



**Detección molecular de *Rickettsia* en garrapatas (Acari: Ixodida) asociadas a aves del bosque seco tropical de la Universidad del Magdalena.**

**Miguel Mateo Rodríguez García**

**Universidad Magdalena**

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Santa Marta, Colombia

2021



**Detección molecular de *Rickettsia* en garrapatas (Acari: Ixodida) asociadas a aves del bosque seco tropical de la Universidad del Magdalena.**

**Miguel Mateo Rodríguez García**

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Biólogo**

Director (a):

Ph.D, Lyda Raquel Castro García

Codirector (a):

Doctor, Fernando Sebastián Flores

Línea de Investigación:

Biología molecular

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación Evolución, sistemática y ecología molecular

Universidad del Magdalena

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Santa Marta, Colombia

2021

# Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por el Acuerdo Superior N° 11 de 2017 y Acuerdo Académico N° 41 de 2017 para optar al título de Biólogo

---

Jurado

---

Jurado

Santa Marta, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

*(Dedicatoria o lema)*

*Su uso es opcional. En ella el autor o autores del trabajo dedican su trabajo en forma especial a personas o entidades.*

*Por ejemplo:*

*A mis padres*

## **AGRADECIMIENTOS**

Nada de lo que he escrito durante esta carrera se compara con la sensación al escribir este párrafo. Aunque tenga muchas palabras clave en mente, un resumen de 300 palabras se hace extenso y no porque no tenga a quien agradecerle, por el contrario, muchas personas aportaron positivamente en este proceso. A todos esos Et al, les doy las gracias de corazón.

A los autores que me acompañaron en este pasó final, Ángel Oviedo, Andrea Cotes, Andrés Redondo y Joseph Peña. A los que estuvieron con migo durante todo este camino, Victoria Carmona, Karen Murillo, Delany Berdugo y Miller Florián, a todos, un cálido abrazo.

A mi directora Lyda Castro y mi codirector Sebastián Flores mi mayor respeto y admiración, he infinitas gracias por las oportunidades y confianza depositada en mí.

Por último, a mis autores principales, mi familia, Hermes Rodríguez, Amalfi García, Juan Camilo Rodrigues y Jesús Gabriel Rodríguez, sin ustedes, este, el escrito más importante de toda mi carrera no habría sido posible. Por ustedes y para ustedes, con cariño Mateo.





# Contenido

|  | Pág. |
|--|------|
| 1. Introducción .....                              | 15   |
| 2. Materiales y Métodos.....                       | 17   |
| 2.1 Trabajo de campo .....                         | 17   |
| 2.1.1 Área de estudio.....                         | 17   |
| 2.1.2 Colecta de especímenes .....                 | 19   |
| 2.2 Trabajo de laboratorio.....                    | 19   |
| 2.2.1 Identificación de especímenes .....          | 19   |
| 2.2.2 Extracción de ADN .....                      | 19   |
| 2.2.3 Amplificación de COI, GltA, Sca1 y ompA..... | 20   |
| 2.2.4 Análisis de secuencias .....                 | 21   |
| 2.2.5 Análisis filogenéticos.....                  | 21   |
| 3. Resultados .....                                | 23   |
| 4. Discusión .....                                 | 32   |
| 5. Conclusión.....                                 | 35   |
| 6. Referencias bibliográficas .....                | 36   |

# Lista de figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Area de estudio.....   | 18 |
| <b>Figura 2.</b> Ninfa de <i>Amblyomma dissimile</i> <b>(a)</b> vista dorsal <b>(b)</b> vista ventral ..... | 24 |
| <b>Figura 3.</b> Larva de <i>Amblyomma dissimile</i> <b>(a)</b> vista dorsal <b>(b)</b> vista ventral.....  | 25 |
| <b>Figura 4.</b> Arbol filogenética <i>Amblyomma dissimile</i> .....  | 26 |
| <b>Figura 5.</b> Electroforesis de PCR positiva para Rickettsia .....                                       | 27 |
| <b>Figura 6.</b> Arbol filogenético <i>Candicatus Rickettsia colombianensis</i> GltA.....                   | 28 |
| <b>Figura 7.</b> Arbol filogenético <i>Candicatus Rickettsia colombianensis</i> ompA.....                   | 28 |
| <b>Figura 8.</b> Arbol filogenético <i>Candicatus Rickettsia colombianensis</i> Sca1.....                   | 29 |
| <b>Figura 9.</b> Arbol filogenético <i>Candicatus Rickettsia colombianensis</i> GltA, ompA y Sca1.<br>..... | 30 |

