

## ► ARTÍCULOS ORIGINALES

### DETECCIÓN DE BACTERIAS DE LOS GÉNEROS *EHRlichia*, *ANAPlasma* Y *RICKETtsia* EN GARRAPATAS *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS S.L* EN PERGAMINO, ARGENTINA

#### *Detection of Bacteria of the Genera Ehrlichia, Anaplasma and Rickettsia in Rhipicephalus sanguineus s.l Ticks in the City of Pergamino, Argentina*

Pablo Borrás<sup>1</sup>, Juliana Sanchez<sup>2</sup>, Eliana Guillemí<sup>3</sup>, Sofía De La Fourniere<sup>3</sup>, Mercedes Abadía<sup>4</sup>, Marisa Farber<sup>3</sup>, María Soledad Santini<sup>1</sup>

**RESUMEN.** INTRODUCCIÓN: Las rickettsiosis, ehrlichiosis y anaplasmosis son causadas por bacterias gramnegativas intracelulares obligadas y transmitidas por artrópodos. El objetivo de este trabajo fue determinar especies de garrapatas presentes en caninos de la ciudad de Pergamino y detectar presencia de patógenos de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia*. MÉTODOS: Se estudiaron 21 garrapatas *Rhipicephalus sanguineus s.l* obtenidas de caninos de diferentes ambientes de la ciudad de Pergamino. Las muestras fueron analizadas mediante PCR, amplificando un fragmento del gen *gltA* para *Rickettsia* spp. y del *16SrRNA* para los géneros *Ehrlichia/Anaplasma*. RESULTADOS: Se detectó positividad a *Rickettsia* spp. en el 4,76%, identificándose por secuenciación a la especie *Rickettsia massiliae*. Para la familia *Anaplasmataceae* se detectó positividad para *Ehrlichia canis* (23,8%) y *Anaplasma platys* (19,04%). CONCLUSIONES: Se trata del primer reporte de patógenos de interés zoonótico y/o veterinario pertenecientes a los géneros *Rickettsia*, *Ehrlichia* y *Anaplasma* en garrapatas *Rh. sanguineus s.l* para el norte de la provincia de Buenos Aires.

**PALABRAS CLAVE:** *Rickettsia*; *Ehrlichia*; *Anaplasma*; Garrapatas.

**ABSTRACT.** INTRODUCTION: Rickettsiosis, ehrlichiosis and anaplasmosis are caused by obligate intracellular gram-negative bacteria and transmitted by arthropods emerging vector borne diseases. The aim of this work was to determine the species of ticks present in canines of the city of Pergamino and to detect the presence of pathogens from the genera *Ehrlichia*, *Anaplasma* and *Rickettsia*. METHODS: A total of 21 *Rhipicephalus sanguineus s.l* ticks were studied, obtained from canines from different environments of the city of Pergamino. The samples were analyzed by PCR for *Rickettsia* spp. (gene *gltA*) and for the genera *Ehrlichia/Anaplasma* (gene *16sRNA*). RESULTS: Positivity was detected for *Rickettsia* spp. in 4.76% of the ticks, being identified by sequencing as *Rickettsia massiliae*. For the *Anaplasmataceae* family, positivity was detected for *Ehrlichia canis* (23.8%) and *Anaplasma platys* (19.04%). CONCLUSIONS: This is the first report on pathogens of zoonotic/veterinary interest belonging to the genera *Ehrlichia*, *Anaplasma* and *Rickettsia*, on *Rh. sanguineus s.l* ticks in the north of the province of Buenos Aires.

**KEY WORDS:** *Rickettsia*; *Ehrlichia*; *Anaplasma*; Ticks

<sup>1</sup> Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemo-Epidemias - Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (CeNDIE-ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán", Provincia de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)-Universidad del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Instituto de Biotecnología del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Castelar, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup> Veterinaria Dra. Mercedes Abadía, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

**FUENTE DE FINANCIAMIENTO:** CeNDIE ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Fondos del INTA (Programa Nacional de Biotecnología) – Proyectos de Investigación Plurianuales 2013-2015 11220120100108CO.

**FECHA DE RECEPCIÓN:** 21 de mayo de 2019

**FECHA DE ACEPTACIÓN:** 23 de septiembre de 2019

**CORRESPONDENCIA A:** Pablo Borrás

**Correo electrónico:** pablojesusborras@gmail.com

**RENIS N°:** IS002473

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* son organismos coco-bacilares gramnegativos intracelulares obligados pertenecientes al orden Rickettsiales. Algunas de estas especies son transmitidas por garrapatas, que provocan enfermedades emergentes en el territorio argentino.

