

***Candidatus* 'Rickettsia andeanae' en *Amblyomma tigrinum*, La Rioja (Argentina)**

Candidatus 'Rickettsia andeanae' in *Amblyomma tigrinum*, La Rioja (Argentina)

ARK-CAICYT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s26182734/drio493zk>

María Nazarena De Salvo^{1*} ; Cristian Bizzotto² ; Paula Díaz Pérez¹ ; Gabriel Leonardo Cicuttin¹ 

1- Instituto de Zoonosis Luis Pasteur - Buenos Aires.

2- Área de Artrópodos de Interés Sanitario y Animales Ponoñosos.
Dirección General de Epidemiología del Ministerio de Salud, La Rioja

Resumen. El objetivo del presente estudio fue detectar molecularmente especies del género *Rickettsia* y de la familia *Anaplasmataceae* en garrapatas de La Rioja (Argentina). Se estudiaron 59 garrapatas, colectadas del ambiente y de humanos de distintos barrios de La Rioja capital, y de un perro de la localidad Villa Sanagasta. Las mismas fueron identificadas como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (48) y *Amblyomma tigrinum* (11). Una hembra de *A. tigrinum*, colectada del perro, resultó positiva a la PCR para *Rickettsia* spp. El producto amplificado pudo ser secuenciado resultando en un 100% de identidad con '*Candidatus* *Rickettsia andeanae*'. Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio de detección de microorganismos en garrapatas de La Rioja. En Argentina, '*Ca. R. andeanae*' se encontró en *A. tigrinum* de Tucumán y San Luis, en *A. parvum* de Córdoba y en *A. parvum* y *A. pseudoconcolor* del noreste argentino. Esta especie de *Rickettsia* al presente es considerada de patogenicidad desconocida para humanos y animales; pero creemos necesario continuar y ampliar los estudios sobre las especies de garrapatas y sus patógenos asociados presentes en esta región del país.

Palabras claves: *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, La Rioja, Argentina

Abstract. This study aimed to molecularly detect species of the genus *Rickettsia* and the family *Anaplasmataceae* in ticks from La Rioja (Argentina). The fifty-nine ticks studied were collected from the environment and from humans from different neighborhoods of La Rioja capital, and from one dog from Villa Sanagasta town. They were identified as *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (48) and *Amblyomma tigrinum* (11). A female *A. tigrinum*, obtained from the dog, was positive for *Rickettsia* spp PCR. The amplified product could be sequenced and resulted in 100% identity with '*Candidatus* *Rickettsia andeanae*'. As far as we know, this is the first study to detect microorganisms in ticks in La Rioja. In Argentina, '*Ca. R. andeanae*' was found in *A. tigrinum* from Tucumán and San Luis, in *A. parvum* from Córdoba and in *A. parvum* and *A. pseudoconcolor* from northeast Argentina. This *Rickettsia* species is currently considered to be of unknown pathogenicity for humans and animals. But we believe it necessary to continue and expand the studies on the tick species and their associated pathogens present in this region of Argentina.

Keywords: *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, La Rioja, Argentina

Artículo recibido: 2 de octubre de 2021

Artículo aceptado: 20 de diciembre de 2021

***Autora para correspondencia:** Av. Díaz Vélez 4821, 1405, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, +541149589934, mndesalvo@gmail.com.

Financiamiento: el presente estudio no tuvo financiamiento externo.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas (filo *Arthropoda*, clase *Arachnida*, subclase *Acari*, orden *Parasitiformes*, suborden *Ixodida*) se consideran potenciales vectores de una amplia diversidad de microorganismos, muchos de ellos patógenos para los humanos y animales (Sonenshine y Roe, 2014).

