos (Ivancovich y Luciani, 1992), comadreja overa (Santa Cruz y col. 1998), mara (*Dolichotis patagonum*) (Zerpa y col. 2003).

Las garrapatas solo son parásitas un breve período de su ciclo biológico, encontrándose la mayor parte del tiempo como organismos de vida libre expuestas a los distintos factores ambientales.

La temperatura y humedad son factores que determinan las tasas de desarrollo de los diferentes estados de las garrapatas en su fase de vida libre. Existen otros factores extrínsecos que pueden afectar la sobrevivencia de las fases de vida libre como lo pueden ser la predación por aves, artrópodos, hemípteros, coleópteros, infecciones por virus, bacterias y hongos; por último, uno de los factores bióticos claves en el desarrollo de las fases de vida libre de las garrapatas conciernen a la densidad y la posibilidad de contacto del agente parasitario con su hospedador.

R. sanguineus, es una garrapata de tres hospedadores, parasitándolos por algunos días. Durante la fase parasitaria se alimentan de sangre de su hospedador; finalizado el período de alimentación y una vez ingurgitadas se desprenden para caer al ambiente y mudar a su próximo estado evolutivo. Las hembras ingurgitadas que ya fueron fertilizadas por los machos sobre el hospedador, se desprenden para comenzar el período de postura en el ambiente. Cada hembra puede colocar aproximadamente 3.200 huevos entre los 7 a 28 días después de desprenderse de su hospedador canino, que son incubados y eclosionan dentro de 3 a 10 semanas (Barker y Walker, 2014), dando origen a las larvas, que suben a un canino para alimentarse durante 3 a 8 días, luego se desprenden, caen al piso para mudar a ninfas dentro de 2 a 6 semanas. Las ninfas se suben a un nuevo hospedador sobre el cual se ingurgitan en 4 a 10 días y bajan nuevamente al medio para mudar a adultos en 2 a 26 semanas. Éstos suben para alimentarse a un nuevo hospedador; las hembras pueden ingurgitarse en 7 días, pero pueden permanecer sobre el canino durante 3 semanas si no están fecundadas; los machos permanecen durante varios meses por repetidos apareamientos. El ciclo de vida se puede completar en 10 semanas en condiciones ideales (Barker y Walker 2014). La duración de las fases de vida libre (muda, oviposición e incubación de los huevos) puede variar de unas pocas semanas a algunos meses, siendo inversamente proporcional a la temperatura ambiente. Las hembras ingurgitadas, trepan por las paredes y ponen huevos en grietas o pueden poner huevos debajo de la cama del perro. Es posible más de un ciclo de vida al año; están adaptadas a vivir en el ambiente como en los refugios caninos o casas de los humanos. Las viabilidades de las fases de vida libre son influenciadas principalmente por las condiciones microclimáticas (Labruna 2004; Barker y Walker 2014).

Las garrapatas contenidas dentro del taxón *R. sanguineus* s.l. son de hábitos nidícolas, pasando sus fases de vida libre en las áreas de reposo de sus hospedadores.

Los estados ingurgitados presentan geotropismo negativo por lo que se desprenden de sus hospedadores para que sus fases de desarrollo, muda, postura e incubación de los huevos sea en lugares donde viven los canes. Este comportamiento geotrópico negativo que tienen los estados ingurgitados permite localizarlas en muros o paredes (Labruna 2004). De acuerdo al mismo autor, se considera a un 5% de la población de *R. sanguineus*, s.l. sobre el hospedador y el 95% restante en el ambiente desarrollando las fases de vida libre. Esto es de suma importancia al momento de implementar medidas de saneamiento o control del parásito.

Según Alcaino y col. (1990), la estimación de la intensidad de las infestaciones de los estados de *R. sanguineus* s.l., indica que los ejemplares adultos predominaron en octubre, noviembre y diciembre (primavera), disminuyendo marcadamente a partir de enero (verano), hasta desaparecer totalmente a fines de abril (inicio de otoño). Luego lentamente comenzaron su aparición a mediados de agosto para aumentar progresivamente a partir de septiembre. Se encontraron larvas solo en los meses de diciembre y abril, en tanto que las ninfas predominaron de enero y febrero, disminuyendo en los meses siguientes para reaparecer en septiembre.

En Argentina, *R. sanguineus* s.l., se halla distribuida en ambientes urbanos de un vasto territorio que abarca desde Salta y Formosa a Chubut (Ruiz y col. 2003) (Guglielmono y Nava, 2005), y a pesar de su reconocida relevancia sanitaria, los estudios sobre aspectos ecológicos son muy escasos. Boero, (1954) reporta datos sobre la frecuencia de hallazgos de *R. sanguineus* s.l., en Capital Federal y sus alrededores; Guglielmono y col. (1989) realizaron un estudio epidemiológico sobre esta garrapata en la provincia de Salta. En la provincia de Buenos Aires, González y col. (2004) llevaron a cabo un estudio sobre los ectoparásitos de caninos, brindando datos sobre los niveles de abundancia y distribución estacional de *R. sanguineus* s.l., en estos hospedadores. Sin embargo, no existen en la Argentina estudios longitudinales sostenidos en el tiempo que permitan describir la estructura y el número anual de ciclos biológicos de esta garrapata. Por el contrario, la información generada sobre la ecología de esta garrapata en otros países es más numerosa. Datos sobre la estacionalidad y el ciclo biológico de esta garrapata bajo condiciones naturales fueron obtenidos en México (Cruz-Vazquez y Garcia-Vazquez 1999), Sudáfrica (Horak 1986; Jacobs y col. 2001), Estados Unidos (Koch 1982), Israel (Mumcuoglu y col. 1993), Francia (Gilot 1984) y Japón (Inokuma y col.1996). En Sudamérica, los estudios sobre la dinámica estacional de *R. sanguineus*

s.l., se restringen a Brasil (Braz Louly y col. 2008; Silveira y col. 2009) y Uruguay (Venzal y col. 2007). De acuerdo a estudios realizados en otros países, *R. sanguineus* s.l., puede llegar a completar hasta cuatro generaciones anuales (Dantas-Torres 2008). Asimismo, también existen para otros países estudios sobre el efecto de diferentes factores ambientales, como por ejemplo temperatura, humedad y fotoperíodo, sobre distintos parámetros biológicos de *R. sanguineus* s.l., (Sweatman 1967; Koch, 1982; Koch y Tuck 1986; Bechara y col. 1995; Yoder y col. 2006; Paz y col. 2008; Piranda y col. 2008), y sobre la capacidad migratoria de la garrapata en las edificaciones urbanas que coloniza (Little y col. 2007). Es importante remarcar que este tipo de trabajos son inexistentes para Argentina, a pesar de que la comparación con nuestra región es relevante por tratarse del extremo sur de la distribución de la garrapata.

Actualmente se sabe que *R. sanguineus* s.s., que está distribuida tanto en el viejo como en el nuevo mundo, es la garrapata que se encuentra en la zona motivo de estudio. Debido a su acción exclusivamente hematófaga y el tipo de ciclo biológico de tres hospedadores, posee uno para cada una de sus fases, es un potencial transmisor de agentes patógenos. Las condiciones climáticas podrían tener un impacto indirecto en la dinámica poblacional de ella y por lógica en la contribución en la circulación y transmisión de patógenos.

En la provincia de Santa Fe, hasta el momento, no hay estudios realizados sobre la estacionalidad de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., por lo que este trabajo se considera un importante aporte con datos epidemiológicos de los mismos.

El objetivo del presente capítulo es describir la distribución estacional de *R. sanguineus* s. s., a través de la cuantificación mensual de las garrapatas en sus fases de vida parasitaria sobre los caninos en el centro de la provincia de Santa Fe, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

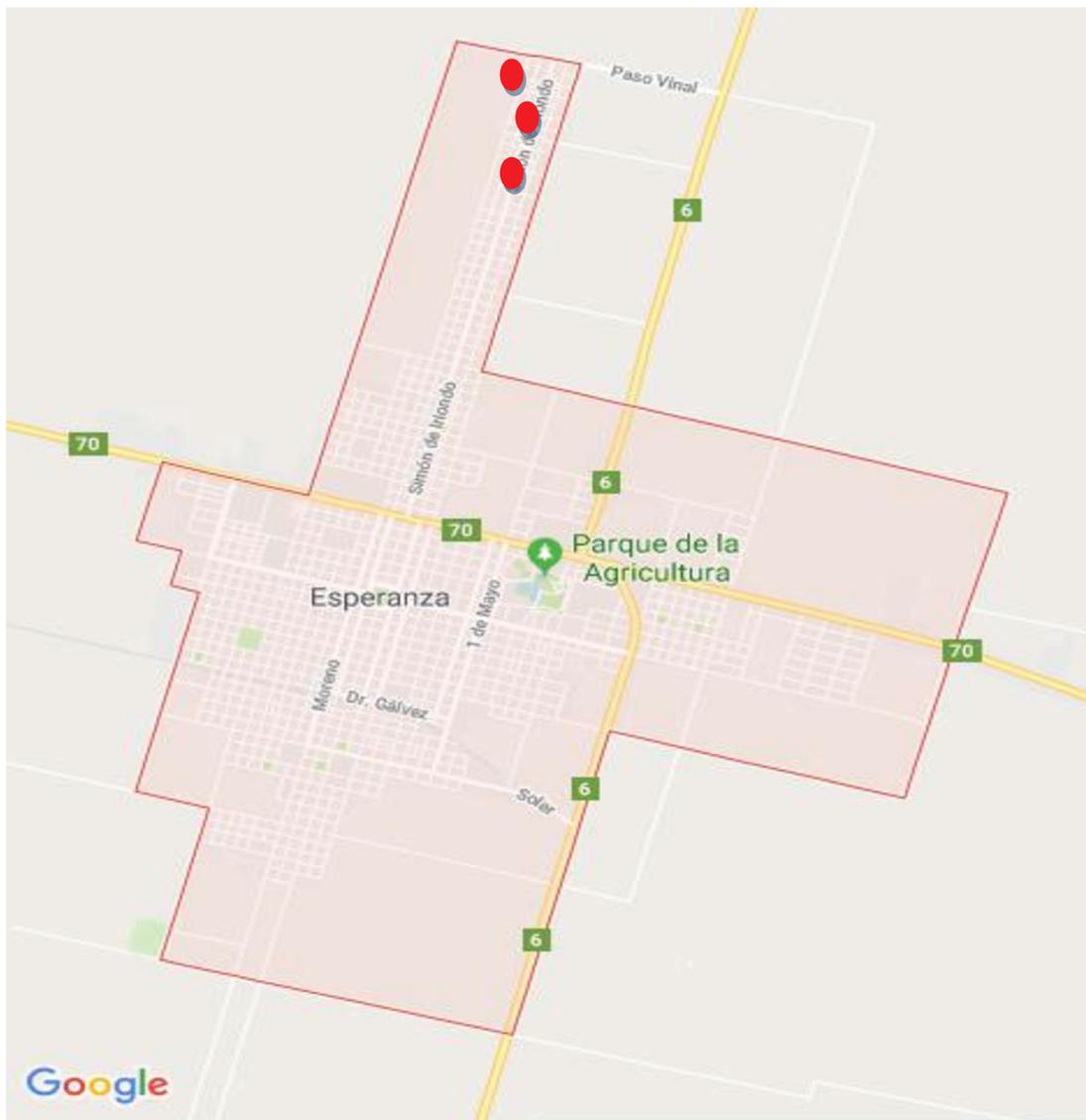
Descripción del área de estudio

El área de estudio comprende a la provincia biogeográfica Chaqueña, según el esquema de eco-regiones dado por Burkart y col. (1999); fitogeográficamente, el área corresponde a la provincia del Espinal, distrito del Algarrobo, del dominio Chaqueño (Cabrera 1994).

El ambiente en que se ha trabajado es básicamente periurbano. El muestreo se realizó en el “Barrio La Orilla”, de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina (S:31.448097, O: 60.930430). el mismo se encuentra a una distancia de 5,5 km de la plaza principal.

El sitio está ubicado en la zona norte de esta ciudad, comprendió tres puntos de muestreo. El primero se ubica en la cuadra de la escuela primaria, el segundo punto, frente a una plaza en casas de familia, donde si bien los caninos tienen dueños, no viven circunscriptos al ámbito domiciliario. El tercer punto de muestreo fue una casa de familia, donde los caninos tampoco están circunscriptos al ámbito domiciliario, sino que deambulan libremente por el barrio. (Figura 6).

Figura 6-. Plano de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina, donde se ubica la zona de muestreo.



Los datos utilizados para determinar la distribución estacional de *R. sanguineus* s.s. en su etapa parasítica se obtuvieron a través de 37 muestreos mensuales desde diciembre de 2013 a diciembre de 2016.

Datos climáticos

La ciudad de Esperanza, se ubica a una latitud de 40 metros sobre el nivel del mar. El clima es subtropical con temperaturas mínimas medias mensuales de 6,4 °C en el mes de julio, las temperaturas máximas de 32,7 °C se registran en el mes de enero. La humedad relativa varía entre 70 y 99 % según la estación climática. Las precipitaciones alcanzan un promedio anual de 950 mm, siendo marzo el más lluvioso con un promedio de 147 mm, y junio, con un promedio de 31 mm, el de menor registro de precipitación.

Durante el período que comprendió el estudio (diciembre de 2013 hasta diciembre de 2016), las temperaturas anuales promedio oscilaron en 20°C, con una temperatura promedio mínima de 10,3°C en junio de 2016 y una temperatura promedio máxima de 27,9°C en enero de 2014. Para el caso de la humedad relativa durante el período de estudio fue de un promedio del 80%, con un mínimo de 62,1% en enero de 2014 y un máximo de 90% en julio de 2016. Las precipitaciones tuvieron un mínimo de 0 mm en agosto de 2015 y un máximo de 307,3 mm en abril de 2016.

Los datos climáticos fueron proporcionados por el área de Climatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral.

Obtención de material de muestreo

Los datos utilizados en este estudio se obtuvieron a través de muestreos mensuales, desde diciembre de 2013 a diciembre 2016, los caninos pertenecían al Barrio “La Orilla” de la ciudad de Esperanza, provincia de Santa Fe, Argentina.

Se muestrearon un mínimo de 10 caninos y un máximo de 25 animales; esto nos permitió comprobar la distribución de cada estado durante el transcurso de los meses, la estacionalidad y la abundancia de los mismos durante el período de muestreo y la preferencia por las ubicaciones sobre el animal de los diferentes estados parásitos.

Se trata de un estudio longitudinal, realizando mediciones repetidas sobre los mismos individuos y el mismo ambiente en forma periódica, lo que nos permitió a lo largo de tres años evaluar cómo se comporta cada estado (larva, ninfa y adulto) tanto en su fase de vida parasitaria como en su fase de vida libre.

Para el cálculo de la prevalencia, intensidad y abundancia, utilizamos el Programa Quantitative Parasitology 3.0 (Ròzsa y col. 2000), mientras que para el análisis estadístico aplicamos Modelos Lineales Generalizados.

La cuantificación de la infestación con *R. sanguineus* s.s. en los caninos se hizo a nivel individual examinando cada animal, calculando el porcentaje de prevalencia (% P) la abundancia media (AM), intensidad, distribución, frecuencia y dinámica estacional de los mismos durante el período de muestreo de acuerdo a (Bush y col. 1997; Bautista Hernández y col. 2015).

La prevalencia es la cantidad de hospedadores infectados con uno o más individuos de una especie de parásito en particular (o grupo taxonómico) dividido el número de hospedadores examinados para esa especie de parásito. La prevalencia es uno de los descriptores más ampliamente reportados de infección parasitaria porque requiere sólo la detección de la presencia del parásito y no la enumeración de los individuos presentes (Bush y col. 1997; Bautista Hernández y col. 2015).

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de hospederos infectados}}{\text{N}^\circ \text{ de hospederos examinados}} = \% \text{ Prevalencia}$$

Intensidad es el número de individuos de una especie de parásito en particular en un único hospedador infectado, es decir, el número de individuos en una infrapoblación.

$$\text{N}^\circ \text{ de individuos de parásitos en una infrapoblación} = \text{Intensidad}$$

La intensidad media es el número total de parásitos de una especie particular encontrada en una muestra, dividida la cantidad de hospedadores infectados con ese parásito. (Bush y col. 1997; Bautista Hernández y col. 2015).

La abundancia es la cantidad de individuos de un parásito en particular por hospedador examinado, independientemente de si el hospedador está infectado o no.

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ total de parásitos colectados}}{\text{N}^\circ \text{ total de hospederos de la muestra}} = \text{Abundancia}$$

La abundancia media es el número total de individuos de una especie de parásito en particular en una muestra de una especie hospedadora dividido el número total de hospedadores de esa especie examinada (incluidos hospedadores infectados y no infectados). Es, por lo tanto, la abundancia promedio de una especie de parásito entre todos los miembros de una población hospedadora particular. (Bush y col. 1997; Bautista Hernández y col. 2015).

Se analizaron las asociaciones de los niveles de infestación con las siguientes variables:

Factores externos

Estación: la estacionalidad ha sido explorada dividiendo el año en 4 estaciones según solsticios y equinoccios, y mediante la utilización de componentes sinusoidales que reflejen un ciclo anual (Beldomenico y col. 2008b).

Para un mejor estudio y facilitar el análisis de los datos, se han tomado como período de verano los meses de enero, febrero y marzo; otoño, comprende los meses de abril, mayo, junio; invierno los meses de julio, agosto y septiembre; primavera, los meses de octubre, noviembre y diciembre.

Datos macroclimáticos: se obtuvieron los datos de temperatura, humedad y precipitaciones registradas durante el período de estudio.

Variables del hospedador

Raza: animales mestizos.

Sexo: ambos

Edad: variada y se toman datos estimativos.

Pelaje: se aclara si el pelaje es largo o corto, para determinar si existe alguna diferencia en la elección por parte de las formas parasitarias.

Tamaño de la muestra: se muestrearon en forma mensual entre 10 y 25 caninos durante tres años. La selección de los individuos se realizó por conveniencia (los disponibles), teniendo como criterio de selección que fuesen animales adultos, residentes en el área de estudio y que no estuviesen circunscriptos al ámbito domiciliario. Se revisó el área corporal y se extrajeron cada uno de los diferentes

estados de las formas parasitarias que se encontraban sobre el canino motivo de estudio. Los animales que participaron en el muestreo, algunos no tenían dueños, otros sí poseían, pero no se encontraban circunscriptos al ámbito domiciliario. Tampoco fueron desparasitados durante el período que duró el muestreo, sí una vez que finalizó el mismo. La decisión sobre los animales a muestrear se debió a que, al no estar circunscriptos al ámbito domiciliario, vagaban libremente con la posibilidad de estar en espacios amplios lo que constituía un área adecuada para el desarrollo de las fases de la garrapata de interés.

El muestreo se realizó mensualmente, colectando las garrapatas de los animales, los cuales se identificaron con fichas individuales con fotos, nombre y dirección si los mismos tuvieran dueños.

El análisis estadístico se realizó mediante Modelos Lineales Mixtos Generalizados. Los datos de distribución, abundancia y prevalencia se obtuvieron utilizando el programa Quantitative Parasitology 3.0.

RESULTADOS

Con todos los datos obtenidos durante el muestreo, se estimaron prevalencia, intensidad, abundancia y frecuencia de la distribución, de los diferentes estados durante el período de estudio.

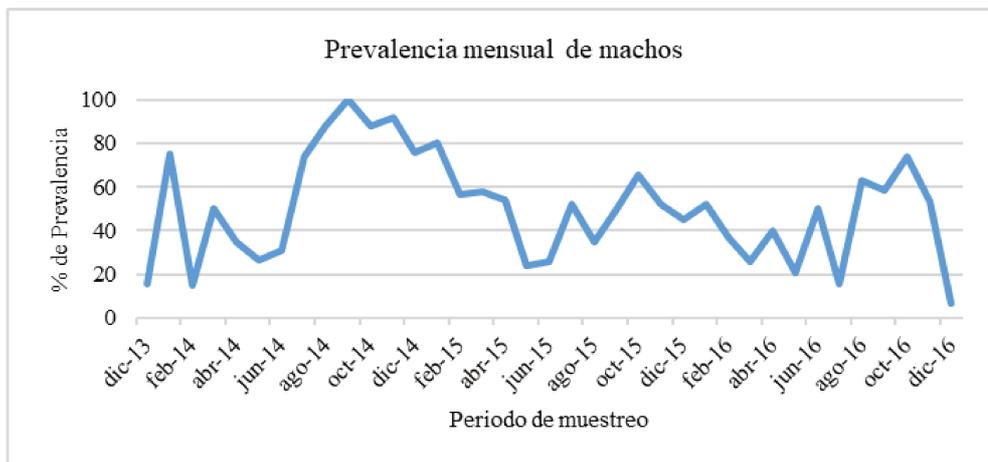
Se evaluó la influencia que pudieran tener los factores climáticos sobre el comportamiento de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s.

Prevalencia

La prevalencia tomada como la cantidad de hospedadores infectados con uno o más estados de *R. sanguineus* s.s., dividido el número de caninos examinados, se analizó para cada mes del muestreo y para cada estado de la garrapata motivo de estudio.

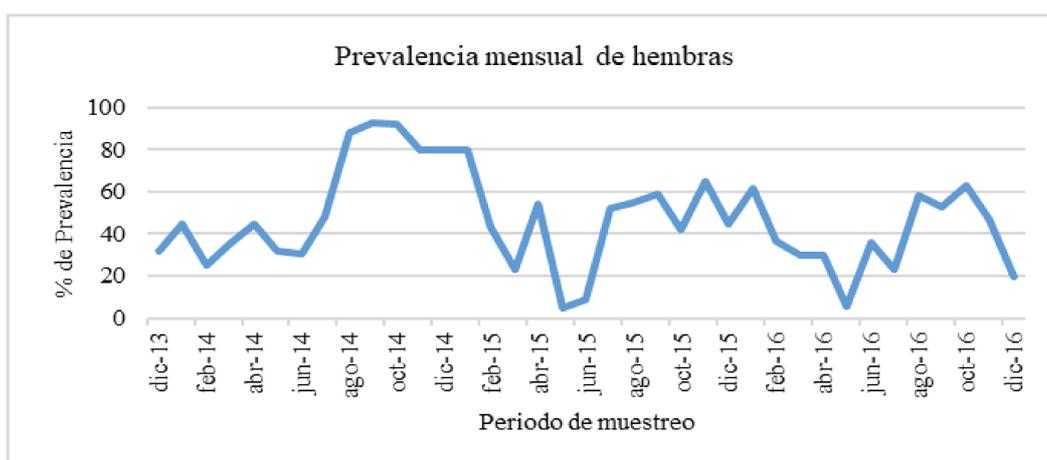
Para el caso del estado de machos de *R. sanguineus* s.s., se evidenció una mayor distribución durante los meses cálidos, comenzando el aumento de la prevalencia a fines de agosto hasta el mes de abril con un descenso importante para los meses más fríos, hecho que nos indicaría una posible quiescencia (Gráfico 1).

Gráfico 1-. Prevalencia mensual de los machos de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



El estado de hembras, durante el período de estudio y de acuerdo a lo que nos indica el Gráfico 2, se evidencia una elevada prevalencia de las mismas desde agosto hasta diciembre, comenzando a descender en febrero y alcanzando el pico mínimo en mayo, ciclo que se repite en cada año de muestreo.

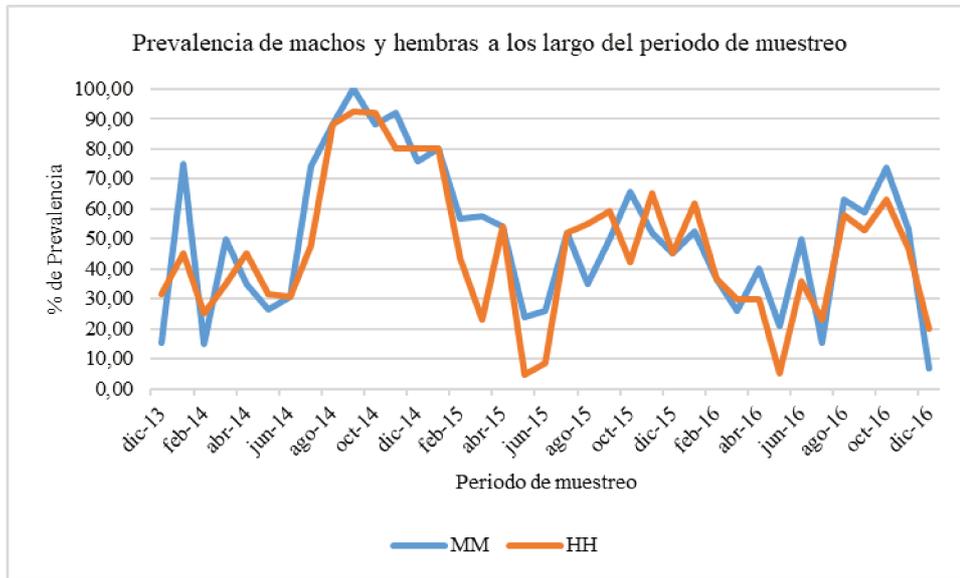
Gráfico 2-. Prevalencia mensual de las hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



Si analizamos en conjunto, la prevalencia de los estados adultos (machos y hembras) a lo largo del período muestreado, se evidencia una coincidencia en la misma, con un

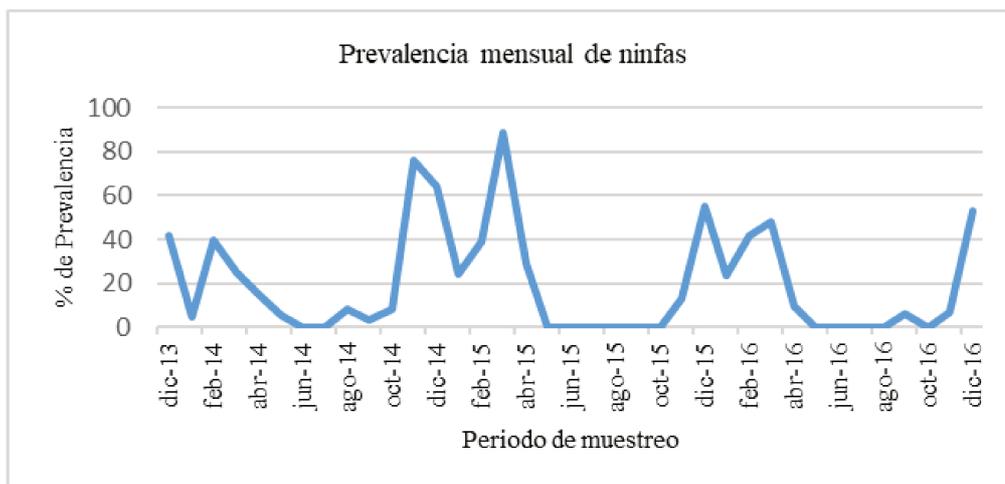
aumento desde agosto a diciembre en cada año y un descenso desde enero a julio, siendo el mes de mayo donde se visualiza la menor prevalencia (Gráfico 3).

Gráfico 3-. Prevalencia mensual de machos y hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



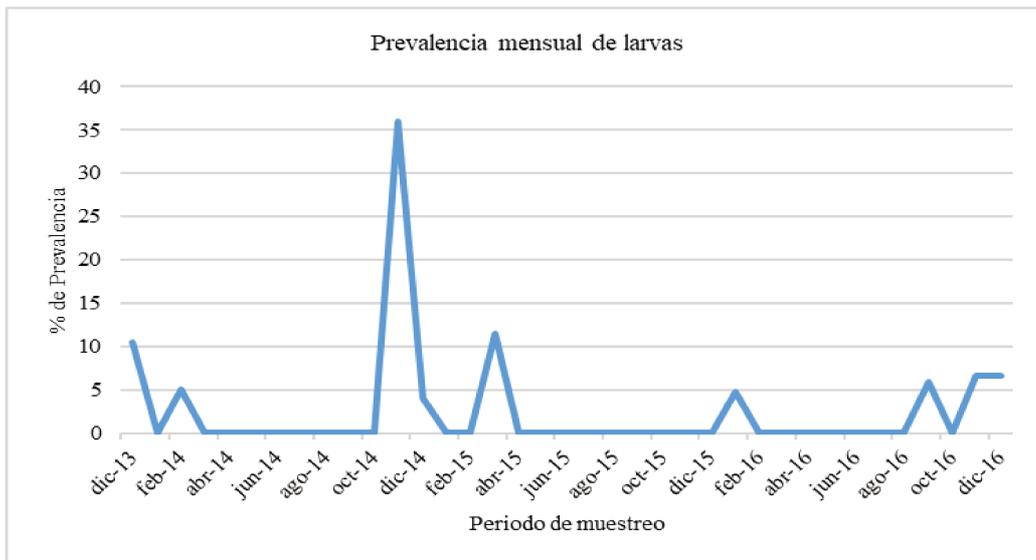
En el estado ninfal de *R. sanguineus* s.s., se evidencia una prevalencia superior desde octubre a mayo y los períodos en que disminuye la misma, coinciden con la menor temperatura ambiental (Gráfico 4).

Gráfico 4-. Prevalencia mensual de las ninfas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



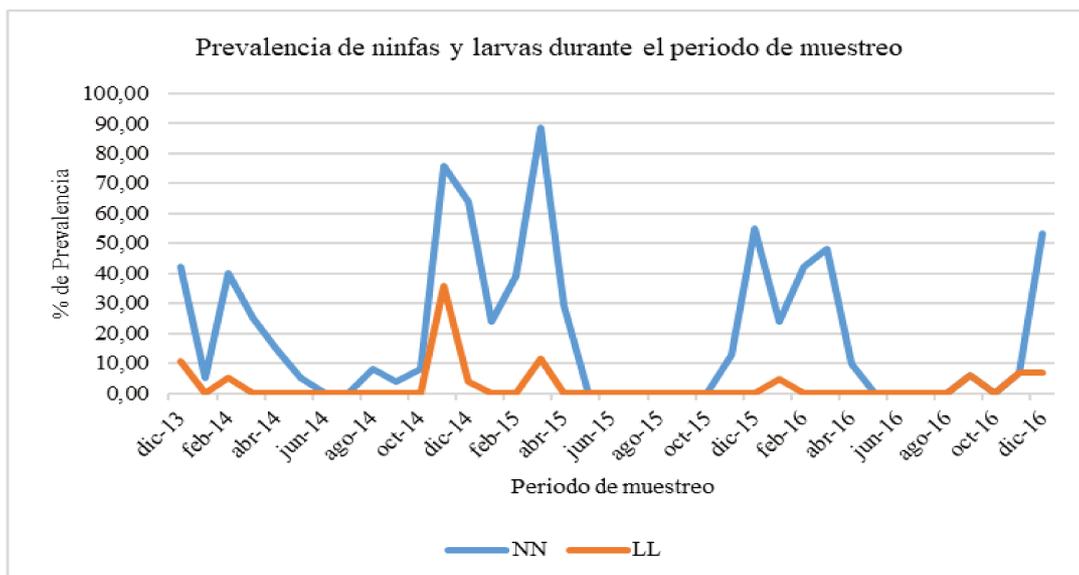
Para las larvas, la mayor prevalencia esta dada en los meses cálidos desde septiembre hasta abril. En el período frío es nula la presencia de ellas (Gráfico 5).

Gráfico 5-. Prevalencia mensual de las larvas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



Si se analiza en conjunto los estados inmaduros, se evidencia que la mayor prevalencia coincide con los meses cálidos, a lo largo del período de muestreo y que los picos de prevalencia de larvas (LL) preceden a los picos de prevalencia de las ninfas (NN) (Gráfico 6).

Gráfico 6-. Prevalencia mensual de ninfas (NN) y larvas (LL) de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



Para el análisis de la prevalencia estacional de cada uno de los estados de *R. sanguineus* s.s., (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas), sobre los caninos durante el período de muestreo, se tomaron las estaciones del año de acuerdo a lo mencionado *up supra*, para facilitar el estudio de la estacionalidad de cada estado (Tabla 1).

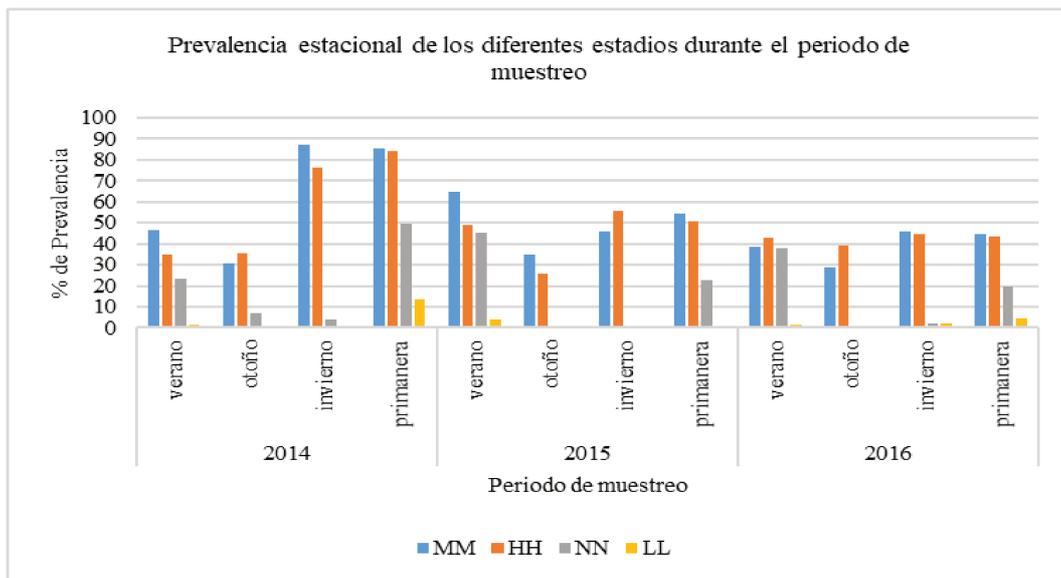
Tabla 1-. Prevalencia estacional de cada estado de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas). Expresada en %.

| Año | estaciones | MM | HH | NN | LL |
|------|------------|-------|-------|-------|-------|
| 2014 | verano | 46,67 | 35 | 23,33 | 1,67 |
| | otoño | 30,7 | 35,78 | 6,75 | 0 |
| | invierno | 87,3 | 76,14 | 3,9 | 0 |
| | primavera | 85,33 | 84 | 49,33 | 13,33 |
| 2015 | verano | 64,74 | 48,87 | 45,2 | 3,83 |
| | otoño | 34,69 | 25,55 | 0 | 0 |
| | invierno | 45,65 | 55,37 | 0 | 0 |
| | primavera | 54,18 | 50,83 | 22,67 | 0 |
| 2016 | verano | 38,38 | 42,79 | 38,02 | 1,59 |
| | otoño | 28,81 | 38,89 | 0 | 0 |
| | invierno | 45,79 | 44,64 | 1,96 | 1,96 |

| | | | | | |
|--|-----------|-------|-------|----|------|
| | primavera | 44,56 | 43,28 | 20 | 4,44 |
|--|-----------|-------|-------|----|------|

Analizando la prevalencia estacional de cada estado de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos durante el período de muestreo (MM, HH, NN, LL), se evidencia una mayor prevalencia de los estados adultos en las estaciones invierno y primavera, disminuyendo en las estaciones de verano con una prevalencia mínima en otoño. Para el caso de los estados inmaduros (larvas y ninfas) se evidencia una mayor prevalencia en las estaciones cálidas, para desaparecer en las estaciones de otoño-invierno (Gráfico 7).

Gráfico 7-. Prevalencia estacional de cada estado de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo. (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas).



Si analizamos estadísticamente la prevalencia de machos de *R. sanguineus* s.s., mediante un Modelo Lineal Mixto Generalizado (MLMG), vemos que, para los tres años de estudio, del verano al otoño cae la prevalencia, aumentando significativamente desde finales de invierno y primavera, siendo el primer año el que marca la mayor

prevalencia, dado que, en los años siguientes, si bien respeta cierto patrón, son inferiores que el primer año.

Se pone en evidencia que las estaciones de invierno y primavera, tienen diferencias significativas ($p < 0,01$) respecto a las otras estaciones, coincidiendo con la mayor distribución de este estado (Tabla 2).

Tabla 2-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas machos – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos

| | Coefficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|-----------------|---------------------|-------------------|-------------------------|
| (verano año 1) | -0,7639 | 0,4710 | 0,10481 |
| (oto)2 | -1,2231 | 0,4716 | 0,00950 ** |
| (inv)3 | 3,4748 | 0,5400 | 1,23e-10 *** |
| (prim)4 | 3,2323 | 0,5246 | 7,23e-10 *** |
| (año)2 | 1,6827 | 0,4540 | 0,00021 *** |
| (año)3 | -0,3052 | 0,4452 | 0,49298 |
| (oto)2. (año)2 | -0,9075 | 0,6451 | 0,15950 |
| (inv)3. (año)2 | -4,9208 | 0,7304 | 1,62e-11 *** |
| (prim)4. (año)2 | -4,0590 | 0,7013 | 7,14e-09 *** |
| (oto)2. (año)3 | 0,6633 | 0,6576 | 0,31316 |
| (inv)3. (año)3 | -3,3424 | 0,7142 | 2,87e-06 *** |
| (prim)4. (año)3 | -3,3429 | 0,7034 | 2,01e-06 *** |

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

Si analizamos estadísticamente la prevalencia de las hembras, de *R. sanguineus* s.s., mediante un MLMG (Tabla 3), se observa que tienen un comportamiento muy similar a lo que sucede con los machos; las estaciones de invierno y primavera tienen diferencias significativas ($p < 0,01$) respecto al verano y otoño, coincidiendo con la mayor distribución de este estado, siendo la primavera del año 1, la que marca mayor diferencia significativa. Para el año 2 y 3 el comportamiento sigue cierto patrón, con diferencias significativas ($p < 0,01$) también en las estaciones de invierno y primavera.

Tabla 3-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas hembras– estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos

| | Coficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| (verano año 1) | -1,15781 | 0,38333 | 0,00252 ** |
| (otoño)2 | -0,08732 | 0,42723 | 0,83805 |
| (invierno)3 | 2,59251 | 0,44149 | 4,30e-09 *** |
| (primavera)4 | 3,21348 | 0,48186 | 2,58e-11 *** |
| (año)2 | 1,01458 | 0,40069 | 0,01134 * |
| (año)3 | 0,58241 | 0,40920 | 0,15465 |
| (otoño)2.(año)2 | -1,24090 | 0,58723 | 0,03459 * |
| (invierno)3.(año)2 | -2,39577 | 0,58758 | 4,56e-05 *** |
| (verano)4.(año)2 | -3,21117 | 0,61683 | 1,93e-07 *** |
| (otoño)2. (año)3 | -1,29751 | 0,62218 | 0,03703 * |
| (invierno)3.(año)3 | -2,72565 | 0,61622 | 9,73e-06 *** |
| (primavera)4.(año)3 | -3,54448 | 0,64801 | 4,51e-08 *** |

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

Cuando analizamos estadísticamente la prevalencia de las ninfas de *R. sanguineus* s.s., mediante un MLMG (Tabla 4) debemos aclarar que no sigue un patrón de

distribución; se evidencia que, durante el primer año de muestreo del verano al otoño, la prevalencia disminuye, al igual que en el invierno, para luego darse un aumento significativo ($p < 0,01$) de la misma durante la primavera, hecho que coincide con la mayor distribución de las ninfas. Se evidencia también un abrupto descenso de la prevalencia para el invierno del segundo año de muestreo.