*Rhipicephalus sanguineus* s.l son garrapatas con una amplia distribución en Argentina<sup>1-3</sup>. Son monotrópicas, es decir, se alimentan preferentemente de una única especie de hospedador, en este caso de los caninos<sup>4</sup>, aunque ocasionalmente muerden a las personas<sup>5</sup>. Con frecuencia se encuentran en caniles o refugios donde las instalaciones ofrecen reparo y hay abundancia de perros<sup>6</sup>. Este complejo de garrapatas ha sido involucrado en la transmisión de numerosos patógenos a los caninos, algunos de ellos de interés zoonótico<sup>7</sup>.

Entre las bacterias que se han detectado en *R. sanguineus* s.l. se encuentra *Rickettsia massiliae*, perteneciente al grupo de las fiebres manchadas. Esta bacteria fue aislada por primera vez en Francia en 1992<sup>8</sup> y desde entonces ha sido vinculada a casos humanos de fiebre manchada en algunos países de Europa. En 2005 se reportó el único caso americano en una paciente originaria de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA)<sup>9</sup>. En Argentina, los valores de prevalencia de *R. massiliae* en *R. sanguineus* s.l varían entre 5 y 20%, y su presencia ha sido identificada en garrapatas de CABA<sup>10,11</sup>, Bahía Blanca<sup>12</sup> y Mendoza<sup>13</sup>.

Otras bacterias transmitidas por *R. sanguineus* s.l. son *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, pertenecientes a la familia Anaplasmataceae<sup>14</sup>. *Ehrlichia canis* es un patógeno que afecta principalmente los monocitos de cánidos y presenta distribución mundial<sup>15</sup>. En Argentina ha sido descrita en perros de CABA y sus alrededores<sup>16,17</sup>, así como en garrapatas *Rh. sanguineus* s.l de Formosa<sup>18</sup>. Por otro lado, *Anaplasma platys*, descrita por primera vez en perros de Florida, Estados Unidos<sup>19</sup>, es el agente causal de la trombocitopenia cíclica canina. Dentro del territorio argentino, ha sido descrita tanto en perros de Bahía Blanca y CABA como en garrapatas de Salta<sup>12, 16,18,20</sup>. Si bien la signología que produce este patógeno es de leve a moderada en los caninos, puede ser severa si hay coinfección con otros patógenos transmitidos por garrapatas<sup>7</sup>.

El rol de *A. platys* y *E. canis* como patógenos en la población humana sigue siendo poco claro. Se han reportado casos clínicos aislados por *E. canis* en pacientes de Venezuela y Panamá<sup>21,22</sup>. Los pacientes presentaron un síndrome febril agudo con dolores musculares, cefaleas, exantema y signos gastrointestinales. *Anaplasma platys* ha sido descrito como patógeno para humanos en el Caribe, Venezuela y Colombia como responsable de un cuadro febril agudo caracterizado por trombocitopenia<sup>23,24</sup>. Sin embargo, se requiere mayor cantidad de estudios para evaluar el rol zoonótico de estos patógenos.

El partido bonaerense de Pergamino es una de las áreas agroindustriales más importantes de Argentina. No existe ningún antecedente en la región de estudios sobre la presencia

de garrapatas en perros, ni sobre la detección de patógenos zoonóticos o de importancia veterinaria transmitidos por estos vectores. El objetivo de este trabajo fue estudiar la presencia de bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Rickettsia* y *Anaplasma* en garrapatas *R. sanguineus* s.l. extraídas de perros domésticos de la ciudad de Pergamino.

## MÉTODOS

La localidad seleccionada para llevar a cabo este estudio fue la ciudad de Pergamino (33°53'01''S, 60°34'01''O). Forma parte de la ecorregión que describe un ambiente definido como Pampa Argentina y, junto con las ciudades de Rosario y Venado Tuerto, integra el triángulo agrario más importante del país, a la vez que concentra un complejo semillero y agroindustrial.

Con el objetivo de obtener ejemplares de garrapatas, este estudio fue llevado a cabo en dos momentos, del 12 al 14 de diciembre de 2016 y del 21 al 26 de febrero de 2017. Los muestreos fueron realizados en los meses cálidos debido a que en ese período se registra una mayor prevalencia y abundancia de garrapatas<sup>4,25,26</sup>.