Los integrantes de las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae* son las especies más relevantes de patógenos transmitidos por garrapatas (Sonenshine y Roe, 2014). Las rickettsias (género *Rickettsia*, familia *Rickettsiaceae*, orden *Rickettsiales*, filo *Proteobacteria*) son bacterias intracelulares obligadas. En las últimas décadas, se han descrito numerosas nuevas cepas o especies (Parola *et al.*, 2013; Parte *et al.*, 2020), algunas patógenas para los humanos y animales, presentando tropismo por las células endoteliales, con vasculitis, microhemorragias, aumento de la permeabilidad vascular, edema, entre otros (Fournier y Raoult, 2009; Merhej y Raoult, 2011). En La Rioja se ha reportado la ocurrencia de casos humanos de rickettsiosis por *Rickettsia parkeri*, posiblemente transmitida por la garrapata *Amblyomma tigrinum* (Romer *et al.*, 2014; Borrás *et al.*, 2018). La familia *Anaplasmataceae* (orden *Rickettsiales*, filo *Proteobacteria*) está conformada por los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* y *Wolbachia* (Dumler *et al.*, 2001). Las especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* presentan tropismo por células hematopoyéticas (maduras e inmaduras) y son agentes etiológicos de diversas enfermedades en humanos, perros y otros cánidos y rumiantes (Dumler *et al.*, 2001, 2007).

El objetivo del presente estudio fue detectar especies del género *Rickettsia* y de la familia *Anaplasmataceae* en garrapatas de La Rioja (Argentina).

MATERIALES Y MÉTODOS

En 2018, se recibieron garrapatas en el Área de Artrópodos de Interés Sanitario del Ministerio de Salud de La Rioja. Los especímenes fueron colectados del ambiente y de humanos de distintos barrios de La Rioja capital, y de un perro de la localidad Villa

Sanagasta, en el marco de acciones sanitarias. Posteriormente, fueron derivados al Instituto de Zoonosis Luis Pasteur para su identificación y diagnóstico molecular. Los ejemplares se mantuvieron en etanol al 70% y fueron identificados siguiendo las claves taxonómicas descritas por Nava *et al.* (2017).

El ADN fue extraído de las garrapatas mediante kit de columnas (High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®, Mannheim, Germany)). Para ello se realizó un corte longitudinal y se disgregó cada ejemplar con ayuda de un mortero descartable. Posteriormente se siguieron las indicaciones del protocolo para cola de ratón del fabricante. Se utilizó agua libre de nucleasas como control negativo de extracción.

Se realizó una PCR de tamizaje para detectar el género *Rickettsia*, mediante la amplificación de una porción del espacio intergénico 23S-5S ARNr (Jado *et al.*, 2006). A las muestras positivas se les realizó una segunda PCR, utilizando cebadores para un fragmento del gen de la citrato sintasa (*gltA*) (Labruna *et al.*, 2004). ADN de *Rickettsia massiliae* fue utilizado como control positivo. Para la familia *Anaplasmataceae* se realizó una PCR para un fragmento del 16S ARNr (Parola *et al.*, 2000), y ADN de *Anaplasma centrale* como control positivo. Como control negativo en todas las PCRs se utilizó agua libre de nucleasas.

Los productos amplificados fueron purificados con Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, USA) y secuenciados en un secuenciador 3500 Genetic Analyzer sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU). Las secuencias obtenidas fueron editadas con el programa BioEdit (Hall, 1999), y comparadas con aquellas disponibles en GenBank mediante la utilización del software BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast).

RESULTADOS

En total se obtuvieron 59 garrapatas que fueron identificadas como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (48) y *Amblyomma tigrinum* (11) (Tabla 1).

Hospedador / Ambiente	<i>Amblyomma tigrinum</i>			<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato			Total
	Ninfa	Hembra	Macho	Ninfa	Hembra	Macho	
Perro	0	1	0	0	0	0	1
Humano	0	0	0	0	3	2	5
Ambiente	3	4	3	26	11	6	53
Total	3	5	3	26	14	8	59

Tabla 1. Especies de garrapatas estudiadas

Mediante la PCR para el fragmento 23S-5S del género *Rickettsia*, sólo 1 hembra de *A. tigrinum* colectada de un perro de Villa Sanagasta resultó positiva. El producto amplificado pudo ser secuenciado (número de acceso de GenBank: OK129300) resultando en un 100% de identidad con 'Candidatus *Rickettsia andeanae*' (KX576679) detectada en *A. tigrinum* de San Luis (Argentina). La muestra también resultó positiva a la PCR del fragmento del *gltA* del género *Rickettsia*; y la secuencia obtenida (número de acceso de GenBank: OK129301) mostró un 100 % de identidad con 'Ca. *R. andeanae*' detectadas en *A. tigrinum* de Argentina, *Amblyomma parvum* de Brasil (KT153033.1) y *Amblyomma maculatum* de Perú (GU169050.1).