Tabla 4-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas ninfas – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos. Efectos fijos:

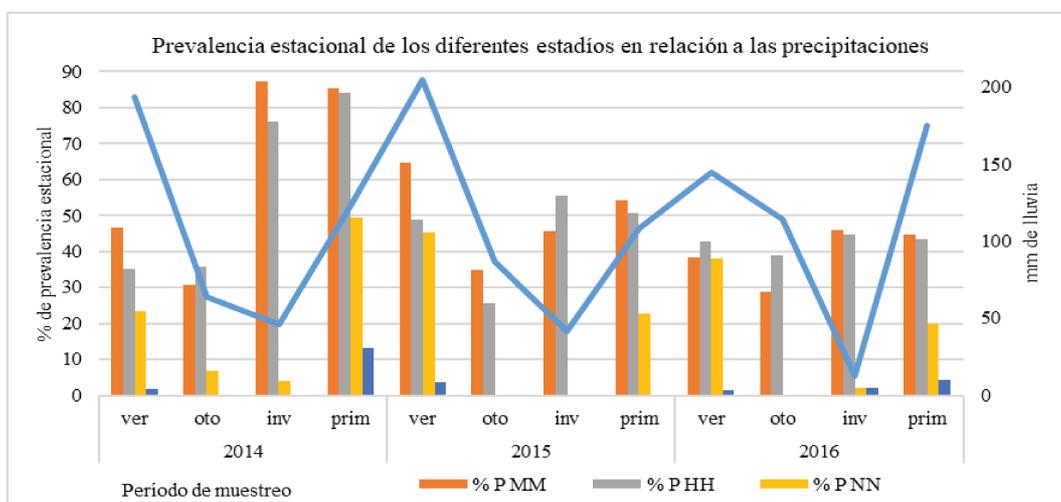
| | Coefficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|----------------------|--------------|------------|---------------|
| (verano año 1) | -1,3638 | 0,3358 | 4,87e-05 *** |
| (otoño)2 | -1,4107 | 0,6171 | 0,022248 * |
| (invierno)3 | -1,9881 | 0,6823 | 0,003572 ** |
| (primavera)4 | 1,3355 | 0,3934 | 0,000686 *** |
| (año)2 | 1,4170 | 0,3940 | 0,000323 *** |
| (año)3 | 0,9738 | 0,4083 | 0,017074 * |
| (otoño)2.(año)2 | -0,8083 | 0,7659 | 0,291263 |
| (invierno)3.(año)2 | -13,2195 | 222,9262 | 0,952713 |
| (primavera)4.(año)2 | -2,8791 | 0,5555 | 2,18e-07 *** |
| (otoño)2.(año)3 | -1,6689 | 0,9991 | 0,094845 |
| (invierno)3. (año)3 | -1,7963 | 1,2694 | 0,157056 |
| (primavera)4. (año)3 | -2,6974 | 0,6083 | 9,25e-06 *** |

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

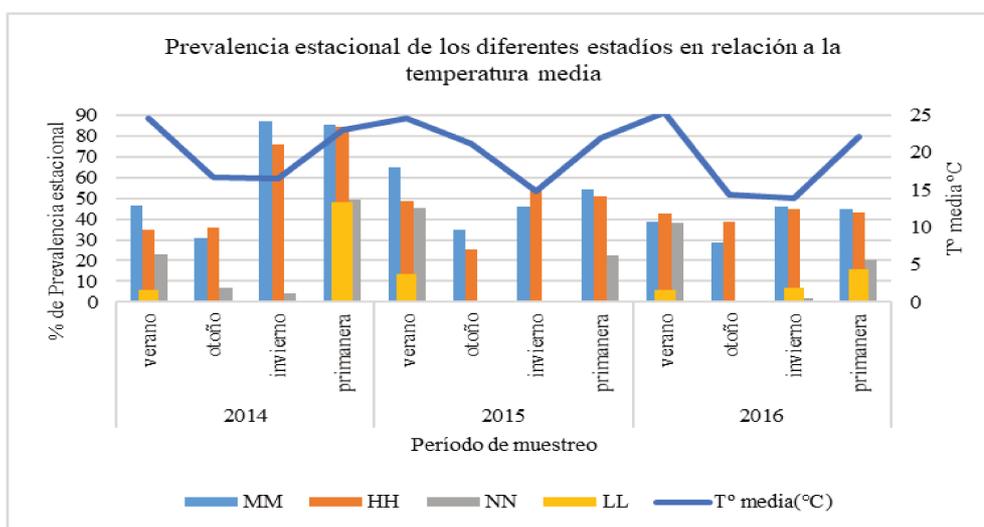
Si tenemos en cuenta la distribución de la prevalencia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., con la posible influencia de las precipitaciones, notamos que no existe un patrón general de distribución. En primavera y verano, que son los períodos con mayores precipitaciones, coincide con la mayor prevalencia de los estados juveniles (Gráfico 8).

Gráfico 8-. Prevalencia estacional (% P) de los estados de machos, hembras y ninfas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas) y las precipitaciones (mm).



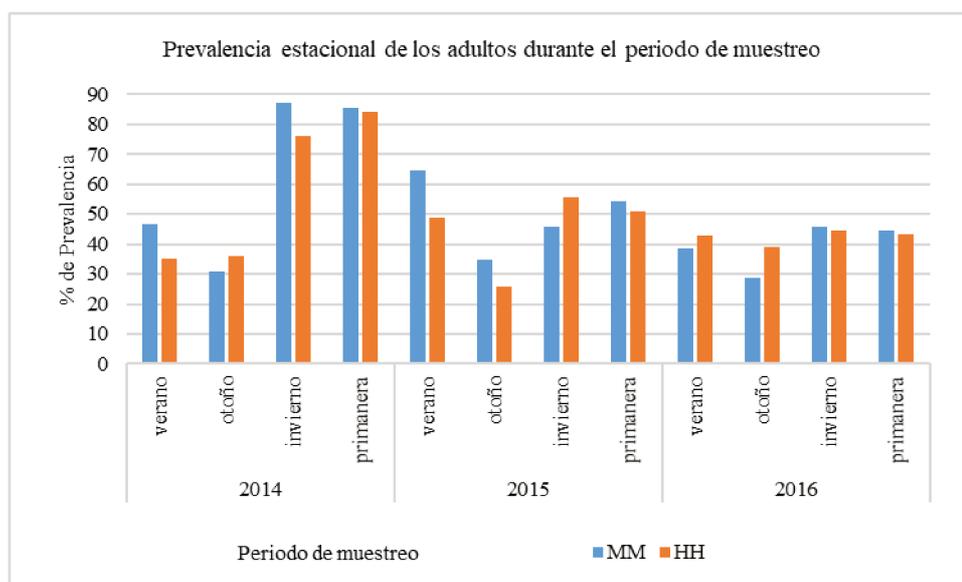
Si analizamos la prevalencia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., con la posible influencia de las temperaturas, (Gráfico 9) notamos que, los estados adultos (MM, HH), comienzan con una mayor prevalencia en invierno y va descendiendo la misma a medida que aumenta la temperatura en verano. Para el caso de los estados juveniles tienen mayor prevalencia con mayores temperaturas primavera-verano, hecho que precede a los picos de adultos.

Gráfico 9 -. Prevalencia estacional (%P) de los estados de machos, hembras, ninfas y larvas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas) y las temperaturas medias (°C).



La estacionalidad de los estados adultos (MM, HH), (Gráfico 10) comienza con una mayor prevalencia a finales de invierno y va descendiendo la misma a medida que aumenta la temperatura en verano. Para el caso de los estados juveniles tienen mayor prevalencia con mayores temperaturas primavera-verano, hecho que precede a los picos de adultos, con una quiescencia invernal.

Gráfico 10-. Prevalencia estacional (% P) de los estados adultos de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.

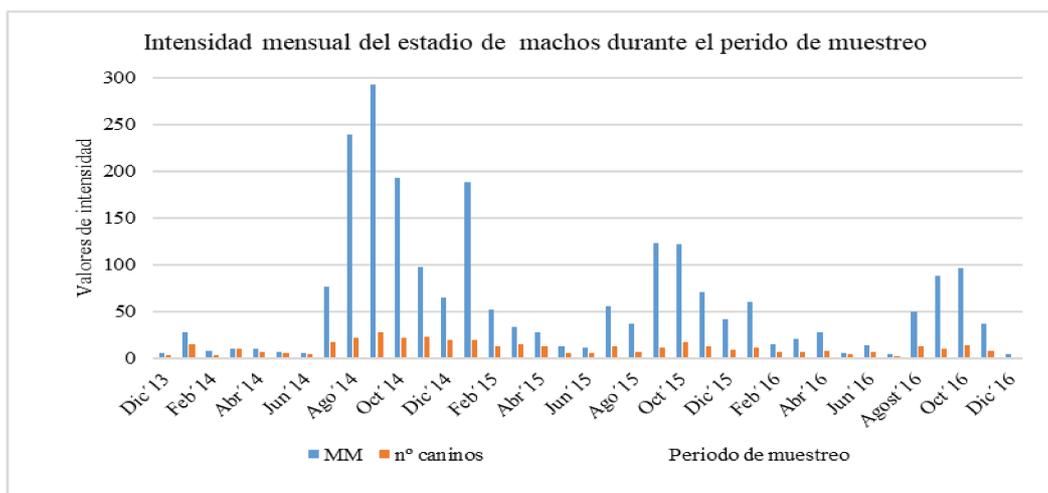


Intensidad

La Intensidad, está considerada como el número de garrapatas en un hospedador infestado; para nuestro estudio se tiene en cuenta el número de parásitos de los diferentes estados, obtenidos en un determinado número de animales.

De acuerdo a los datos del período analizado, se evidencia una elevada intensidad del estado de **machos** de *R. sanguineus* s.s. en los caninos (Gráfico 11) durante los meses más cálidos, comenzando su aumento en el mes de agosto, haciendo un pico en octubre para luego comenzar a descender hasta abril, siendo los meses de junio y julio el período de menor presencia parasitaria de este estado, lo que nos indicaría una quiescencia invernal.

Gráfico 11-. Intensidad mensual de los machos (MM) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



Si analizamos estadísticamente mediante un MLMG (Tabla 5), la intensidad del estado de machos de *R. sanguineus* s.s., no evidencia un patrón de distribución en la intensidad estacional de los machos durante el período de muestreo.

Sí, es estadísticamente significativa ($p < 0,01$), la intensidad en las estaciones de invierno y primavera para este estado.

Tabla 5-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas machos – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos

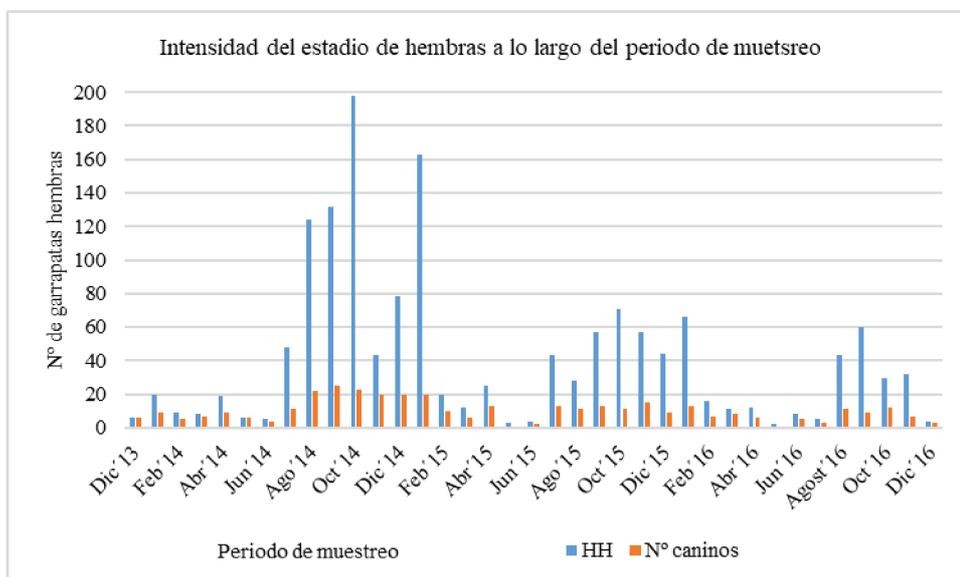
| | Coefficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|---------------------|--------------|------------|---------------|
| (verano año 1) | -0,87365 | 0,29755 | 0,00332 ** |
| (otoño)2 | -0,60147 | 0,37731 | 0,11092 |
| (invierno)3 | 2,88131 | 0,30347 | < 2e-16 *** |
| (primavera)4 | 2,42097 | 0,30734 | 3,35e-15 *** |
| (año)2 | 1,99249 | 0,30190 | 4,12e-11 *** |
| (año)3 | 0,68025 | 0,31649 | 0,03161 * |
| (otoño)2.(año)2 | -1,12992 | 0,47743 | 0,01795 * |
| (invierno)3.(año)2 | -3,48459 | 0,41213 | < 2e-16 *** |
| (primavera)4.(año)2 | -2,73594 | 0,40708 | 1,81e-11 *** |
| (otoño)2.(año)3 | 0,05557 | 0,49430 | 0,91049 |
| (invierno)3.(año)3 | -2,43461 | 0,42789 | 1,27e-08 *** |
| (primavera)4.(año)3 | -1,82360 | 0,42879 | 2,11e-05 *** |

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

Para el caso de la distribución de las **hembras** de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos (Gráfico 12), si analizamos la intensidad mensual, se evidencia que es más elevada en los meses de mayor temperatura, comenzando su aumento en el mes de agosto, haciendo un pico en octubre para luego comenzar a descender hasta abril, siendo los meses de junio y julio el período de menor presencia parasitaria, lo que nos daría una pauta de la quiescencia invernal. Se evidencia que la intensidad va disminuyendo a lo largo del período de muestreo.

Gráfico 12-. Intensidad mensual de las hembras (HH) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



El análisis estadístico mediante un MLMG (Tabla 6), la intensidad del estado de hembras de *R. sanguineus* s.s., no evidencia un patrón de distribución estacional, siendo invierno y primavera las estaciones con diferencias significativa ($p < 0,01$).

Tabla 6-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas hembras – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos

| | Coefficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|---------------------|--------------|------------|---------------|
| (verano año 1) | -0,8678 | 0,2866 | 0,002461 ** |
| (otoño)2 | -0,1042 | 0,3615 | 0,773103 |
| (invierno)3 | 2,1822 | 0,3044 | 7,59e-13 *** |
| (primavera) 4 | 2,2884 | 0,3079 | 1,07e-13 *** |
| (año)2 | 1,6353 | 0,3015 | 5,85e-08 *** |
| (año)3 | 0,8457 | 0,3183 | 0,007885 ** |
| (otoño)2.(año)2 | -1,6184 | 0,4702 | 0,000578 *** |
| (invierno)3.(año)2 | -2,7526 | 0,4051 | 1,08e-11 *** |
| (primavera)4.(año)2 | -2,6047 | 0,4043 | 1,18e-10 *** |
| (otoño)2.(año)3 | -1,4580 | 0,5173 | 0,004830 ** |
| (invierno)3.(año)3 | -1,9366 | 0,4253 | 5,27e-06 *** |
| (primavera)4.(año)3 | -2,5063 | 0,4353 | 8,51e-09 *** |

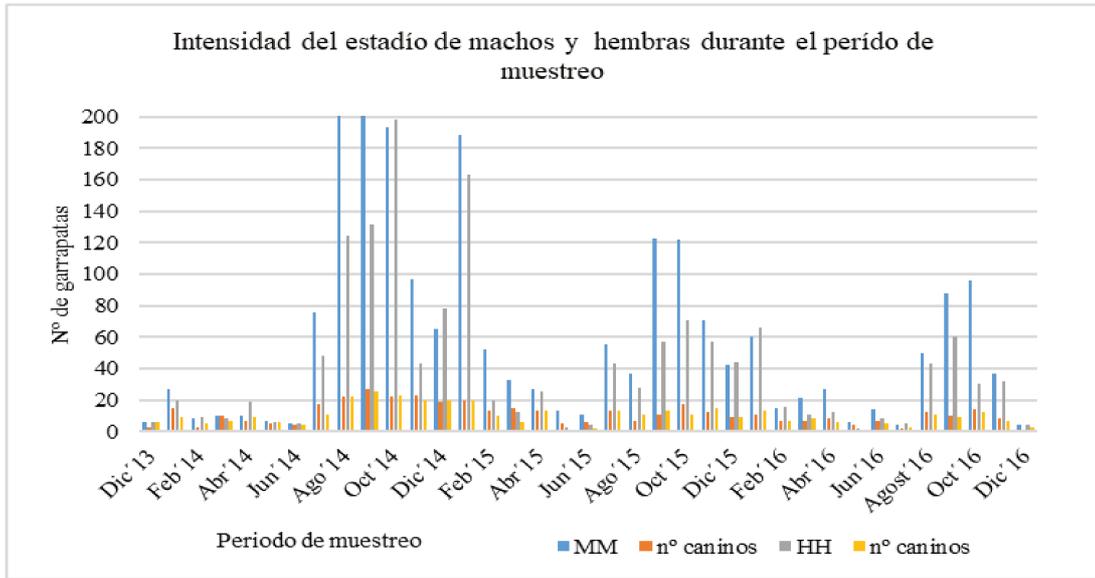
Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

Para el segundo año de muestreo, del verano al otoño evidencia un descenso importante de la intensidad, comparado con el año anterior; lo mismo sucede en las estaciones siguientes, invierno y primavera. Para el tercer año de muestreo, del verano al otoño se evidencia un importante incremento respecto al año anterior; lo mismo sucede con la intensidad invernal, donde el incremento es mayor respecto al año anterior, en cambio en primavera el incremento de la intensidad de las hembras, es más leve. No se evidencia una estacionalidad en la intensidad de las hembras, con un comportamiento irregular en los tres muestreos.

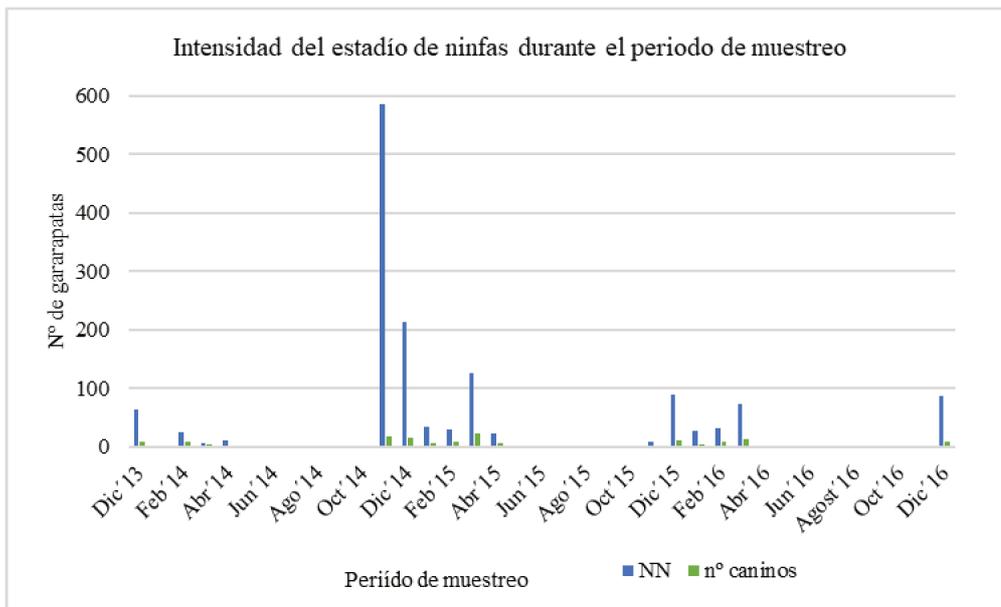
Analizando la intensidad de la distribución de los estados adultos machos (MM) y hembras (HH) de *R. sanguineus* s.s. en los caninos (Gráfico 13), se evidencia que es más elevada en los meses de mayor temperatura, comenzando su aumento en el mes de agosto haciendo un pico en octubre para luego comenzar a descender hasta abril, siendo los meses de junio y julio el período de menor presencia parasitaria. Además, se evidencia una mayor intensidad parasitaria de los machos comparado con las hembras y una disminución de la misma a medida que avanza el período de muestreo.

Gráfico 13 -. Intensidad mensual de machos (MM) y hembras (HH) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



Para el caso de intensidad de las ninfas se evidencia su mayor presencia parasitaria sobre los caninos en los meses cálidos desde noviembre a marzo para desaparecer totalmente en los meses de menor temperatura (Gráfico 14).

Gráfico 14-. Intensidad mensual de ninfas (NN) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



Si analizamos estadísticamente la intensidad estacional del estado de ninfas de *R. sanguineus* s.s. (Tabla 7), no se evidencia un patrón de distribución, sí hay diferencia significativa ($p < 0,01$) en favor de la primavera en los tres años de muestreo.

Tabla 7-. Modelo lineal mixto generalizado. Fórmula: garrapatas ninfas – estación del año – año de muestreo – canino. Efectos aleatorios: caninos

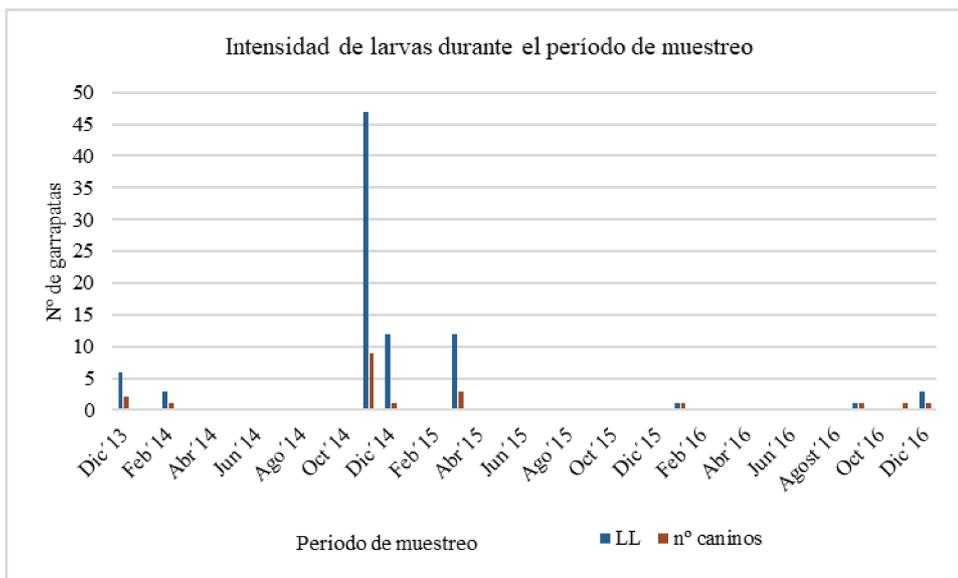
| | Coficiente | Desv. Stan | Valor P(> z) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| (verano)1 | -1,1553 | 0,4077 | 0,004601 ** |
| (otoño)2 | -1,9387 | 0,6972 | 0,005423 ** |
| (invierno)3 | -2,3123 | 0,7405 | 0,001792 ** |
| (primavera)4 | 3,0209 | 0,4543 | 2,93e-11 *** |
| (año)2 | 1,9038 | 0,4635 | 4,00e-05 *** |
| (año)3 | 1,5887 | 0,4739 | 0,000801 *** |
| (otoño)2.(año)2 | -0,3152 | 0,8458 | 0,709380 |
| (invierno)3.(año)2 | -14,0103 | 42,6669 | 0,742636 |
| (primavera)4.(año)2 | -3,9321 | 0,6323 | 5,00e-10 *** |
| (otoño)2.(año)3 | -2,1974 | 1,0984 | 0,045434 * |
| (invierno)3.(año)3 | -2,5108 | 1,3363 | 0,060265 |
| (primavera)4.(año)3 | -3,6737 | 0,6744 | 5,11e-08 *** |

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Referencia: verano

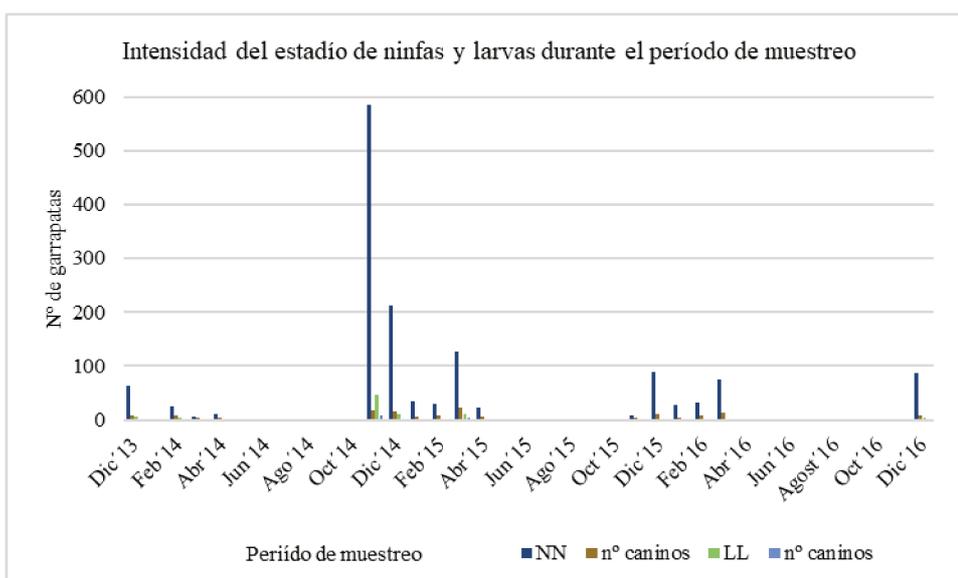
Analizando la intensidad de las larvas, se evidencia su mayor presencia parasitaria sobre los caninos en los meses cálidos, para desaparecer totalmente en los meses de menor temperatura (Gráfico 15).

Gráfico 15-. Intensidad mensual de larvas (LL) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



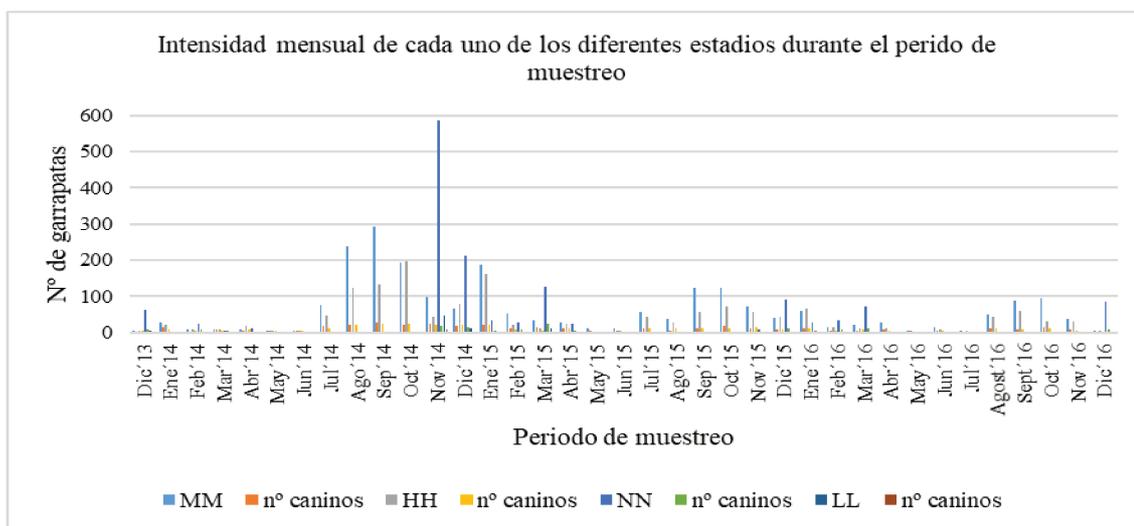
Si analizamos en conjunto la intensidad de los estados juveniles de *R. sanguineus* s.s. (ninfas y larvas), se evidencia su mayor presencia parasitaria sobre los caninos en los meses cálidos, para desaparecer totalmente en los meses de menor temperatura, lo que nos indicaría una quiescencia invernal (Gráfico 16).

Gráfico 16-. Intensidad mensual de ninfas (NN) y larvas (LL) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo



Analizando el gráfico de intensidad mensual de todos los estados parasitarios sobre los caninos, se visualiza una mayor actividad parasitaria en los meses más cálidos, con mínima presencia en los meses de menor temperatura (Gráfico 17).

Gráfico 17-. Intensidad mensual de todos los estados, machos (MM), hembras (HH) ninfas (NN) y larvas (LL) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo.



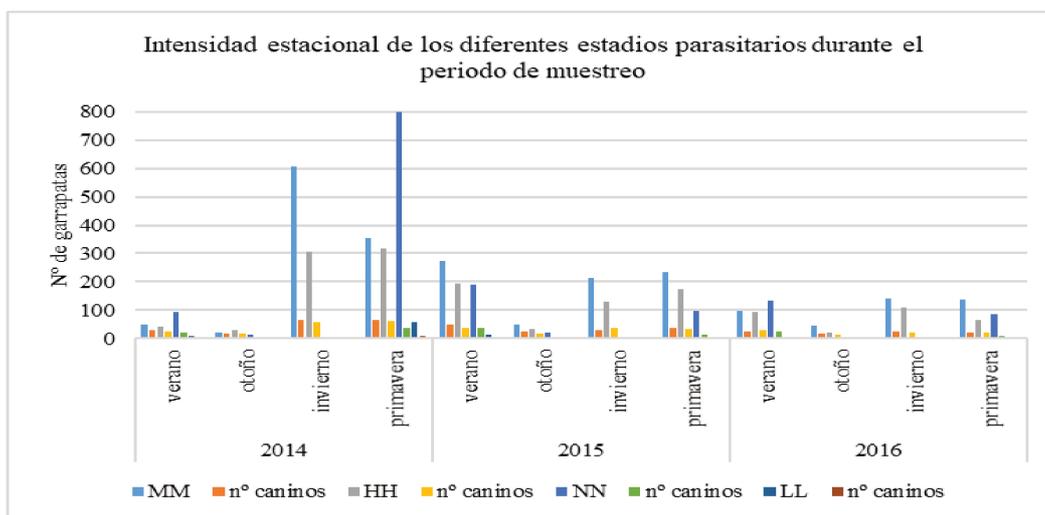
En la Tabla 8, de intensidad estacional, se evidencia una mayor presencia parasitaria de los estados adultos de *R. sanguineus* s.s. (MM y HH) en invierno y primavera, en cambio para las fases inmaduras fueron colectadas más durante las estaciones cálidas de primavera y verano.

Tabla 8-. Intensidad estacional de todos los estados durante el período de estudio

| | | MM | nº caninos | HH | nº caninos | NN | nº caninos | LL | nº caninos |
|------|-----------|-----|------------|-----|------------|-----|------------|----|------------|
| 2014 | verano | 51 | 31 | 43 | 27 | 95 | 22 | 9 | 3 |
| | otoño | 22 | 16 | 30 | 19 | 12 | 4 | 0 | 0 |
| | invierno | 608 | 66 | 304 | 58 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| | primavera | 355 | 64 | 319 | 63 | 800 | 37 | 59 | 10 |
| 2015 | verano | 273 | 48 | 195 | 36 | 190 | 38 | 12 | 3 |
| | otoño | 51 | 24 | 32 | 16 | 23 | 7 | 0 | 0 |
| | invierno | 215 | 31 | 128 | 37 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | primavera | 235 | 38 | 172 | 35 | 98 | 14 | 0 | 0 |
| 2016 | verano | 96 | 25 | 93 | 28 | 134 | 26 | 1 | 1 |
| | otoño | 47 | 19 | 22 | 12 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| | invierno | 142 | 24 | 108 | 23 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | primavera | 137 | 23 | 66 | 22 | 87 | 9 | 3 | 2 |

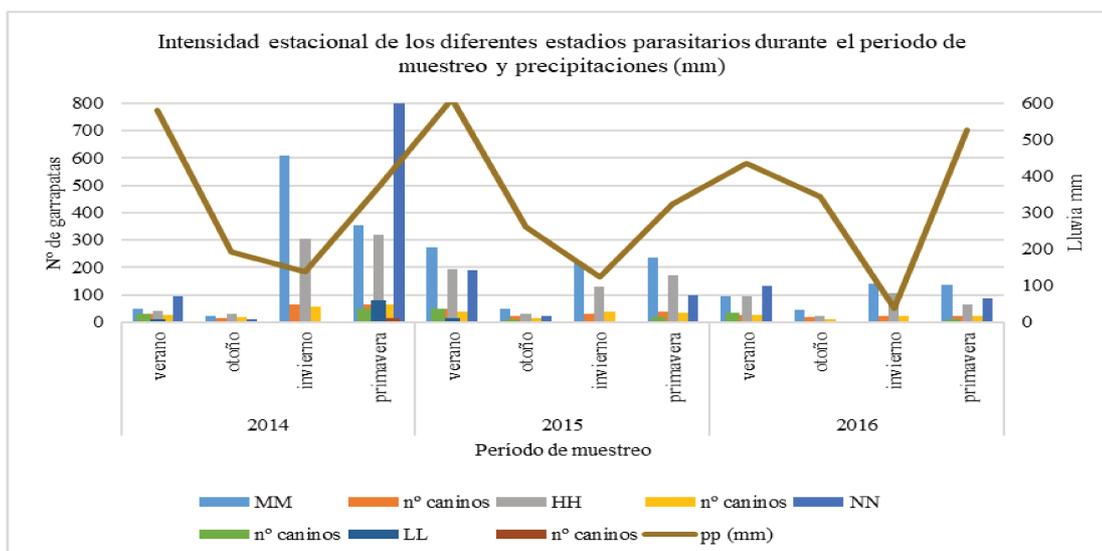
En el Gráfico 18 de intensidad de todos los estados parasitarios, se evidencia una disminución de la misma al avanzar el período de muestreo, en los diferentes años, 2014, 2015 y 2016.

Gráfico 18-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo.



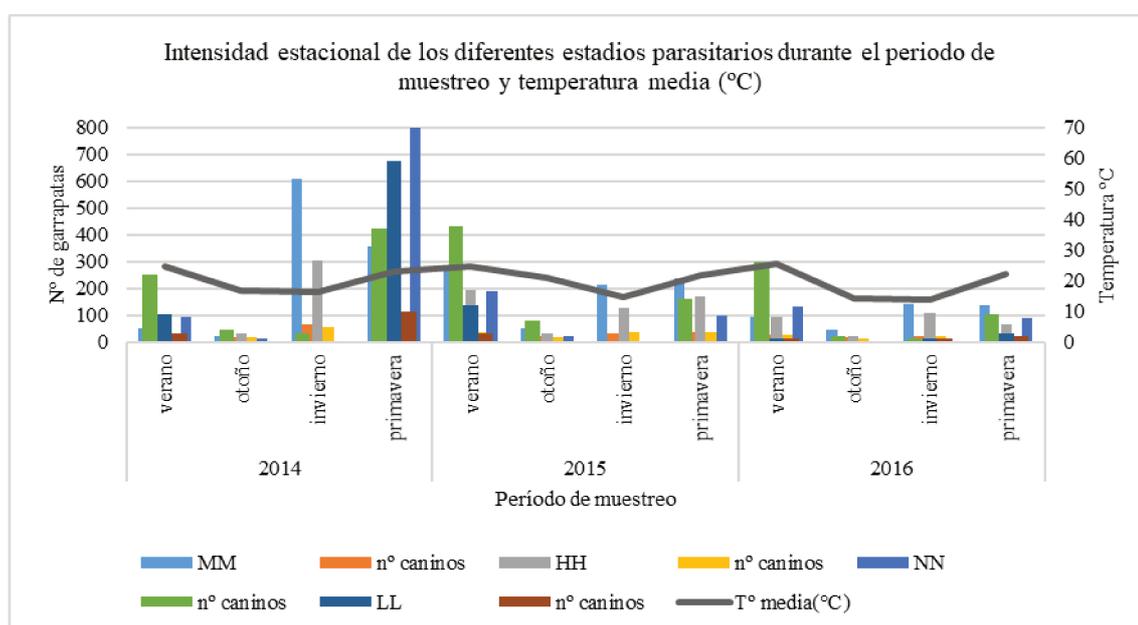
Si relacionamos la intensidad de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos, durante el período del muestreo, como se evidencia en el Gráfico 19, es menor la intensidad cuanto mayor son las precipitaciones, excepto en la primavera de 2014, que fue la de mayor intensidad parasitaria para todos los estados.

Gráfico 19-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios durante el período de muestreo, teniendo en cuenta las precipitaciones.



Si tenemos en cuenta la intensidad parasitaria de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo, y lo relacionamos con la temperatura media del mismo período, se pone en evidencia que la mayor temperatura media, coincide con los mayores picos de intensidad parasitaria, por lo que se considera una asociación positiva, hecho que se evidencia en el Gráfico 20.

Gráfico 20-. Intensidad estacional de los diferentes estados parasitarios durante el período de muestreo en relación a la temperatura media del mismo período.

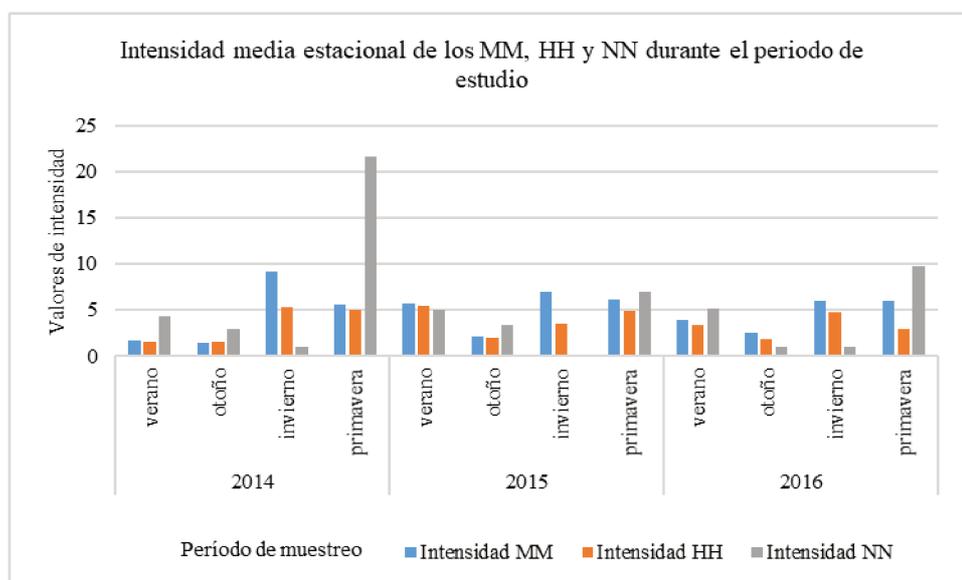


Los datos utilizados para los análisis realizados anteriormente los podemos visualizar en la Tabla 9 y en el Gráfico 21, de intensidad media estacional para cada uno de los estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo.