Para obtener ejemplares de las distintas áreas de la ciudad y no sesgar el muestreo a un único ambiente, Pergamino fue dividida en tres paisajes (urbano, periurbano y rural) según el catastro. En cada uno de los paisajes, se seleccionaron caninos clínicamente sanos con propietario o que pertenecieran a los caniles municipales.

La inspección de cada animal se hizo bajo el consentimiento del propietario y de acuerdo con el siguiente patrón: cabeza, conducto auditivo, cuello, pecho, lomo, abdomen, región perineal, miembros anteriores, miembros posteriores y espacios interdigitales. Las garrapatas se recogieron con una pinza de mano izquierda. En los casos necesarios, se realizó la topicación del artrópodo con fipronil en spray para hacer más sencilla su remoción.

Los ejemplares de garrapatas se colocaron en frascos estériles rotulados, que contenían etanol al 70% para su posterior identificación en el laboratorio. Se utilizaron las claves taxonómicas disponibles<sup>27</sup>.

Para la extracción de ADN las garrapatas fueron procesadas de forma individual; inicialmente fueron pulverizadas en mortero utilizando nitrógeno líquido y luego se continuó con el método de fenol-cloroformo<sup>28</sup>.

La identificación de las bacterias del orden Rickettsiales se llevó adelante aplicando diferentes protocolos de PCR. Para la detección de organismos del género *Rickettsia* se amplificó un fragmento del gen *gltA* específico del género *Rickettsia*<sup>29</sup>. Este gen es de elección, ya que codifica la enzima citrato sintetasa presente en todas las *Rickettsias*<sup>30-32</sup>. En cambio, la familia Anaplasmataceae fue identificada amplificando un fragmento del gen *16S rRNA* común al género *Ehrlichia* y *Anaplasma*<sup>32</sup>. Las muestras positivas a esta reacción fueron luego analizadas mediante oligonucleótidos específicos para el gen *ORF30* de *Ehrlichia canis*<sup>33</sup>.

Como control positivo se utilizó ADN de cepas de referencia (*Anaplasma marginale* y *Rickettsia conorii*) y como

control negativo, agua ultrapura. El proceso de amplificación por PCR se llevó a cabo en un termociclador Bio-Rad MyCycler Thermal Cycler.

Los productos obtenidos a partir de las reacciones de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. Se sembraron 5 µl del producto obtenido y se utilizó el marcador de peso molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen). Los geles fueron observados en un transiluminador con luz ultravioleta (Gel Doc XP BIO-RAD). Para las reacciones positivas, el producto de PCR fue purificado mediante precipitación y centrifugado con EDTA 125 mM (11,25 µl) y etanol absoluto (200 µl). El precipitado fue lavado con etanol 70% (120 µl) para finalmente ser resuspendido en agua libre de nucleasas. Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar al Servicio de Secuenciación del Instituto de Biotecnología de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Castellar, Provincia de Buenos Aires. A partir de las secuencias nucleotídicas obtenidas en archivos con formato ab1 se utilizó el programa Vector NTI Advanced 10 (Invitrogen) como herramienta bioinformática para el ensamblado de secuencias y el armado de los contigs.

Las secuencias obtenidas para el fragmento del gen *16S rRNA* común al género Ehrlichia y Anaplasma fueron utilizadas para construir un árbol filogenético a fin de definir la especie implicada en aquellos casos en los que la amplificación del gen *ORF30* de *Ehrlichia canis* resultó negativa.

Las maniobras de remoción de garrapatas sobre los animales se cumplieron bajo las normas de buenas prácticas y bienestar animal del capítulo 7 del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, por sus siglas en inglés).

## RESULTADOS

Se revisaron en total 52 caninos provenientes de diferentes ambientes de la ciudad de Pergamino. El 60% de esos perros eran hembras. Hubo un 80% de raza indefinida (mestizos), 5% de galgos, 3% de caniches y 12% de otras razas (ovejero alemán, Schnauzer, maltés, Shih Tzu, braco alemán).