Todas las garrapatas resultaron negativas a la PCR para el fragmento del 16S ARNr de la familia *Anaplasmataceae*.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio de detección de microorganismos en garrapatas de La Rioja (Argentina).

Amblyomma tigrinum es una garrapata con amplia distribución en Sudamérica, ya que presenta una gran plasticidad adaptativa a diferentes ecosistemas (Nava *et al.*, 2017). En Argentina, se encuentra en todas las regiones fitogeográficas al norte del paralelo 40° S (Guglielmone *et al.*, 2000). Los principales hospedadores de las larvas de *A. tigrinum* son los roedores (*Cricetidae*: *Sigmodontinae*) y aves; mientras que las ninfas parasitan principalmente al roedor *Galea musteloides* (*Caviidae*: *Caviinae*) y los adultos se encuentran en carnívoros (domésticos y silvestres), aunque pueden parasitar a otros mamíferos grandes, incluyendo a los humanos (Nava *et al.*, 2017).

En Argentina, 'Ca. *R. andeanae*' se encontró en *A. tigrinum* de Tucumán (Saracho Bottero *et al.*, 2015) y San Luis (Cicuttin *et al.*, 2016), en *A. parvum* de Córdoba (Pacheco *et al.*, 2007) y en *A. parvum* y *A. pseudoconcolor* del noreste argentino (Tomassone *et al.*, 2010). Al presente, 'Ca. *R. andeanae*' es considerada de patogenicidad desconocida para humanos y animales (Saracho Bottero *et al.*, 2015).

En nuestro estudio no detectamos la presencia de *R. parkeri* en *A. tigrinum*, aunque esta rickettsia fue causal de varios casos humanos en La Rioja, posiblemente asociados a esta especie de garrapata (Romer *et al.*, 2014; Borrás *et al.*, 2018). Paddock *et al.* (2015) han sugerido interferencia entre la infección por 'Ca. *R. andeanae*' y por *R. parkeri* en *Amblyomma maculatum* de EEUU, aunque en nuestro estudio el número de *A. tigrinum* analizadas ha sido muy bajo como para sacar conclusiones.

Por otro lado, dos estudios en Argentina detectaron distintas especies de *Ehrlichia* en *A. tigrinum* de Córdoba, San Luis y Corrientes (Cicuttin *et al.*, 2017; Eberhardt *et al.*, 2019). En el presente estudio, no hemos detectado este género bacteriano en *A. tigrinum*.

La denominada garrapata marrón del perro, *R. sanguineus* s.l., presenta una amplia distribución mundial, siendo de importancia para la salud humana y veterinaria. En América, *R. sanguineus* s.l. está conformada por al menos dos linajes. El linaje tropical se ubica en localidades tropicales y subtropicales, incluyendo el norte de Argentina, y se encuentra relacionado filogenéticamente con garrapatas de África. El linaje templado (*R. sanguineus* sensu stricto) se distribuye en áreas templadas de Argentina, Chile, Uruguay, EEUU y Europa (Nava *et al.*, 2012, 2018). Aunque no hay reportes puntuales sobre *R. sanguineus* s.l. en La Rioja, ejemplares colectados en regiones cercanas de Salta, San Juan y Mendoza

fueron molecularmente determinados como pertenecientes al linaje templado (*R. sanguineus* s.s.) (Nava *et al.*, 2012). En *R. sanguineus* s.s. de Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), Buenos Aires y Mendoza se ha detectado infección por *Rickettsia massiliae* (Cicuttin *et al.*, 2004; Cicuttin *et al.*, 2014; Cicuttin *et al.*, 2014; Monje *et al.*, 2016; Borrás *et al.*, 2019); existiendo un reporte de ocurrencia de un caso humano por esta rickettsia en CABA (García-García *et al.*, 2010). Respecto a la familia *Anaplasmataceae*, en *R. sanguineus* s.s. se halló *Anaplasma platys* en CABA y Corrientes (Oscherov *et al.*, 2011; Cicuttin *et al.*, 2015) y *Ehrlichia canis* en Buenos Aires y Mendoza (Cicuttin *et al.*, 2017; Sebastian *et al.*, 2021). En el presente estudio, no hemos detectado ninguno de estos microorganismos en los 48 ejemplares analizados.