Tabla 9-. Intensidad media estacional de cada uno de los estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo

| | | Intensidad MM | Intensidad HH | Intensidad NN |
|------|-----------|---------------|---------------|---------------|
| 2014 | verano | 1,65 | 1,59 | 4,32 |
| | otoño | 1,38 | 1,58 | 3,00 |
| | invierno | 9,21 | 5,24 | 1,00 |
| | primavera | 5,55 | 5,06 | 21,62 |
| 2015 | verano | 5,69 | 5,42 | 5,00 |
| | otoño | 2,13 | 2,00 | 3,29 |
| | invierno | 6,94 | 3,46 | 0,00 |
| | primavera | 6,18 | 4,91 | 7,00 |
| 2016 | verano | 3,84 | 3,32 | 5,15 |
| | otoño | 2,47 | 1,83 | 1,00 |
| | invierno | 5,92 | 4,70 | 1,00 |
| | primavera | 5,96 | 3,00 | 9,67 |

Gráfico 21-. Intensidad media estacional de los estados de machos (MM), hembras (HH) y ninfas (NN) de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo

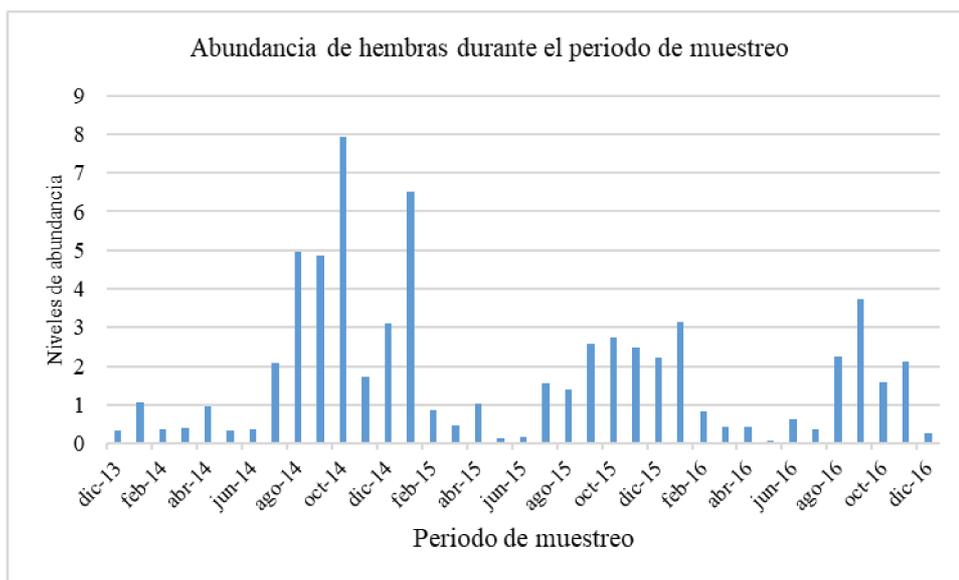


Abundancia

Consideramos la abundancia como el número total de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., en una muestra de su especie hospedadora, los caninos, dividido el número total de caninos examinados (incluidos hospedadores infestados y no infestados).

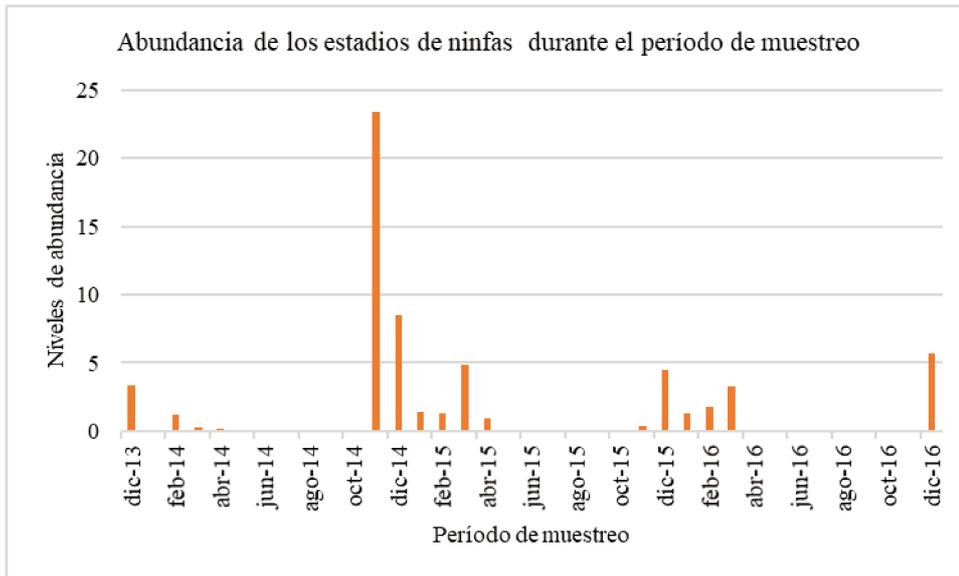
Si analizamos la abundancia de las hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos, se evidencia un incremento desde agosto a marzo del año siguiente, dándose una menor abundancia en los meses de menor temperatura, hecho que podría deberse a la quiescencia que puede producirse en períodos donde las condiciones ambientales no son favorables para su desarrollo (Gráfico 22).

Gráfico 22-. Abundancia mensual de las hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



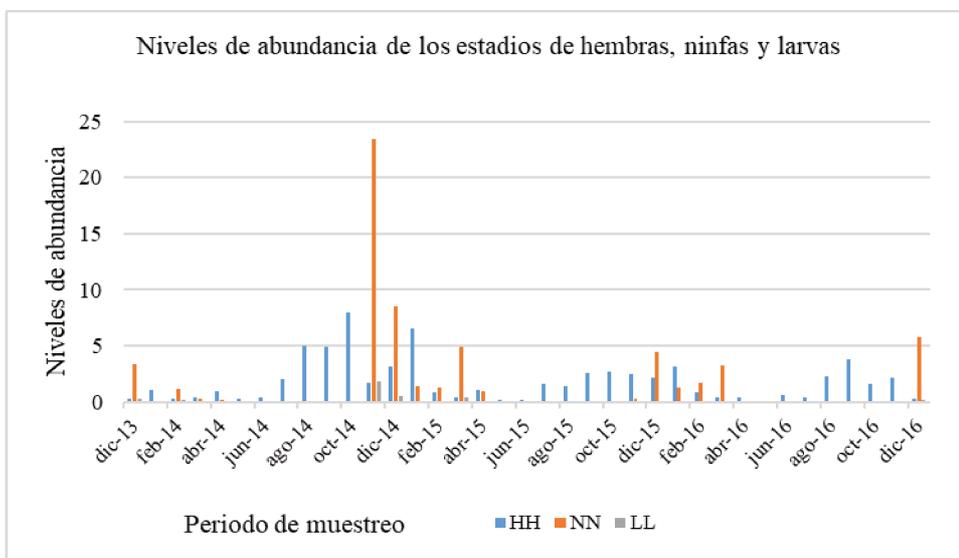
La mayor abundancia de las ninfas sobre los caninos se observó en los meses de verano (Gráfico 23), dándose una menor abundancia en los meses de otoño-invierno, sucediendo lo mismo que con el estado de hembras, producto de una posible quiescencia que las ninfas de *R. sanguineus* s.s., pueden producir durante el período invernal, dado que las bajas temperatura no favorecen su desarrollo.

Gráfico 23-. Abundancia mensual de las ninfas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.



Si analizamos el comportamiento de la abundancia durante cada uno de los años en que se ha realizado el muestreo, notamos que cada uno de los estados de *R. sanguineus* s.s. (hembras, ninfas y larvas), se ve favorecido en su accionar parasitario en las épocas de mayor temperatura, con evidentes baches invernales (Gráfico 24).

Gráfico 24-. Abundancia mensual de hembras, ninfas y larvas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo.

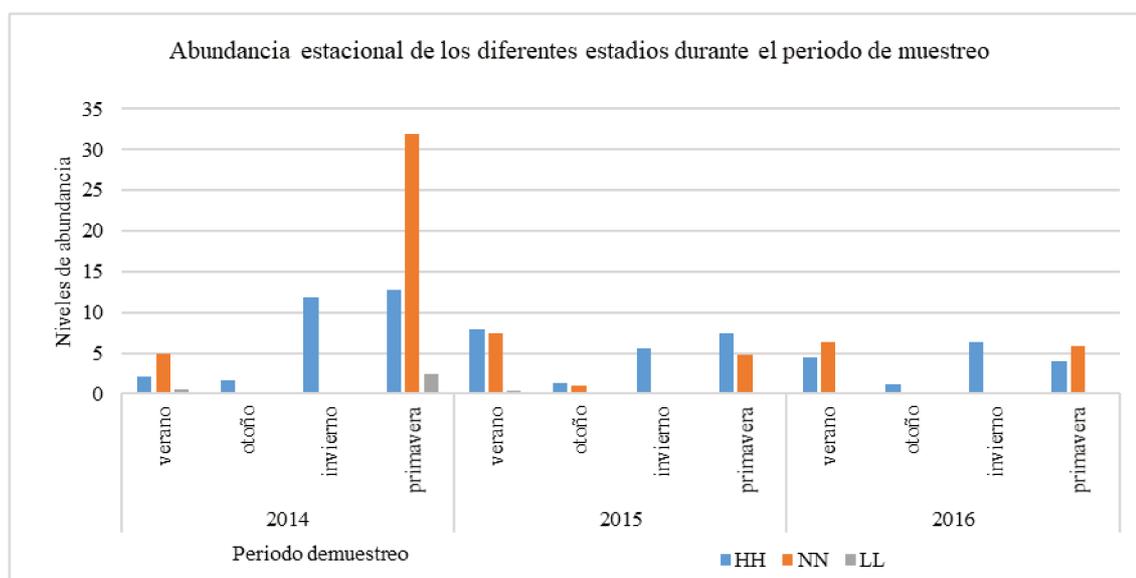


Los datos con los cuales se han realizado los análisis de abundancia se han tomado de la Tabla 10; en ella se detallan los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., garrapata motivo de estudio en este trabajo, que también podemos ver en el Gráfico 25, donde se constató una abundancia de los diferentes estados en los períodos más cálidos de primavera-verano, siendo mínima en los períodos más fríos.

Tabla 10-. Abundancia estacional de hembras (HH), ninfas (NN) y larvas (LL) durante el período de muestreo

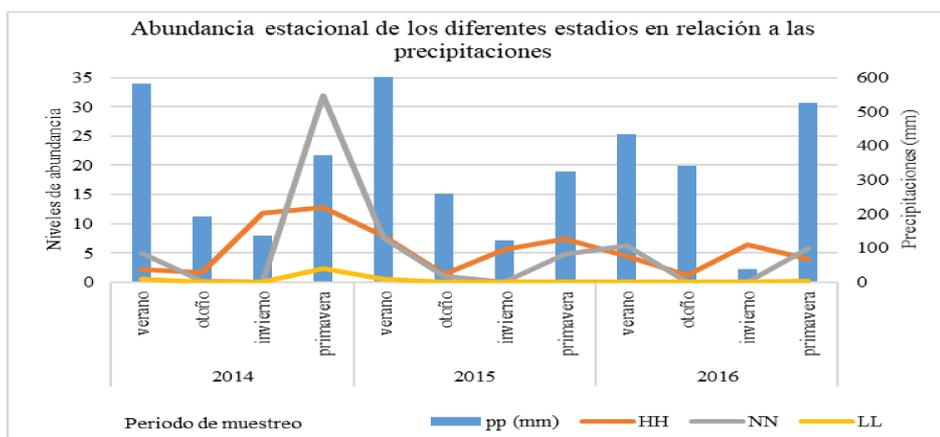
| | Fecha | HH | NN | LL |
|------|-----------|-------|------|------|
| 2014 | Verano | 2,12 | 4,92 | 0,47 |
| | Otoño | 1,65 | 0,2 | 0 |
| | Invierno | 11,9 | 0,12 | 0 |
| | Primavera | 12,76 | 32 | 2,36 |
| 2015 | Verano | 7,85 | 7,5 | 0,46 |
| | Otoño | 1,36 | 0,96 | 0 |
| | Invierno | 5,55 | 0 | 0 |
| | Primavera | 7,41 | 4,85 | 0 |
| 2016 | Verano | 4,41 | 6,29 | 0,05 |
| | Otoño | 1,12 | 0,11 | 0 |
| | Invierno | 6,39 | 0,06 | 0,06 |
| | Primavera | 3,98 | 5,8 | 0,27 |

Gráfico 25-. Abundancia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo.



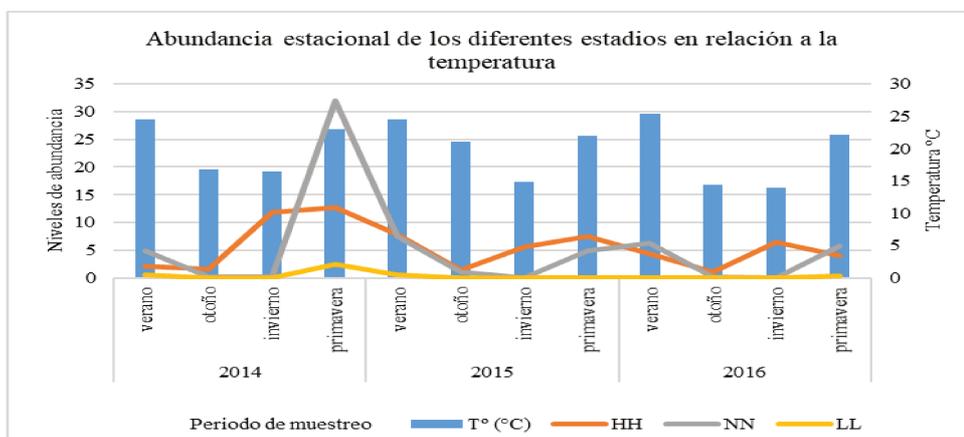
Si analizamos la abundancia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo en relación a las precipitaciones (Gráfico 26), se evidencia que el período de mayores precipitaciones coincide con la mayor abundancia de los estados parasitarios, hecho que hace que la humedad sea un factor clave en el desarrollo de esta garrapata.

Gráfico 26-. Abundancia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo en relación a las precipitaciones



Si analizamos la abundancia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., (Gráfico 27), durante el período de muestreo en relación a las temperaturas medias (T°), pone en evidencia que se ven favorecidos los estados parasitarios por las temperaturas más cálidas.

Gráfico 27-. Abundancia estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., durante el período de muestreo en relación a las temperaturas medias (T°)

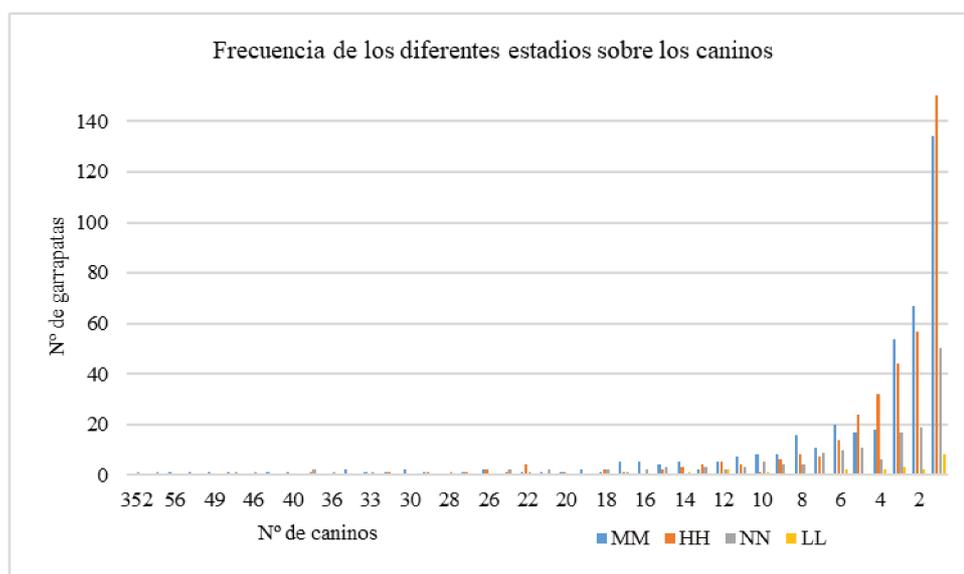


Además, se evidencia una disminución desde el primer año de muestreo 2014 al último año 2016.

Frecuencia de distribución

Si analizamos la frecuencia de la distribución de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., (machos, hembras, ninfas y larvas), parasitando los caninos que participaron en el muestreo a lo largo de los tres años, se pone en evidencia que la mayor carga parasitaria está en el menor número de animales (Gráfico 28).

Gráfico 28-. Frecuencia de distribución de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos, durante el período de muestreo.

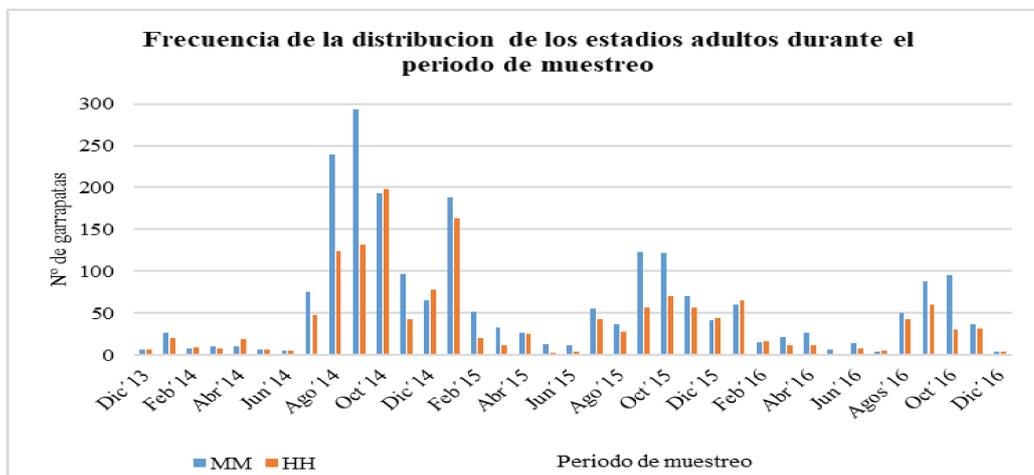


De las 792 observaciones que se realizaron en los caninos muestreados, 408 poseyeron entre 1 y 56 garrapatas machos; 378 caninos tuvieron entre 1 y 38 estados de hembra; 164 tuvieron entre 1 y 352 estados de ninfa y 20 tuvieron entre 1 y 14 estados larvales. El menor número de caninos albergan el mayor número de formas parasitarias en sus diferentes estados.

Si tenemos en cuenta la frecuencia de la distribución mensual de los estados adultos (machos y hembras), se evidencia en el Gráfico 29, que se siguió cierto patrón de distribución con una mayor frecuencia de los mismos en los meses estivales,

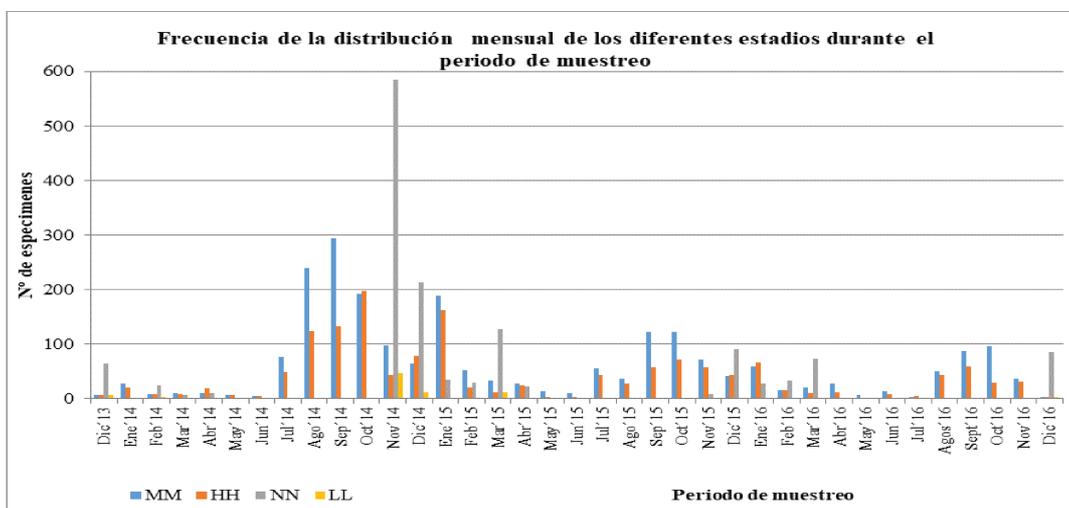
disminuyendo la frecuencia en los períodos de menores temperaturas, para los tres años de muestreo.

Gráfico 29-. Frecuencia de la distribución mensual de los estados adultos (machos, MM y hembras, HH)



Analizando la frecuencia de la distribución mensual de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., colectados sobre los caninos durante el período de muestreo, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas), que lo visualizamos en el Gráfico 30, se evidencia una menor frecuencia de distribución de todos los estados, los primeros meses del año 2014, para luego a fines de invierno comienzan a elevarse los estados adultos de *R. sanguineus* s.s., con un pico en septiembre para los machos y octubre para las hembras, hecho que se repite en los sucesivos muestreos.

Gráfico 30-. Frecuencia de la distribución mensual de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., colectados sobre los caninos durante el período de muestreo, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas).

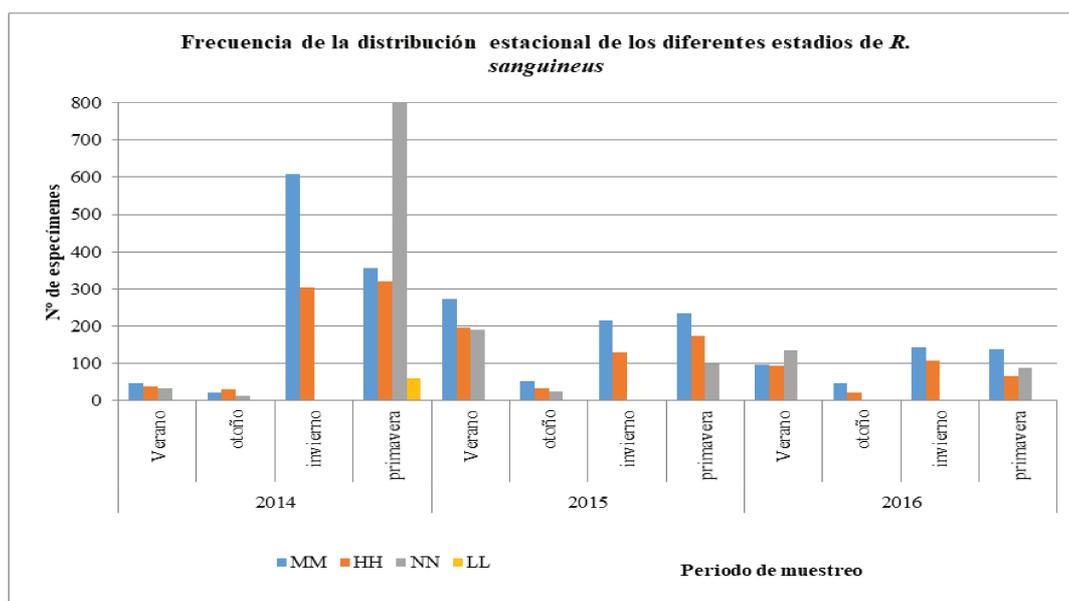


Para el caso de las ninfas, se evidencia un pico importante en noviembre de 2014, mientras en los sucesivos años se observó una mayor distribución en los meses más cálidos. (Tabla 11, Gráfico 31).

Tabla 11-. Frecuencia de la distribución de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., colectados sobre los animales en las estaciones de muestreo, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas)

| Año | Estación | MM | HH | NN | LL |
|------|-----------|-----|-----|-----|----|
| 2014 | verano | 45 | 37 | 31 | 3 |
| | otoño | 22 | 30 | 12 | 0 |
| | invierno | 608 | 304 | 3 | 0 |
| | primavera | 355 | 319 | 800 | 59 |
| 2015 | verano | 273 | 195 | 190 | 0 |
| | otoño | 51 | 32 | 23 | 0 |
| | invierno | 215 | 128 | 0 | 0 |
| | primavera | 235 | 173 | 98 | 0 |
| 2016 | verano | 96 | 93 | 134 | 1 |
| | otoño | 47 | 22 | 2 | 0 |
| | invierno | 142 | 108 | 1 | 1 |
| | primavera | 137 | 66 | 87 | 3 |

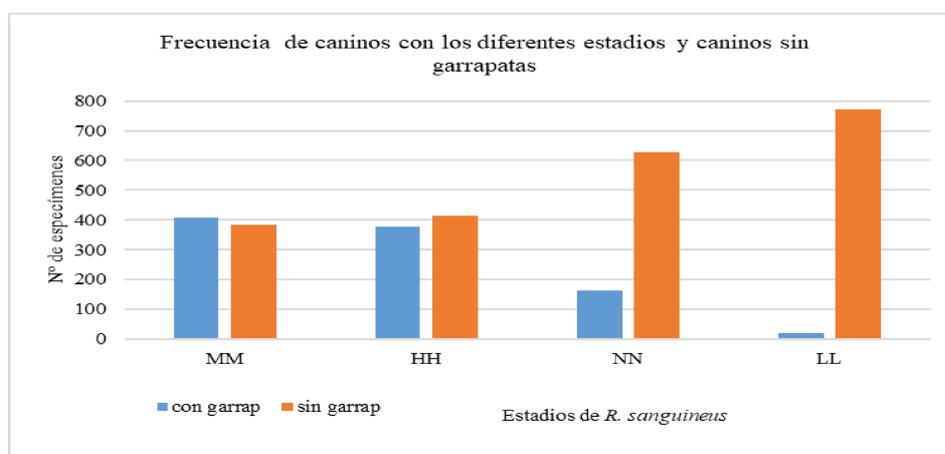
Gráfico 31 -. Frecuencia de la distribución estacional de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos, (MM: machos; HH: hembras; NN: ninfas; LL: larvas)



De acuerdo a la frecuencia de la distribución estacional de los diferentes estados, debemos mencionar que tanto las hembras como los machos tienen una mayor frecuencia desde fines de invierno y primavera, con igual comportamiento durante los tres años de muestreo. Para el caso de los estados de larvas y ninfas, mostraron mayor frecuencia en los períodos cálidos de primavera y verano, siendo mínima su frecuencia de distribución en las estaciones más frías de otoño e invierno.

Si tenemos en cuenta la frecuencia de caninos parasitados y no parasitados durante el período de muestreo, con respecto a los estados adultos de *R. sanguineus* s.s. (machos y hembras) (Gráfico 32) se encontraron casi en la misma proporción de animales parasitados, 408 caninos con estado de machos y 384 sin ese estado, para el caso de las hembras estaban presentes en 378 caninos muestreados y ausentes en 414. En el caso de las ninfas, estaban presentes en 164 animales muestreados y 628 no presentaban este estado. Para el caso de las larvas, se considera error de muestreo, dado el reducido tamaño de las mismas, hecho que dificulta la visualización macroscópica sobre el animal.

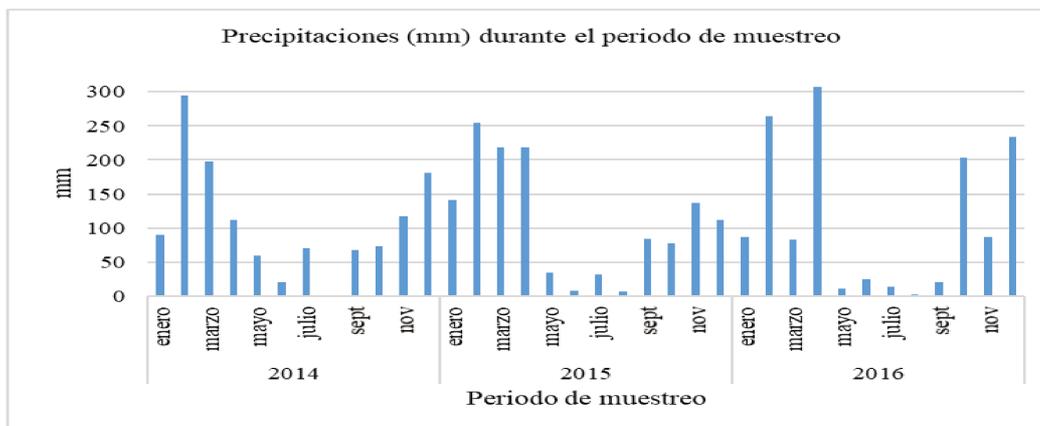
Gráfico 32-. Frecuencia de caninos parasitados y no parasitados durante el período de muestreo.



Si tenemos en cuenta, los datos de lluvia, (Gráfico 33), durante los meses de invierno en los tres años y específicamente, el mes de agosto (máximo 7 mm en el año 2015) es el mes que menor registro de lluvia se ha dado; este hecho coincide con la posible quiescencia de los estados de ninfas y adultos. Febrero, marzo y abril son los meses con mayor cantidad de milímetros que se registran para los 3 años, período en el cual tienen

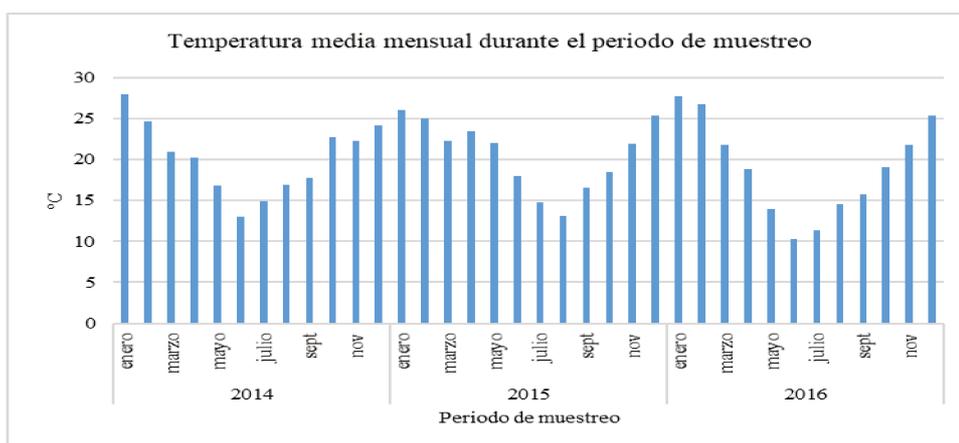
mayor abundancia los estados juveniles, por lo que podemos inferir que las lluvias también pueden influir en el desarrollo de estos estados.

Gráfico 33-. Precipitaciones mensuales (mm) durante el período de muestreo.



Para el caso de la temperatura media, (Gráfico 34) podemos percibir la menor temperatura en junio de 2016, con 10,3°C, el menor registro durante los tres años del estudio, período en que coincide con la menor actividad de todos los estados, por lo que nos invita a pensar la posible quiescencia. Se grafican las mayores temperaturas en el período estival (mayor registro, enero 2014, con 27,9°C) donde evidencian las mayores actividades los diferentes estados.

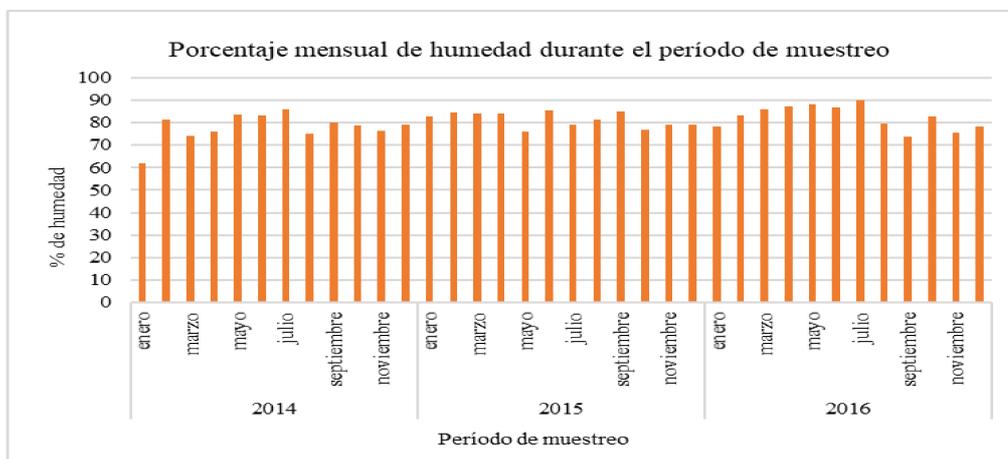
Grafica 34-. Temperatura media durante el período de desarrollo del muestreo.



Si relacionamos los registros de las precipitaciones y la temperatura media, se visualiza que coinciden los menores registros de lluvia con las menores temperatura y la posible quiescencia de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s. en cambio el período de mayor registro de precipitaciones, meses cálidos, coincide con las mayores actividades de los diferentes estados.

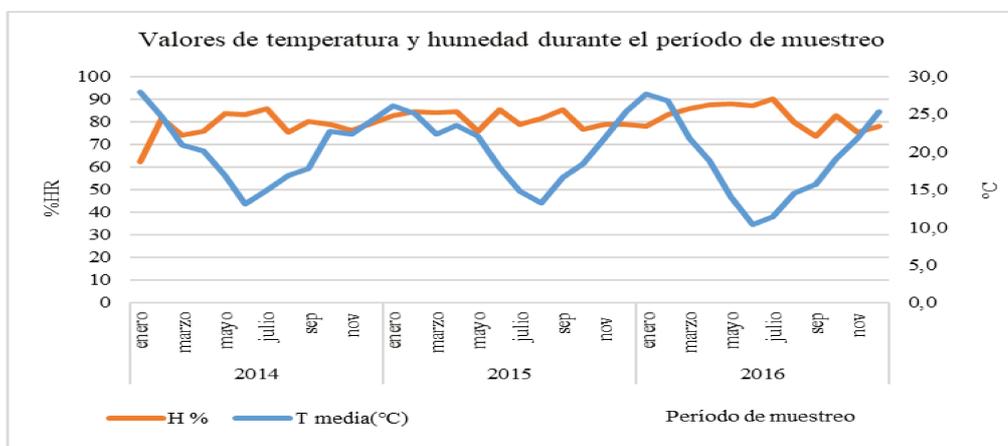
Con respecto a la humedad relativa en el centro de la provincia de Santa Fe, (Gráfico 35) no es una limitante para el desarrollo de cualquiera de los estados de *R. sanguineus* s.s.

Grafica 35-. Humedad relativa media (%) durante los tres años de desarrollo del muestreo.



Si relacionamos las temperaturas medias a lo largo de todo el período de muestreo con la humedad relativa (Gráfico 36), podemos evidenciar que el mes de mayor temperatura media (enero 2014, con 27,9°C), coincide con el de menor humedad relativa (62,1%). Este hecho a su vez coincide con el menor pico de distribución de los estados en el año 2014, y de todo el período muestreado; por lo que se deduce que la combinación de ambos factores, sí actúa sobre la distribución de las garrapatas en el centro de la provincia de Santa Fe.

Grafica 36-. Temperaturas medias (°C) y humedad relativa media (%) durante los tres años de desarrollo del muestreo.



DISCUSIÓN

Debarbara y col. (2011), en un trabajo realizado en Corrientes, mencionan que especímenes de *R. sanguineus* s.l., fueron detectado a lo largo de todo el año, con picos de abundancia en primavera y verano tanto para adultos como para ninfas; en nuestras observaciones coincide el hecho de coleccionar ejemplares durante todo el año, pero difiere en los picos de abundancia de adultos que no se visualiza así en nuestro trabajo en los meses de verano, sí para los estados inmaduros.

González y col. (2004), mencionan que, en la provincia de Buenos Aires, se da una mayor distribución de *R. sanguineus*, en primavera, no mencionando los estados involucrados.

Cuando analizamos los datos de la prevalencia estacional de cada estado de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos durante el período de muestreo (machos, hembras, ninfas, larvas), evidenciamos una distribución de adultos en invierno y primavera, mientras que para los estados ninfales en primavera-verano, por lo que se deduce un período de quiescencia en adultos en otoño, y otoño-invierno para los estados juveniles.

En cuanto a la intensidad, se evidencia una elevada carga de los estados adultos (machos y hembras) de *R. sanguineus* s.s. en los caninos durante los meses de mayor temperatura, comenzando su aumento en el mes de agosto, haciendo un pico en octubre para luego comenzar a descender hasta abril, siendo los meses de junio y julio el período de menor presencia parasitaria. Para el caso de las hembras se evidencia una menor intensidad a lo largo de los años de muestreo.

En nuestro estudio, la menor intensidad media para los machos de *R. sanguineus* s.s. se da en otoño con valores entre 1,38 y 2,47; en cambio, hemos obtenido valores de 5,92 a 9,21 para la estación invernal, hecho que se repite con el estado de hembras con valores similares. Dantas Torres (2010), menciona las medias de intensidad de infestación de 3,8 para el noroeste de Georgia (EEUU); 5,4 para el noreste de Brasil; 7,8 para el sureste de Brasil y un 39,4 para Italia, donde exceptuando este último dato, entre los demás estarían comprendidos nuestros valores, pero no menciona sobre que estado parasitario ha trabajado.

Los trabajos realizados por Alcaino y col. (1990), ponen en evidencia una disminución de la intensidad de hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos en los meses de marzo a julio, y una intensidad mayor en los meses de agosto a diciembre,

hecho que coincide con lo que hemos observado en nuestro trabajo, para el período de muestreo.

La mayor abundancia de las hembras sobre los caninos la evidenciamos desde agosto a marzo del año siguiente, dándose una menor abundancia en los meses de menor temperatura, hecho que podría deberse a la diapausa que menciona Labruna (2017), donde expresa que *R. sanguineus* s.s., puede producir diapausa por al menos 20 semanas, períodos donde las condiciones ambientales no son favorables para su desarrollo. Para nuestro caso hablamos de quiescencia, pues no hemos analizado específicamente la diapausa en este trabajo.

La mayor abundancia de las ninfas sobre los caninos la registramos en los meses de verano, dándose una menor abundancia en los meses de otoño-invierno, hecho que podría deberse a la diapausa que menciona Labruna (2017), donde dice que ninfas de *R. sanguineus* s.s. pueden producir diapausa invernal de al menos 3 meses, que corresponde a la quiescencia observada en nuestro trabajo, dado que su presencia es mínima en los períodos de menor temperatura.

Observaciones realizadas en Brasil por Labruna (2017) y por Venzal y col. (2007) en Uruguay, mencionan que *R. sanguineus* s.l., completa solo una generación por año, con garrapatas adultas activas principalmente durante el final del invierno y la primavera, seguida de estados inmaduros activos principalmente durante el verano y muy bajas infestaciones caninas durante otoño-invierno. Estos trabajos coinciden con lo que hemos observado en nuestro estudio en cuanto al comportamiento que tuvieron cada una de las fases de desarrollo en las diferentes estaciones del año. En cambio, Alcaino y col. (1990), en sus observaciones realizadas en Chile, mencionan que en un año pueden esperarse dos generaciones de *R. sanguineus* s.l. una en primavera-verano y la segunda que se iniciaría en otoño y culmina en la primavera siguiente, al salir de la diapausa invernal, hecho que coincide con lo que hemos obtenido en nuestro estudio. En cambio, Dantas-Torres (2010) menciona que en Brasil, *R. sanguineus* s.l. puede completar hasta 4 generaciones por año, esto es difícil que suceda en esta zona de estudio dadas las amplitudes térmicas, que afectan el desarrollo sobre todo de los estados inmaduros y que incluso hace que los adultos produzcan una quiescencia en otoño y principio de invierno.

Alcaino y col. (1990), han observado que las ninfas y adultos son definitivamente capaces de sobrevivir en estado de letargia o diapausa en invierno, que también evidenciamos en este estudio.