Se colectaron 21 garrapatas (18 ejemplares durante el primer muestreo). Del total de los perros revisados, el 13,4% (7/52) presentaron, al menos, una garrapata. El 100% de los ejemplares colectados e identificados pertenecían al complejo *Rhipicephalus sanguineus*. Todos eran adultos, con 58% de hembras (12/21) y 42% de machos (9/21). Dos ejemplares (2/21) eran hembras en estadio de teleogina (estadio previo a descender al suelo para la ovoposición con completa repleción corporal por la ingesta de sangre). No se encontraron otros ectoparásitos en los perros revisados durante estos dos muestreos específicos.

En lo que respecta al género *Rickettsia*, la amplificación del gen *gltA* de *Rickettsia* spp. resultó positiva en un solo ejemplar de *R. sanguineus* s.l (1/21) (ver Figura 1). El alineamiento global de la secuencia obtenida mostró una identidad del 100% con la secuencia de referencia

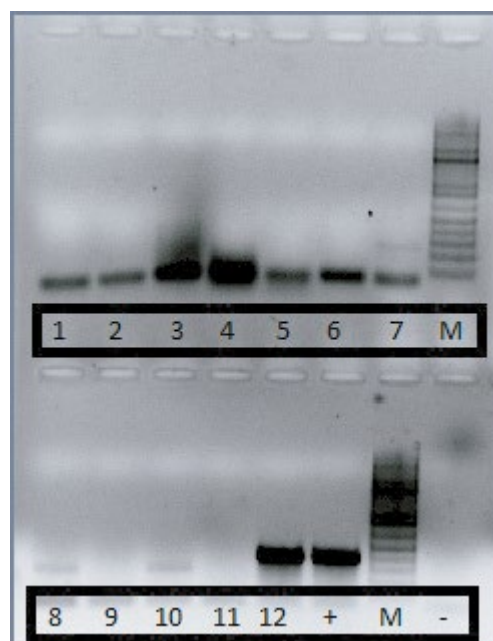
de *Rickettsia massiliae* AZT80 depositada en GenBank (CP003319.1).

En la familia *Anaplasmataceae*, se detectó positividad para el gen *16SrRNA* común a los géneros *Ehrlichia*/*Anaplasma* en el 42,8% (9/21) de las muestras, de las cuales 5 (23,8% del total) resultaron además positivas a la reacción específica para *E. canis*. Para definir la especie correspondiente a las 4 muestras restantes (4/21) positivas al gen *16SrRNA* de *Ehrlichia*/*Anaplasma*, se construyó un árbol filogenético utilizando el método de Maximum Likelihood con 1000 réplicas de bootstrap en el programa MEGA 6.06. Se usaron secuencias de referencia de la familia *Anaplasmataceae* y una secuencia de *Rickettsia rickettsii* como *outgroup* (ver Figura 2). Como resultado se observó la presencia de un clúster conformado por las cuatro secuencias obtenidas de las muestras de garrapata y la secuencia de referencia de *A. platys* (AF536828.1).

## DISCUSIÓN

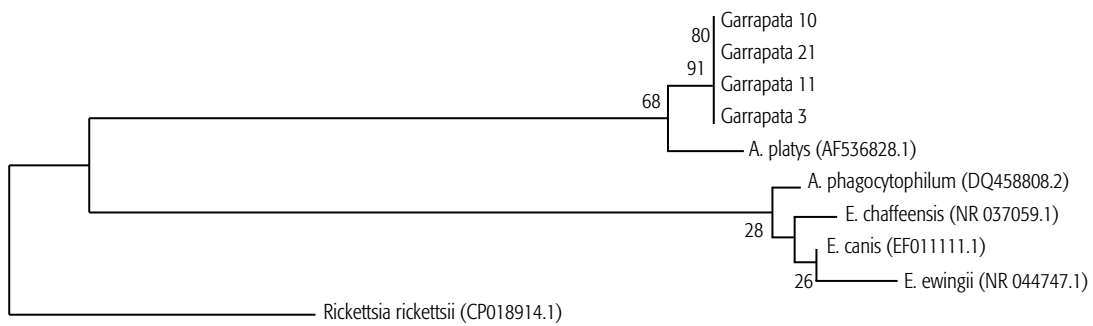
Este estudio representa el primer reporte de garrapatas positivas a *R. massiliae*, *E. canis* y *A. platys* para el norte de la provincia de Buenos Aires, y permite ampliar la distribución geográfica conocida de los tres patógenos. Particularmente, la importancia sanitaria de *R. massiliae* radica en que es el agente etiológico de una fiebre manchada caracterizada en el humano por fiebre, cefaleas, exantema maculo-purpúrico, disminución aguda bilateral de la visión por coriorretinitis y una escara de inoculación en el sitio de mordedura de la garrapata<sup>34-37</sup>. Hasta la fecha, no se ha reportado letalidad en los casos confirmados.