# Lista de tablas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Condiciones de PCR .....                                       | 20 |
| <b>Tabla 2.</b> Números de accesoión GenBank .....                             | 22 |
| <b>Tabla 3.</b> Orden, familia, especie e individuos con garrapatas.....       | 23 |
| <b>Tabla 4.</b> Especies de aves con garrapatas infestadas por rickettsia..... | 31 |

## LISTA DE SÍMBOLOS

| <b>Símbolo</b>     | <b>Significado</b>   |
|--------------------|--|
| $\mu\text{l}$      | Unidad de volumen equivalente a la millonésima parte de un litro.    |
| $\mu\text{m}$      | Unidad de longitud equivalente a una milésima parte de un milímetro. |
| Pb                 | Pares de bases   |
| $^{\circ}\text{C}$ | Grados Celsius   |
| s                  | Segundos   |

# Resumen

Las aves son hospederos importantes en el ciclo de vida de especies de garrapatas, las cuales son transmisoras de especies de rickettsias en animales y humanos. Debido a la alta diversidad de especies de aves en el bosque seco tropical, este trabajo describe el hallazgo y identificación de las garrapatas y especies de *Rickettsia* en las garrapatas asociadas a las aves en un relicto de bosque seco tropical en el departamento de Magdalena, Colombia. Realizando muestreos entre los meses de febrero y septiembre del 2021 se capturó un total de 367 aves, distribuidas en 41 especies. De las aves capturadas, 60 fueron recolectadas con garrapatas (524 larvas y 9 ninfas), siendo las especies de aves *Troglodytes aedon* y *Campylorhynchus griseus* las que presentaron mayor abundancia. Las garrapatas fueron identificadas taxonómicamente con la ayuda de claves y descripciones morfológicas, y confirmadas molecularmente mediante la amplificación del gen 16S y COI. Todas las garrapatas fueron identificadas como *Amblyomma dissimile*, confirmadas con secuencias depositadas en el GenBank. Además, se realizó la detección de *Rickettsia* en las garrapatas recolectadas mediante el análisis molecular de los genes *gltA*, *OmpA* y *sca1*. Se detectó la presencia de la especie *Candidatus Rickettsia colombianensis* en las garrapatas que parasitan a las aves del bosque seco tropical en el departamento de Magdalena, Colombia.

**Palabras clave:** Zoonosis, garrapata, *Rickettsia*, parasito, aves.

# ABSTRACT

Las aves son hospederos importantes en el ciclo de vida de especies de garrapatas, las cuales son transmisoras de especies de rickettsias en animales y humanos. Debido a la alta diversidad de especies de aves en el bosque seco tropical, este trabajo describe el hallazgo de la identificación de las garrapatas y especies de *Rickettsia* en las garrapatas asociadas a las aves en un relicto de bosque seco tropical en el departamento de Magdalena, Colombia. Realizando pruebas entre los meses de febrero y septiembre del 2021 se capturó un total de 367 aves, distribuidas en 41 especies. De las aves capturadas, 60 fueron recolectadas con garrapatas (524 larvas y 9 ninfas), siendo las especies de aves *Troglodytes aedon* y *Campylorhynchus griseus* las que presentaron mayor abundancia. Las garrapatas fueron identificadas taxonómicamente con la ayuda de claves y descripciones morfológicas, y confirmadas molecularmente mediante la amplificación del gen 16S y COI. Todas las garrapatas fueron identificadas como *Amblyomma dissimile*, confirmadas con secuencias depositadas en el GenBank. Además, se realizó la detección de *Rickettsia* en las garrapatas recolectadas mediante el análisis molecular de los genes *gltA*, *OmpA* y *sca1*. Se detectó la presencia de la especie *Candidatus Rickettsia colombianensis* en las garrapatas que parasitan las aves del bosque seco tropical en el departamento de Magdalena, Colombia.

**Keywords:** Zoonoses, tick, *Rickettsia*, parasite, birds.



# 1. INTRODUCCIÓN

La zoonosis, es conocida como aquellas enfermedades que se transmiten de los animales al hombre, representan una seria amenaza para la salud y el bienestar de las personas (Dabanch, 2003). Constantemente surgen nuevas enfermedades zoonóticas a medida que la actividad humana se expande a nuevos territorios que contienen focos naturales de infección. Algunos de los principales agentes infecciosos involucrados incluyen bacterias, virus y hongos entre otros (Szyfres, 2003).

Los agentes infecciosos involucrados en las zoonosis pueden ser transmitidos por distintos mecanismos como: el contacto directo, ingestión, inhalación, por vectores intermediarios o mordeduras (Dabanch, 2003). Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados y algunas especies pueden actuar como vectores de microorganismos patógenos como protozoarios, bacterias y virus (Guglielmone et al., 2004, 2003; Horak et al., 2002). Estas son cosmopolitas principalmente de climas cálidos (Guglielmone et al., 2004) y son reconocidas como el segundo vector de enfermedades en el mundo, después de los mosquitos (Jongejan y Uilenberg, 2004).