Según Gray y col. (2013) en las observaciones realizadas en Brasil, mencionan que el desarrollo de *R. sanguineus* s.l. rara vez se ve limitado por las condiciones ambientales secas, dado que pueden vivir de manera adecuada en un amplio rango de humedades relativas del 35 al 95% y también pueden tolerar un amplio rango de temperaturas, reproduciéndose efectivamente entre 20 y 35°C. En nuestro estudio, los rangos de humedad relativa durante los tres años de trabajo estuvieron entre los 62,1 y 90%, (siendo 2016 el año más húmedo), comprendidos entre los que mencionan estos autores. La temperatura osciló entre 10,3 y 27,9°C, por lo que las bajas temperaturas invernales que registramos condicionan el desarrollo de los diferentes estados de la garrapata motivo de este estudio.

CONCLUSIÓN

Después de tres años de muestreo (diciembre 2013 a diciembre 2016) de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre su hospedador preferido, los caninos, en el centro de la provincia de Santa Fe, podemos expresar que se detectó la presencia de ellos, en todos los meses de muestreo, con picos de abundancia en los meses cálidos de todos los estados, y menor presencia en los períodos de menor temperatura. El mes de junio de los años muestreados, fue el mes con menor registro de especímenes adultos (machos y hembras) con un mínimo de 4 ejemplares. No se registraron especímenes de los estados juveniles en los meses de menor temperatura.

Evidenciamos un aumento de la prevalencia de los estados adultos (machos y hembras) desde agosto hasta diciembre, comenzando a descender en febrero, alcanzando el nivel mínimo en el mes de mayo, ciclo que se repite en cada año de muestreo.

De los estados inmaduros ninfas y larvas, se nota una prevalencia superior desde octubre a mayo y se evidencian períodos donde la prevalencia de ellas es nula, que coincide con la menor temperatura ambiental; los picos de prevalencia de larvas preceden en fechas al de las ninfas, hechos que se repiten en los tres años de muestreo.

CAPÍTULO 3

ESTUDIO DE LOS PERÍODOS DE DESARROLLO DE *hipicephalus sanguineus* s.s.

INTRODUCCIÓN

Rhipicephalus sanguineus s.l. es una garrapata de tres hospedadores, un hospedador para cada uno de sus estados (larvas, ninfas, adultos: machos y hembras), lo que significa que cada uno de los estados móviles, después de alimentarse de sangre por algunos días, deben abandonar sus hospedadores para evolucionar en el medio ambiente al estado siguiente (Hoogstraal y col. 1982).

Según Koch y col. (1986), la duración del ciclo biológico de *R. sanguineus*, es dependiente de factores ambientales como son la temperatura y humedad. Es así como el período de incubación de los huevos y el de transformación de larvas a ninfas y de éstas en adultos, es óptima a 30°C (20-35°C), mientras que se alarga si la temperatura es menor. El rango de humedad óptima es más amplio, siendo de 20-93%. Bajo condiciones favorables el ciclo se completa en aproximadamente 63 días (Koch, 1982), pero si el ambiente es adverso puede prolongarse por varios meses durante los cuales la garrapata permanece oculta en un estado de letargia denominado diapausa. La temperatura sería la de mayor importancia en la actividad de la garrapata dado que solo ella experimenta variaciones estacionales significativas para los límites críticos de su ciclo de vida (Alcaíno, 1990).

De acuerdo a los estudios realizados por Koch y col. (1986), el estado ninfal de *R. sanguineus*, mantenidas en condiciones de temperatura (20-35°C) y humedad relativa (35-90%), determinaron que la sobrevivencia de este estado es mayor al aumentar la humedad relativa y disminuir la temperatura. Para el caso de ninfas sin alimentar fueron menos tolerantes a la desecación alcanzando su máxima sobrevivencia a 20°C y una humedad relativa de 90% (sobrevivieron 26 semanas). Otro estudio realizado por los mismos autores, con una temperatura de 27°C y humedad relativa del 85%, lograron una sobrevivencia de 18 semanas; para el caso de los adultos sin alimentar tuvieron una menor sobrevivencia al incrementarse la temperatura y disminuir la humedad relativa, alcanzando un máximo de sobrevivencia a temperaturas bajas (20°C) y humedad relativa más alta (90%), con 32 semanas de sobrevivencia, disminuyendo a 28 semanas sometidos a temperaturas de 27°C.

Nuttall (1913), menciona que el período de metamorfosis de los diferentes estados de *R. sanguineus*, a una temperatura de 30°C, han sido de huevo a larva 17 a 19 días; de larva a ninfa 8 a 10 días, de ninfa a adultos 15 días y el período de oviposición es de 9-

15 días. Además, menciona que la sobrevivencia de los diferentes estados, es entre 153 y 253 días para las larvas a 15°C; para las ninfas la sobrevivencia ha sido de 55 a 97 días a 22°C, y para el caso de los adultos de 360 a 569 días a 15°C, sin mencionar los datos de humedad relativa.

Para los estudios realizados por Alcaíno (1990), el período de preoviposición e incubación es menor en verano, pero la sobrevivencia de hembras y larvas es más larga. La sobrevivencia de ninfas que provienen de larvas nacidas en enero (50 días) es menor, comparado con aquellas que provienen de larvas nacidas en marzo (150 días). Considera que entre octubre y febrero se generaría un ciclo completo de la garrapata, con dos generaciones anuales. Es evidente que la temperatura sería de importancia en la actividad de la garrapata, dado que solo ella experimenta variaciones estacionales significativas para los límites críticos de su ciclo vital, mientras que la humedad relativa se mantuvo dentro de los rangos óptimos (18-93%) para la especie.

Aguiar y col. (2013), estimaron los parámetros biológicos para *R. sanguineus* bajo condiciones controladas de temperatura ($27 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad relativa superior a 70%, donde hembras colectadas de canes y del ambiente, tuvieron un peso promedio de 170 mg; el período de prepostura fue de 4 días; el promedio del peso de los huevos de 100 mg; el peso de la hembra pos oviposición de 30 mg; la longevidad larval de 31 días con índices de eficacia reproductiva de 61 % y el índice nutricional fue del 74%, con un porcentaje de eclosión del 94,5%.

El objetivo del presente capítulo fue determinar los períodos de desarrollo de cada uno de los estados de *R. sanguineus* s.s., en su fase no parasitaria, como así también determinar cuáles son los factores ambientales que inciden sobre la duración de dichos períodos. Además, comprobar el comportamiento que tienen las diferentes fases del desarrollo de *R. sanguineus* s.s., de manera tal de describir el ciclo biológico que desarrolla esta garrapata, en el centro de la provincia de Santa Fe, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

A los fines de generar una colonia de garrapatas motivo de estudio, *R. sanguineus* s.s., se colectaron hembras ingurgitadas de caninos del Barrio La Orilla, Esperanza, Santa Fe, Argentina. Las mismas se colocaron en sobres de malla de acero ya utilizados en estudios previos (Nava y col. 2013), en forma individual para lograr la oviposición.

Para inferir el tiempo de desarrollo de cada una de las fases del ciclo y la influencia que pudiera tener el clima en cada una de ellas, larvas y ninfas alimentadas, se colocaron en sobres de malla de acero que se depositaron en dos ambientes, un ambiente natural similar al que se encontraban los caninos que participaron en el muestreo y simultáneamente, se expusieron larvas y ninfas ingurgitadas en ambientes internos para determinar la duración de cada fase del ciclo.

Los diferentes estados se alimentaron en conejos de raza neozelandesa, proporcionados por el Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral -Centro de Medicina Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral (ICIVET-Litoral); se utilizó un conejo por cada estado a alimentar.

De la misma manera con las diferentes fases de los estados (larvas, ninfas y adultos) sin alimentar, se colocaron en ambos ambientes, para determinar la duración de la sobrevida de los mismos.

Los parámetros de temperatura y humedad relativa durante el período de estudio se registraron con Data Logger tanto en la evaluación en el interior como en el exterior. Todos los datos que se presentan son observaciones realizadas durante el año 2017.

Las hembras ovígeras obtenidas de los caninos se incubaron tanto en el interior como en el exterior, obteniendo los datos de temperatura y humedad relativa. Se registraron diferentes parámetros, entre ellos, peso de cada espécimen, período de preoviposición (días transcurridos desde que la teleogina es colectada hasta la puesta del primer huevo), período de oviposición (días transcurridos desde que la teleogina coloca el primer huevo hasta que coloca el último), período de incubación (días transcurridos desde que la teleogina coloca el primer huevo hasta que eclosiona el primer huevo), período de eclosión de los huevos, tasa de eclosión de los huevos (n° de larvas / n° total de huevos), número de huevos colocados, número de larvas nacidas, período de muda de larvas y ninfas (días transcurridos desde que las larvas y ninfas ingurgitadas son colectadas hasta que mudan en ninfas y adultos, respectivamente). Se investigó la relación entre el peso de las teleoginas, el número de huevos colocados y las larvas nacidas. Toda la información obtenida mediante el empleo de esta metodología se utilizó para describir el ciclo biológico de *R. sanguineus* s.s. Además, esta información nos permitió obtener los índices de eficiencia reproductiva, índice de nutrición, índice de eficiencia de fertilidad (Bennett 1974).

De cada uno de los estados alimentados y no alimentados, expuestos tanto en el ambiente como en el interior, se tomaron los parámetros del período de premuda, muda, período de alimentación y sobrevida de cada uno de ellos. Cabe aclarar que los datos que se registraron de sobrevida de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., en ambos ambientes (interior – exterior), fue de especímenes sin alimentar.

RESULTADOS

Dado el ciclo biológico de *R. sanguineus* s.s., huevos, larvas, ninfas, adultos (machos, hembras), cada estado necesita alimentarse para poder mudar u oviponer en el último estado de hembra ovígera. Cada muda se realiza en el ambiente y cada estado para alimentarse, requiere de un hospedador canino. En este estudio para cada uno de los estados se han tomado diferentes parámetros en el ambiente externo y en el interior, con el objetivo de obtener datos epidemiológicos de las diferentes etapas, duración de acuerdo a la temperatura y humedad relativa a lo largo de un año, lo que nos permite determinar la variación que se puede ir dando a lo largo de las diferentes estaciones climáticas. Con estos datos pudimos determinar el comportamiento epidemiológico de *R. sanguineus* s.s., en el centro de la provincia de Santa Fe.

Para comenzar las observaciones y registros, se obtuvieron hembras ingurgitadas de los caninos de la zona de muestreo, Barrio La Orilla, de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, durante los meses del año 2017.

De las hembras ingurgitadas colectadas de los caninos, se registraron los pesos promedios expresados en miligramos; se tomaron los pesos promedios de 10 hembras mas ingurgitadas que se eligieron entre las colectadas mensualmente, resultando 146,25 mg. Los pesos de acuerdo a los meses del año colectados se expresan en la Tabla 12.

Tabla 12-. Pesos promedios expresados en miligramos, de 10 hembras ingurgitadas colectadas en cada mes del año 2017.

| meses | enero | feb | marzo | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic | promedio |
|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|-----|-----|----------|
| mg | 168,7 | 153,5 | 172,6 | 155 | 132 | 114 | 71 | 98 | 107,3 | 130,9 | 231 | 221 | 146,25 |

Si analizamos los pesos promedios de las hembras ingurgitadas de acuerdo a las estaciones del año se observa un mayor peso (194,3 mg) en las hembras obtenidas en primavera y un menor peso (92,1 mg) en aquellas colectadas en invierno (Tabla 13).

Tabla 13-. Pesos promedios de las 10 hembras ingurgitadas de acuerdo a las estaciones del año 2017.

| Estación | Verano | otoño | invierno | primavera |
|----------|--------|--------|----------|-----------|
| Peso mg | 164,93 | 133,66 | 92,1 | 194,3 |

El período de preoviposición de las teleoginas (días transcurridos desde que la teleogina es colectada hasta que coloca el primer huevo) (Tabla 14) en el exterior, el menor período fue de 1 día en el mes de octubre con una temperatura de 14,48°C y una humedad relativa de 79,78%. El mayor período fue de 8 días en el mes de julio con una temperatura de 12,96°C y una humedad relativa de 80,44%. Esto hace un promedio del período de preoviposición de 4,75 días.

Tabla 14-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos mensuales del exterior.

| meses | enero | feb | marzo | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| días | 3 | 3 | 4 | 7 | 7 | 7 | 8 | 7 | 6 | 1 | 2 | 2 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 15), observamos un menor período en primavera, con 1,66 días, un promedio de temperatura de 19,19°C y una humedad relativa de 79,02%. En cambio, los períodos de preoviposición más largos de 7 días, fueron en otoño-invierno con temperaturas entre 14,43 y 15,95°C con una humedad relativa entre 80,92 y 84,45%.

Tabla 15-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos estacionales de exterior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 3,33 | 7 | 7 | 1,66 |
| T° | 23,99 | 15,95 | 14,53 | 19,19 |
| H° | 74,69 | 80,92 | 84,45 | 79,02 |

Para el estudio del período de preoviposición realizado en el interior (Tabla 16), el menor período fue de 1 día en el mes de octubre, con una temperatura de 16,7°C y una humedad relativa de 73%. El mayor período fue de 8 días en los meses de junio y julio con una temperatura de 16,3°C y 15,1°C respectivamente; una humedad relativa de 65,1% y 68,3%; lo que representa una media del período de preoviposición de 4 días.

Tabla 16-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos mensuales del interior.

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| Días | 2 | 2 | 2 | 6 | 7 | 8 | 8 | 6 | 4 | 1 | 2 | 2 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año, para el caso los períodos de preoviposición en el interior (Tabla 17), observamos un menor período en primavera, con 1,66 días, un promedio de temperatura de 20,53°C y una humedad relativa de 71%. En cambio, los períodos más largos de 7 días, fueron en otoño con un promedio de temperatura de 17,66°C y un promedio de humedad relativa de 66,3%.

Tabla 17-. Período de preoviposición de las teleoginas, datos estacionales de interior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 2 | 7 | 6 | 1,66 |
| T° | 26,67 | 17,66 | 16,43 | 20,53 |
| H° | 71,93 | 66,3 | 71,4 | 71 |

De acuerdo a lo observado para el período de oviposición hemos registrado entre 4 y 15 días en los meses más cálidos y de hasta 24 días en el período invernal. La muerte de las hembras es muy variable, pues sobrevivieron hasta 15 días pos oviposición.

Para poder completar su ciclo de vida, las garrapatas, en este caso *R. sanguineus* s.s., sufren metamorfosis: huevos, larvas, ninfas y adultos (machos y hembras). El período de tiempo que requiere cada etapa es variable, dependiendo de los factores climáticos. A continuación, analizamos los datos obtenidos en nuestro estudio en las diferentes etapas del ciclo, en los dos ambientes, interior y exterior, en los cuales se tuvieron en cuenta los datos de temperatura y humedad relativa para determinar la influencia que tienen sobre las fases de vida libre de estos parásitos.

El período de incubación de los huevos de *R. sanguineus* s.s., (días transcurridos desde que la teleogina pone el primer huevo hasta que eclosiona el primer huevo, se han registrado para los dos ambientes (interior y exterior). De la evaluación de los datos en el exterior (Tabla 18), el promedio fue 21,6 días; el menor período se dio en el mes de enero con 17 días, una temperatura de 26,74°C y una humedad relativa de 68,34%; el mayor período fue registrado en julio con 27 días, una temperatura de 12,96°C y una humedad relativa de 80,44%.

Tabla 18-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el exterior.

| 2017 | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| días | 17 | 18 | 21 | 22 | 21 | 23 | 27 | 24 | 24 | 23 | 21 | 19 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 19), los períodos de incubación en el exterior, observamos que fueron menor en verano, con 18,66 días, un promedio de temperatura de 23,99°C y una humedad relativa de 74,69%. En cambio, los períodos más largos, 25 días, fueron en invierno con promedios de temperaturas de 14,53°C y humedad relativa de 84,45%.

Tabla 19-. Período de incubación de huevos en promedio en el exterior de acuerdo a las estaciones del año.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 18,66 | 22 | 25 | 21 |
| T° | 23,99 | 15,95 | 14,53 | 19,19 |
| H° | 74,69 | 80,92 | 84,45 | 79,03 |

En el interior, registramos que el período de incubación de los huevos (Tabla 20) en promedio fue de 20,5 días; el menor período ha sido en los meses de enero y febrero con 16 días, una temperatura entre 27,3 y 28,5°C y una humedad relativa de 68,3 y 71,2%; el mayor período fue registrado en julio con 25 días, una temperatura de 15,1°C y una humedad relativa de 68,3%.

Tabla 20-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a los meses de en el interior.

| 2017 | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| días | 16 | 16 | 17 | 19 | 20 | 23 | 25 | 24 | 24 | 24 | 20 | 18 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 21), los períodos de incubación de los huevos de *R. sanguineus* s.s., en el interior, observamos que fue menor en verano, con 16,33 días; con un promedio de temperatura de 26,67°C y una humedad relativa de 71,93%. En cambio, los períodos más largos, 24,33 días, fueron en invierno con promedios de temperaturas de 16,43°C y un promedio de humedad relativa de 71,4%.

Tabla 21-. Período de incubación de huevos en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el interior.

| estaciones | Verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 16,33 | 20,66 | 24,33 | 20,66 |
| T° | 26,67 | 17,66 | 16,43 | 20,53 |
| H° | 71,93 | 66,3 | 71,4 | 71 |

En conclusión, si analizamos, los períodos de incubación de los huevos de *R. sanguineus* s.s., de acuerdo a las estaciones del año, para el exterior, el período de incubación de los huevos fue mayor en invierno con 25 días y menor en verano con 18,66 días. Para lo observado en el interior, el período de incubación de los huevos fue mayor en invierno con 24,33 días y menor en verano con 16,33 días, en este caso el período de incubación, es levemente inferior en el interior.

Analizando el período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de *R. sanguineus* s.s. (Tabla 22), en promedio y de acuerdo a los meses de incubación en el exterior, el menor período fue de 4 días en los meses de enero y febrero con una temperatura entre 24,07°C y 26,74°C, y una humedad relativa entre 68,34% y 77,21%. El mayor período fue de 9 días en el mes de julio con una temperatura de 12,96°C y una humedad relativa de 80,44%, con un promedio del período de eclosión de huevos de 6,08 días.

Tabla 22-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de *R. sanguineus* s.s., en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el exterior.

| meses | enero | feb | marzo | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| días | 4 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 7 | 6 | 6 | 6 | 5 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

Analizando los datos de acuerdo a las estaciones del año, los períodos de eclosión de los huevos de *R. sanguineus* s.s., en el exterior (Tabla 23), observamos un menor período en verano, con 4,33 días con un promedio de temperatura de 23,99°C y una humedad relativa de 74,69%. En cambio, los períodos más largos, 7,33 días, fueron en invierno con promedios de temperaturas de 14,53°C y una humedad relativa de 84,45%

Tabla 23-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de *R. sanguineus* s.s., en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el exterior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 4,33 | 7 | 7,33 | 5,66 |
| T° | 23,99 | 15,95 | 14,53 | 19,19 |
| H° | 74,69 | 80,92 | 84,45 | 79,03 |

Para el interior (Tabla 24), el menor período de eclosión de huevos fue de 5 días en los meses de enero, febrero y diciembre con una temperatura entre 25,1 y 28,50°C y una humedad relativa entre 68,3 y 71,2%. El mayor período fue de 9 días en el mes de julio con una temperatura de 15,1°C y una humedad relativa de 68,3%. El promedio registrado para este análisis es de 7,08 días.

Tabla 24-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de *R. sanguineus* s.s., en promedio de acuerdo a los meses de incubación en el interior.

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| Días | 5 | 5 | 6 | 8 | 8 | 8 | 9 | 8 | 8 | 8 | 7 | 5 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año, para el caso de los períodos de eclosión de los huevos de *R. sanguineus* s.s., (Tabla 25) en el interior, observamos un menor período en verano, con 5,33 días con un promedio de temperatura de 26,67°C y una humedad relativa de 71,93%. En cambio, los períodos más largos, 8,33 días, fueron en invierno con promedios de temperatura de 16,43°C y un promedio de humedad relativa de 71,4%.

Tabla 25-. Período de eclosión de huevos (período de nacimiento de larvas) de *R. sanguineus* s.s., en promedio de acuerdo a las estaciones del año, en el interior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 5,33 | 8 | 8,33 | 6,66 |
| T° | 26,67 | 17,66 | 16,43 | 20,53 |
| H° | 71,93 | 66,3 | 71,4 | 71 |

En conclusión, el período de eclosión de los huevos ha tenido un promedio de 6,08 días para el exterior y de 7,08 para el interior. Si tenemos en cuenta los registros estacionales en el exterior fue de 5,83 días y en el interior fue de 6,83 días.

Para la obtención de los datos de tasa de eclosión, la colonia de garrapatas se originó de hembras ovígeras que se obtuvieron de diferentes caninos muestreados en la zona de estudio, las que se pusieron a cultivar tanto en el interior como en el exterior.

Para ello se contaron tanto huevos como larvas obtenidas de esas hembras de *R. sanguineus* s.s., de las cuales se realizaron 10 réplicas por cada mes de estudio.

La tasa de eclosión (TE) de los huevos la hemos obtenido de acuerdo al número de larvas nacidas de los huevos colocados por la hembra ovígera en cuestión, expresado de la siguiente manera.

$$TE = (N^{\circ} \text{ de larvas} / N^{\circ} \text{ total de huevos}) \times 100$$

Para el exterior, la menor tasa de eclosión de los huevos (Tabla 26) fue de 60,3% en el mes de julio con una temperatura de 12,96°C y una humedad relativa de 80,44%. La mayor tasa fue de 99,14% en el mes de diciembre con una temperatura de 23,92°C y una humedad relativa de 77,95%. El promedio de eclosión para los huevos mantenidos en el exterior fue de 85,30% de acuerdo a nuestras observaciones.

Tabla 26-. Tasa de eclosión de huevos, datos mensuales del exterior

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tasa ecl. | 92,3 | 91,4 | 92,01 | 89,54 | 76,47 | 76,4 | 60,3 | 84,6 | 84 | 90,25 | 87,2 | 99,14 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

En el interior (Tabla 27), la menor tasa de eclosión de los huevos fue de 70,46% en el mes de julio con una temperatura de 15,1°C y humedad relativa de 68,3%. La mayor tasa fue de 94,2% en el mes de abril con una temperatura de 19,2°C y una humedad relativa de 67,1%. El promedio en este caso resultó ser de 84,09%.

Tabla 27-. Tasa de eclosión de huevos, datos mensuales del interior.

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|----------|------|------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tasa ecl | 75,4 | 78,2 | 82,1 | 94,2 | 82,2 | 84,8 | 70,46 | 82,43 | 86,03 | 87,33 | 92,03 | 93,95 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

De acuerdo al ciclo de nuestra garrapata motivo de estudio, *R. sanguineus* s.s., después del huevo emerge una larva que es hexápoda, la que debe buscar un hospedador para alimentarse; una vez ingurgitadas, se desprenden y caen al piso para mudar al estado siguiente; por ello hemos analizado en este estudio el período en que una larva ingurgitada tarda en mudar a ninfa. Lo llamamos período de muda, que son los días transcurridos desde que la larva ingurgitada se desprende del conejo sobre el cual se ha alimentado, hasta que muda al estado siguiente. El menor período de muda de larvas a ninfas en el exterior (Tabla 28) fue de 5 días en los meses de febrero y diciembre con una temperatura entre 23,92°C y 24,07°C, con una humedad relativa entre 77,21% y 77,95% respectivamente. El mayor período fue de 19 días para el mes de julio con una temperatura de 12,96°C y una humedad relativa de 80,44%. Para esta observación el promedio que hemos obtenido como resultado fueron 8,58 días.

Tabla 28-. Período de muda de larvas alimentadas, datos mensuales del exterior.

| meses | enero | feb | marz | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| días | 6 | 5 | 6 | 6 | 9 | 12 | 19 | 14 | 7 | 8 | 6 | 5 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año, para el caso de los períodos de muda de larvas a ninfas de *R. sanguineus* s.s., en el exterior (Tabla 29), observamos un menor período en verano, con 5,66 días, con un promedio de temperatura de 23,99°C y una humedad relativa de 74,69%. En cambio, los períodos más largos, 13,33 días, fueron en invierno con promedios de temperaturas de 14,53°C y un promedio de humedad relativa de 84,45%.

Tabla 29-. Período de muda de larvas alimentadas, datos estacionales del exterior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 5,66 | 9 | 13,33 | 6,33 |
| T° | 23,99 | 15,95 | 14,53 | 19,19 |
| H° | 74,69 | 80,92 | 84,45 | 79,03 |

El menor período de muda de larvas a ninfas (Tabla 30) en el interior fue de 5 días en los meses de enero, febrero, marzo y diciembre con una temperatura entre 24,5°C y 28,5°C y una humedad relativa de 68,3 a 76,3%, El período mayor fue de 15 días para el mes de julio con una temperatura de 15,1°C y una humedad relativa de 68,3%. El promedio obtenido para esta muda fue de 7,5 días.

Tabla 30-. Período de muda de larvas alimentadas a ninfas, datos mensuales del interior.

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agosto | sept | octubre | nov | dic |
|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|--------|------|---------|------|------|
| Días | 5 | 5 | 5 | 6 | 7 | 10 | 15 | 13 | 7 | 6 | 6 | 5 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 31) para el caso de los períodos de muda de larvas a ninfas de *R. sanguineus* s.s., en el interior, observamos un menor período en verano, con 5 días con un promedio de temperatura de 26,67°C y una humedad relativa de 71,93%. En cambio, los períodos más largos, 11,66 días, fueron en invierno con promedios de temperatura de 16,43°C y un promedio de humedad relativa de 71,4%.

Tabla 31-. Período de muda de larvas alimentadas a ninfas, datos estacionales del interior.

| estaciones | verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 5 | 7,66 | 11,66 | 5,66 |
| T° | 26,67 | 17,66 | 16,43 | 20,53 |
| H° | 71,93 | 66,3 | 71,4 | 71 |

En conclusión, el período de muda de larvas a ninfas en el exterior en promedio fue de 8,58 días; para el interior fue de 7,5 días. Si tenemos en cuenta los datos estacionales, en promedio en el exterior fue de 9,5 días, en tanto que en el interior fue de 8,33 días.

El menor período de muda de ninfas alimentadas a adultos (Tabla 32), en el exterior fue de 10 días en el mes de enero con una temperatura promedio de 26,74°C y una humedad relativa de 68,34%. El período mayor fue de 15 días para los meses de junio y julio con una temperatura entre 12,96 y 14,07°C una humedad relativa entre 77,72 y 80,44%. El promedio obtenido en esta observación ha sido de 12,91 días.

Tabla 32-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos mensuales del exterior.

| meses | enero | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| días | 10 | 11 | 12 | 14 | 14 | 15 | 15 | 15 | 13 | 13 | 12 | 11 |
| T° | 26,74 | 24,07 | 21,17 | 18,63 | 15,17 | 14,07 | 12,96 | 15,65 | 14,98 | 14,48 | 19,19 | 23,92 |
| H° | 68,34 | 77,21 | 78,54 | 81,3 | 83,76 | 77,72 | 80,44 | 90,81 | 82,1 | 79,78 | 79,34 | 77,95 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 33), los períodos de muda de ninfas alimentadas al estado siguiente de adultos de *R. sanguineus* s.s., en el exterior, observamos un menor período en verano, de 11 días con un promedio de temperatura de 23,99°C y una humedad relativa de 74,69%. En cambio, los períodos más largos, 14,33 días, fueron en otoño e invierno con promedios de temperaturas entre 14,53 y 15,95°C, y un promedio de humedad relativa entre 14,53 a 84,45%.

Tabla 33-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos estacionales del exterior.

| estaciones | Verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 11 | 14,33 | 14,33 | 12 |
| T° | 23,99 | 15,95 | 14,53 | 19,19 |
| H° | 74,69 | 80,92 | 84,45 | 79,03 |

El menor período de muda de ninfas alimentadas a adultos (Tabla 34) en el interior fue de 8 días en los meses de enero, febrero, marzo y diciembre con una temperatura entre 24,5 a 28,5°C y una humedad relativa de 68,3 a 76,3%, El período mayor fue de 17 días para el mes de julio con temperaturas de 15,1°C y con una humedad relativa de 68,3%, el promedio obtenido ha sido de 12 días.

Tabla 34-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos mensuales del Interior.

| meses | ene | feb | mar | abril | mayo | junio | julio | agos | sept | oct | nov | dic |
|-------|------|------|------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| Días | 8 | 8 | 8 | 9 | 16 | 13 | 17 | 16 | 15 | 14 | 12 | 8 |
| T° | 28,5 | 27,3 | 24,5 | 19,2 | 17,5 | 16,3 | 15,1 | 17,4 | 16,8 | 16,7 | 19,8 | 25,1 |
| H° | 68,3 | 71,2 | 76,3 | 67,1 | 66,7 | 65,1 | 68,3 | 74 | 71,9 | 73 | 69,7 | 70,3 |

Si analizamos los datos de acuerdo a las estaciones del año (Tabla 35), para el caso de los períodos de muda de ninfas alimentadas al estado siguiente de adultos de *R. sanguineus* s.s., en el interior, observamos un menor período en verano, de 8 días con un promedio de temperatura de 26,67°C y una humedad relativa de 71,93%. En cambio, los períodos más largos, 16 días, fueron en invierno con promedios de temperaturas de 16,43°C y un promedio de humedad relativa de 71,4%.

Tabla 35-. Período de muda de ninfas alimentadas – adultos, datos estacionales del Interior.

| estaciones | Verano | otoño | invierno | primavera |
|------------|--------|-------|----------|-----------|
| días | 8 | 12,66 | 16 | 11,33 |
| T° | 26,67 | 17,66 | 16,43 | 20,53 |
| H° | 71,93 | 66,3 | 71.4 | 71 |

Otro dato a tener en cuenta son los porcentajes de machos y hembras nacidos durante las observaciones realizadas; en general se obtuvieron entre un 35-40% de machos y un 55-60% de hembras, con muertes de hasta un 5%.

En cuanto a la sobrevida de cada estado parasitario en los dos ambientes, hemos registrado los siguientes datos expresados en días.

| | Ambiente | Interior |
|------------------------|---------------|-------------|
| Larvas sin alimentar: | 71 (47-110) | 64 (32-110) |
| Ninfas sin alimentar: | 53 (30-76) | 60 (30-85) |
| Adultos sin alimentar: | 219 (106-336) | 91 (56-126) |

Para nuestro estudio, los datos de temperatura y humedad donde estaban expuestos los especímenes motivo de estudio se controlaron con Data Logger tanto en la evaluación en el ambiente como en el interior. Todos los datos que se presentan son para el año 2017, donde las temperaturas en el interior variaron entre 15,1°C y 28,5°C, mientras que la humedad relativa varió entre 65,1% y 76,3%. Para el seguimiento de datos en el exterior, la temperatura tuvo una variación entre 12,96 y 26,74°C, y para la humedad relativa los registros fueron de 68,34 a 90,81%.

Otros parámetros que se han tenido en cuenta es el peso de las hembras ingurgitadas, de los huevos colocados y de las hembras posoviposición; estos registros nos permitieron obtener índices.

Para obtener el Índice de Producción de Huevos (EPI) (Benett, 1974), se tuvieron en cuenta los pesos de las hembras ingurgitadas y el peso de los huevos colocados, expresados en miligramos.

El peso promedio de las hembras ingurgitadas utilizadas en las diferentes réplicas, fue entre 79,3 a 150,3 mg, siendo el promedio general de 114,03 mg; el peso promedio de los huevos estuvo entre los 51,4 y 102,5 mg, mientras que el promedio general del peso de los huevos fue de 83,32 mg.

$$EPI = (\text{peso de los huevos} / \text{peso de la hembra ovígeras}) \times 100$$

Para nuestro estudio el Índice de Producción de Huevos (EPI) (Tabla 36) ha tenido un promedio de 69,715%, con rangos de 64,56 a 75,54%.

Tabla 36-. Índice de Producción de Huevos (EPI).

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Peso hembras mg | 136,2 | 107,1 | 115,1 | 145,3 | 103,7 | 149,6 | 106,2 | 83,8 | 79,3 | 150,3 |
| Peso de los huevos mg | 96 | 80,9 | 84,5 | 102,9 | 74,6 | 104,8 | 71,5 | 54,1 | 51,4 | 102,5 |
| EPI | 70,48 | 75,54 | 73,41 | 70,82 | 71,94 | 70,05 | 67,33 | 64,56 | 64,82 | 68,20 |

El Índice nutricional (IN) es igual al cociente entre el peso total de los huevos colocados y la diferencia de peso de las hembras antes y después de la oviposición por 100 (Benett 1974).

$$\text{Por lo tanto, } IN = (\text{peso de huevos colocados} / (\text{peso inicial de la hembra} - \text{peso final en miligramos})) \times 100$$

De acuerdo a nuestros registros, (Tabla 37) hemos obtenido un IN en promedio de 91,80%.

Tabla 37-. Índice nutricional.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Peso inicial hembras mg | 136,2 | 107,1 | 115,1 | 145,3 | 103,7 | 149,6 | 106,2 | 83,8 | 79,3 | 150,3 |
| Peso final hembras mg | 30 | 21 | 26 | 28 | 24 | 30 | 28 | 25 | 25 | 23 |
| Peso de los huevos mg | 96 | 80,9 | 84,5 | 102,9 | 74,6 | 104,8 | 71,5 | 54,1 | 51,4 | 102,5 |
| IN | 90,40 | 93,96 | 94,84 | 87,72 | 93,60 | 87,63 | 91,43 | 92,01 | 94,66 | 80,52 |

De acuerdo a los registros, el número de huevos depositados varió entre 695 y 3728 y el número de larvas nacidas entre 685 y 3195. Estos datos se registraron de hembras ovígeras que se obtuvieron de diferentes caninos muestreados en la zona de estudio, y se pusieron a cultivar en estufas de cultivo en el Laboratorio de Estudios Parasitológico de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL); en condiciones controladas de temperatura (22°C +-1°C) y humedad relativa (80% +-5%).

Con estos datos, según (Drummond y col 1970), pudimos obtener los Indices de Eficiencia Reproductiva (IER), donde:

$$\text{IER} = (\text{peso de los huevos} / \text{peso de las teleoginas}) \times 100$$

De acuerdo a las observaciones realizadas en 44 hembras, el peso promedio de las mismas antes de oviponer fue de 149,1mg, y el peso promedio de los huevos colocados fue de 83,32 mg; la tasa de eclosión fue de 85,30%, por lo que nuestro IER ha sido de 55,88%.

$$\text{IER} = (83,32 \text{ mg} / 149,1 \text{ mg}) \times 100 = 55,88\%$$

Otro dato que se tuvo en cuenta fue la relación entre el peso de las teleoginas y número de larvas nacidas, obteniéndose el Índice de Eficiencia de Fertilidad (IEF) ó Índice de Aptitud Reproductiva (RAI), que se define como el número de larvas nacidas, en relación al peso de la hembra ingurgitada en el momento en que se desprende del hospedador, donde:

$$\text{IEF} = (\text{número de larvas nacidas} / \text{peso de la hembra en miligramos})$$

De un conteo de 35 hembras, el promedio de larvas nacidas (obtenido a partir del conteo de larvas sin alimentar) fue de 2132 larvas y el promedio de pesos registrados en las hembras antes de colocarse a incubar fue de 136,2 mg.

El IEF fue de 15,65; el resultado se interpreta como 15 larvas nacidas por cada miligramo de peso de la hembra.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos a lo largo de cada uno de los períodos comprendidos en el ciclo de vida de *R. sanguineus* s.s., analizados en este capítulo, el período de preoviposición fue en promedio 4,75 días en el exterior y 4 días en el interior; estos registros estarían dentro de los parámetros obtenidos por Nuttall (1913), cuyos registros fueron de 3 a 6 días con una temperatura constante de 30°C, no mencionando las condiciones de humedad; en cambio Aguiar y col. (2013), quienes trabajaron con una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa superior al 70%, obtuvieron valores levemente inferiores con promedios entre 3,9 y 4,1 días. Con respecto al período de oviposición, registramos entre 4 y 15 días en verano y hasta 24 días en invierno, datos que estarían comprendidos dentro de los rangos obtenidos por Nuttall (1913), cuyo período de oviposición registrado fue de 9 a 15 días a una temperatura de 30°C y las hembras sobrevivieron hasta 19 días después de que se haya completado el proceso.

El período de incubación de los huevos colocados por las hembras ovígeras de *R. sanguineus* s.s., ha tenido un promedio de 21,6 días para el exterior y de 20,5 para el interior, datos levemente superiores a los obtenidos por Nuttall (1913), que fue entre 17 y 19 días con una temperatura de 30°C, sin aclarar la humedad relativa; y datos levemente inferiores a los registrado por Alcaíno y col. (1990), que fueron de 24 a 30 días.

El período de eclosión de los huevos ha tenido un promedio de 6,08 días para el exterior y de 7,08 para el interior, datos levemente superiores a los registrados por Alcaíno y col. (1990), que fue en promedio de 5 a 5,7 días.

La tasa de eclosión de los huevos colocados por las hembras ovígeras de *R. sanguineus* s.s., para ambos datos tanto del exterior (85,30%), como del interior

(84,09%), son inferiores a los obtenidos por Aguiar y col. (2013), donde las medias de las observaciones fueron del 94,5% de eclosión.

Continuando con la metamorfosis necesaria para la evolución del ciclo de este parásito, evaluamos el tiempo para la muda de larvas al estado siguiente, ninfas.

En nuestro estudio, el tiempo requerido para la metamorfosis de larvas a ninfas fue en el exterior entre 5 días en períodos cálidos y 19 días en períodos fríos; para el interior, los períodos fueron entre 5 y 15 días respectivamente. Nuestros datos en el interior con temperaturas cálidas coinciden con lo observado por Nuttall (1913), no así para los 19 y 15 días obtenidos en los períodos fríos tanto del exterior como del interior, dado que todos sus registros se basaron en observaciones realizadas con una temperatura de 30°C, sin aclarar la humedad relativa.

El período necesario para la metamorfosis de ninfas a adultos de acuerdo a lo que hemos registrado en temperaturas cálidas, fueron de 8-10 días y para los períodos fríos de hasta 17 días. Los únicos registros comparables son los obtenidos por Nuttall (1913), con quien encontramos coincidencia en sus datos registrados porque el tiempo requerido fue entre 11 y 12 días con una temperatura de 30°C, sin aclarar la humedad relativa.

Los porcentajes de machos (35-40%) y hembras (55-60%) nacidos durante las observaciones realizadas, están muy aproximados a los obtenidos por Nuttall (1913), cuyos registros para los machos es de un 40%, hembras un 59% y un 1% de muerte; para nuestro estudio registramos entre un 0-5% de muertes.

Continuando con el ciclo biológico de *R. sanguineus* s.s., registramos la sobrevida de los diferentes estados, todos los cuales se expusieron sin alimentación previa, para las larvas que fue entre 32 y 110 días, para las ninfas entre 30 y 85, en tanto que para los adultos los períodos estuvieron comprendidos entre los 56 y 336 días. Otros autores han realizado registros de la sobrevida en los diferentes estados, donde obtuvieron una longevidad larval de 31 días para Aguiar y col.(2013), similares a los datos obtenidos por Cheuiche (1996); Bellato y Daemon (1997); para los estudios realizados por Nuttall (1913), el período de sobrevida de larvas sin alimentarse a una temperatura fija de 15°C fue de 153 a 253 días, muy superiores a los datos que hemos obtenido como de los autores nombrados *up supra*. Si comparamos la sobrevida de las ninfas, según Nuttall (1913), fue de hasta 97 días a una temperatura de 22°C, dato muy próximo al que hemos obtenido en este estudio. Para el estado de adultos, a una temperatura constante de 15°C la sobrevida sin alimentarse fue de 360 a 569 días, según el mismo autor, donde nuestro

dato es coincidente con el rango inferior obtenido por este mismo. También los datos son coincidentes en que la mayor sobrevida se da en hembras.