Este trabajo presenta un primer acercamiento a la problemática de los patógenos transmitidos por garrapatas en La Rioja, siendo necesario continuar y ampliar los estudios sobre las especies de garrapatas y sus patógenos asociados presentes en esta región.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borras, P., Carranza, J., Lloveras, S., Orduna, T., Troglia, F., Govedic, F., *et al.* (2018). 2007-2017: 10 years of *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in Argentina. *International Journal of Infectious Diseases*, 73: 18. doi:10.1016/j.ijid.2018.04.3466
- Borrás, P., Sanchez, J., Guillemi, E., De la Fourniere, S., Abadia, M., Farber, M., *et al.* (2019). Detección de bacterias de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Rickettsia* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l en Pergamino, Argentina. *Revista Argentina de Salud Pública*, 10: 8–13.
- Cicuttin, G., De Salvo, M., Serna, C., Machado, R., Silva, D., Gury Dohmen, F. *et al.* (2016). “*Candidatus Rickettsia andeanae*” en *Amblyomma tigrinum*. *Revista FAVE - Sección Ciencias Veterinarias*, 15: 21–24.
- Cicuttin, G., De Salvo, M., Silva, D.; 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., Brambati, D.F., Rodríguez Eugui, J.I., González Lebrero, C., De Salvo, M.N., Beltrán, F.J., *et al.* (2014). Molecular characterization of *Rickettsia massiliae* and *Anaplasma platys* infecting *Rhipicephalus sanguineus* ticks and domestic dogs, Buenos Aires (Argentina). *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5 (5): 484–488. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.001>.
- Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Nava, S. (2017). Two novel *Ehrlichia* strains detected in *Amblyomma tigrinum* ticks associated to dogs in peri-urban areas of Argentina. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 53: 40–44. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.07.001>
- Cicuttin, G.L., De Salvo, M.N., Siccardi, F.M., Gramajo, L., Gury Dohmen, F.E. (2015). Caninos domésticos con elevada infestación por garrapatas y patógenos bacterianos asociados en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. *Revista Argentina Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*, X: 13–16.
- Cicuttin, G.L., Rodríguez Vargas, M., Jado, I., Anda, P. (2004). Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. Comunicación preliminar. *Revista Argentina Zoonosis I*: 8–10.
- Cicuttin, G. L., Vidal, P., De Salvo, M.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). *Revista Chilena de Infectología*, 31: 563–568.
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., Dasch, G.A., Palmer, G.H., *et al.* (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘HGE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51 (6): 2145–2165. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>
- Dumler, J.S., Madigan, J.E., Pusterla, N., Bakken, J.S. (2007). Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 45 Suppl 1: S45–S51. <https://doi.org/10.1086/518146>

Final del formulario

Eberhardt, A.T., Fernandez, C., Fargnoli, L., Beldomenico, P.M., Monje, L.D. (2019). A putative novel strain of *Ehrlichia* infecting *Amblyomma tigrinum*