De las enfermedades transmitidas por garrapatas, las rickettsiosis son de las más importantes por su severidad (Ortiz et al., 2015). Las bacterias del género *Rickettsia* pertenecen a la familia Rickettsiaceae y tienen en común la característica de ser parásitos intracelulares obligados (Drancourt y Raoult, 1994). Su tamaño oscila entre 0.2-0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro por 0.3 - 2.0  $\mu\text{m}$  de longitud (Ramírez, 2014). Los miembros de este género se clasifican actualmente en cuatro grupos según sus características genéticas: grupo de las fiebres manchadas (GFM) (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii* y *Rickettsia parkeri*, entre otras); grupo del tifus (*Rickettsia prowazekii* y *Rickettsia typhi*); grupo transicional (*Rickettsia felis*, *Rickettsia akari* y *Rickettsia australis*); y grupo ancestral (*Rickettsia bellii* y *Rickettsia canadensis*), este último no tiene un carácter patógeno conocido (Mansueto et al., 2012).

El ciclo de vida de las *Rickettsias* involucra hospederos vertebrados y vectores invertebrados (Vélez et al., 2012). Las garrapatas pueden adquirir las bacterias a través de la transmisión transovárica (hembra a huevo), lo que permite desarrollar larvas infectadas, manteniendo y amplificando la infección en las poblaciones de garrapatas; por transmisión trans-estadial (de larva a ninfa y de ninfa a adulto); o por adquisición

---

horizontal durante la alimentación desde un huésped rickettsémico (Ramírez, 2014; Walker e Ismail, 2008; Raoult et al., 2006).

En Latinoamérica y el Caribe se ha reportado un gran número de especies de *Rickettsia*, lo que podría estar directamente relacionado con procesos de fragmentación de hábitat por actividades antropogénicas; esto no solo amenaza los distintos ecosistemas, si no que altera la circulación de agentes zoonóticos en los mismos aumentando los riesgos de infección en las poblaciones humanas (Ogrzewalska et al., 2011). En Colombia, el primer brote de rickettsiosis sucedió en 1937, documentado por el Dr. Luis Patiño en Cundinamarca. Debido a que se trataba de una enfermedad con síntomas inespecíficos fue nombrada como fiebre de Tobia, y presentaba una tasa de letalidad del 95% (Patiño et al., 1989). Luego, en el 2005, se registraron brotes en la región de Villeta (Vélez et al., 2012) y Útica (Faccini et al., 2013). Surgiendo como una enfermedad reemergente, presentó brotes con alta tasa de mortalidad en los municipios de Turbo y Necoclí Antioquia (Londoño et al., 2014; Pacheco et al., 2008; Acosta et al., 2006), Caldas (Hidalgo et al., 2008), Sucre (Hernández y Mercado, 2014), Cesar (Ortiz et al., 2015) y Córdoba en el 2007 (Miranda y Mattar, 2014; Hidalgo et al., 2011). Nuevos estudios en esta zona confirmaron una alta prevalencia de anticuerpos para *Rickettsia* del GFM en personas sanas y demuestran que el noreste del país es una zona endémica de al menos una especie de *Rickettsia* (Londoño et al., 2014). Sin embargo, la rickettsiosis en Colombia no es considerada una enfermedad de declaración obligatoria (Ortiz et al., 2015) y no se diagnostica oportunamente, no solo por la especificidad que la asocia con otras enfermedades como dengue, leptospirosis y malaria, sino también por la imposibilidad de acceso a los laboratorios de diagnóstico locales y por la falta de vigilancia epidemiológica (Hidalgo et al., 2008).

Las aves son hospederos importantes en el ciclo de vida de algunas especies de garrapata, principalmente para los estadios inmaduros (larva y ninfa). Algunas de estas especies son vectores de patógenos para animales y humanos (Vivas et al., 2019; Luz et al., 2017; Ramos et al., 2015; Flores et al., 2014; Parola et al., 2013; Ogrzewalska et al., 2009a; Sonenshine et al., 2002). El rol de las aves en la dispersión de enfermedades ha sido documentado ya que tienen la capacidad de transportar garrapatas que son típicas de ciertas zonas a otras regiones lejanas durante las migraciones (Scott y Durden, 2015a; 2015b) y junto con ellas a los patógenos que estas transmiten, abriendo la

---

posibilidad a un flujo constante de garrapatas y patógenos (Budachetri et al., 2017; Luz et al., 2017; Ramos et al., 2015; Cohen et al., 2015 ; Mukherjee et al., 2014; Parola et al., 2013; Scott et al., 2001).