FIGURA 1. Amplificación del fragmento del gen *gltA* para el género *Rickettsia*.



Nº 1 al 12 = garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l de la ciudad de Pergamino; M = marcador de peso molecular (Invitrogen); + = control positivo; - = control negativo

**FIGURA 2.** Árbol filogenético basado en el algoritmo de *Maximum Likelihood* con 1000 réplicas de *bootstrap*. Clúster conformado por las 4 secuencias obtenidas de las garrapatas y la cepa de referencia *Anaplasma platys*.



En este estudio, la tasa de positividad en garrapatas *R. sanguineus* s.l de la ciudad de Pergamino fue del 4,7%. En perros, *R. massiliae* puede generar un cuadro clínico caracterizado por signos inespecíficos (decaimiento, fiebre, mialgias), edema en zonas ventrales y signos neurológicos<sup>38</sup>. En el momento de la revisión y de la extracción de las garrapatas, ninguno de los perros presentó signos clínicos compatibles con este agente.

En el presente estudio *E. canis* se detectó con un nivel de positividad del 23,8% en las garrapatas *R. sanguineus* s.l, y al momento de la toma de muestra los perros no presentaron signos de decaimiento, ni mucosas pálidas, ni fiebre. Otro de los patógenos identificados, en el 19,04% de las garrapatas estudiadas, fue *Anaplasma platys*. La anaplasmosis en los caninos puede ser asintomática o subclínica<sup>7</sup>. Como se expresó anteriormente para el resto de los patógenos identificados, al momento de la exploración clínica y la obtención de muestras los animales no presentaron signología compatible con anaplasmosis.

La presencia de los patógenos mencionados, ya sea en las garrapatas o en la ingesta de sangre, indica circulación local entre los perros y sus respectivos vectores. Asimismo, la presencia de patógenos en *R. sanguineus* s.l implica un riesgo sanitario directo para la población humana. Esta importancia sanitaria radica en que *Rh. sanguineus* s.l parasita ocasionalmente a los seres humanos<sup>5</sup>, tal como ha sido registrado en diferentes partes del mundo<sup>39-41</sup> con distintas frecuencias. En Europa mediterránea<sup>35</sup>, *Rh. sanguineus* s.l parasita a las personas con mayor frecuencia que en Sudamérica<sup>42,4</sup>, o quizás aquí este evento sea menos reportado. En el caso particular de Argentina, existen registros de mordedura de *Rh. sanguineus* s.l a la población humana en las provincias de Salta, Santa Fe<sup>42</sup> y Misiones<sup>43</sup>; en lo que respecta a la provincia de Buenos Aires, los reportes corresponden a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y a la ciudad de Bahía Blanca<sup>44</sup>. Uno de los factores que determinan la agresividad de *Rh. sanguineus* s.l frente a los humanos son las fuertes temperaturas<sup>35</sup>. El aumento prolongado de temperaturas o los veranos extensos podrían incrementar el riesgo de mordedura de esta garrapata a la

población humana. Asimismo, las personas en contacto estrecho con perros (veterinarios, empleados de tiendas de mascotas, propietarios etc.) tendrían un mayor riesgo<sup>45</sup>. Cabe destacar que los perros muestreados en este estudio no recibían en forma regular un tratamiento acaricida específico. Por lo tanto, es fundamental el control veterinario periódico y la tenencia responsable como medida de mitigación de riesgo, tanto para la población animal como humana. La presencia de bacterias patógenas en garrapatas de la ciudad de Pergamino plantea un potencial escenario de transmisión a la población humana, donde el grupo de riesgo está constituido por aquellas personas que trabajan o conviven con perros sin controles sanitarios.

**RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS**

Es fundamental sensibilizar al sistema de salud local con respecto a las rickettsiosis, en especial la producida por *R. massiliae*, que ha sido reportada en el ámbito urbano y periurbano en diferentes partes del mundo (incluida Argentina). Sería importante elaborar un algoritmo diagnóstico de esta *rickettsiosis* y establecer criterios claros para definir el caso sospechoso, probable y confirmado. Por otro lado, hay que continuar desarrollando investigaciones a fin de comprender el rol de *E. canis* y *A. platys* como agentes zoonóticos y su impacto en la salud veterinaria a nivel local. Es primordial que los agentes de salud consideren, dentro de sus diagnósticos diferenciales, las enfermedades transmitidas por garrapatas.