En nuestro trabajo, los diferentes estados fueron alimentados en conejos y el período durante el cual permanecían alimentándose ha sido de 2 a 6 días para las larvas, entre 3 y 8 días para las ninfas y de 8 a 19 días para las hembras. Otros autores como Walker y col. (2000), las larvas y las ninfas se alimentan durante aproximadamente 4 y las hembras durante 8 días. Para Nuttall (1913), el tiempo en que la garrapata se alimenta sobre el hospedador es de 3 a 8 días para las larvas y de 3 a 11 días para las ninfas; las hembras se alimentan por 7 a 21 días, mientras que los machos permanecen sobre su hospedador por tiempo indeterminado, incluso deambulando y cambiando de lugares en busca de hembras; estos datos fueron registrado sobre caninos. Probablemente las diferencias con nuestro trabajo radiquen en el hospedador utilizado.

De acuerdo a lo observado, el peso promedio de las hembras obtenidas de los hospedadores caninos, fue de 146,25 mg, datos que estarían dentro de los rangos registrados por otros autores, Aguiar y col. (2013), dado que de hembras colectadas de los canes o del ambiente obtuvo un peso promedio de 170 mg, similares a las obtenidas por Sartor y col. (1996); Bellato y Daemon (1997), donde observaron un peso promedio de 166,02 y 178,80mg respectivamente. Cheuiche (1996) y Dantas Torres y col. (2011), obtuvieron pesos promedios de 120,8 y 170,9 mg respectivamente, de hembras obtenidas de los hospedadores.

El período de prepostura para nuestro estudio, el promedio fue de 4,75 días en el exterior y 4 días en el interior, datos que coinciden con los obtenidos por otros autores cuyos registros han sido para Coelho (1993), de 4 días; Bechara y col. (1995), de 4,2 días; Cheuiche (1996), de 3,5 días; Bellato y Daemon (1997) de 3,19 días, y la obtenida por Aguiar y col. (2013) que fue de 4 días.

La oviposición de las hembras, según nuestros registros estuvieron entre un mínimo de 695 huevos colocados y 3728 huevos como máximo. Según los datos obtenidos por Nuttall (1913), a 30°C fue entre 1400 y 3900 huevos. Nuestro dato inferior está muy por debajo de lo obtenido por este autor; lo que puede hacer la diferencia es la temperatura, dado que trabajó con temperatura cálida fija de 30°C sin aclarar la humedad relativa y en nuestro caso trabajamos con condiciones controladas de temperatura (22°C \pm 1°C) y humedad relativa (80% \pm 5%).

Con respecto al peso de los huevos, en nuestro estudio hemos obtenido un promedio de 83,32 mg, datos que están entre los rangos obtenidos por otros autores como Bellato y Daemon (1997), que hallaron una media de 114,27 mg; Cheuiche (1996), fue de 83,08 mg; Dantas Torres y col. (2011), fue de 95 mg y para Aguiar y col. (2013), fue de 100 mg.

El peso promedio de las hembras pos oviposición (quenogina) en nuestro trabajo fue de 26 mg, levemente inferior a lo obtenido por Bellato y Daemon (1997), cuyo registro fue de 35,6 mg y de Aguiar y col. (2013) que fue de 30 mg.

En cuanto a la tasa de eclosión larval para nuestro caso fue de un 85,30% en el exterior y 84,09% en el interior, datos inferiores a los obtenidos por otros autores, como Bechara y col. (1995); Coelho (1993) que hallaron un 90,2 y 97,4% respectivamente y para Aguiar y col. (2013) fue de 94,5%.

De acuerdo a nuestros registros el índice de eficacia reproductiva (IER) fue de 55,88% que estaría entre lo observado por otros autores, como es el caso de Aguiar y col. (2013) con un registro de 61%, y Dantas Torres y col. (2011), con el 55,7%. En cuanto al índice nutricional (IN), de acuerdo a nuestros datos hemos obtenido un 91,80%, muy superior al único dato comparable de (Aguiar y col.2013), que fue del 74%.

CONCLUSIÓN

Realizando un análisis de la sobrevida, la evolución de cada uno de los estados y de acuerdo a los datos obtenidos en este estudio puede concluirse que *R. sanguineus* s.s., completaría su ciclo en la zona centro de la provincia de Santa Fe en un mínimo de 74 días, con las condiciones adecuadas de humedad relativa y temperatura para esta zona, teniendo en cuenta los datos de período de preoviposición, oviposición, incubación, eclosión de los huevos, muda de larvas y ninfas, y los períodos de alimentación de cada uno de los estados. La alimentación de los diferentes estados, fue realizada sobre conejos; estos datos están muy próximos a los obtenidos por Koch (1982), quien indica que, bajo condiciones favorables, el ciclo se completa en aproximadamente 63 días, pero si el ambiente es adverso puede prolongarse por varios meses, durante los cuales la garrapata permanece oculta en un estado de letargia denominado diapausa.

Cruz Vázquez y col. (1999), concluyen que, para su zona de estudio en México, se podrían completar 2,5 generaciones en el año para *R. sanguineus* s.l. De acuerdo a estudios realizados en otros países, *R. sanguineus* puede llegar a completar hasta cuatro generaciones anuales (Dantas-Torres 2008; Braz Louly, 2007). Según, Barker y Walker (2014), el ciclo de vida se puede completar en 10 semanas en condiciones ideales.

Para nuestros datos y de acuerdo a la distribución de los diferentes estados a lo largo del período de estudio, se completarían dos ciclos por año, con garrapatas adultas activas principalmente durante el final del invierno y la primavera, seguida de estados inmaduros activos principalmente durante el verano y muy bajas infestaciones caninas durante otoño y principio de invierno.

Tendríamos para esta zona, un ciclo que se daría entre enero y septiembre con una quiescencia en los meses de menor temperatura y otro desde agosto a diciembre.

Según Alcaino y col. (1990), la estimación de la intensidad de las infestaciones de los estados de *R. sanguineus* s.l., indica que los ejemplares adultos predominaron en octubre, noviembre y diciembre (primavera), disminuyendo marcadamente a partir de enero (verano), hasta desaparecer totalmente a fines de abril (inicio de otoño). Luego lentamente comenzaron su aparición a mediados de agosto para aumentar progresivamente a partir de septiembre.

De acuerdo al mismo autor concluye que entre octubre y febrero se generaría un ciclo completo de la garrapata. Los adultos que acceden tempranamente a un hospedador como, por ejemplo, en septiembre-octubre, originan larvas en enero, y éstas, ninfas en febrero. Si estas ninfas consiguen alimentarse a tiempo en febrero, pueden originar adultos en marzo, los que realizarían una diapausa hasta la temporada siguiente. Del mismo modo, las larvas que provienen de hembras fecundadas más tarde (por ejemplo, en noviembre-diciembre) se alimentarían en marzo, originando ninfas en abril, las que también entran en diapausa. Lo anterior significa que en un año pueden esperarse dos generaciones de *R. sanguineus* s.l., la primera en la temporada primavera-verano, la segunda, que se iniciaría en otoño, culminando en la primavera siguiente, al salir de la quiescencia invernal.

Según lo registrado a lo largo de este estudio, entre agosto y diciembre se generaría un ciclo completo de *R. sanguineus* s.s. Los adultos que acceden tempranamente a un hospedador en agosto-septiembre, originan larvas en octubre-noviembre, las cuales dan origen a ninfas en noviembre-diciembre, y estas a adultos en diciembre-enero, por lo

que se registraría un ciclo (agosto-diciembre); otro ciclo se desarrollaría desde enero hasta septiembre con una quiescencia invernal. Por lo expuesto se considera para la zona centro de la provincia de Santa Fe, dos ciclos por año de *R. sanguineus* s.s.

CAPÍTULO 4

DISTRIBUCIÓN ANATÓMICA DE *Rhipicephalus sanguineus* s.s. SOBRE LOS CANINOS DOMÉSTICOS

INTRODUCCIÓN

Las fases de búsqueda y contacto de un ectoparásito con su hospedador son seguidas por una selección activa de un sitio corporal para fijarse, el cual puede constituir su hábitat final (Balashov, 1999; Krasnov y col. 2006). El conocimiento de los factores que determinan la distribución es necesario para entender la dinámica de la interacción parasito-hospedador (Debárhora, 2014). Una proporción considerable de ectoparásitos muestran una predilección para colonizar determinadas áreas del cuerpo de sus hospedadores para fijarse y alimentarse; el patrón de distribución resultante es la consecuencia de una interacción entre los parásitos y sus hospedadores, la coexistencia entre parásitos y la influencia de factores extrínsecos e intrínsecos (Marshall 1981; Nilsson 1981; Reiczigel y Rózsa, 1998). Entre los factores específicos al ectoparásito, se pueden mencionar sus requerimientos en cuanto a su micro hábitat adecuado para alimentarse y completar la fase parasitaria, competencia por los sitios de fijación, producción de feromonas que regulan la agregación, fijación, y procesos densodependientes como cambios en la distribución de acuerdo a diferentes densidades de individuos (Nelson y col. 1975; Rechav y col. 1976; Andrews y Petney 1981; Norval y col. 1989; Hamilton 1992; Ogden y col. 2002; Soneshine, 2004; Wertheim y col. 2005; Braz Louly, 2008). Dentro de los factores propios del hospedador que pueden regular la distribución anatómica de sus ectoparásitos, se encuentran la respuesta activa al parasitismo por acicalamiento y la resistencia inmunológica adquirida, producción de feromonas con efectos tanto atrayentes como repelentes, variación de la temperatura corporal, sexo, edad, estatus reproductivo, estructura del pelaje y del tegumento, localización y densidad de las glándulas sebáceas (Nava y col. 2009).

El conocimiento de los sitios de fijación de las garrapatas puede contribuir al diseño de métodos de control efectivos con aplicación de acaricidas solo en los sitios predeterminados, minimizando el tiempo de muestreo al limitar la observación a las áreas donde se concentran los diferentes estados de las garrapatas, permitiendo una evaluación más precisa del número de éstas sobre un hospedador, facilitando de esta manera el desarrollo de estudios de la dinámica poblacional (Nava y col. 2009).

En Venezuela Moissant y col. (1999), han realizado estudios bioecológicos sobre *Rhipicephalus sanguineus* s.l. que encontraron parasitando preferentemente a caninos que habitan dentro de casas y los confinados en perreras. En las áreas tropicales el

control de *R. sanguineus* s.l. es difícil de establecer debido a que es una garrapata de tres hospedadores, adaptada a desarrollar su ciclo biológico en el ámbito doméstico y peridoméstico, con alta tasa de reproducción y longevidad. Recolectaron formas parásitas de *R. sanguineus* s.l.: hembras (47,81%), machos (40,76%), ninfas (10,13%) y larvas (1,24%). Las regiones corporales más parasitadas fueron: cuello, espacios interdigitales y orejas. Diferencias significativas se encontraron entre éstas y las otras zonas corporales. Al comparar sexo y zona corporal, se encontró que el cuello presentó mayor infestación por hembras y machos y la región ventral por machos.

En Argentina, Nava y col. (2009), realizaron un estudio similar con la distribución anatómica de las garrapatas *Amblyomma neumanni* y *Amblyomma parvum* sobre sus hospedadores principales, que corresponden a bovinos para todos los estados de *A. neumanni* y adultos de *A. parvum*, y al roedor *Galea musteloides* (Cuis común) para larvas y ninfas de *A. parvum*.

Debárbora y col. (2014), realizaron estudios de la distribución de *Amblyomma dubitatum* sobre su hospedador natural, el carpincho, (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766), y la preferencia de los sitios de fijación por los diferentes estados de larvas, ninfas y adultos.

Sin embargo, no existen en nuestro país, datos sobre la distribución anatómica de *R. sanguineus* s.s., sobre su hospedador natural, los caninos (*Canis lupus familiaris*); por ello el objetivo de este capítulo es el análisis de la distribución y evaluar, de los diferentes estados, las preferencias por las localizaciones, basados en muestreos durante tres años en el centro de la provincia de Santa Fe, Argentina

MATERIALES y MÉTODOS

El objetivo del presente trabajo realizado en la ciudad de Esperanza, provincia de Santa Fe, fue conocer la distribución anatómica de los diferentes estados parasíticos de *R. sanguineus* s.s. en distintas áreas corporales de sus hospedadores, los caninos, haciendo hincapié en la preferencia por los diferentes sitios y en la variación de la distribución según los diferentes estados.

La distribución anatómica de los estados de *R. sanguineus* s.s., se evaluó en base a la exploración manual mensual de los caninos desde diciembre de 2013 hasta diciembre de 2016, en el Barrio La Orilla, de la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina.

Para determinar la distribución de las garrapatas en el cuerpo de los caninos, se tomó como base la clasificación utilizada por (Nava y col. 2009), dividiendo las áreas corporales de la siguiente manera: 1) Cabeza [CA]; 2) Orejas [OR]; 3) Cuello [CU]; 4) Pecho [PE]; 5) Lomo [LO]; 6) Abdomen [AB]; 7) Axila [AX]; 8) Miembro anterior [MA]; 9) Miembro posterior [MP]; 10) Espacio Interdigital [EI].

Para la realización de los muestreos, se utilizó una ficha de campo donde se marcaron las diferentes áreas corporales de los caninos a fin de determinar los sitios de fijación de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s. (Figura 7).

Figura 7-. Ficha Colección de Garrapatas sobre los caninos

Ficha N°

Fecha:

Los especímenes colectados deben ser enviados en recipiente hermético con el agregado de alcohol 96°.

El número del frasco debe coincidir con el número de la ficha del canino del cual se obtuvo la muestra.

Localidad:

Dirección:

Provincia

Coordenadas (GPS):

Temperatura:

Humedad:

Hospedador del que se colecta el espécimen

Sexo:

Edad:

Pelaje:

Peso:

Raza:

El perro permaneció en el lugar o viajó. Si No Donde:

Cantidad aproximadas de garrapatas

Prendidas

No Prendidas

En el ambiente

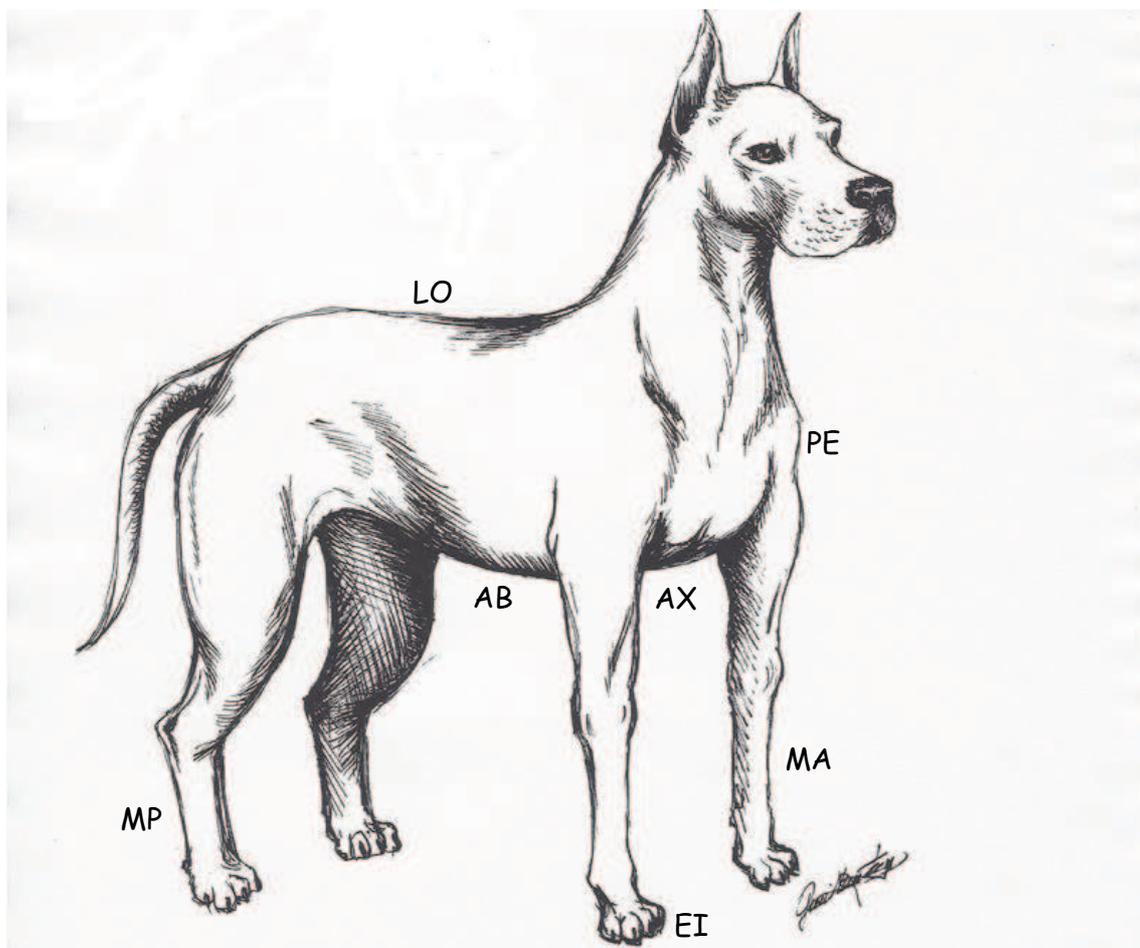
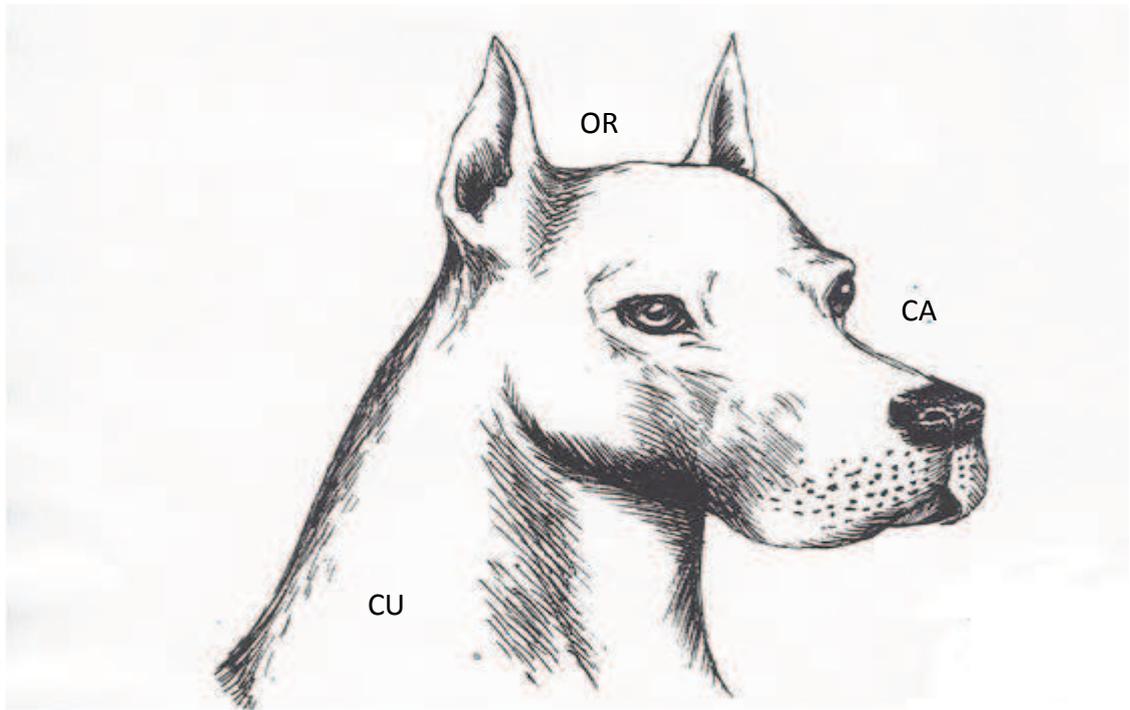
Desparasitado: si no

con que:

cuando

Observaciones:

Marcar en el esquema la localización corporal del espécimen recolectado



Los ejemplares colectados se colocaron en recipientes adecuados, con el agregado de alcohol 96°, separadas e identificadas de acuerdo al área corporal del canino del cual fueron obtenidas, para luego ser clasificadas en los diferentes estados en el Laboratorio de Estudios Parasitológicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL), Esperanza, Santa Fe.

Para el estudio estadístico se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk (Zar, 1999), a fin de determinar si la distribución de los datos era normal. Debido a que los mismos no mostraron una distribución normal, la significancia de las diferencias entre las áreas corporales se testeó con métodos no paramétricos. Los valores obtenidos para cada área corporal se compararon estadísticamente con el test de Kruskal-Wallis seguido por la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares (Zar, 1999).

RESULTADOS

Se colectaron especímenes de algunos de los estados de *R. sanguineus* s.s., de un total de 762 observaciones realizadas. De ellas 523 presentaron al menos una forma parasitaria en cualquiera de sus estados. Se recolectaron 5116 formas parásitas de *R. sanguineus* s.s, en tres años de muestreos, de los cuales correspondieron, 2187 machos (42,74%), 1522 hembras (29,74%), 1319 ninfas (25,78%) y 88 larvas (1,72%).

Se obtuvieron ejemplares de todos los sitios de muestreo, CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital, los que se analizan de acuerdo a cada estado parasitario colectado.

Distribución anatómica de machos de *R. sanguineus* s.s.

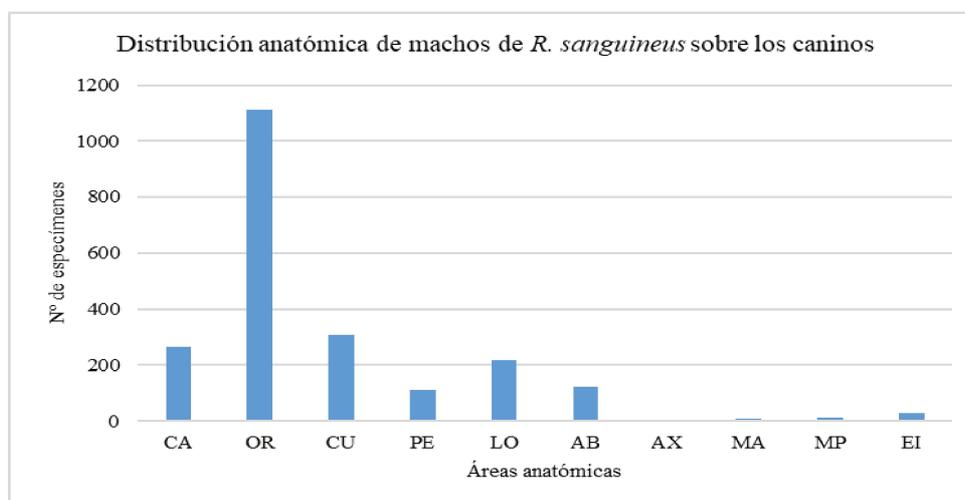
Se colectaron un total de 2187 machos de *R. sanguineus* s.s., sobre 408 observaciones realizadas sobre los caninos muestreados. Los mismos fueron colectados de todas las áreas corporales motivo de estudio. Cuando se consideran para el análisis todos los caninos (408) parasitados con el estado de machos (2187), el análisis de Kruskal-Wallis indica diferencias significativas entre las áreas ($P < 0,01$). La localización de preferencia son las OR y las áreas CA, CU y LO de acuerdo a lo obtenido con el procedimiento de Dunn. La menor infestación estaría dada en las áreas AX, MA, MP y EI (Tabla 38 y Gráfico 37).

Tabla 38-. Análisis estadístico de la distribución anatómica de los machos de *R. sanguineus* s.s.; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.

| Espacio corporal | CA | OR | CU | PE | LO | AB | AX | MA | MP | EI |
|-----------------------|------|--------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|------|
| Numero de garrapatas* | 265a | 1111 b | 310 a | 110 c | 216 a | 124 c | 3 d | 10 d | 11 d | 27 d |
| Porcentaje total | 12,1 | 50 | 14,2 | 5 | 9,8 | 5,6 | 0,14 | 0,45 | 0,50 | 1,23 |

* Kruskal-Wallis con la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares. Números seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($P < 0,01$).

Gráfico 37-. Distribución anatómica de los machos de *R. sanguineus* s.s., obtenidos de los caninos muestreados: CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



Distribución anatómica de hembras de *R. sanguineus* s.s.

Para el caso de las hembras de *R. sanguineus* s.s., se encontraron en todas las áreas corporales de los caninos muestreados. El total de caninos observados durante el período de estudio fueron 762, de los cuales 523 presentaban al menos un estado de garrapata, de los que 379 presentaron al menos una hembra, de las que se colectaron en

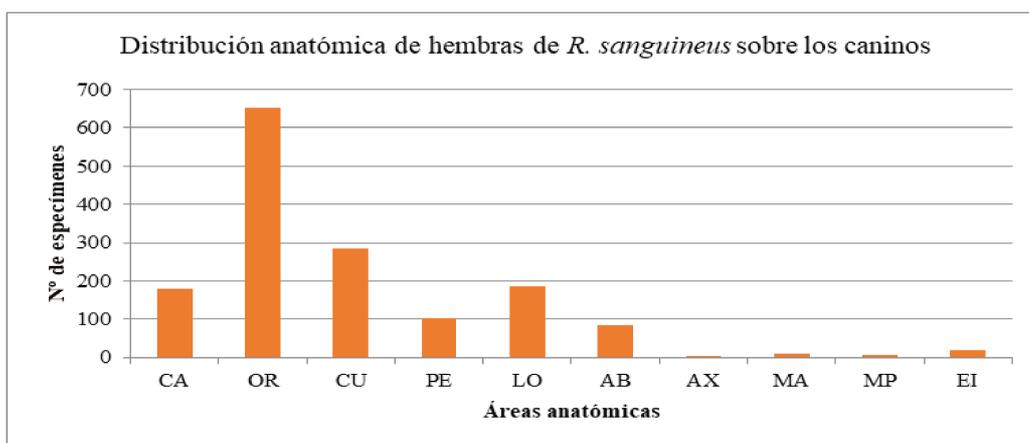
total 1522 especímenes. Las mismas fueron colectadas de todas las áreas corporales motivo de estudio. Cuando se consideran para el análisis todos los caninos (379) parasitados con el estado de hembras (1522), el análisis de Kruskal-Wallis indica diferencias significativas entre las áreas ($P < 0,01$). El lugar preferido de localización son las OR y las áreas CA, CU y LO constituyen el grupo de áreas corporales, obtenidos con el procedimiento de Dunn, donde se concentra la infestación. Esto coincide con lo observado para los machos de *R. sanguineus* s.s., cuya menor infestación estaría dada en las áreas AX (Tabla 39 y Gráfico 38).

Tabla 39-. Distribución anatómica de las hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.

| Espacio corporal | CA | OR | CU | PE | LO | AB | AX | MA | MP | EI |
|-----------------------|------|-------|-------|-------|-------|------|------|-----|-----|------|
| Número de garrapatas* | 181a | 652 b | 284 a | 102 c | 186 a | 83 c | 1 f | 9 d | 5 d | 19 e |
| Porcentaje del total | 11,9 | 42,8 | 18,7 | 6,7 | 12,2 | 5,4 | 0,07 | 0,6 | 0,3 | 1,3 |

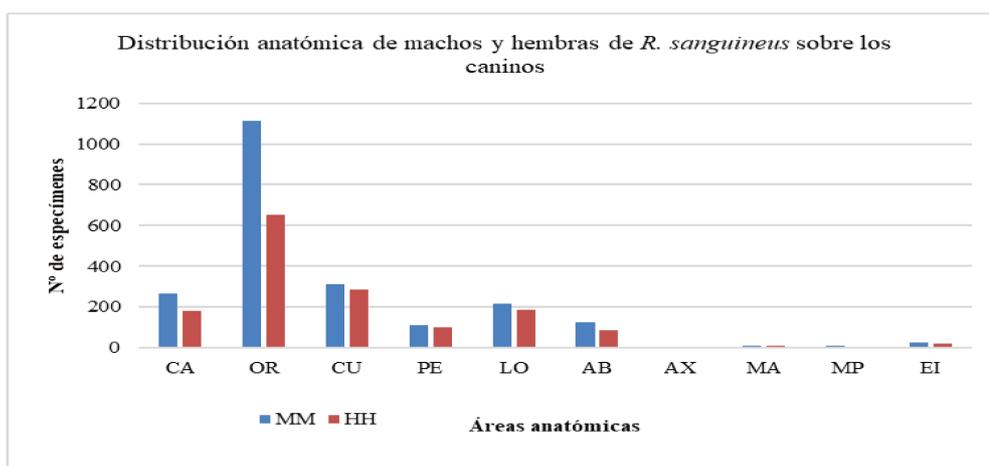
* Kruskal-Wallis con la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares. Números seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($P < 0,01$).

Gráfico 38-. Distribución anatómica de hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



Tanto para machos (MM) como para hembras (HH) de *R. sanguineus* s.s., el lugar de preferencia para su localización, y de acuerdo a lo que indica la estadística y los gráficos, son las orejas, hecho que se pone de evidencia si analizamos el Gráfico 39, donde coinciden tanto para machos como para hembras los lugares de preferencia para su localización.

Gráfico 39-. Distribución anatómica de los machos y hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



Distribución anatómica de ninfas de *R. sanguineus* s.s.

Para el caso de las ninfas se encontraron en todos los lugares con excepción de los miembros anteriores (MA). De las 523 observaciones que presentaban garrapatas, 164 presentaron el estado ninfal. Se colectaron en total 1319 ninfas durante el período muestreado.

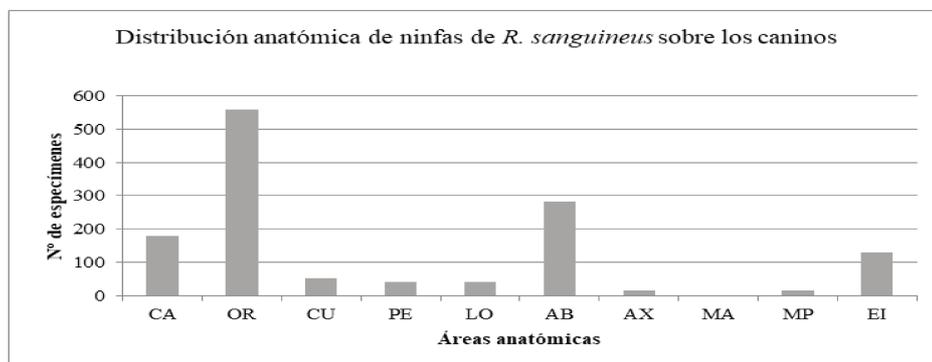
Cuando se consideran para el análisis todos los caninos (164) parasitados con el estado de ninfas (1319), el análisis de Kruskal-Wallis indica diferencias significativas entre las áreas ($P < 0,01$). El lugar preferido de localización son las OR y AB; las áreas CA y EI constituyen el grupo de áreas corporales obtenidos con el procedimiento de Dunn, donde se concentra la infestación (Tabla 40 y Gráfico 40).

Tabla 40-. Distribución anatómica de las ninfas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.

| Espacio corporal | CA | OR | CU | PE | LO | AB | AX | MA | MP | EI |
|-----------------------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|----|-------|--------|
| Número de garrapatas* | 106 | 349 | 25 | 9 | 39 | 257 | 10 | 0 | 14 | 95 |
| Porcentaje del total | 11,7a | 38,6 b | 2,76 c | 0,9 d | 4,3 c | 28,4 b | 1,10 d | 0 | 1,5 d | 10,5 a |

* Kruskal-Wallis con la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares. Números seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($P < 0,01$).

Gráfico 40-. Distribución anatómica de ninfas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



Distribución anatómica de larvas de *R. sanguineus* s.s.

Para el caso de las larvas, de los lugares muestreados, no se hallaron ejemplares en AX, MA y MP. De las 523 observaciones que presentaban al menos una forma parasitaria durante el período de muestreo, 20 presentaron larvas, colectándose un total de 88 de ellas.

Cuando se consideran para el análisis todos los caninos (20) parasitados con el estado de larvas (88), el análisis de Kruskal-Wallis indica diferencias significativas entre las áreas ($P < 0,01$). El lugar preferido de localización es la CA, seguido de EI, OR y AB

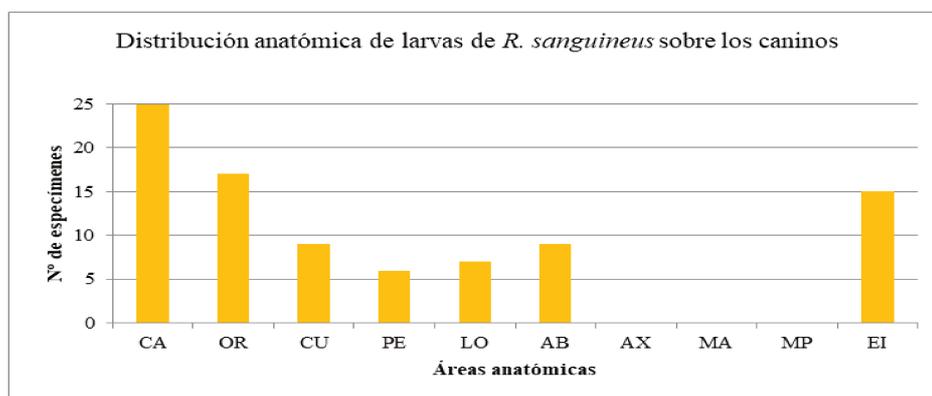
que constituyen el grupo de áreas corporales, obtenidos con el procedimiento de Dunn, donde se concentra la infestación (Tabla 41 y Gráfico 41).

Tabla 41-. Distribución anatómica de las larvas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.

| Espacio corporal | CA | OR | CU | PE | LO | AB | AX | MA | MP | EI |
|-----------------------|-------|--------|-------|-------|-------|---------|----|----|----|--------|
| Número de garrapatas* | 24 | 9 | 6 | 3 | 4 | 8 | 0 | 0 | 0 | 14 |
| Porcentaje del total | 35,2a | 13,2 b | 8,8 d | 4,4 e | 5,9 e | 11,76 b | 0 | 0 | 0 | 20,6 c |

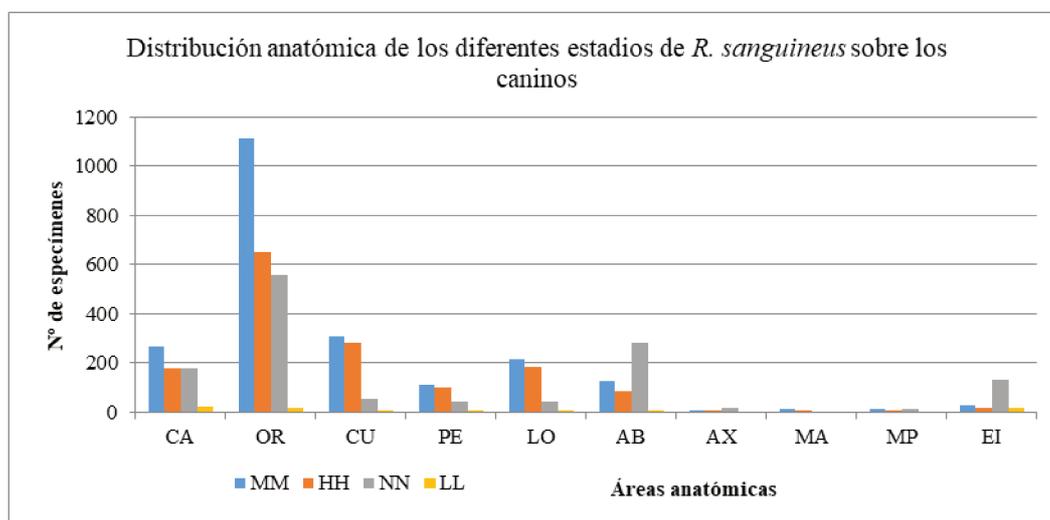
* Kruskal-Wallis con la prueba de Dunn para comparaciones múltiples por pares. Números seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes ($P < 0,01$).

Gráfico 41-. Distribución anatómica de larvas de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



Si analizamos los lugares de preferencia anatómica para la distribución de los diferentes estados parasitarios sobre los caninos, se evidencia coincidencia en la elección de los lugares (Gráfico 42).

Gráfico 42-. Distribución anatómica de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos muestreados; CA: cabeza; OR: oreja; CU: cuello; PE: pecho; LO: lomo; AB: abdomen; AX: axila; MA: miembro anterior; MP: miembro posterior; EI: espacio interdigital.



DISCUSIÓN

La preferencia de determinadas áreas corporales del hospedador para la extracción de sangre, el comportamiento de defensa del hospedador y las características tegumentarias, estarían entre los factores más importantes que influyen sobre la distribución anatómica de un parásito sobre su hospedador (Kiffner y col. 2011; Pilosof, y col. 2012).

De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que se han colectado formas parásitas de *R. sanguineus* s.s., de diferentes estados evolutivos en todas las regiones corporales estudiadas. Con respecto a los estados adultos (machos, hembras) y para los estados ninfales, la estadística nos indica una preferencia por la zona corporal ($P < 0,01$); la mayor cantidad de ellos se colectaron en la región de orejas (OR), mientras que el menor número se encontraron en axilas (AX) y miembros (MA, MP). Esto difiere de los hallazgos de Moissant y col. (1999), donde la mayor localización se dio en cuello.

Durante el período de muestreo, hemos colectado mayor número de machos (2187) que de hembras (1522); esto también difiere de los datos que obtuvieron Moissant y col. (1999), dado que su registro fue inverso.

Entre las diez regiones corporales sobre las cuales se realizó la colecta, el orden de preferencia fue el siguiente: OR, CA y CU, con las mayores cantidades de especímenes ($P < 0,01$). La menor preferencia se encontró en AX, MA y MP ($P < 0,01$), hecho que coincide con los hallazgos de Moissant y col. (1999).

Si bien se colectó un mayor número de machos, se encontraron machos y hembras en todas las regiones corporales. Estos resultados parecen estar relacionados con la actividad sexual de los adultos en cuanto a la producción de feromonas sexuales por parte de la hembra durante el proceso de ingurgitación, con la finalidad de atraer los machos y realizar el acoplamiento (Hamilton, 1992).

Los estados inmaduros, larvas y ninfas se colectaron en menor cantidad, pero también tienen preferencia por las regiones de abdomen y espacios interdigitales (AB, EI). Las ventajas de este comportamiento son la fijación a una superficie tegumentaria delgada con alta vascularización y que en estas áreas la defensa mecánica del hospedador por acicalamiento tiene un menor efecto que en otras áreas corporales (Nava y col. 2009).

En relación con el escaso número de larvas colectadas, pensamos que estos resultados se debieron a que estas formas no fueron detectadas adecuadamente debido a su pequeño tamaño y a los cortos períodos de alimentación de éstas sobre su hospedador (3 a 8 días).

CONCLUSIÓN

Este trabajo, brinda elementos para el conocimiento de la biología de *R. sanguineus* s.s., dado que no existen datos de este tipo en nuestro país, lo que puede ser insumo para futuros estudios, sobre la acción y eficacia en la utilización de antiparasitarios, entre otros.