- associated with Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in Esteros del Ibera ecoregion, Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 11: 9–10. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.101318
- Fournier, P.E. & Raoult, D. (2009). Current knowledge on phylogeny and taxonomy of *Rickettsia* spp. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166, 1–11. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04528.x
- García-García, J.C., Portillo, A., Núñez, M.J., Santibáñez, S., Castro, B., Oteo, J.A. (2010). A patient from Argentina infected with *Rickettsia massiliae*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82 (4): 691–692. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-066282, 691–2.
- Guglielmone, A.A., Mangold, A.J., Luciani, C.E., Viñabal, A.E. (2000). *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in relation to phytogeography of central-northern Argentina with notes on hosts and seasonal distribution. *Experimental and Applied Acarology*. 24: 983–989. doi:10.1023/A:1010775528628
- 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.
- Jado, I., Escudero, R., Gil, H., Jiménez-Alonso, M.I., Sousa, R., García-Pérez, A.L. et al... (2006). Molecular method for identification of *Rickettsia* species in clinical and environmental samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 4572–6. doi:10.1128/JCM.01227-06
- Labruna, M.B., McBride, J., Bouyer, D.H., Camargo, L.M.A., Camargo, E.P., Walker, D.H. (2004). Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 41: 533–537.
- Merhej, V. & Raoult, D. (2011). Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 86: 379–405. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00151.x
- Monje, L.D., Linares, M.C., Beldomenico, P.M. (2016). Prevalence and infection intensity of *Rickettsia massiliae* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks from Mendoza, Argentina. *Microbes and Infection*. 6–10. doi:doi:10.1016/j.micinf.2016.06.008
- Nava, S., Beati, L., Venzal, J.M., Labruna, M.B., Szabó, M.P.J., Petney, T. et al... (2018). *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(6): 1573–1585. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.08.001
- 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*, 190: 547–555. doi:10.1016/j.vetpar.2012.06.032
- Nava, S., Venzal, J.M., González-Acuña, D., Martins, T.F., Guglielmone, A.A. (2017). Ticks of the Southern Cone of America: diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press, London.
- 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. *Revista Ibero-latino-americana de Parasitología*, 70: 42–47.
- Pacheco, R.C., Moraes-Filho, J., Nava, S., Brandão, P.E., Richtzenhain, L.J., Labruna, M.B. (2007). Detection of a novel spotted fever group rickettsia in *Amblyomma parvum* ticks (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Experimental and Applied Acarology*. 43: 63–71. doi:10.1007/s10493-007-9099-5
- Paddock, C.D., Denison, A.M., Dryden, M.W., Noden, B.H., Lash, R.R., Abdelghani, S.S. et al... (2015). High prevalence of “*Candidatus Rickettsia andeanae*” and apparent exclusion of *Rickettsia parkeri* in adult *Amblyomma maculatum* (Acari: Ixodidae) from Kansas and Oklahoma. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6: 297–302. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.02.001
- Parola, P., Paddock, C.D., Socolovschi, C., Labruna, M.B., Mediannikov, O., Kernif, T. (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical Microbiology Reviews*. 26: 657–702. doi:10.1128/CMR.00032-13
- Parola, P., Roux, V., Camicas, J., Baradji, I., Brouqui, P., Raoult, D. (2000). Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94 (6): 707–709.
- Parte, A.C., Carbasse, J.S., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C., Göker, M. (2020). List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (11): 5607–5612. doi:10.1099/ijsem.0.004332
- Romer, Y., Nava, S., Govedic, F., Cicuttin, G., Denison, A.M., Singleton, J. et al... (2014). *Rickettsia parkeri*

Rickettsiosis in different ecological regions of Argentina and its association with *Amblyomma tigrinum* as a potential vector. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 1156–1160. doi:10.4269/ajtmh.14-0334

Saracho Bottero, M.N., Tarragona, E.L., Nava, S. (2015). Spotted fever group rickettsiae in *Amblyomma* ticks likely to infest humans in rural areas from northwestern Argentina. *Medicina. (Buenos Aires)*, 75 (6): 391–395.

Sebastian, P.S., Mera y Sierra, R., Neira, G., Hadid, J., Flores, F.S., Nava, S. (2021). Epidemiological link between canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis* and the presence of *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto in Argentina. *Parasitology Research*, 120: 725–729. doi:10.1007/s00436-020-07005-7

Sonenshine, D.E. & Roe, M. (2014). *Biology of Ticks*. Oxford University Press, Oxford.

Tomassone, L., Nuñez, P., Ceballos, L., Gürtler, R., Kitron, U., Farber, M. (2010). Detection of “*Candidatus* Rickettsia sp. strain Argentina” and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina. *Experimental and Applied Acarology*. 52(1): 93–100. doi:10.1007/s10493-010-9339-y