**RELEVANCIA PARA LA FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN SALUD**

Este estudio constituye el primer antecedente de patógenos transmitidos por garrapatas para el norte de la provincia de Buenos Aires y acrecienta los registros de circulación de bacterias de los géneros Ehrlichia, Anaplasma y Rickettsia en Argentina. En este trabajo participaron veterinarios, biólogos y bioquímicos, lo que permite abarcar una mirada global e integral de una problemática compleja como la de las enfermedades transmitidas por vectores.

## RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

Estos hallazgos contribuyen a conocer mejor la epidemiología de patógenos transmitidos por garrapatas que afectan la salud humana y animal en zonas urbanas/periurbanas y a concientizar de tal modo a la población acerca de las medidas necesarias de prevención. Es fundamental continuar con estudios regionales para establecer los diferentes eslabones, su interacción y comprender la eco-epidemiología de las enfermedades transmitidas por

garrapatas en Argentina.

## AGRADECIMIENTOS

Al Vet. Severo Vila, de Pergamino, por su aporte y sus contactos; a todo el equipo del Laboratorio de Hemoparásitos del Instituto de Biotecnología - INTA Castelar; a la Dra. Mariana Manteca Acosta; al Vet. Hipólito Balbi, de Pergamino; y a la Dra. Laura Riera, del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas - ANLIS Malbrán.

**DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES:** No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

**Cómo citar este artículo:** Borrás P, Sanchez J,Guillemi E,De la Fourniere S,Abadia M,Farber M. y col.Detección de bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* en garrapatas *Rhipicephalus Sanguineus* s.l Pergamino, Argentina.Rev Argent Salud Pública, 2019; 10(41): 8-13.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Debáborba VN, Oscherov EB, Guglielmo AA, Nava S. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. *In Vet.* 2011;13(1):45-51.
- 2 Nava S, Mastropaolo M, Venzal JM, Mangold AJ, Guglielmo AA. Mitochondrial DNA Analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America. *Vet Parasitol.* 2012;190(3-4):547-55. [Disponible en: doi 10.1016/j.vetpar.2012.06.032 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 3 Nava S, Beati L, Venzal JM, Labruna MB, Szabó MPJ, Petney T, et al. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype Designation, Morphological Re-Description of All Parasitic Stages and Molecular Characterization. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9(6):1573-1585. [Disponible en: doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.08.001 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 4 Dantas-Torres F. Biology and Ecology of the Brown Dog Tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors.* 2010;3:26. [Disponible en: doi: 10.1186/1756-3305-3-26. ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 5 Mentz M, Trombka M, Silva G, Silva C. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) Biting a Human Being in Porto Alegre City, Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2016;58:35.
- 6 Gray J, Dantas-Torres F, Estrada-Peña A, Levin M. Systematics and Ecology of the Brown Dog Tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2013;4(3):171-80. [Disponible en: doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.12.003 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 7 Greene C. *Infectious Diseases of the Dog and Cat.* 4th Edition. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013.
- 8 Beati L, Raoult D. *Rickettsia massiliae* sp. nov., a New Spotted Fever Group *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;43(4):839-40.
- 9 García-García JC, Portillo A, Núñez MJ, Santibáñez S, Castro B, Oteo J. A Patient from Argentina Infected with *Rickettsia massiliae*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2010;82:4. [Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0662 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 10 Cicuttin GL, Rodríguez Vargas M, Jado I, Anda P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. *Rev Arg Zoon.* 2004;1:8-10.
- 11 Cicuttin GL, De Salvo MN, La Rosa I, Dohmen FE. Isolation of *Rickettsia massiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* Ticks, Buenos Aires (Argentina). *J Parasitol.* 2015;101(6):711-2. [Disponible en: doi: 10.1645/15-800 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 12 Cicuttin GL, Vidal P, De Salvo N, Beltrán FJ, Gury Dohmen FE. 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.* 2014;31(5):563-8. [Disponible en: doi: 10.4067/S0716-10182014000500008 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 13 Monje LD, Linares MC, Beldomenico PM. Prevalence and Infection Intensity of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato Ticks from Mendoza, Argentina. *Microbes Infect.* 2016;18(11):701-705. [Disponible en: doi: 10.1016/j.micinf.2016.06.008 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 14 Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al. Reorganization of Genera in the Families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the Order Rickettsiales: Unification of Some Species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, Descriptions of Six New Species Combinations and Designation of Ehrlichia equi and 'HGE Agent' as Subjective Synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51(Pt 6):2145-2165.
- 15 Stich RW, Schaefer JJ, Bremer WG, Needham GR, Jittapalpong S. Host Surveys, Ixodid Tick Biology and Transmission Scenarios as Related to the Tick-Borne Pathogen, *Ehrlichia canis*. *Vet Parasitol.* 2008;158(4):256-73.
- 16 Eiras DF, Craviotto MB, Vezzani D, Eyal O, Baneth G. First Description of Natural Ehrlichia canis and Anaplasma platys Infections in Dogs from Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013;36(2):169-73. [Disponible en: doi: 10.1016/j.cimid.2012.11.008. ] [Último acceso: 18/10/2019] <http://dx.doi.org/>
- 17 Cicuttin GL, De Salvo MN, Gury Dohmen FE. Molecular Characterization of Ehrlichia canis Infecting Dogs, Buenos Aires. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7(5):954-957. [Disponible en: doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.04.017 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 18 Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Nava S. Natural 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.* 2015;6:724-729. [Disponible en: doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.06.006 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 19 Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM. Cyclic Thrombocytopenia Induced by a Rickettsia-Like Agent in Dogs. *Journal of Infectious Diseases.* 1978;137:182-188.
- 20 Cicuttin GL, Brambati DF, Rodríguez Eugui JI, Lebrero CG, De Salvo MN, Beltrán FJ, et al. Molecular Characterization of *Rickettsia massiliae* and *Anaplasma platys* Infecting *Rhipicephalus sanguineus* Ticks and Domestic Dogs, Buenos Aires (Argentina). *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5(5):484-8. [Disponible en: doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.03.001 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 21 Perez M, Bodor M, Zhang C, Xiong Q, Rikihisa Y. Human Infection with Ehrlichia canis Accompanied by Clinical Signs in Venezuela. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1017:110-7.
- 22 Daza C, Suárez J, Santamaría A, Osorio J, Hurtado A, Bermúdez S. Primer reporte de Ehrlichia canis en un paciente humano en Panamá. Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales. *I Encuentro de Ecología y Control de Ectoparásitos.* Medellín, Colombia. 2017.
- 23 Arraga-Alvarado CM, Qurollo BA, Parra OC, Berrueta MA, Hegarty BC, Breitschwerdt EB. Case Report: Molecular Evidence of Anaplasma platys Infection in Two Women from Venezuela. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;91(6):1161-5. [Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.14-0372 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 24 Maggi RG, Mascarelli PE, Havgeng LN, Naidoo V, Breitschwerdt EB. Co-Infection with Anaplasma platys, Bartonella henselae and Candidatus Mycoplasma haematoparvum in a Veterinarian. *Parasit Vectors.* 2013;15(6):103. [Disponible en: doi: 10.1186/1756-3305-6-103 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- 25 Gonzalez A, Castro D, Gonzalez S. Ectoparasitic Species from canis familiaris in Buenos Aires Province, Argentina. *Veterinary Parasitology.* 2004;120:123-129.