CAPÍTULO 5

CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y LA PARASITOSIS CAUSADA POR *Rhipicephalus sanguineus* s.s. SOBRE LOS CANINOS

INTRODUCCIÓN

El complejo *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) (Latreille, 1806) es un grupo de garrapatas en el que, desde una perspectiva de salud veterinaria, médica y económica, *R. sanguineus* sensu stricto es importante. Otras especies del complejo son *Rhipicephalus bergeoni* (Morel and Balis, 1976); *Rhipicephalus camicasi* (Morel, Mouchet y Rodhain, 1976), *Rhipicephalus guilhoni* (Morel and Vassiliades, 1963), *Rhipicephalus leporis* (Pomerantzev, 1946), *Rhipicephalus moucheti* (Morel, 1965), *Rhipicephalus pusillus* (Gil Collado, 1936), *Rhipicephalus pumilio*, (Schulze, 1935), *Rhipicephalus rossicus* (Yakimov y Kohl-Yakimova 1911), *Rhipicephalus schulzei* (Olenev, 1929) *Rhipicephalus sulcatus* (Neumann, 1908) y *Rhipicephalus turanicus* (Pomerantzev, 1940).

A pesar de la relevancia que implica esta garrapata, *R. sanguineus* s.s., su nombre frecuentemente se ha aplicado a cualquier población de garrapatas del grupo *R. sanguineus* asociada a caninos en todo el mundo (Nava y col. 2015).

R. sanguineus s.s., es considerada la garrapata común del perro; causa parasitosis frecuente sobre todo en los climas favorables para su desarrollo, ocasionando su acción hematófaga sobre sus hospedadores y la transmisión de patógenos. Si bien existen numerosos estudios relacionados a la transmisión de ellos (Labruna y col. 2011; Nava y col. 2012; Eiras y col. 2014; Cicuttin y col. 2015, 2016, 2017), son nulos los trabajos realizados sobre la relación entre la carga de diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., y los cambios que se pudieran producir en los parámetros sanguíneos y la bioquímica sanguínea de los caninos parasitados.

En este Capítulo, se planteó evaluar el efecto del parasitismo por *R. sanguineus* s.s. en sus diferentes estados y su posible acción sobre los parámetros sanguíneos de caninos mediante un estudio observacional longitudinal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de muestreo se realizó en el Barrio La Orilla, de la ciudad de Esperanza, Santa Fe (-31.448097, -60.930430). El sitio está ubicado en la periferia del área urbana de esta ciudad, en la zona norte y comprendió tres puntos de muestreo.

Para la determinación de la correlación entre la carga de diferentes estados de las fases de *R. sanguineus* s.s. y los cambios que pudieran producirse en los parámetros sanguíneos, se realizó un estudio observacional longitudinal que consistió en muestreos mensuales desde junio de 2015 hasta junio 2016, en 10 caninos. Se colectó de cada uno de ellos los especímenes de garrapatas que se encontraban parasitándolo, las mismas fueron colocadas en recipientes a tal fin con el agregado de alcohol 96° para su posterior identificación en el Laboratorio de Estudios Parasitológicos, de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL). Por otro lado, se tomaron 3 ml de sangre de la vena cefálica, con y sin anticoagulante (EDTA) y se remitieron al Laboratorio de Análisis Clínicos (FCV - UNL) para la realización de hemograma completo, proteínas totales, glucemia, triglicéridos y albúmina.

Las muestras sin anticoagulante, se centrifugaron y fueron procesadas mediante el autoanализador WL Metrolab 2300 plus®. Se determinaron concentraciones de glucosa (mg/dl), triglicéridos (mg/dl), proteínas totales (g/dl) y albúmina (g/dl) mediante métodos cinéticos empleando los kits Glucemia enzimática AA líquida, TG color GOP/PAP AA líquida, Proteínas AA, Albúmina AA (WL) respectivamente. Las muestras con anticoagulante para la determinación de parámetros hematológicos se procesaron mediante la utilización del contador hematológico BC- 2.800Vet, Mindray.

De los diez animales que mensualmente se muestrearon, tres fueron hembras y siete machos; tres que eran pequeños, cuatro medianos y tres grandes; cuatro de los animales tenían pelo largo y seis cortos; las edades comprendidas entre uno y siete años. Los mismos fueron identificados de uno a diez (Tabla 42).

Tabla 42-. Datos de los animales que participaron en el muestreo.

| Animal | Sexo | Edad | Pelaje | Tamaño |
|--------|------|------|--------|---------|
| 1 | H | 4 | corto | mediano |
| 2 | M | 7 | corto | grande |
| 3 | M | 3 | corto | grande |
| 4 | M | 5 | corto | grande |
| 5 | M | 3 | corto | pequeño |
| 6 | H | 1 | corto | pequeño |
| 7 | M | 2 | largo | pequeño |
| 8 | M | 1 | largo | mediano |
| 9 | H | 5 | largo | mediano |
| 10 | M | 1 | largo | mediano |

Referencias: M: machos; H: hembras. Edad, expresada en años. 1: pequeño, 2: mediano, 3: grande

Para la realización de los análisis se utilizó la función lmer del paquete LME4 (Bates y col. 2015) del programa estadístico R (<https://cran.r-project.org/>).

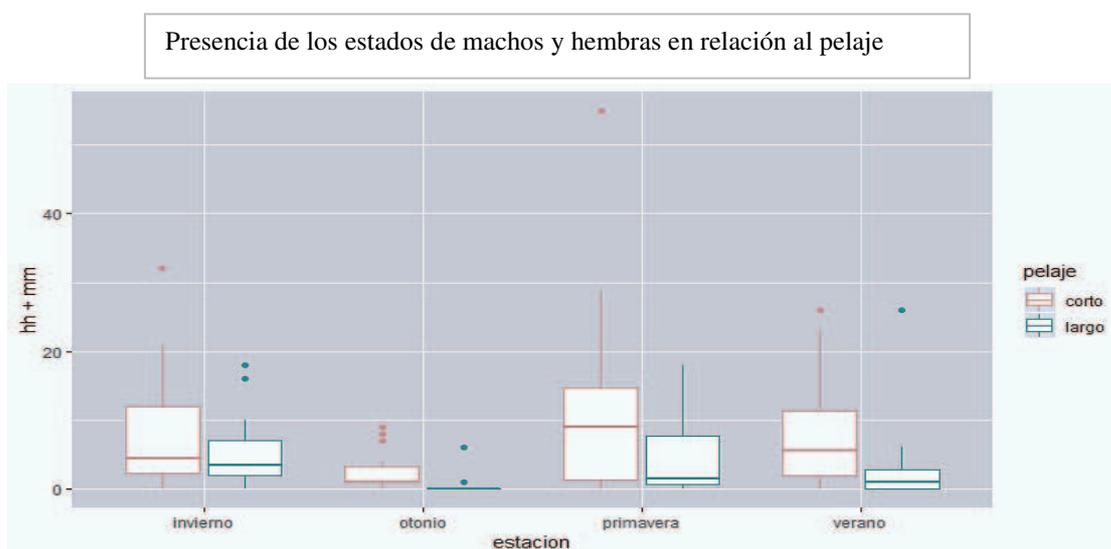
RESULTADOS

Durante el período de muestreo se colectaron un total de 461 estados de machos de *R. sanguineus* s.s., 282 estados de hembras, 191 de ninfas y 1 de larva.

Si analizamos el potencial efecto de la carga parasitaria de las diferentes fases del ciclo de *R. sanguineus* s.s. sobre los hospedadores, encontramos variables que están asociadas a la acción de este parásito.

La carga parasitaria versus la longitud del pelaje (Gráfico 43), evidencia que es más elevada la presencia de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., en animales de pelo corto que, en animales de pelo largo, independientemente del tamaño, sexo, edad y estación del año en que se realizó el muestreo. Durante todo el período de estudio se respetó la misma metodología de muestreo para cada animal.

Gráfico 43-. Evaluación de la carga parasitaria versus la longitud del pelaje de los caninos muestreados.



La asociación entre la presencia del estado de hembras de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos, teniendo en cuenta la edad y las estaciones del año, pone en evidencia que, a mayor edad del animal, mayor es el número de garrapatas hembras. La menor carga de

garrapatas hembras se presenta en otoño, resultando estadísticamente significativo ($p < 0.01$) (Tabla 43).

Tabla 43-. Análisis de la asociación entre la presencia de hembras de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos, en relación a la edad y las estaciones del año.

Modelo galh: hh~ edad+estación. factor al azar: canino

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|--------------------|----------|------------|---------|--------------|
| Intercepto | 0,30713 | 0,29125 | 1,055 | 0,29164 |
| Edad | 0,19442 | 0,05932 | 3,277 | 0,00105 ** |
| Estación otoño | -2,37023 | 0,42193 | -5,618 | 1,94e-08 *** |
| Estación primavera | 0,22441 | 0,30703 | 0,731 | 0,46484 |
| Estación verano | 0,01994 | 0,31071 | 0,064 | 0,94884 |

La relación entre la carga parasitaria del estado de machos de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos teniendo en cuenta la edad, tamaño de los animales y las estaciones del año en que se realizó el muestreo, pone de manifiesto que, a mayor edad del animal, corresponde mayor número de garrapatas machos en animales de tamaño mediano (2). La menor carga de garrapatas machos se observó en otoño, con diferencias estadísticamente significativas respecto a las demás estaciones ($p < 0.01$). Comportamientos similares manifestaron las hembras (Tabla 44).

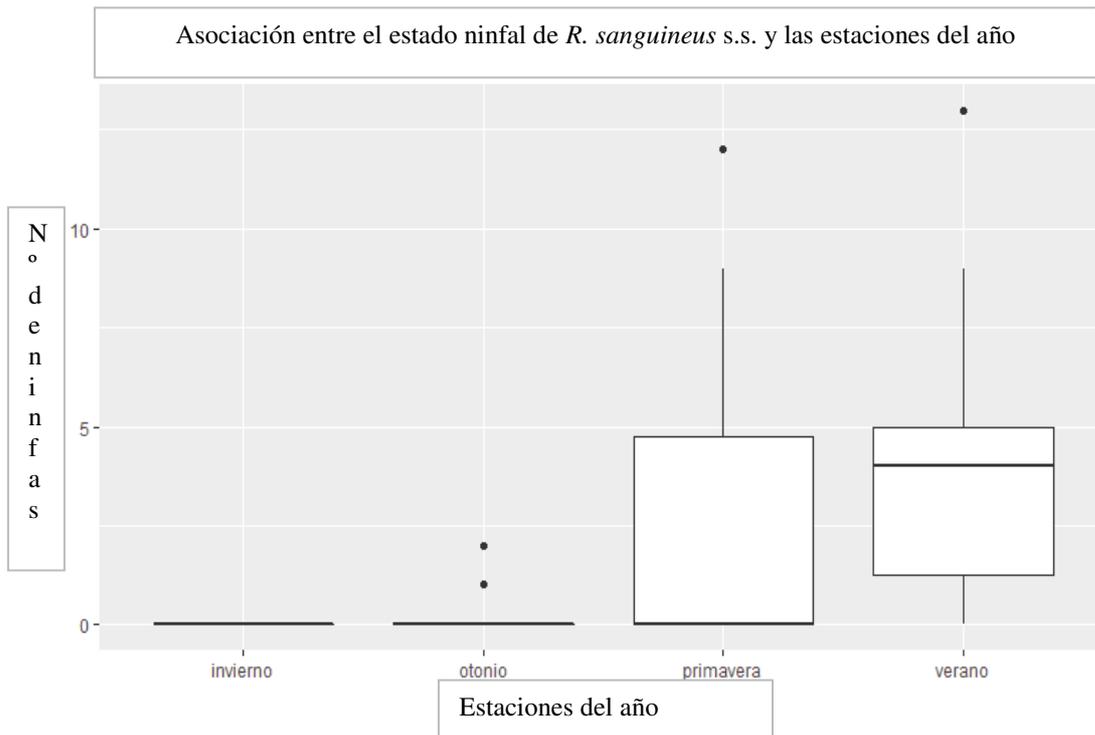
Tabla 44-. Análisis de la asociación entre la carga parasitaria del estado de machos de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos teniendo en cuenta la edad, tamaño de los animales y las estaciones del año.

Modelo gal m: mm~ edad+tamaño+estación. factor al azar: canino

| | Estimate | Std. Error | z value | Pr(> z) |
|---------------------|----------|------------|---------|--------------|
| (Intercept) | 0,98419 | 0,30599 | 3,216 | 0,001298 ** |
| Edad | 0,27971 | 0,07370 | 3,795 | 0,000147 *** |
| as.factor (tamaño)2 | -1,02441 | 0,28375 | -3,610 | 0,000306 *** |
| as.factor (tamaño)3 | -0,37355 | 0,35535 | -1,051 | 0,293154 |
| Estación otoño | -1,21145 | 0,31249 | -3,877 | 0,000106 *** |
| Estación primavera | -0,01121 | 0,30546 | -0,037 | 0,970726 |
| Estación verano | -0,30418 | 0,30756 | -0,989 | 0,322663 |

El análisis de la asociación entre la presencia del estado ninfal de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos, teniendo en cuenta las estaciones del año, se realizó solo para primavera verano, (estaciones en las que se halló este estado) (Gráfico 44).

Gráfico 44-. Análisis de la asociación entre la presencia del estado ninfal de *R. sanguineus* s.s. sobre los caninos teniendo en cuenta las estaciones del año.



No se encontraron diferencias significativas entre la presencia de ninfas y el sexo, edad y tamaño de los caninos muestreados. Para el caso del pelaje de los caninos que hospedaban estos estados, se concluyó que tienen menos ninfas los caninos con pelo largo, pero esta diferencia menos marcada que en el caso de los estados de garrapatas adultas (machos y hembras) que analizamos anteriormente.

Del recuento de glóbulos rojos (GR), los 10 animales que participaron en el muestreo presentaron un valor promedio $5,5 \cdot 10^6$ (Mínimo = $2,0 \cdot 10^6$ - $8,5 \cdot 10^6$) que presenta diferencias estadísticas significativas ($t = 14,3241$ y $p < 0,001$) con respecto al valor

normal $7 \cdot 10^6$ GR/mm³ (rango: $5,5-8,5 \cdot 10^6$ GR/mm³), con 119 datos inferiores a la media y 11 valores a la derecha de la media. (Gráficos 45).

Gráfico 45-. Comportamiento del recuento de glóbulos rojos en los 10 caninos durante el período de estudio.

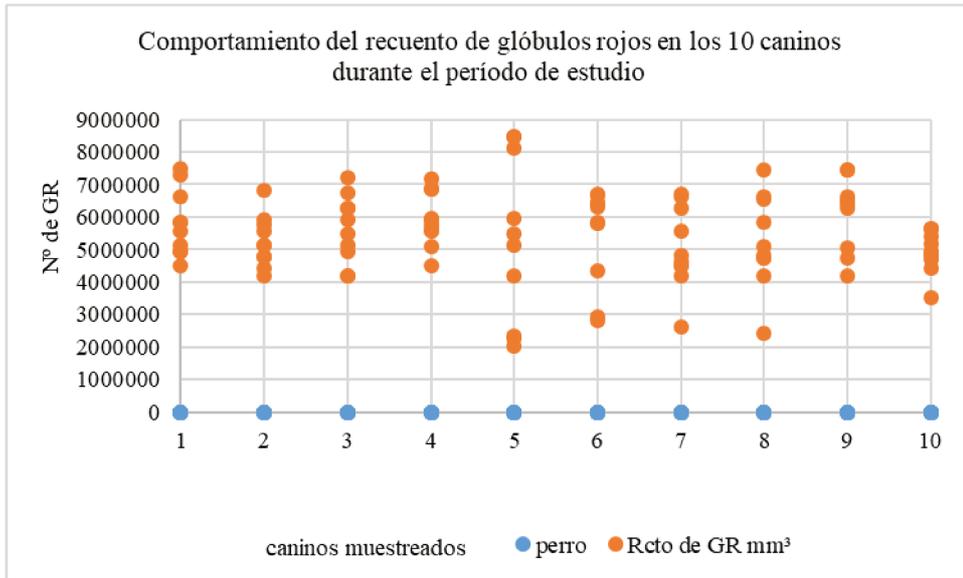
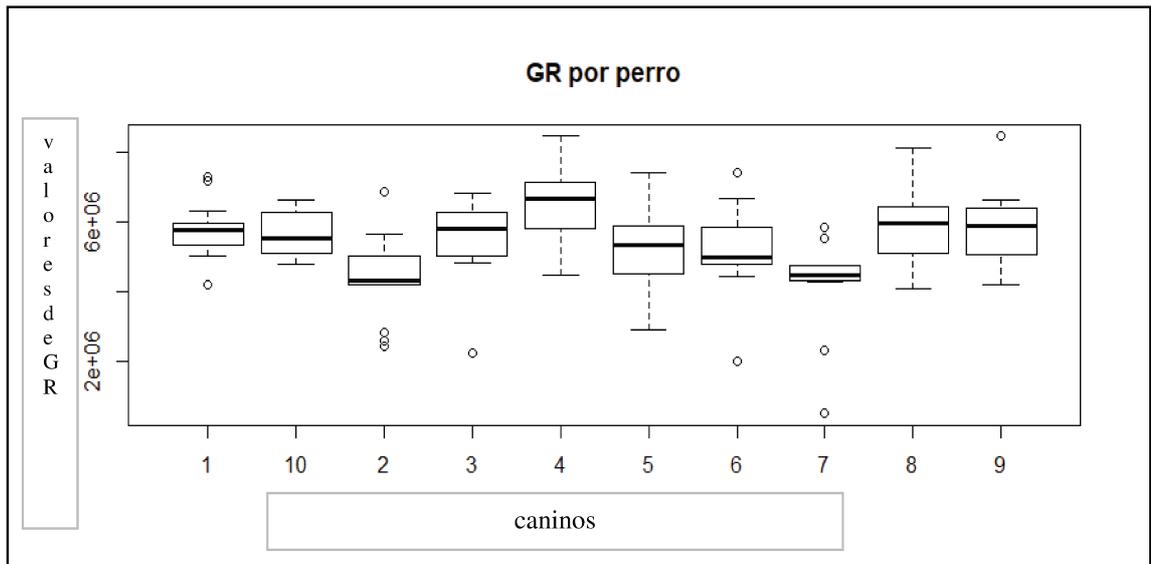
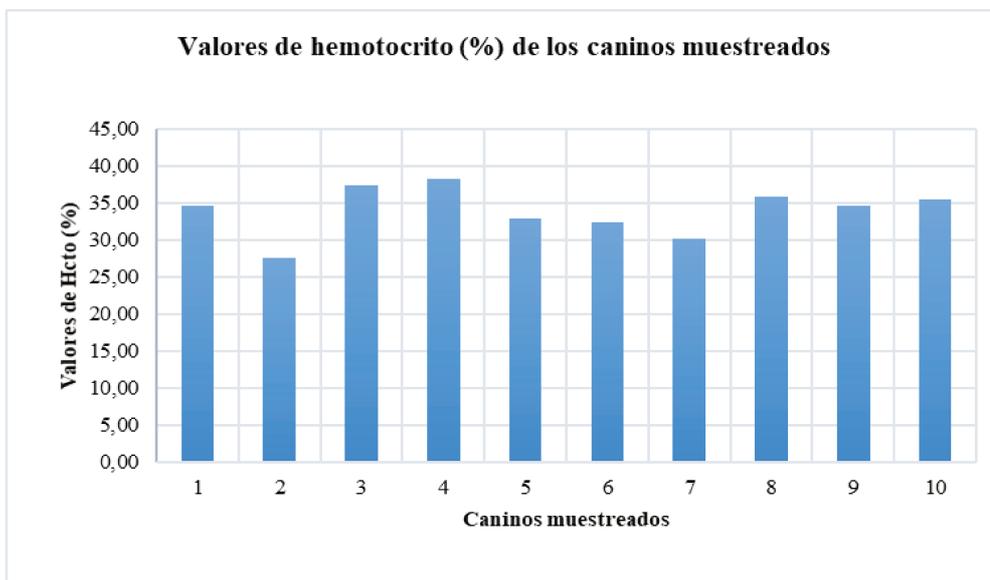


Gráfico 46-. Estadística descriptiva del análisis del recuento de glóbulos rojos en los caninos motivo de estudio.



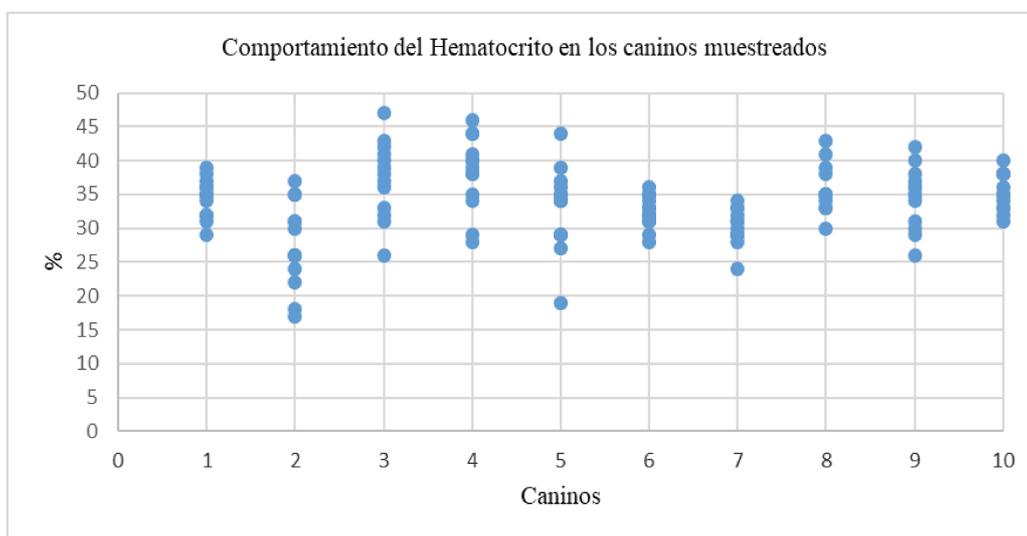
Con respecto a los valores de hematocrito, se halló un promedio general de 33,9% en todo el período de estudio, cuando los valores normales nos indican un 38% (rango: 35-55%). El análisis estadístico señala que los valores hallados en este trabajo son significativamente inferiores ($t = 8,8136$ y $p < 0,001$) al valor medio normal, con 98 datos inferiores a la media y 22 datos superiores. Los animales parasitados presentaron una anemia moderada. El promedio de los hematocritos, tuvieron una variación entre 27,53 a 38,15%, (Gráfico 47).

Gráfico 47-. Valores promedios de hematocrito, de cada uno de los caninos durante el período de estudio.



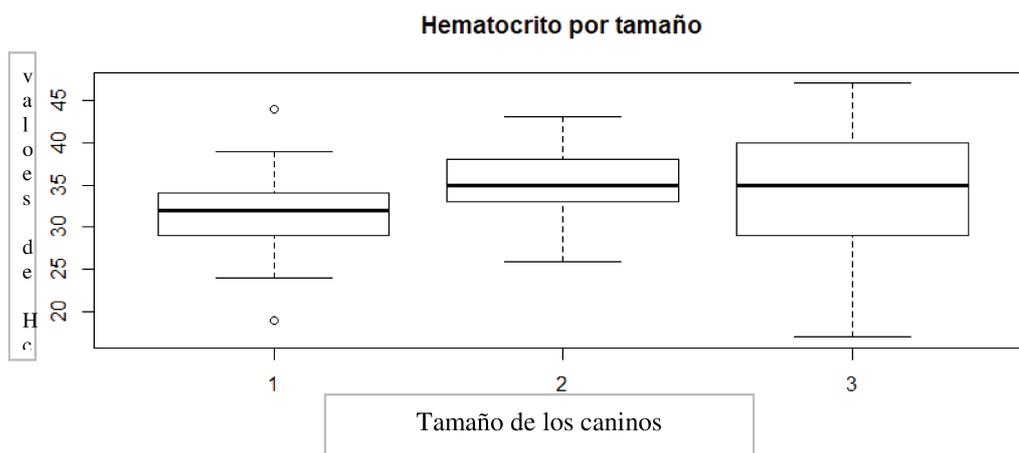
El comportamiento de los valores de hematocrito en los diferentes caninos a lo largo de los 13 muestreos del estudio se evidencia en el Gráfico 48.

Gráfico 48-. Comportamiento del hematocrito a lo largo del muestreo de los 10 caninos que participaron en el mismo.



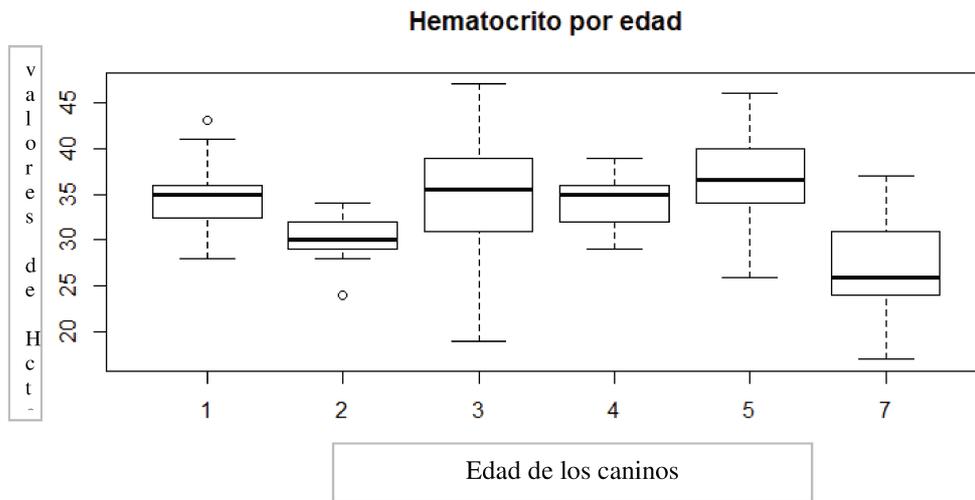
Si consideramos el análisis de los valores de hematocrito en relación con el tamaño de los animales muestreados (1= canino pequeño; 2= canino mediano, 3= canino grande) (Gráfico 49), se corresponden con el tamaño de los mismos.

Gráfico 49-. Relación entre los valores de hematocrito y el tamaño de los animales muestreados (1= canino pequeño; 2= canino mediano, 3= caninos grandes).



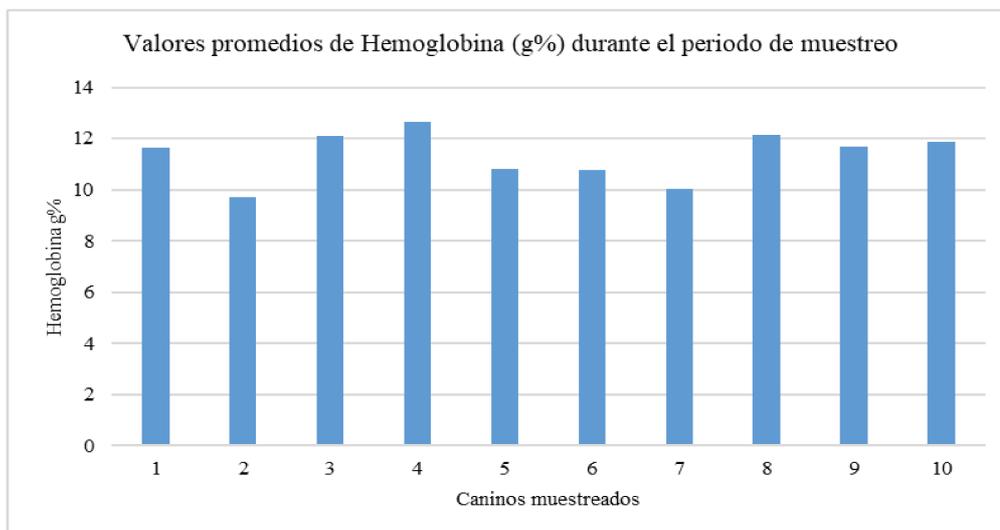
El hematocrito en relación con la edad tiene un comportamiento irregular y se pone en evidencia el menor valor en el animal de 7 años, que coincide con el canino que menor recuento de GR ha tenido a lo largo del período de estudio (Gráfico 50).

Gráfico 50-. Comportamiento del hematocrito en relación a la edad de los caninos.



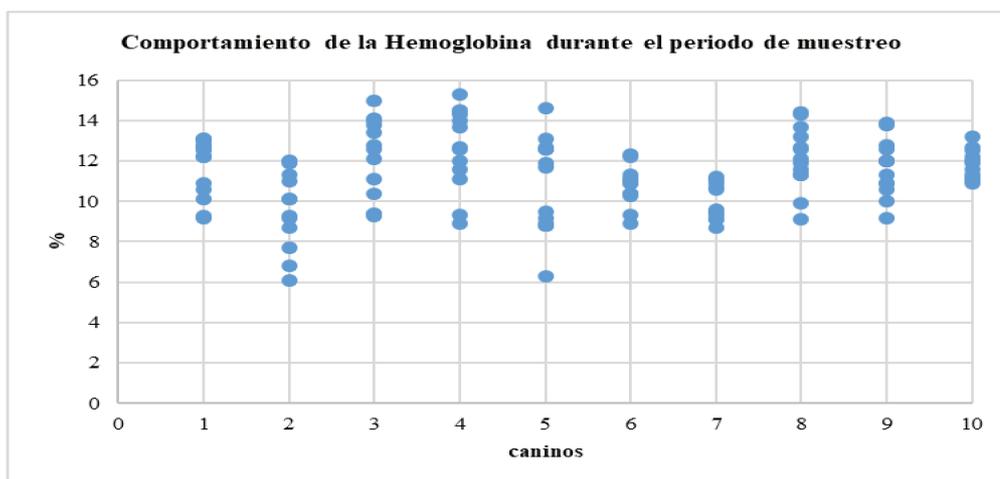
Analizando el comportamiento de los datos de la hemoglobina, los valores calculados en este trabajo presentaron una media 11,35 g%, (rango: 6,1 -15 g%, Gráfico 51) que resultó estadísticamente inferior ($t=6,63318$, $p<0,001$) a la media normal para caninos sanos (12,4g%, rango: 9,2-15,6g%), dejando 91 datos a la izquierda y 39 datos a la derecha de la media normal), motivo por el cual se puede establecer que los caninos parasitados presentan una leve anemia.

Gráfico 51-. Valores promedios de hemoglobina (g%), de cada uno de los caninos durante el período de estudio.



El comportamiento de los valores de la concentración de hemoglobina, a lo largo del período de estudio se evidencia en el Gráfico 52.

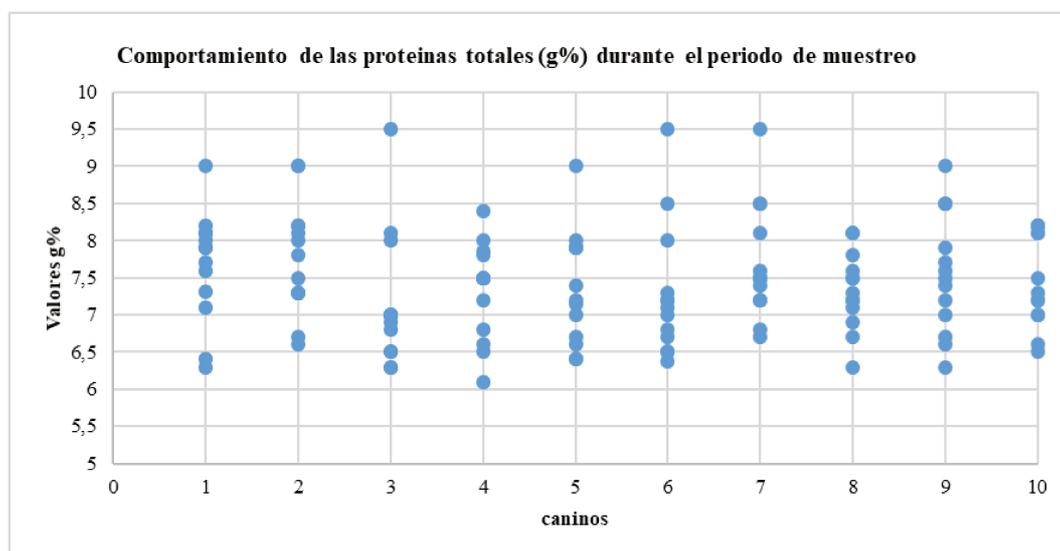
Gráfico 52-. Comportamiento de la hemoglobina expresada en gramos %, en los diferentes caninos, durante el período de muestreo.



Con respecto a los valores obtenidos en la bioquímica sanguínea para proteínas totales, glucemia, triglicéridos y albúmina durante los meses que se desarrolló el ensayo, fueron evaluados de acuerdo a la carga parasitaria.

Las proteínas totales (g%) han presentado un promedio general de 7,45 g%, en todo el período de estudio; siendo los valores normales para los caninos entre 7,5-11,5 g%, por lo que los animales muestreados han presentado en promedio general, valores muy próximos al rango inferior. Los valores promedio de proteínas totales, tuvieron una variación entre 7,14 y 7,76 g%, que siguen estando próximos al rango inferior (Gráfico 53).

Gráfico 53-. Resultados del comportamiento de los análisis de las proteínas totales (g%) durante el período de estudio.



Si analizamos la asociación entre proteínas totales, abundancia de los estados de machos y hembras de *R. sanguineus* s.s., y estaciones del año tomando como referencia el invierno, (Tabla 45) se concluye que aquellos caninos que presentaron mayor número de garrapatas adultas, tienen menos concentración serológica de proteínas totales en un mismo momento, lo que consideramos una asociación, no una causa efecto. Cada 10 garrapatas adultas presentes sobre el animal, disminuye 0,2 g% las proteínas totales.

Tabla 45-. Análisis de la asociación entre los resultados de las proteínas totales (g%), abundancia de los estados de machos y hembras de *R. sanguineus* s.s.

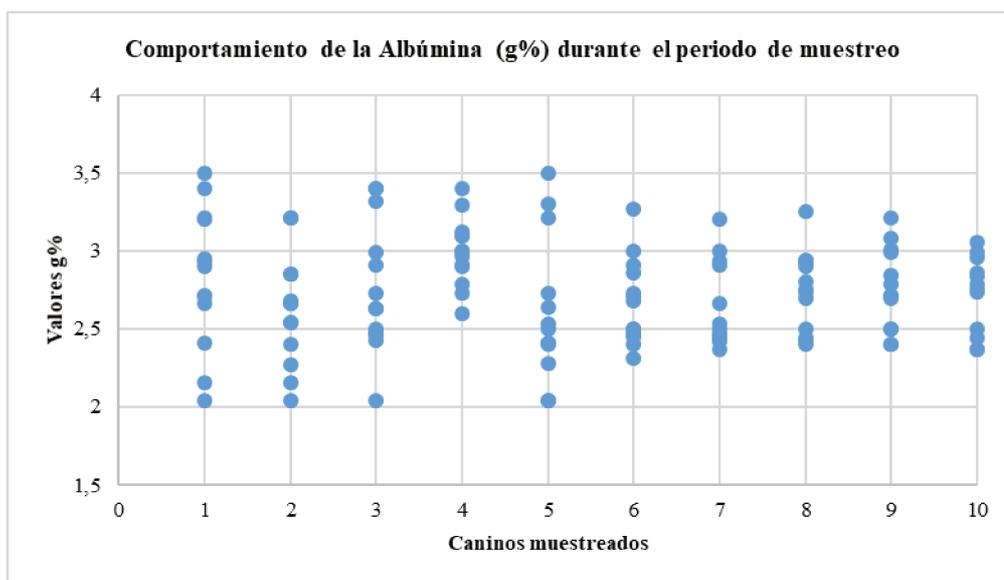
Proteínas totales ~ (H+M) + estación Factor al azar = canino.

| | Coefficiente | Error estándar | t- valor | LI | LS |
|--------------------|--------------|----------------|----------|-------------|-------------|
| Intercepto | 7,020725 | 0,1322 | 53,107 | 6,761613 | 7,279837 |
| M+H | -0,01907 | 0,008782 | -2,171 | -0,03628272 | -0,00185728 |
| Estación otoño | 0,520642 | 0,164789 | 3,159 | 0,19765556 | 0,84362844 |
| Estación primavera | 0,508295 | 0,170935 | 2,974 | 0,1732624 | 0,8433276 |
| Estación verano | 0,880208 | 0,172271 | 5,109 | 0,54255684 | 1,21785916 |

M+H: abundancia de machos y hembras en conjunto. La estación de referencia es el invierno.

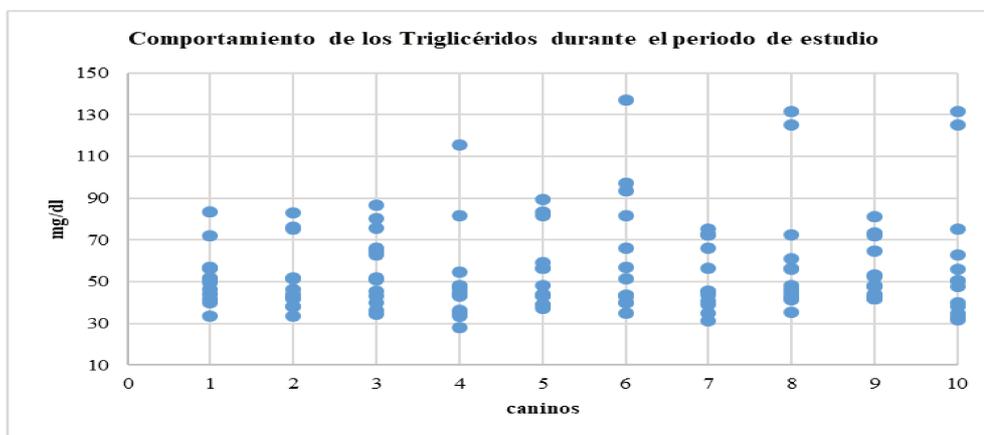
La albúmina ha presentado un promedio general de 2,73 g%, en todo el período de estudio, siendo los valores normales entre 2,5-4 g%, por lo que los animales muestreados han presentado en promedio general, valores muy próximos al rango inferior. Los valores promedio tuvieron una variación entre 2,61 y 2,99 g%, por lo que los datos que hemos obtenido siguen estando próximos al rango inferior (Gráfico 54).

Gráfico 54 -. Comportamiento serológico de la albúmina (g%) durante el período de muestreo



Los triglicéridos han presentado un promedio general de 55,95 mg/dl (rango: 50,59 y 63,67 mg/dl) durante el período de estudio. Es de destacar que los valores determinados se encuentran dentro del rango considerado normal como referencia (10 y 150 g/dl) para caninos (Gráfico 55).

Gráfico 55-. Comportamiento de los triglicéridos durante el período de muestreo.



De la estadística de la asociación entre triglicéridos (mg/dl), abundancia de machos y hembras de *R. sanguineus* s.s., estación del año y la edad de los caninos (Tabla 46), se concluye que, cuanto mayor es la cantidad de garrapatas adultas (machos y hembras) sobre un hospedador canino, disminuye la concentración sérica de los triglicéridos. Este efecto negativo de las garrapatas machos, disminuye a medida que el perro tiene más edad. Además, el efecto negativo es más severo en un animal joven que en un canino adulto, solo teniendo en cuenta los valores serológicos de los triglicéridos.

Tabla 46-. Análisis de la asociación entre triglicéridos (mg/dl), abundancia de los estados de machos y hembras de *R. sanguineus* s.s., edad y estación del año.

Multimodelo generado a partir de

Modelo 1: Triglicéridos ~ H + estación

Modelos 2: Triglicéridos ~ M * edad + estación Factor al azar = canino.

| | Coefficiente | Error estándar | LI | LS |
|--------------------|---------------------|-----------------------|-----------|-----------|
| Intercepto | 51,841 | 4,306 | 43,401 | 60,281 |
| H | -1,279 | 0,408 | -2,079 | -0,479 |
| M | -0,642 | 0,240 | -1,112 | -0,171 |
| Edad | -0,595 | 0,314 | -1,211 | 0,022 |
| M * Edad | 0,085 | 0,043 | 0,002 | 0,169 |
| Estación otoño | 4,405 | 5,029 | -5,452 | 14,262 |
| Estación primavera | 15,915 | 5,214 | 5,695 | 26,134 |
| Estación verano | 20,255 | 5,190 | 10,083 | 30,427 |

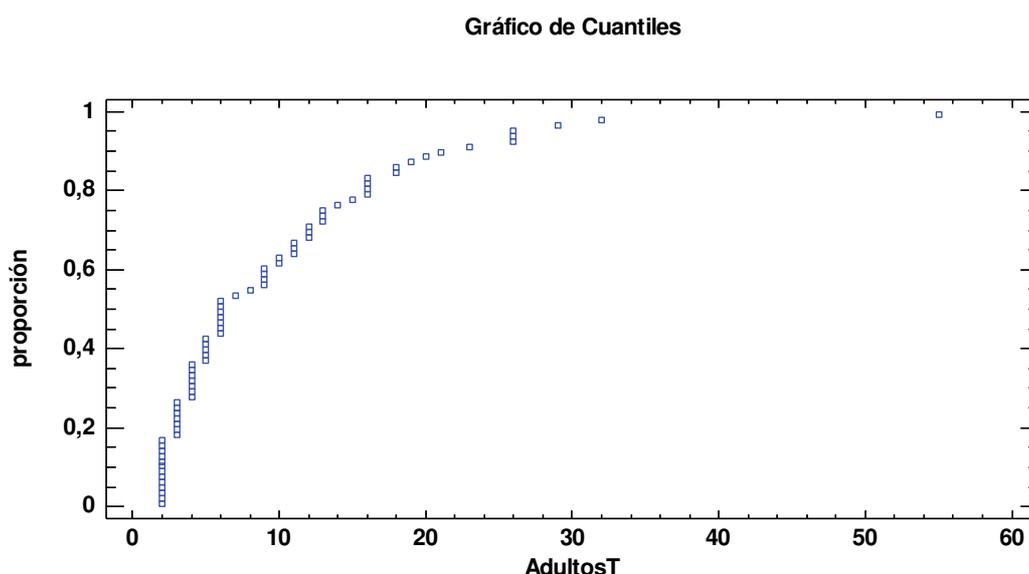
M: abundancia de machos H: abundancia de hembras. La estación de referencia es el invierno.

Con este análisis se concluye que, para un canino de un año, por cada 2 garrapatas machos parasitándolo, disminuye 1mg/dl los triglicéridos. Pero en un canino de 7 años, las garrapatas machos no tienen efectos negativos, generan menos daño. Las cargas parasitarias de garrapatas hembras sobre los caninos muestreados, siempre tienen efectos negativos con respecto a la concentración sérica de triglicéridos, independientemente de la edad de los animales. Por cada garrapata hembra de *R.*

sanguineus s.s., sobre los caninos disminuye 1,3 mg/dl de triglicéridos séricos. En cambio, por cada garrapata macho sobre el animal, desciende 0,64 mg/dl; esto sólo se visualiza en animales jóvenes.

Con el propósito de evaluar el efecto de la carga parasitaria en los caninos, teniendo en cuenta la presencia de estados adultos y los componentes del hemograma y la bioquímica sanguínea, se categorizaron los animales en tres grupos, según la carga parasitaria. En el Gráfico 56, se observa la distribución de las frecuencias acumuladas de las cargas parasitarias de los estados de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos, donde se advierte que es menor la cantidad de caninos que presentan el mayor número de garrapatas.

Gráfico 56-. Distribución de frecuencias acumuladas de las cargas parasitarias en caninos



Considerando la distribución de frecuencias acumuladas y teniendo en cuenta que el 50% (segundo cuartil) de los animales presentaron menos de 5 garrapatas adultas por animal, y que el 75 % (tercer cuartil) de los individuos tenían menos de 15 estados adultos parásitos, los caninos se clasificaron en tres grupos (Grupo A: menos e igual a 5 parásitos/animal; Grupo B: carga parasitaria comprendida entre 5 y 15 parásitos/animal; Grupo C: igual y más de 15 parásitos/animal).

Realizando el Análisis Multifactorial de la Varianza (MANOVA) para evaluar el efecto de la carga parasitaria sobre los componentes de la bioquímica sanguínea y

haciendo uso de esta categorización de cargas parasitaria, se aplicó Análisis multifactorial de la varianza (MANOVA) con el propósito de evaluar el efecto de los tres niveles de carga parasitaria sobre el conjunto de los componentes sanguíneos analizados en este trabajo. Este análisis multivariante permite evaluar el efecto de múltiples factores (en este caso, se aplicó para un único factor que es la carga parasitaria a tres niveles) sobre un conjunto de variables que se espera que se vean afectados por dicho factor (como por ejemplo los componentes de la bioquímica sanguínea estudiados).

Los parámetros estadísticos multivariantes señalan efecto significativo de la carga parasitaria sobre los componentes sanguíneos. Tanto la Lambda de Wilks ($\chi^2 = 0,8845$), como la Traza de Pillai ($\chi^2 = 0,1167$) y la Traza Hotelling-Lawley ($\chi^2 = 0,1292$) señalan efecto significativo ($p < 0,05$) de los niveles de carga parasitaria sobre el perfil hematológico, según se muestra en la Tabla 47.

Tabla 47. Parámetros estadísticos de la aplicación del MANOVA en la evaluación de la carga parasitaria sobre los componentes de la bioquímica sanguínea.

| Parámetro Multivariante | Valor Calculado | Valor F | Valor p |
|-------------------------|-----------------|---------|---------|
| Lambda de Wilks | 0,8845 | 1,9611 | 0,05 |
| Traza Pillai | 0,1167 | 1,9358 | 0,05 |
| Traza Hotelling-Lawley | 0,1292 | 1,9857 | 0,05 |

En la Tabla 48 se indican los valores del estadístico “F” de Fisher - Snedecor y sus correspondientes errores tipo “ α ” para aquellos componentes de la bioquímica sanguínea que fueron afectados por la carga parasitaria.

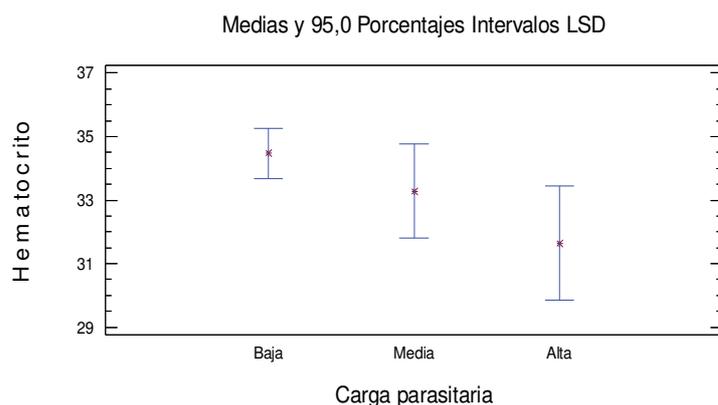
Tabla 48-. Resultados del ANOVA para aquellos componentes de la bioquímica sanguínea que se vieron afectados por la carga parasitaria.

| Parámetro Multivariante | Valor F | Valor p |
|-------------------------|---------|---------|
| Hematocrito | 2,24 | 0,10 |
| Hemoglobina | 2,42 | 0,09 |
| Glóbulos Rojos | 4,66 | 0,01 |
| Triglicéridos | 2,58 | 0,08 |

De todos los parámetros sanguíneos evaluados, solamente aquellos relacionados con los hematíes, experimentaron modificaciones a niveles de 0,10 (hematocrito), 0,09 (hemoglobina) y 0,01 (glóbulos rojos), además de los triglicéridos (0,08) que también presentaron cambios en sus niveles.

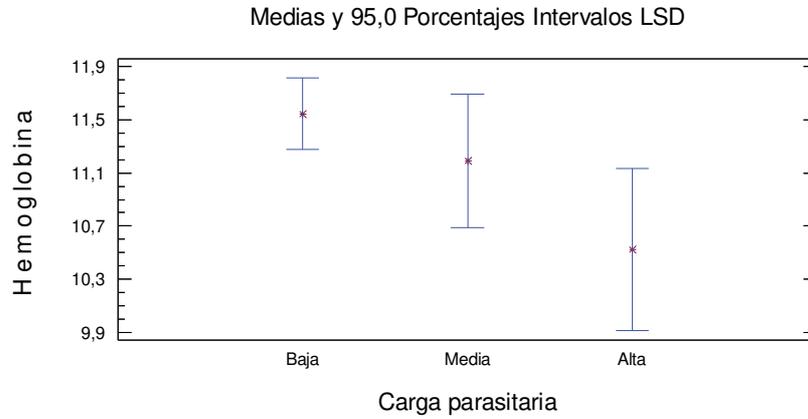
Aplicando el test de los Intervalos LSD, con el propósito de visualizar los efectos de las cargas parasitarias sobre estos parámetros, se construyeron gráficos (Gráfico 57), en el que se evidencia que los valores de hematocrito disminuyen a medida que aumenta la carga parasitaria.

Gráfico 57-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Hematocrito



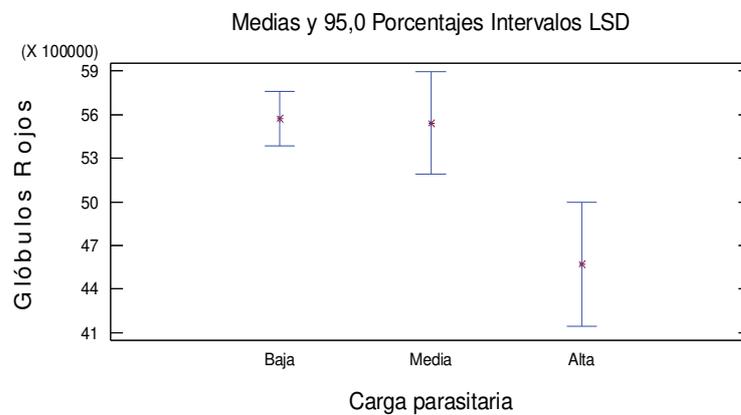
Similar comportamiento se repite si analizamos el Gráfico 58, donde se relacionan los niveles de carga parasitaria y los valores de hemoglobina; a mayor carga parasitaria (independientemente del estado de *R. sanguineus* s.s., analizado), menores valores de hemoglobina en sangre.

Gráfico 58-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Hemoglobina



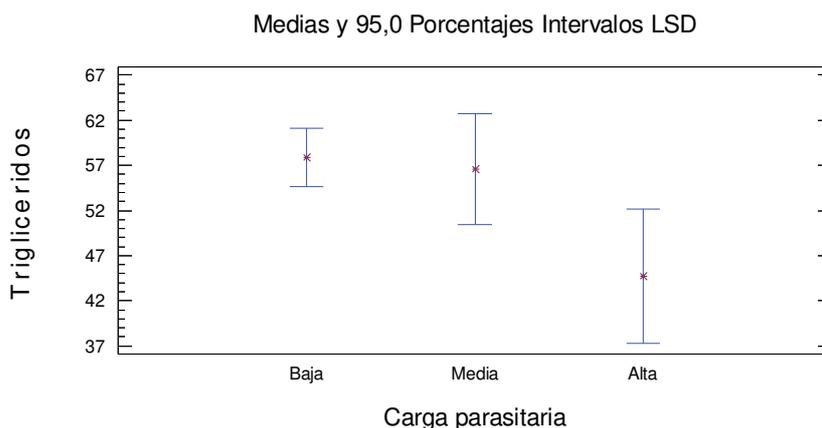
Si tomamos como referencia los niveles de la carga parasitaria en relación a los valores de los glóbulos rojos (Gráfico 59), se evidencia una importante disminución de los mismos con niveles de carga altos.

Gráfico 59-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Glóbulos Rojos



Si tenemos en cuenta el comportamiento de los niveles séricos de Triglicéridos y los niveles de carga parasitaria (Gráfico 60), es muy evidente la disminución de los mismos a medida que aumentan los niveles de parasitación.

Gráfico 60-. Test de Intervalos LSD, entre los niveles de carga parasitaria (Baja ≤ 5 , $5 \geq$ Media ≤ 15 y Alta ≥ 15) y los valores de Triglicéridos.



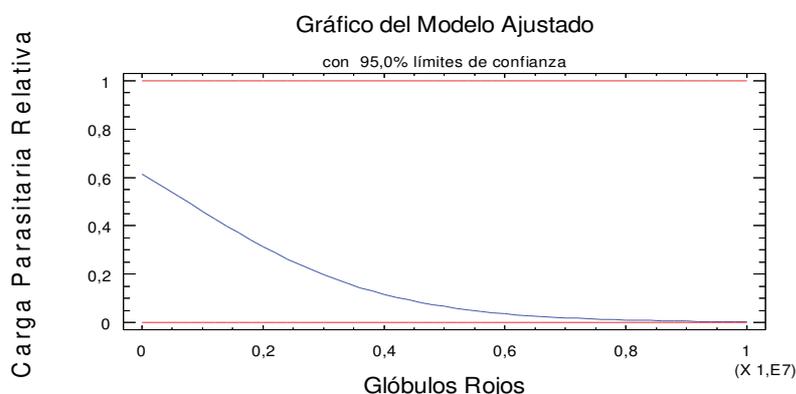
En todos los casos se observa que no existen diferencias significativas entre los animales que poseen baja carga parasitaria (≤ 5) en comparación con aquellos que tienen una carga parasitaria media (comprendida entre ≥ 5 y ≤ 15). Para visualizar un efecto significativo de la carga parasitaria sobre los parámetros hematológicos, los animales tienen que presentar una carga parasitaria igual o superior a 15 especímenes/individuo.

Aplicando un Modelo de Regresión Logística a dos niveles parasitarios, con el propósito de efectuar una lectura diferente de los datos, se decidió implementar el método secuencial (Forward) del Modelo de Regresión Logística con fines explicativos, es decir, para interpretar aquellos componentes de la bioquímica sanguínea que contribuyen a justificar la presencia de baja (menos de 15 individuos/animal) o alta (más de 15 individuos/animal) carga parasitaria.

El Modelo Logístico en su opción Forward (hacia adelante) permite incorporar variables en forma secuencial a partir de aquellas que presentan mayores valores del estadístico χ^2 . De este modo, en su primer paso incorpora al modelo la cantidad de glóbulos rojos ($\chi^2 = 8,9239$, $p = 0.0028$) porque explica en mayor medida la carga parasitaria de los animales. En un segundo paso, el procedimiento forward del modelo

logístico incorpora a la variable triglicéridos ($\chi^2 = 7,94334$, $p = 0.0048$) como una nueva variable explicativa que ayuda a interpretar el efecto de las cargas parasitarias sobre los componentes bioquímicos. Es de destacar que este modelo no incorpora ninguno de los otros componentes analizados, porque queda explicado con tan solo dos variables. Este procedimiento secuencial busca el principio de parsimonia, es decir, trata de explicar la variabilidad del sistema con un mínimo número de variables explicativas.

Gráfico 61-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y con los glóbulos rojos.



En el Gráfico 62, para los valores de triglicéridos, en el Gráfico 63, los valores de globulinas y en el Gráfico 64, para los valores de la relación Albúmina/Globulina, en todos los casos se pone en evidencia que al aumentar la carga parasitaria disminuyen los valores de los parámetros sanguíneos.

Gráfico 62-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de triglicéridos.

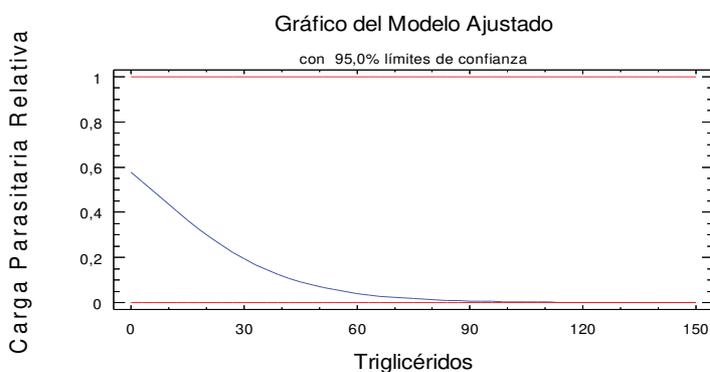


Gráfico 63-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de Globulinas.

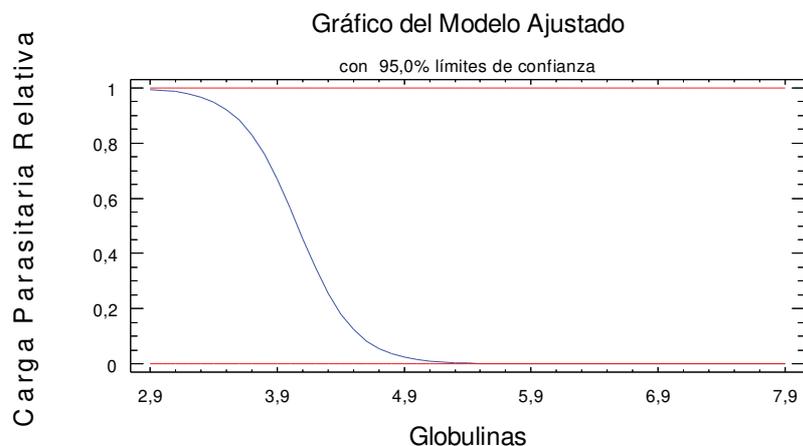
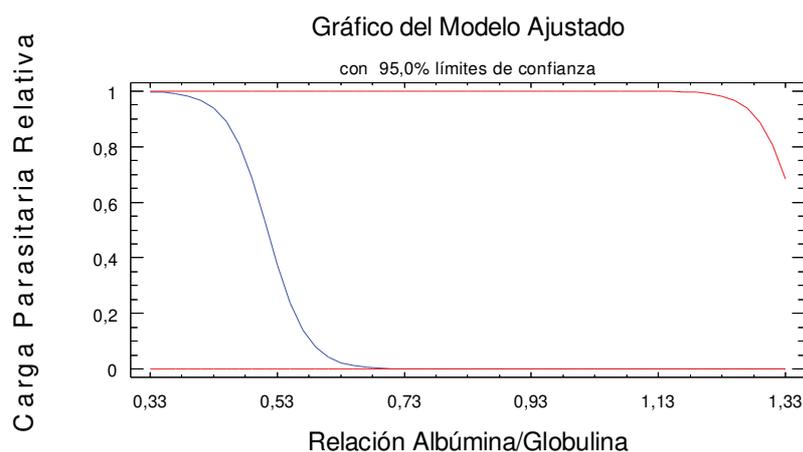


Gráfico 64-. Modelo ajustado relacionando la carga parasitaria y los valores de la relación Albumina/Globulinas.



Por último, se debe destacar que el test de bondad de ajuste determina si la función logística ajusta adecuadamente a los datos observados, es decir, si es posible interpretar los cambios en los componentes bioquímicos en términos de los niveles de carga parasitaria (bajo - alto). Debido a que el estadístico Chi-2 es bajo ($\chi^2 = 1,62152$), significa que no existen diferencias significativas ($P = 0,654518$) entre los histogramas de frecuencias reales observados y los histogramas de frecuencias estimados mediante el modelo logístico, tanto para la variable glóbulos rojos, como para la variable triglicéridos.

DISCUSIÓN

Las acciones ejercidas por las garrapatas sobre sus hospedadores provocan diferentes tipos de lesiones en la piel, transmisión de patógenos y consumo de componentes sanguíneos, generando modificaciones de los niveles normales de los hemogramas o niveles serológicos.

Dado que no existen antecedentes sobre la acción que ejercen las garrapatas sobre los caninos en cuanto a su acción hematófaga, lo analizado en este capítulo es totalmente inédito y brinda datos a tener en cuenta para futuros estudios.

CONCLUSIÓN

En base a los datos analizados se puso en evidencia una mayor carga parasitaria de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s sobre los caninos de pelaje corto; además se determinó la correlación entre los parámetros sanguíneos con respecto a la carga parasitaria. Por todo ello se concluye que a medida que aumenta la edad del canino el efecto de las garrapatas es cada vez menor (genera menos daño). Por cada 10 garrapatas adultas que se encuentran parasitando un canino, disminuyen 0,2 g% las proteínas totales; sobre los niveles serológicos de los triglicéridos tienen efecto tanto la presencia de machos como de hembras de *R. sanguineus* s.s. La acción hematófaga de las garrapatas es más evidente en animales jóvenes respecto a los parámetros sanguíneos. Para que se visualice un efecto significativo de la carga parasitaria sobre los parámetros hematológicos, los animales tienen que presentar una carga parasitaria superior a 15 especímenes/individuo.

Los resultados obtenidos en el presente capítulo, son inéditos, dado que no existe en la bibliografía consultada, información alguna para realizar posibles comparaciones entre la presencia de cualquiera de los estados de *R. sanguineus* s.s. y las variaciones de los parámetros sanguíneos o la bioquímica sanguínea. Por esta razón, queda abierta la posibilidad de continuar realizando estudios en esta temática, además de la realización de muestreos estacionales para determinar el comportamiento de las diferentes cargas con mayor número de animales.

CAPÍTULO 6

INFECCIÓN DE *Rhipicephalus sanguineus* s.s. CON *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas del complejo *R. sanguineus* pueden ser vectores de *Ehrlichia canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia gibsoni*, *Rangelia vitalii* (*Babesia vitalii*), *Hepatozoon canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia massiliae*, *Anaplasma platys*, *Bartonella* spp. y del filarioideo *Dipetalonema reconditum*, entre otros parásitos. Asimismo, y debido a que *R. sanguineus* s.l., ha sido encontrada parasitando humanos, su potencial rol en la transmisión de *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia massiliae* y *Rickettsia felis* la implica como una garrapata con importancia médica. (Labruna y col. 2011; Nava y col. 2012; Eiras y col. 2014).

Si bien aún continúan estudios, (Coutinho y col. 2005) mencionan a *R. sanguineus* s.l. como posible vector de Leishmaniosis canina visceral, pero según (Paz, 2010), parece algo improbable que el mantenimiento y la multiplicación de *Leishmania* ocurra dentro de *R. sanguineus* s.l., por lo que no podemos hasta el momento certificar la transmisión vectorial.

Como se mencionó anteriormente, entre los patógenos más importantes transmitidos por las garrapatas del complejo *R. sanguineus* se encuentran *A. platys* y *E. canis*. Estas son bacterias intracelulares obligados de la familia *Anaplasmataceae* que causan enfermedades infecciosas en caninos (Dumler y col. 2001).

E. canis es el agente etológico de la ehrlichiosis monocítica canina, y es principalmente transmitido por ninfas y adultos de *R. sanguineus* s.l. (Stich y col. 2008). *A. platys* es el causante de la trombocitopenia cíclica en caninos donde *R. sanguineus* s.l. está involucrado en su ciclo como principal vector (Inokuma y col. 2000; Sanogo y col. 2003; Abarca y col. 2007). Infecciones con *A. platys* en *R. sanguineus* s.l., ha sido reportado en diferentes regiones de Asia, África y Europa (Inokuma y col. 2000; Sanogo y col. 2003; Ybañez y col. 2012; Latrofa y col. 2014; Ramos y col. 2014). *E. canis* en infecciones asociado a *R. sanguineus* s.l. se detectó en Asia, África (Socolovschi y col. 2012; Ybañez y col. 2012) Sud América, Brasil y Venezuela (Unver y col. 2001; Aguiar y col. 2007). (Moraes-Filho, y col. 2011), mencionan que *E. canis* fue detectada en *R. sanguineus* s.l., de linaje tropical en América (Sao Paulo, Brazil).

En Argentina, (Eiras y col. 2013), documentaron la coinfección con *H. canis* y *B. vogeli* y describieron el primer informe de infecciones por *E. canis* y *A. platys* en perros.

Mera y Sierra y col. (2014), en Mendoza, realizaron un estudio durante el período de enero del 2009 a diciembre del 2013, mediante serología para detección de anticuerpos contra *E. canis* en caninos que presentaban sintomatología compatible con ehrlichiosis monocítica canina; se analizaron 73 sueros de caninos por inmunocromatografía de membrana. De los animales estudiados, 34 (46,6%) resultaron positivos.

Cicuttin y col. (2015) reportan el primer registro de la infección por *E. canis* en *R. sanguineus* s.l., todas las garrapatas infectadas pertenecen al linaje tropical. También reportó el hallazgo de especímenes de *R. sanguineus* s.l. de linaje tropical, infectados con *A. platys*, concluye que la infección natural con *E. canis* difiere entre los linajes tropicales y templadas de *R. sanguineus* s.l. en Argentina, pero no ocurre lo mismo para el caso de *A. platys*, porque *A. platys* también ha sido previamente detectado en *R. sanguineus* s.l. del linaje templado.

Cicuttin y col. (2016), mencionan el hallazgo por técnicas moleculares, en caninos positivos tanto para *E. canis*, como para *A. platys*. Resaltan la necesidad de continuar estudios para comprender los factores epidemiológicos asociados a la ehrlichiosis monocítica canina, dada la diferente capacidad vectorial para la transmisión de *E. canis*, en los dos linajes existentes en América del Sur de *R. sanguineus* s.l. (tropical y templado).

Cicuttin y col. (2017), describe el hallazgo de *E. canis*, en garrapatas *R. sanguineus* s.l. de linaje templado; todos los estudios anteriores y los antecedentes epidemiológicos relacionan a *E. canis*, en garrapatas *R. sanguineus* s.l. de linaje tropical, y dado que este es el único reporte en linaje templado, se deben continuar estudios para determinar la circulación del patógeno en las garrapatas.

La transmisión de *E. canis*, en las garrapatas se da por vía transtadial, pero no ocurre por vía transovárica, con lo cual, la bacteria es adquirida solamente al alimentarse sobre un hospedador infectado (Moraes Filho y col. 2015).

La circulación de *E. canis*, en caninos en Buenos Aires notificada en 2013 (Eiras y col. 2013) y con un incremento en el número de casos año a año (Cicuttin y col. 2017) presenta un interrogante del mecanismo de transmisión de dicho patógeno en el área, por lo que se requiere seguir los estudios para determinar la circulación de *E. canis* y sus posibles vectores.

El presente capítulo tiene como objetivo, determinar la presencia de infección de ejemplares de *R. sanguineus* s.s. con las bacterias patógenas, *E. canis* y *A. platys* en el centro de la provincia de Santa Fe.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la detección molecular de *E. canis* y *A. platys*, se extrajo ADN de garrapatas adultas y ninfas utilizando el High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Mannheim, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las garrapatas se colectaron en el barrio oeste y norte de la Ciudad de Esperanza.

El crinado inicial para detectar bacterias de la familia Anaplasmataceae se realizó con un fragmento amplificado por PCR del gen 16S rRNA con los cebadores EHR16SD (GGTACCYACAGAAGAAGTCC) y EHR16SR (TAGCACTCATCGTTTACAGC) (Parola y col. 2000).

Se programó que las muestras que resultaron positivas para *Ehrlichia* se utilizaran para amplificar un fragmento de aproximadamente 400 pb del gen dsb con los cebadores DSB-330 (5'-GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT-3') y DSB-728 (5'-CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT-3') (Aguiar y col. 2007), y un fragmento de 500 bp del gen p28 con cebadores 793' (5'-GCAGGAGCTGTTGGTACTC-3') y 1330 (5'-CCTTCCTCCAAGTTCTATGCC-3') (McBride y col. 1999).

Para las muestras positivas a *Anaplasma*, se decidió que las mismas fueran empleadas en una PCR que amplifica un fragmento de 750 bp del gen groESL mediante el uso de los cebadores PLA-HS475F (AAGGCGAAAGAAGCAGTCTTA) y PLA-HS1198R (CATAGTCTGAAGTGGAGGAC) (Inokuma y col. 2002).

En el diseño se especificó que los productos de PCR obtenidos de las muestras positivas fueran purificados con el kit QIAquick PCR Purificación Kit (QIAGEN, Valencia, California), y la secuenciación llevada a cabo en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología del INTA Castelar. Las secuencias obtenidas serían analizadas usando varias herramientas de software filogenético para identificar las bacterias a nivel de especie e investigar sus relaciones evolutivas. Se programó que las relaciones evolutivas se analizaran empleando análisis de distancias genéticas usando el método Neighbor-Joining en MEGA 5.05, un análisis de máximas probabilidades

usando el algoritmo Maximum Likelihood en PhyML v3.0 y análisis de tipo Bayesiano en Mr. Bayes 3.1.

RESULTADOS

Se procesaron 180 garrapatas (140 adultos y 40 ninfas), y todas las muestras fueron negativas para *Anaplasma platys* y *Ehrlichia canis*.

Sí, se ha diagnosticado en este trabajo, por frotis sanguíneos *Hepatozoon canis*, parásito que involucra a *R. sanguineus*, en su ciclo.

DISCUSIÓN

En América, los reportes de *E. canis* en garrapatas del complejo *R. sanguineus* s. l. han sido en regiones donde se distribuye el linaje tropical, (México, Venezuela, Brasil y norte de Argentina) (Cicuttin y col. 2015).

Por otra parte, un estudio experimental de transmisión de *E. canis* por ambos linajes de *R. sanguineus* s. l. mostró que el linaje tropical, es un vector competente de este patógeno, pero no el linaje templado (Moraes-Filho y col. 2015).

Recordamos que la transmisión de *E. canis* en las garrapatas se da por vía transtadial, pero no ocurre por vía transovárica, por lo que la bacteria solo se puede adquirir cuando se alimenta de un canino infectado con dicha bacteria. (Moraes-Filho y col. 2015).

Cicuttin y col. (2017), en un estudio, detectó *E. canis* sobre *R. sanguineus* s. l. de linaje templado colectadas sobre un canino con ehrlichiosis monocítica canina.

La utilización de técnicas moleculares ha incrementado el reporte de asociaciones entre garrapatas, hospedadores y patógenos. Sin embargo, esto también ha resultado en incorrectas interpretaciones sobre la capacidad vectorial de las garrapatas, especialmente considerando que garrapatas parcial o completamente ingurgitadas colectadas sobre hospedadores, contendrán microorganismos de los cuales pueden o no ser vectores y que pueden haber sido ingeridos con la sangre succionada (Estrada-Peña y col. 2013).

La circulación de *E. canis* en caninos de Buenos Aires (Eiras y col. 2013) y con un incremento en el número de casos año a año (Cicuttin y col. 2016), presenta el interrogante del mecanismo de transmisión de dicho patógeno en esa zona de estudio.

CONCLUSIÓN

Está comprobado molecularmente que el único linaje de *R. sanguineus* detectado en Buenos Aires ha sido el de linaje templado al igual que el que hemos encontrado en esta zona (*R. sanguineus* s.s.), pero, como se mencionó en párrafos anteriores, los estudios experimentales y los antecedentes epidemiológicos relacionan *E. canis* con *R. sanguineus* s. l. de linaje tropical, hallado en el norte de nuestro país, pero no con *R. sanguineus* s.s. o de linaje templado, distribuido en el sur de Brasil, Uruguay, Chile y resto de Argentina.

Por esto se hace necesario continuar con los estudios, utilizando técnicas moleculares para confirmar el involucramiento que tiene el linaje que se encuentra en nuestra zona con la transmisión vectorial de patógenos (*E. canis* y *A. platys*)

DISCUSIÓN GENERAL

Muchas descripciones morfológicas de *R. sanguineus*, se basan en garrapatas provenientes de diferentes poblaciones, mostrando, en algunos casos, incompatibilidad biológica y divergencia genética significativa (Oliveira y col. 2005; Szabó y col. 2005; Burlini y col. 2010; Moraes-Filho y col. 2011; Levin y col. 2012; Nava y col. 2012; Dantas-Torres y col. 2013; Liu y col. 2013; Nava y col. 2015; Sanches y col. 2016; Zemtsova y col. 2016; Chitimia y col. 2017; Dantas y col. 2017; Labruna y col. 2017; Coimbra y col. 2018; Díaz y col. 2018). La redefinición de *R. sanguineus* s.s. (Nava y col. 2018) ha permitido sortear estas dificultades y determinar fehacientemente a las especies pertenecientes al complejo *R. sanguineus*.

Debarbara y col. (2011), mencionan que especímenes de *R. sanguineus* s.l., fueron detectado a lo largo de todo el año, con picos de abundancia en primavera y verano tanto para adultos como para ninfas; en nuestras observaciones coincide el hecho de colectar especímenes durante todo el año, pero difiere en los picos de abundancia de adultos en los meses de verano, sí para los estados inmaduros.

González y col. (2004), mencionan que, en la provincia de Buenos Aires, se da una mayor distribución de *R. sanguineus*, en primavera, no mencionando los estados involucrados.

De acuerdo a nuestro trabajo en el centro de la provincia de Santa Fe, se detectó la presencia de *R. sanguineus* s.s., en todos los meses de muestreo, con picos de abundancia de todos los estados en los meses cálidos, y menor presencia en los períodos de menor temperatura.

En cuanto a la intensidad, se evidencia una elevada carga de los estados adultos (machos y hembras) de *R. sanguineus* s.s. en los caninos durante los meses de mayor temperatura. La menor intensidad media para los machos de *R. sanguineus* s.s. se da en otoño, con una mayor intensidad en la estación invernal, hecho que se repite con el estado de hembras. Dantas Torres, (2010), menciona las medias de intensidad de infestación de 3,8 para el noroeste de Georgia (EEUU); 5,4 para el noreste de Brasil; 7,8 para el sureste de Brasil y un 39,4 para Italia, exceptuando este último dato, estarían comprendidos entre los observados por el autor, pero no menciona sobre que estado parasitario ha trabajado.

Los trabajos realizados por Alcaino y col. (1990), ponen en evidencia una disminución de la intensidad de hembras de *R. sanguineus* s.s., sobre los caninos en los meses de marzo a julio, y una intensidad mayor en los meses de agosto a diciembre, coincidente con lo que hemos observado en nuestro trabajo.

Observaciones realizadas por Labruna, (2017) y Venzal y col., (2007), mencionan que *R. sanguineus* s.l., completa solo una generación por año, con garrapatas adultas activas principalmente durante el final del invierno y la primavera, seguida de estados inmaduros activos principalmente durante el verano y muy bajas infestaciones caninas durante otoño-invierno. Estos trabajos coinciden con lo que hemos observado en nuestro estudio en cuanto al comportamiento que tuvieron cada una de las fases de desarrollo en las diferentes estaciones del año. En cambio, Alcaino y col. (1990), en sus observaciones mencionan que en un año pueden esperarse dos generaciones de *R. sanguineus* s.l. una en primavera-verano y la segunda que se iniciaría en otoño y culmina en la primavera siguiente, al salir de la diapausa invernal, hecho que coincide con lo que hemos obtenido en nuestro estudio. En cambio, Dantas-Torres, (2010) menciona que *R. sanguineus* s.l. puede completar hasta 4 generaciones por año, hecho que es difícil que suceda en esta zona de estudio dada las amplitudes térmicas, que afectan el desarrollo sobre todo de los estados inmaduros y que incluso hace que los adultos produzcan una quiescencia en otoño y principio de invierno.

Según Gray y col. (2013) el desarrollo de *R. sanguineus* s.l. rara vez se ve limitado por las condiciones ambientales secas, ya que pueden desarrollarse de manera adecuada en un amplio rango de humedades relativas del 35 al 95% y también pueden tolerar un amplio rango de temperaturas, reproduciéndose efectivamente entre 20 y 35°C. Para nuestro caso, los rangos de humedad relativa para los tres años de trabajo estuvieron entre los 62,1 y 90%, (siendo 2016 el año más húmedo), comprendidos entre los que mencionan estos autores. Para el caso de la temperatura osciló entre 10,3 y 27,9°C, por lo que las bajas temperaturas invernales que registramos condicionan el desarrollo de los diferentes estados de la garrapata motivo de este estudio.

Analizando el ciclo biológico de cada uno de los períodos de *R. sanguineus* s.s., en nuestro trabajo, para el período de preoviposición los datos obtenidos fueron en promedio 4,75 días en el exterior y 4 días en el interior; estos registros estarían dentro de los parámetros obtenidos por Nuttall (1913), cuyos registros fueron de 3 a 6 días con una temperatura constante de 30°C, no mencionando las condiciones de humedad; en

cambio Aguiar y col. (2013), quienes trabajaron con una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa superior al 70%, obtuvieron valores levemente inferiores. Con respecto al período de oviposición, registramos entre 4 y 15 días en verano y hasta 24 días en invierno, datos que estarían comprendidos dentro de los rangos obtenidos por Nuttall (1913).

El período de incubación de los huevos colocados por las hembras ovígeras de *R. sanguineus* s.s., ha tenido un promedio de 21,9 días para el exterior y de 21,54 para el interior, datos levemente superiores a los obtenidos por Nuttall (1913), que fueron entre 17 y 19 días con una temperatura de 30°C , sin aclarar la humedad relativa; y datos levemente inferiores a los registrado por Alcaíno y col. (1990), que fueron de 24 a 30 días.

El período de eclosión de los huevos ha tenido un promedio de 6,08 días para el exterior y de 7,08 para el interior, datos levemente superiores a los registrados por Alcaíno y col. (1990).

La tasa de eclosión de los huevos colocados por las hembras ovígeras de *R. sanguineus* s.s., para ambos datos tanto del exterior (85,30%), como del interior (84,09%), son inferiores a los obtenidos por Aguiar y col. (2013), donde las medias de las observaciones fueron del 94,5% de eclosión.

Continuando con la metamorfosis necesaria para la evolución del ciclo de este parásito, evaluamos el tiempo para la muda de larvas al estado siguiente, ninfas. En nuestro estudio, el tiempo requerido en el exterior fue entre 5 días en períodos cálidos y 19 días en períodos fríos; para el interior, los períodos fueron entre 5 y 15 días respectivamente. Nuestros datos en el interior con temperaturas cálidas coinciden con lo observado por Nuttall, (1913), no así para los 19 y 15 días obtenidos en los períodos fríos tanto del exterior como del interior, dado que todos sus registros se basaron en observaciones realizadas con una temperatura de 30°C , sin aclarar la humedad relativa.

El período necesario para la metamorfosis de ninfas a adultos de acuerdo a lo que hemos registrado en temperaturas cálidas fueron de 8-10 días y para los períodos fríos de hasta 17 días. Los únicos registros comparables son los obtenidos por Nuttall (1913), con quien encontramos más coincidencia en sus datos registrados porque el tiempo requerido fue entre 11 y 12 días con una temperatura de 30°C , sin aclarar la humedad relativa.

Los porcentajes de machos (35-40%) y hembras (55-60%) nacidos durante las observaciones realizadas, están muy aproximados a los obtenidos por Nuttall (1913), cuyos registros para los machos es de un 40%, hembras un 59% y un 1% de muerte; para nuestro estudio un 0-5% de muertes.