- <sup>26</sup> Estrada Peña A. *Garrapatas: Morfología, fisiología y ecología. América Latina. 1ª edición.* Zaragoza: Editorial Servet; 2015.
- <sup>27</sup> Nava S, Venzal J, Gonzalez Acuña D, Martins T, Guglielmo A. *Ticks of the Southern Cone of America.* 1st edition. Londres: Elsevier; 2017.
- <sup>28</sup> Halos L, Jamal T, Vial L, Maillard R, Suau A, Le Menach A, et al. Determination of an Efficient and Reliable Method for DNA Extraction from Ticks. *Vet Res.* 2004;35(6):709-13.
- <sup>29</sup> Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic Identification of Rickettsiae and Estimation of Intraspecies Sequence Divergence for Portions of Two Rickettsial Genes. *J Bacteriol.* 1991;173:1576-1589.
- <sup>30</sup> Santibáñez S, Portillo A, Santibáñez P, Palomar AM, Oteo JA. Usefulness of Rickettsias PCR Assays for the Molecular Diagnosis of Human Rickettsioses. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31:283-8. [Disponible en: doi: 10.1016/j.eneimc.2012.08.001 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>31</sup> Oteo J, Nava S, Sousa R, Mattar S, Venzal J, Abarca K, et al. Guía Latinoamericana de la RIICER para el diagnóstico de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas. *Revista Chilena de Infectología.* 2014;31(1):54-65. [Disponible en: doi: 10.4067/S0716-10182014000100009 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>32</sup> Guillemi EC, Tomassone L, Farber MD. Tick-Borne Rickettsiales: Molecular Tools for the Study of an Emergent Group of Pathogens. *J Microbiol Methods.* 2015;119:87-97. [Disponible en: doi: 10.1016/j.mimet.2015.10.009 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>33</sup> Stich RW, Rikihisa Y, Ewing SA, Needham GR, Grover DL, Jittapalpong S. Detection of *Ehrlichia canis* in Canine Carrier Blood and in Individual Experimentally Infected Ticks with a p30-Based PCR Assay. *J Clin Microbiol.* 2002;40(2):540-546.
- <sup>34</sup> Vitale G, Mansuelo S, Rolain JM, Raoult D. Rickettsia massiliae Human Isolation. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(1):174-5. [Disponible en: doi: 10.3201/eid1201.050850 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>35</sup> Parola P, Socolovschi C, Jeanjean L, Bitam I, Fournier P, Sotto A, et al. Warmer Weather Linked to Tick Attack and Emergence of Severe Rickettsiosis. *Plos Neg Trop Dis.* 2008;2:e338. [Disponible en: doi: 10.1371/journal.pntd.0000338 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>36</sup> Podsiady E, Chmielewski T, Karbowski G, Kedra E, Tylewska-Wierzbanska S. The Occurrence of Spotted Fever Rickettsioses and other Tick-Borne Infections in Forest Workers in Poland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(7):985-9.
- <sup>37</sup> Cascio A, Torina A, Valenzise M, Blanda V, Camarda N, Bombaci S, et al. Scalp Eschar and Neck Lymphadenopathy Caused by Rickettsia massiliae. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(5):836-7. [Disponible en: doi: 10.3201/eid1905.121169 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>38</sup> Beeler E, Abramowicz KF, Zambrano ML, Sturgeon MM, Khalaf N, Hu R, et al. A Focus of Dogs and Rickettsia massiliae-Infected Rhipicephalus sanguineus in California. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(2):244-9. [Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.2011 ] [Último acceso: 18/10/2019]
- <sup>39</sup> Carpenter TL, McMeans MC, McHughes CP. Additional Instances of Human Parasitism by the Brown Dog Tick. *J Med Entomology.* 1990;2:1065-6.
- <sup>40</sup> De la Fuente J, Estrada-Pena A, Venzal JM, Kocan KM, Sonenshine DE. Overview: Ticks as Vectors of Pathogens that Cause Disease in Humans and Animals. *Front Biosci.* 2008;13:6938-46.
- <sup>41</sup> Serra-Freire NM. Occurrence of Ticks (Acari: Ixodidae) on Human Hosts, in Three Municipalities in the State of Pará, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19(3):141-7. [Disponible en: doi: 10.1590/S1984-29612010000300003 ] [Último acceso: 04/10/2019]
- <sup>42</sup> Guglielmo AA, Beati L, Barros Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal J, et al. Ticks (Ixodidae) on Humans in South America. *Exp Appl Acarology.* 2006;40:83-100.
- <sup>43</sup> Lamattina D, Nava S. Ticks Infesting Humans in Northern Misiones, Argentina. *Medicina (B Aires).* 2016;76(2):89-92.
- <sup>44</sup> Cicuttin G, Brambati D, Rodríguez Eugui J, González Lebrero C, De Salvo N, Vidal P, Gury Dohmen F. Garrapatas duras (Familia Ixodidae) en caninos domésticos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y del municipio de Bahía Blanca (Argentina). 2do Encuentro Nacional sobre Enfermedades Olvidadas y XIV Simposio Internacional sobre Control Epidemiológico de Enfermedades Transmitidas por Vectores, 2011, p. 45, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- <sup>45</sup> Louly CCB, Fonseca IN, Oliveira VF, Borges LMF. Ocorrência de Rhipicephalus sanguineus em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiania. *Ciencia Anim Bras.* 2006;7:103-106.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.