Con respecto a la sobrevivencia de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., los que se expusieron sin alimentación previa, para las larvas fue entre 32 y 110 días; ninfas entre 30 y 85, en tanto que para los adultos los períodos estuvieron comprendidos entre los 56 y 336 días. Otros autores han realizado registros de la sobrevivencia en los diferentes estados, donde obtuvieron una longevidad larval de 31 días para Aguiar y col. (2013), similares a los datos obtenidos por Cheuiche (1996); Bellato y Daemon (1997); para los estudios realizados por Nuttall (1913), el período de sobrevivencia de larvas sin alimentarse a una temperatura fija de 15°C fue de 153 a 253 días, muy superiores a los datos que hemos obtenido como de los autores nombrados *up supra*. Si comparamos la sobrevivencia de las ninfas, según Nuttall, (1913), fue de hasta 97 días a una temperatura de 22°C, dato muy próximo al que hemos obtenido en este estudio. Para el estado de adultos, a una temperatura constante de 15°C la sobrevivencia sin alimentarse fue de 360 a 569 días, según el mismo autor, nuestro dato es coincidente con el rango inferior obtenido. También los datos son coincidentes en que la mayor sobrevivencia se da en hembras.

En nuestro trabajo, los diferentes estados fueron alimentados en conejos y el período durante el cual permanecían alimentándose ha sido de 2 a 6 días para las larvas, entre 3 y 8 días para las ninfas y de 8 a 19 días para las hembras. Otros autores como Walker y col. (2000), registraron que las larvas y las ninfas se alimentaron durante aproximadamente 4 y las hembras durante 8 días; para Nuttall (1913), el tiempo en que los estados se alimentan sobre el hospedador es de 3 a 8 días para las larvas, de 3 a 11 días para las ninfas, las hembras por 7 a 21 días, mientras que los machos permanecen sobre su hospedador por tiempo indeterminado.

Los datos de nuestro estudio, del peso promedio de las hembras obtenidas sobre los hospedadores caninos, fue de 146,25 mg, datos que estarían dentro de los rangos obtenidos por otros autores, dado que Aguiar y col. (2013), de hembras colectadas de los canes o del ambiente obtuvieron un peso promedio de 170 mg, similares a las obtenidas por Sartor y col. (1996); Bellato y Daemon, (1997), donde observaron un peso promedio de 166,02 y 178,80 mg respectivamente. Cheuiche (1996); Dantas

Torres y col. (2011), obtuvieron pesos promedios de 120,8 y 170,9 mg respectivamente de hembras obtenidas de los hospedadores.

El período de prepostura, para nuestro estudio el promedio fue de 4,75 días en el exterior y 4 días en el interior, datos que coinciden con los obtenidos por otros autores cuyos registros han sido para Coelho, (1993), de 4 días; Bechara y col. (1995), fue de 4,2 días; Cheuiche, (1996), fue de 3,5 días; Bellato y Daemon (1997) de 3,19 días, y la obtenida por Aguiar y col. (2013) que fue de 4 días.

La oviposición de las hembras, según nuestros registros estuvieron entre un mínimo de 695 huevos colocados y 3728 huevos como máximo. Según los datos obtenidos por Nuttall (1913), a 30°C fue entre 1400 y 3900 huevos. Nuestro dato inferior está muy por debajo de lo obtenido por este autor, lo que puede hacer la diferencia es la temperatura, dado que trabajó con temperatura cálida fija de 30°C sin aclarar la humedad relativa y en nuestro caso trabajamos con condiciones controladas de temperatura (22°C \pm 1°C) y humedad relativa (80% \pm 5%).

Con respecto al peso de los huevos en nuestro estudio hemos obtenido un peso promedio de 83,32 mg, datos que están entre los rangos obtenidos por otros autores como Bellato y Daemon (1997), que hallaron una media de 114,27 mg; en tanto que para Cheuiche, (1996), fue de 83,08 mg y para Dantas Torres y col. (2011), fue de 95 mg, para Aguiar y col. (2013), el promedio del peso de los huevos fue de 100 mg.

El peso promedio de las hembras pos oviposición (quenogina) en nuestro trabajo fue de 26 mg, levemente inferior a lo obtenido por Bellato y Daemon (1997), cuyo registro fue de 35,6 mg y de Aguiar y col. (2013) que fue de 30 mg.

En cuanto a la tasa de eclosión larval en nuestro trabajo fue de un 85,30% en el exterior y 84,09% en el interior, que son inferiores a los obtenidos por otros autores, como Bechara y col. (1995); Coelho (1993) que hallaron un 90,2 y 97,4% respectivamente y para Aguiar y col. (2013) fue de 94,5%.

De acuerdo a nuestros registros el índice de eficacia reproductiva (IER) fue de 55,88% que estaría entre los observado por otros autores, como es el caso de Aguiar y col. (2013) con un registro de 61%, y Dantas Torres y col. (2011), que fue de 55,7%.

El índice nutricional (IN) que hemos obtenido de acuerdo a nuestros datos fue de un 91,80%, muy superior al único dato comparable de Aguiar y col. (2013), que fue del 74%.

Teniendo en cuenta la distribución anatómica de un parásito sobre su hospedador existen factores como el comportamiento de defensa y las características tegumentarias que influyen sobre la preferencia de determinadas áreas corporales para la extracción de sangre (Kiffner y col. 2011; Pilosof, y col. 2012). De acuerdo a lo que hemos observado que se han colectado formas parásitas de *R. sanguineus* s.s., de diferentes estados evolutivos en todas las regiones corporales estudiadas. Los estados adultos (machos, hembras) y ninfales, se colectaron en mayor cantidad en la región de orejas (OR), mientras que el menor número se encontraron en axilas (AX) y miembros (MA, MP). Esto difiere de los hallazgos de Moissant y col. (1999), donde la mayor localización se dio en cuello. Entre las diez regiones corporales sobre las cuales se realizó la colecta, el orden de preferencia fue el siguiente: OR, CA y CU, las regiones con menor preferencia fueron AX, MA y MP, hecho que coincide con los hallazgos de Moissant y col. (1999).

Durante el período de muestreo, hemos colectado mayor número de machos que de hembras; esto difiere de los datos que obtuvieron Moissant y col. (1999), dado que su registro fue inverso. Los estados inmaduros, larvas y ninfas se colectaron en menor cantidad, y su preferencia fue por las regiones de abdomen y espacios interdigitales (AB, EI). Las ventajas de este comportamiento son la fijación a una superficie tegumentaria delgada con alta vascularización y que en éstas áreas la defensa mecánica del hospedador por acicalamiento tiene un menor efecto que en otras áreas corporales (Nava y col. 2009).

En base a los datos analizados se puso en evidencia una mayor carga parasitaria de los diferentes estados en caninos de pelaje corto. La acción ejercida por las garrapatas sobre sus hospedadores dada su alimentación hematófaga, hace que exista una correlación entre los parámetros sanguíneos y la carga parasitaria de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s, sobre los caninos de la zona de estudio.

En cuanto a los reportes de *E. canis*, en garrapatas *R. sanguineus* s. l. han sido en regiones donde se distribuye el linaje tropical, (México, Venezuela, Brasil y norte de Argentina) (Cicuttin y col. 2015).

Por otra parte, un estudio experimental de transmisión de *E. canis* por ambos linajes de *R. sanguineus* s. l. mostró que el linaje tropical, es un vector competente de este patógeno, pero no el linaje templado (Moraes-Filho y col. 2015).

La transmisión de *E. canis* en las garrapatas se da por vía transestadial, pero no ocurre por vía transovárica, con lo cual, la bacteria es adquirida solamente al alimentarse sobre un hospedador infectado (Moraes-Filho y col. 2015).

Cicuttin y col. (2017), en un estudio, detectó *E. canis* sobre *R. sanguineus* s. l. de linaje templado (*R. sanguineus* s.s., que hemos determinado que es la garrapata hallada en el centro de la provincia de Santa Fe) colectadas sobre un canino con ehrlichiosis monocítica canina, hecho que explica la positividad en las larvas halladas alimentándose sobre este hospedador infectado.

La utilización de técnicas moleculares ha incrementado el reporte de asociaciones entre garrapatas, hospedadores y patógenos. Sin embargo, esto también ha resultado en incorrectas interpretaciones sobre la capacidad vectorial de las garrapatas, especialmente considerando que garrapatas parcial o completamente ingurgitadas colectadas sobre hospedadores contendrán microorganismos de los cuales pueden o no ser vectores y que pueden haber sido ingeridos con la sangre succionada (Estrada-Peña y col. 2013). La circulación de *E. canis* en caninos de Buenos Aires (Eiras y col. 2013) y con un incremento en el número de casos año a año (Cicuttin y col. 2016), presenta el interrogante del mecanismo de transmisión de dicho patógeno en esa zona de estudio.

CONCLUSIÓN GENERAL

Teniendo en cuenta los nuevos avances, el análisis morfológico y molecular de las garrapatas de Santa Fe incluidas en este estudio, permite afirmar como conclusión que todas ellas pertenecen al taxón *R. sanguineus* s.s.

Después de tres años de muestreo (diciembre 2013 a diciembre 2016) de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s., sobre su hospedador preferido, los caninos, en el centro de la provincia de Santa Fe, podemos expresar que se detectó la presencia de ellos, en todos los meses de muestreo, con picos de abundancia en los meses cálidos de todos los estados, y menor presencia en los períodos de menor temperatura. El mes de junio de los años muestreados, fue el mes con menor registro de especímenes adultos (machos y hembras) con un mínimo de 4 ejemplares. No se registraron especímenes de los estados juveniles en los meses de menor temperatura.

En nuestro trabajo evidenciamos un aumento de la prevalencia de los estados adultos (machos y hembras) desde agosto hasta diciembre, comenzando a descender en febrero, alcanzando el nivel mínimo en el mes de mayo, ciclo que se repite en cada año de muestreo.

Para el caso de los estados inmaduros ninfas y larvas, se nota una prevalencia superior desde octubre a mayo y se evidencian períodos donde la prevalencia de ellas es nula, que coincide con la menor temperatura ambiental; los picos de prevalencia de larvas preceden en fechas al de las ninfas, hechos que se repiten en los tres años de muestreo.

Realizando un análisis de la sobrevida, la evolución de cada uno de los estados y de acuerdo a los datos obtenidos en este estudio puede concluirse que *R. sanguineus* s.s., completaría su ciclo en la zona centro de la provincia de Santa Fe en un mínimo de 74 días, con las condiciones adecuadas de humedad relativa y temperatura para esta zona, teniendo en cuenta los datos de período de preoviposición, período de oviposición, período de incubación, período de eclosión de los huevos, período de muda de larvas y ninfas, y los períodos de alimentación de cada uno de los estados

Para nuestros datos y de acuerdo a la distribución de los diferentes estados a lo largo del período de estudio, se completarían dos ciclos por año, con garrapatas adultas activas principalmente durante el final del invierno y la primavera, seguida de estados

inmaduros activos principalmente durante el verano y muy bajas infestaciones caninas durante otoño y principio de invierno.

Tendríamos para esta zona, un ciclo que se daría entre enero y septiembre con una quiescencia en los meses de menor temperatura y otro desde agosto a diciembre, por lo expuesto se considera para la zona centro de la provincia de Santa Fe, dos ciclos por año.

De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que se han colectado formas parásitas de *R. sanguineus* s.s., de diferentes estados evolutivos en todas las regiones corporales estudiadas. Con respecto a los estados adultos (machos, hembras) y para los estados ninfales, la mayor cantidad de ellos se colectaron en la región de orejas (OR), mientras que el menor número se encontró en axilas (AX) y miembros (MA, MP).

En base a los datos analizados se puso en evidencia una mayor carga parasitaria de los diferentes estados en caninos de pelaje corto, también se determinó la correlación entre los parámetros sanguíneos con respecto a la carga parasitaria de los diferentes estados de *R. sanguineus* s.s, sobre los caninos de la zona de estudio, se concluye que a medida que aumenta la edad del canino el efecto de las garrapatas es cada vez menor (genera menos daño). Por cada 10 garrapatas adultas que se encuentran parasitando un canino disminuyen 0,2 g% las proteínas totales; sobre los niveles serológicos de los triglicéridos tienen efecto tanto la presencia de machos como de hembras de *R. sanguineus* s.s. La acción hematófaga de las garrapatas es más evidente en animales jóvenes respecto a los parámetros sanguíneos. Para que se visualice un efecto significativo de la carga parasitaria sobre los parámetros hematológicos, los animales tienen que presentar una carga parasitaria superior a 15 especímenes/individuo. Los resultados obtenidos son inéditos por lo que queda abierta la posibilidad de continuar realizando estudios en esta temática, además la realización de muestreos estacionales para determinar el comportamiento de las diferentes cargas y con mayor número de animales.

Está comprobado molecularmente que el único linaje de *R. sanguineus* detectado en Buenos Aires ha sido el de linaje templado al igual que el que hemos encontrado en esta zona (*R. sanguineus* s.s.), pero, como se mencionó en párrafos anteriores, los estudios experimentales y los antecedentes epidemiológicos relacionan *E. canis* con *R. sanguineus* s. l. de linaje tropical, hallado en el norte de nuestro país, pero no con *R.*

sanguineus s.s. o de linaje templado, distribuido en el sur de Brasil, Uruguay, Chile y resto de Argentina.

Por todo lo expuesto, se considera necesario continuar con los estudios utilizando técnicas moleculares para confirmar el involucramiento que tiene el linaje que se encuentra en nuestra zona con la transmisión vectorial de *E. canis*.

BIBLIOGRAFÍA

Abarca K, López J, Perret C, Guerrero J, Godoy P, Veloz A, Valiente-Echeverría F, León U, Gutjahr C, Azócar T. 2007. *Anaplasma platys* in dogs, Chile. *Emerging Infectious Diseases*. 9:1392-1395.

Aguiar CLG; Moscarelli Pinto, D.; Pappen, FG; Azevedo da Cunha Filho, N.; Bettin dos Santos, TR; da Rosa Faria, TR. 2013. Parâmetros da fase de vida livre de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): adaptado ao clima subtropical. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*. Vol.80 Nº 4.

Aguiar, D. M.; Cavalcante, G. T.; Pinter, A.; Gennari, S. G; Camargo, L.M. A .and Labruna, M. B. 2007. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. *J. Med. Entomol.* 44:126–132.

Alcaíno, H. Gorman, T.; Jimenez, F.; 1990. Ecología de *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la región metropolitana de Chile. *Arch. Med. Vet.* 22:159-168.

Andrews, R.H. y T. N. Petney. 1981. Competition for sites of attachment to host in three parapatric species of reptile tick. *Oecologia*. 51: 227-232.

Balashov, Y.S. 1999. Evolution of haematophagy in insects and ticks. *Entomol. Rev.* 79: 943-954.

Barker, S.C., Walker, A.R., 2014. Ticks of Australia. The species that infest domestic animals and humans. *Zootaxa*, 1-144.

Bates, D.; Eddelbuettel, D. 2015. Programa estadístico R (<https://cran.r-project.org/>).

Bates, D; Maechler, M; Bolker, B. y Walker, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67:1, p. 1-48.

Biología de la garrapata común del perro Rhipicephalus sanguineus sensu stricto (Acari: Ixodidae) en la provincia de Santa Fe, Argentina

Bautista-Hernández, CE, Monks, S, Pulido-Flores, G y Rodríguez-Ibarra, AE. 2015. Revisión bibliográfica de algunos términos ecológicos usados en parasitología, y su aplicación en estudios de caso. En: Estudios en Biodiversidad, Volumen I. Pulido Flores, G, Monks, S y López-Herrera, M. (Eds.). Lincoln, NE: Zea Books. p. 11-19.

Bechara, G.H.; Szabó, M.P.J.; Ferreira, B.R.; Garcia, M.V. 1995. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, V.4, Nº 2, p.61-66.

Beldomenico P M; Telfer S; Gebert S; Lukomski L; Bennett M; Begon M. (2008a). Poor condition and infection: a vicious circle in natural populations. Proceedings of The Royal Society of London. Series B: Biological Sciences.; Vol. 275 p. 1753 – 1759.

Beldomenico PM, Joly D, Uhart M Y Karesh W (2008b). Wildlife health as an indicator of climate change. Relman Da, Hamburg Ma, Choffnes Er Y Mack A (eds) Global climate change and extreme weather events: understanding the contributions to infectious disease emergence. The National Academies, Washington DC. p. 179–197

Bellato, V.; Daemon, E. 1997. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Parasitol. Vet. 6: 21-27.

Bennett, GF. 1974. Oviposition of *Boophilus microplus* Canestrini (Acarida: Ixodidae). III Oviposition patten of acaricide resistant strain. Acarologia 16 (3):394-396.

Black WC, Piesman J. 1994. Phylogeny of hard-and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(21): 10034-10038.

Boero, J.J. 1954. Los ixodoideos de la República Argentina y sus huéspedes. Rev. Fac. Agron. Vet. Buenos Aires. 13: 505-514.

Biología de la garrapata común del perro Rhipicephalus sanguineus sensu stricto (Acari: Ixodidae) en la provincia de Santa Fe, Argentina

Braz Louly, C.C.; D. Nóbrega Silveira; S. Fernandes Soares; P. H. Ferri; A. C. Campos De Melo y L. M. Ferreira Borges. 2008. More about the role of 2,6-dichlorophenol in tick courtship: identification and olfactometer bioassay in *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 103: 60-65.

Burkart, R., Barbaro, N., Sánchez, R.O y Gómez, D.A. 1999. Eco-regiones de la Argentina. Programa para el desarrollo institucional, componente de la política ambiental. Administración de Parques Nacionales. p. 42.

Burlini L, Teixeira KR, Szabó MP, Famadas KM: 2010. Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: is there a geographical pattern. Exp Appl Acarol. 50:361-374.

Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis y col. revisited. J Parasitol 83(4):575-583.

Cabrera, A. L. 1994. Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería. Tomo II, Fascículo 1. Ed. Acme S.A.C.L., Buenos Aires, Argentina.

Cheuiche, S.M.V. 1996. Ciclo de vida do *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodidae) em condições laboratoriais em Porto Alegre, RS. 54p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

Chitimia, L., Langguth, J., Pfeffer, M., Kattner, S., Küpper, T., Friese, D., Dobler, G., Guglielmone, A.A., Nava, S., 2017. Genetic analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato tick's parasites of dogs in Africa north of the Sahara based on mitochondrial DNA sequences. Vet. Parasitol. 239: 1–6.

Cicuttin GL, De Salvo MN, Silva DA, Brito M, Nava S. 2017. *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato del linaje templado (Acari: Ixodidae), provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista FAVE-Sección Ciencias Veterinarias. 16: 93-96.

Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Gury Dohmen, F.E. 2016. Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. Ticks and Tick-borne Diseases. Volume 7, Issue 5: 954-957

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 and Tick-borne Diseases. 6: 724-729.

Cicuttin, G. L.; Vidal, P.; De Salvo, N.; Beltrán, F.J., Gury Dohmen, F.E. 2014. Detección molecular de *Rickettsia massiliae* y *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y caninos domésticos del municipio de Bahía Blanca (Argentina). Rev. Chilena de Infectología. vol.31 N°.5.

Coelho, C. F. 1993. Biología da fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) sob condições de laboratório/aspectos da oviposição. 52f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Coimbra, M.J., Maia-Silva, M., Marques, W., Oliveira, A.C., Rosa, F., Dias, D., 2018. Phylogenetic insights on Mediterranean and Afrotropical *Rhipicephalus* species (Acari: ixodida) based on mitochondrial DNA. Exp. Appl. Acarol. 75: 107–128.

Costa Vieira RFC, Biondo AW, Guimarães AMS, Santos AP, Santo RP, Dutra LH. 2011. Ehrlichiosis in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2011; 20(1): 1-12.

Coutinho MT, Bueno LL, Sterzik A, Fujiwara RT, Botelho JR, De Maria M, Genaro O, Linardi PM. 2005. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol.* 128: 149-155.

Cruz-Vazquez, C.; Garcia-Vazquez, Z. 1999. Seasonal distribution of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) on dogs in an urban area of Morelos, México. *Exp. Appl. Acarol.*; 23: 277-280.

Dantas, F., Maia, C., Latrofa, M.S., Annoscia, G., Otranto, D., 2017. Genetic characterization of *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) ticks from dogs in Portugal. *Parasites y Vectors.* 10: 133.

Dantas-Torres, F., Latrofa, M.S., Annoscia, G., Gianelli, A., Parisi, A., Otranto, D., 2013. Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato from the New and Old Worlds. *Parasites y Vectors.* 6: 213.

Dantas-Torres, F.; Figueredo, L.A.; Otranto, D. 2011. Seasonal variation in the effect of climate on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* in southern Europe. *Parasitology*, 138: 527-536.

Dantas-Torres F. 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites y Vectors.* 3:26.

Dantas-Torres, F. 2008. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet. Parasitol.* 152 (3-4): 173-185.

Debárbora VN, Oscherov EB, Guglielmone AA, Nava S. 2011. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. *InVet.* 13: 45-51.

Díaz, F.E., Martínez, F.E., Martínez-Valdebenito, C., Lopez, J., Weitzel, T., Abraca, K., 2018. Geographical distribution and phylogenetic analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato in northern and central Chile. *Ticks Tick-borne Dis.* 9: 792–797.

Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P.J., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F.R. 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*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and “HE agent” as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 2145-2165.

Eiras D. F., Craviotto M.B., Baneth G.; Moré, G. 2014. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangelirosis) in Argentina. *Parasitol Int.* 63(5): 729-34.

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. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 36: 169-173.

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

Gilot B: 1984. Biologie et ecologie de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acariens, Ixodoidea) dans le Sud-Est de la France. *Bull Soc Sci Vet Med Comp*, 86: 25-33.

González, A.; Castro, D.; González, S. 2004. Ectoparasitic species from *Canis familiaris* (Linné) in Buenos Aires Province, Argentina. *Vet. Parasitol.* 120: 123-129.

Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, Arantes GJ. 2004. Tick control: an industry point of view. *Parasitology.* 129: 427-444.

Gray J, Dantas-Torres F, Estrada-Peña A, Levin M. 2013. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks Tick Borne Dis.* 4: 171-180.

Guglielmone, A.A. y Nava, S. 2005. Las garrapatas de la familia Argasidae y de los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Ixodidae) de la Argentina: Distribución y hospedadores. *Revista de Investigación Agropecuaria* 34: 123-141.

Guglielmone, A. A.; Mangold, A. J.; Viñaval, A. E. 1991. Ticks (Ixodidae) parasitizing humans in four provinces of north western Argentina. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 85: 539-542.

Guglielmone, A. A.; Viñaval, A. E.; Mangold, A. J.; Aguirre, D. H.; Gaido, A. B. 1989. Un estudio epizootiológico sobre garrapatas del grupo *Rhipicephalus sanguineus* en el Valle de Lerma, Salta, Argentina. *Rev. Med. Vet. (Bs.As.)* 70: 270-237.

Guglielmone, A. A. y Moorhouse, D. E. 1986. The effect of photoperiod on the development of *Amblyomma triguttatum triguttatum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 23: 274-278.

Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.

Hamilton, J.G.C. 1992. The role of pheromones in tick biology. *Parasitol. Today.* 8: 130-133.

Hoogstraal, H. 1985. Argasid and Nuttallied ticks as parasites and vectors. *Adv. Parasitolol.* 24: 135-238.

Hoogstraal, H. y Aeschlimann, A. 1982. Tick-host specificity. *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*, 55: 5-32.

Hoogstraal, H. 1978. Biology of ticks. En *Tick borne diseases and their vectors*, (Ed. Wilde, J. K. H.). University of Edimburgh, Edimburgh, Scotland. 3-14.

Hoogstraal, H. 1973. Acarina (Ticks). In: Viruses and Invertebrates, Ed. A.J. Gibbs. North Holland Publishing Co. CHS. 89-103.

Horak, I.G. y Knight, M.M. 1986. A comparison of the tick burdens of wild animals in a nature reserve and on an adjacent farm where tick control is practised. Journal of the South African Veterinary Association, 57: 199-203

Horwitz, P. y Wilcox, B.A. 2005. Parasites, ecosystems and sustainability: An ecological and complex systems perspective. International Journal for Parasitology. Vol. 35, 7: 725-732.

Hypsa, V. 2006. Parasite histories and novel phylogenetic tools: alternative approaches to inferred parasite evolution from molecular markers. Int. J. Parasitol. 36: 141-155.

Inokuma, H., Fujii, K., Okuda, M., Onishi, T., Beauflis, J.P., Raoult, D., Brouqui, P., 2002. Determination of the nucleotide sequences of heat shock operon *groESL* and the citrate synthase gene (*gltA*) of *Anaplasma (Ehrlichia) platys* for phylogenetic and diagnostic studies. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 9:1132-1136.

Inokuma, H., Raoult, D., Brouqui, P., 2000. Detection of *Ehrlichia platys* DNA brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. Journal of Clinical Microbiology 38:4219-4221.

Inokuma, H.; Tamura, K.; Onishi, T. 1996 Seasonal occurrence of *Rhipicephalus sanguineus* in Okayama Prefecture, Japan, and effect of temperature on development of the tick. J. Vet. Med. Sci., 58: 225-228.

Ivancovich, J. C. y Luciani, C. A. 1992. Las garrapatas de Argentina. Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria, Buenos Aires. p. 95

Jacobs P. A. H., Fourie L. J., Kok D. J., Horak I. G. 2001. Diversity, seasonality and sites of attachment of adult ixodid ticks on dogs in the central region of the Free State Province, South Africa. *Onderstepoort J Vet Res.* 68:281-290.

Kiffner, C.; Lodige, C.; Alings, M.; Vor, T.; Ruhe, F. 2011. Attachment site selection of ticks on roe deer, *Capreolus capreolus*. *Experimental and Applied Acarology*, 53: 79-94.

Klompen, J.S.H.; Oliver, J.H. 1993. Systematic relationship in the soft ticks (Acari: Ixodida: Argasidae). *Syst. Parasitol.*, 18: 313-331.

Koch, H. G. y Tuck, M. D. 1986. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. *Annals of the Entomological Society of America*, 79:11-14.

Koch, H. G. 1982. Seasonal incidence and attachment sites of ticks (Acari: Ixodidae) on domestic dogs in southeastern Oklahoma and northwestern Arkansas, USA. *Journal of medical entomology*, 19(3), 293-298.

Krasnov, B.R.; R. Poulin y S. Morand. 2006. Patterns of macroparasite diversity in small mammals. (p.197-231). En: Morand, S.; Krasnov, B. R. y Poulin, R. (eds). *Micromammals y Macroparasites. From evolutionary ecology to management*. Springer-Verlag, Tokyo.

Kuhne, G.I.; Guglielmone, A.A.; Mangold, A.J. 1986. Parásitos diagnosticados en el decenio 1976-1985 en la Unidad Regional de Investigación en Sanidad Animal del Noroeste Argentino. II. Artrópodos. *Rev. Inv. Agropec.*, 21: 81-86.

Labruna, M.B., Gerardi, M., Krawczak, F.S., Moraes-Filho, J., 2017. Comparative biology of the tropical and temperate species of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) under different laboratory conditions. *Ticks Tick-borne Dis.* 8:146–156.

Labruna MB, Mattar S, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, y col. 2011. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. Rev MVZ Córdoba; 16:2435-2457.

Labruna MB. 2004. Biología-Ecología de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Brazilian J Vet Parasitol. 13 (suplemento 1):123-4.

Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23:2947-2948.

Latrofa, M.S., Dantas-Torres, F., Gianelli, A., Otranto, D., 2014. Molecular detection of tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* group. Ticks Tick-borne Dis. 5:943-946.

Levin, M.L., Studer, E., Killmaster, L., Zemtsova, G., Mumcuoglu, K.Y., 2012. Crossbreeding between different geographical populations of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol. 58:51-68.

Little SE, Hostetler J, Kocan KM. 2007. Movement of *Rhipicephalus sanguineus* adults between co-housed dogs during active feeding. Vet Parasitol. 2007, 150:139-145.

Liu, G.H., Chen, Y.Z., Song, H.Q., Lin, R.Q., Zhou, D.H., Zhu, X.Q., 2013. Complete mitochondrial genome sequence data provides evidence that dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) represents a species complex. Int. J. Biol. Sci. 9:361-369.

Mangold A, Bargues M, 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.

Marshall, A.G. 1981. The ecology of ectoparasitic insects. New York Academic Press, New York. p. 459.

McBride, J., Yu, X.J., Walker, D.H., 1999. Molecular cloning of the gene for a conserved major immunoreactive 28-kilodalton protein of *Ehrlichia canis*: a potential serodiagnostic antigen. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 6:392-399.

Mera y Sierra R, Neira G. 2014. Ocurrencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la provincia de Mendoza. http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/

Moissant E, Vicente M, García Y, Armas S. 1999. Estudio bioecológico de la garrapata del perro, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), en un criadero en El Limón (Edo. Aragua), Venezuela. Rev Fac Cs Vet UCV 40:119-125.

Moraes Filho J, Krawczak FS, Costa FB, Soares JF, Labruna MB. 2015. Comparative evaluation of the vector competence of four South American populations of the *Rhipicephalus sanguineus* Group for the bacterium *Ehrlichia canis*, the agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. Plos One 10: e0139386.

Moraes-Filho, J., Marcili, A., Nieri-Bastos, F., Richtzenhain, L.J., Labruna, M.B., 2011. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. Acta tropical 117:51-55.

Mumcuoglu, K. Y., Frish, K., Sarov, B., Manors, E., Gross, E., Gat, Z., Galun, R. 1993. Ecological studies on the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in southern Israel and its relationship to spotted fever group rickettsiae. Journal of medical entomology, 30(1), 114-121.

Murata, T.; Shimoda, K.; Inoue, M.; Shiramizu, K.; Kanoe, M.; Taura, Y.; Nakama, S. 1993. Seasonal periodical appearance of *Hepatozoon canis* gamonts in the peripheral blood. J. Vet. Med. Sci. 55: 877-879.

Nava, Santiago; Beati, Lorenza; Venzal, José M.; Labrunad, Marcelo B.; Szabó, Matias P.J.; Trevor Petney, Saracho-Bottero, María N.; Tarragona, Evelina L.; Dantas-Torres, Filipe; Santos Silva, Maria M.; Mangold, Atilio J.; Guglielmone, Alberto A.; Estrada-Peña, Agustín. 2018. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9:1573–1585.

Nava S, Venzal JM, González-Acuña D, Martins T, Guglielmone A. 2017. Ticks of the Southern cone of America. Diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Elsevier, Academic Press, 372.

Nava S, Estrada-Peña A, Petney T, Beati L, Labruna MB, Szabó MPJ, Venzal JM, Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2015. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Veterinary Parasitology*. 208:2-8.

Nava S, Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2013. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses for livestock forage on the population dynamics of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. *Res Vet Sci.*; 95: 1046-1054.

Nava S, Mastropaolo, M.; Venzal, J. M.; Mangold A.J., Guglielmone A.A. 2012. Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. *Veterinary Parasitology*. Volume 190, Issues 3–4, 21:547–555.

Nava S, Mangold A.J., Guglielmone A.A. 2009. La distribución anatómica de *Amblyomma neumanni* y *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) sobre sus hospedadores principales. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 8 (2) ISSN 1666-938X.

Nei, M. and Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Nelson, W.A.; J. E. Keirans; J. F. Bell y C. F. Clifford. 1975. Host-ectoparasite relationship. *J. Med. Entomol.* 13:143-166.

Nilsson, A. 1981. Spatial differentiation of ectoparasites on small mammals. *Holarct. Ecol.* 4:184-190.

Norris DE, Klompen JSH, Black WC IV. 1999. Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard-ticks (Acari: Ixodidae). *Annals of the Entomological Society of America.* 92: 117-29.

Norval, R.A.I.; H. R. Andrew y C. E. Yunker. 1989. Pheromone-mediation of host-selection in bont ticks *Amblyomma hebraeum* (Koch). *Science.* 243: 364-365.

Nuttall G. H. F. 1913. Observations on the biology of Ixodidae. *Parasitology.* 6: 68–118.

Ogden, N.H.; A. N. J. Casey; N. P. French; J. D. W. Adams y Z. Woldehiwet. 2002. Field evidence for density-dependent facilitation amongst *Ixodes ricinus* ticks feeding on sheep. *Parasitology.* 124: 117-125.

Oliveira, P. R.; Bechara, G. H.; Denardi, S.E. 2005. Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. *Vet. Parasitol.*; 129: 139-147.

Oliver Jr., J. H. 1989. Biology and Systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annual Review of Ecology and Systematic*, 20: 397-430.

Oliver, J. H. y Stone, B. F. 1983. Spermatid production in unfed, Metastricata ticks. *Journal of Parasitology*, 69: 420-421.

Oscherov, E.B., Milano, A.M.F., Lobo, B., Anda, P., Escudero, R., 2011. Detection of *Anaplasma platys* and other pathogens in ectoparasites from urban hosts in Northeast Argentina. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 70: 42-48.

Paz, G.F., Ribeiro, M.F., Michalsky, E.M., da Rocha-Lima, A.C., França-Silva, J.C., Barata, R.A., Fortes-Dias, C.L., Dias, E.S., 2010. Evaluation of the vectorial capacity of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the transmission of canine visceral leishmaniasis. *Parasitol. Res.* 106: 523–528.

Paz G.F., Labruna M.B., Leite R.C. 2008. Ritmo de queda de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de cães artificialmente infestados. *Rev Bras Parasitol Vet.* 17:139-144.

Pilosof, S.; Lareschi, M.; Krasnov, B. R. 2012. Host body microcosm and ectoparasite infracommunities: arthropod ectoparasites are not spatially segregated. *Parasitology*, 139: 1739-1748.

Piranda, E. M.; Faccini, J. L. H.; Pinter, A.; Saito, T. B.; Pacheco, R. C.; Hagiwara, M. K.; Labruna, M. B. 2008. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, V.103, Nº 7, p. 696-701.

Posada D, Crandall K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics.* 14:817– 818.

Ramos, R.A.N., Latrofa, M.S., Gianelli, A., Lacasella, V., Campbell, B.E., Dantas-Torres, F., Otranto, D.E., 2014. Detection of *Anaplasma platys* in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* group by a quantitative real-time PCR. *Vet. Parasitol.* 205:285-288.

Randolph, S. E. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*, 129: 37-65.

Rechav, Y.; G. B. Whitehead y M. M. Knight. 1976. Aggregation response of nymphs to pheromone(s) produced by males of the tick *Amblyomma hebraeum* (Koch). *Nature.* 259: 563-564.

Reiczigel, J. y L. Rózsa. 1998. Host-mediated site segregation of ectoparasites: an individual-based simulation study. *J. Parasitol.* 84: 491-498.

Rózsa, L. 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. – *J. Parasitol.* 86: 228–232.

Ruiz, M.F., Orcellet, V.M., Iriarte, J.A., Carrera, M.O. y Guglielmone, A.A. 2003. The presence of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) and *Amblyomma tigrinum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) in southern Argentina. *Syst. Appl. Acarol.*, V. 8, p. 89-91.

Saito T.B., Cunha-Filho N.A., Pacheco R.C., Ferreira F., Pappen F.G., Farias N.A.R.. 2008. Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in Southern Brazil. *Am J Trop Med Hyg*; 79 (1): 102-108.

Sanches, G.S., Evora, P.M., Mangold, A.J., Jittapalpong, S., Rodríguez-Mallon, A., Guzmán, P.E.E., Bechara, G.H., Camargo-Mathias, M.I., 2016. Molecular, biological, and morphometric comparisons between different geographical populations of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 215: 78–87.

Sanogo, Y. O., B. Davoust, H. Inokuma, J. L. Camicas, P. Parola, y P. Brouqui. 2003. First evidence of *Anaplasma platys* in *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodida) collected from dogs in Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 70: 205–212.

Santa Cruz, A.M.; Prieto, O.; Lombardero, O.J.; Gómez, L.; Schleiber, N. 1998. First finding of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) infesting *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) in the province of Corrientes, Argentina. *Res. 23º Congr. Asoc. Mundial Med. Vet. Pequeños Anim., Buenos Aires.* 2, p. 787.

Sartor, A.A., Cunha, D.W., Daemon, E. 1996. Aspectos da biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório: Fase parasitária de larvas, ninfas e fêmeas e não parasitária de larvas e ninfas. *Rev. Bras Med. Vet.*, V. 18, p.14-17.

Silveira J.A., Passos L.M., Ribeiro M.F. 2009, Population dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. *Vet Parasitol* 161:270-275.

Socolovschi, C., Gomez, J., Marié, J.L., Davoust, B., Guigal, P.M., Raoult, D., Parola, P., 2012. *Ehrlichia canis* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks in the Ivory Coast. *Ticks Tick-borne Dis.* 3:411-413.

Sonenshine DE, Lane RS, Nicholson WL. 2002. Chapter 24: Ticks (Ixodida). *Medical and veterinary entomology*. En: Mullen G, Durden L. *Medical and Veterinary Entomology*. Amsterdam: Elsevier Science. p. 517-558.

Stich, R.W., Schaefer, J.J., Bremer, W.G., Needham, G.R., Jittapalapong, S., 2008. Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, *Ehrlichia canis*. *Vet. Parasitol.* 158: 256-273.

Sweatman, G.K. 1967. Physical and biological factors affecting the longevity and oviposition of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks. *Journal of Parasitology*, V.53, N° 2, p.432-445.

Szabó, M. P. J.; Mangold, A. J.; Joao, C. F.; Bechara, G. H.; Guglielmone, A. A. 2005. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. *Vet. Parasitol.*; 130:131-140.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739.

Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22:4673-680.

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.

Venzal, J. M.; Estrada-Peña, A.; Castro, O.; De Souza, C. G.; Portillo, A.; Oteo, J. A. 2007. Study on seasonal activity in dogs and erlichial infection in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) from southern Uruguay. *Parasitol. Latinoam.* 62:23-26.

Walker, J.B., Keirans, J.E., Horak, I.G., 2000. The Genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae): A Guide to the Brown Ticks of the World. Cambridge University Press, Cambridge p. 643.

Wertheim, B.; E. J. A. Van Baalen; M. Dicke y L. E. M. Vet. 2005. Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: an evolutionary ecological perspective. *Ann. Rev. Entomol.* 50: 321-346.

Wikel, S. K. 1996. Host immunity to ticks. *Annu. Rev. Entomol.* 41:1-22.

Ybañez AP, Perez ZO, Gabotero SR, Yandug RT, Kotaro M, Inokuma H. 2012. First molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in ticks from dogs in Cebu, Philippines. *Ticks Tick-Borne Dis* 3: 288-293.

Yoder, J. A., Benoit, J. B., Rellinger, E. J., Tank, J. L. 2006. Developmental profiles in tick water balance with a focus on the new Rocky Mountain spotted fever vector, *Rhipicephalus sanguineus*. *Medical and veterinary entomology*, 20 (4), 365-372.

Zar, JH. 1999. Biostatistical Analysis. 4ta Edición, New Jersey, USA, Prentice Hall ed, p. 1-663.

Zemtsova, G., Apanaskevich, D.A., Reeves, W.K., Hahn, M., Snellgrove, A., Levin, M., 2016. Phylogeography of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and its relationships with climate factors. Exp. Appl. Acarol. 69:191–203.

Zerpa, C.; Venzal, J.M.; López, N.; Mangold, A.J.; Guglielmone, A. A. 2003. Garrapatas de Catamarca y Tucumán: estudio de una colección de hospedadores silvestres y domésticos. Rev. FAVE, 2:167-171.