Colombia es el país con mayor número de especies de aves en el mundo, las cuales han sido estudiadas debido a su asociación con enfermedades virales como la influenza aviar y estudios realizados por Martínez-Sánchez et al. (2021); Cardona-romero et al. (2020); Londoño et al. (2014) sugieren que existe un papel importante de las aves en mantener la circulación y facilitar la dispersión de *Rickettsias*.

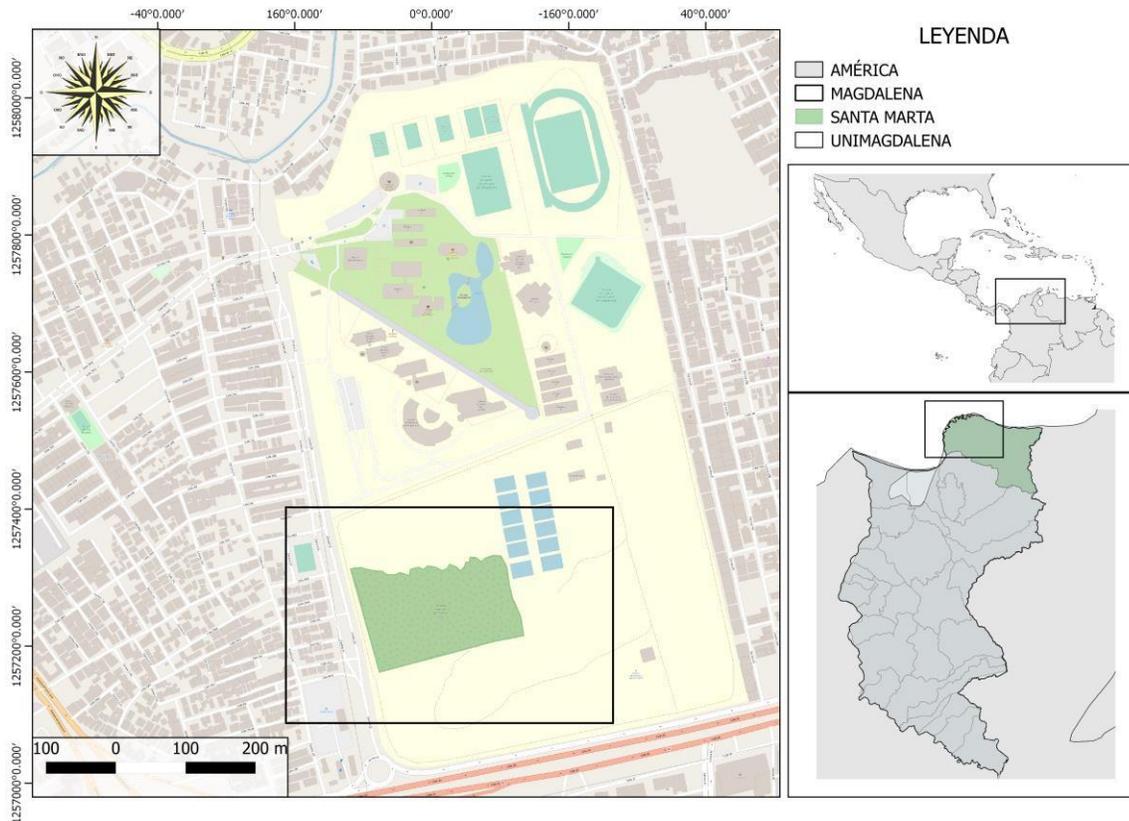
En general para Colombia existen pocos estudios eco-epidemiológicos de enfermedades transmitidas por garrapatas, los existentes han sido focalizados en áreas donde han ocurrido brotes inusitados, dejando un vacío en áreas con silencio epidemiológico. Por lo tanto, es latente la necesidad de profundizar en el conocimiento de las especies de *Rickettsia* y conocer sus vectores y hospedadores, lo que ayudaría a fundamentar políticas en áreas relacionadas a salud pública y animal en el departamento del Magdalena. En la Universidad del Magdalena se ha reportado previamente la diversidad de fauna avícola silvestre, registrando un total de 186 especies de aves, con 38 especies residentes, 77 transitorias avistadas ocasionalmente y 72 migratorias (Strewe et al., 2009). Sin embargo, no existe ningún estudio para la región del Magdalena, relacionado con las especies de garrapata y los patógenos asociados a las aves silvestres, por lo cual este estudio tiene como objetivo identificar la presencia de *Rickettsia* en las garrapatas que parasitan a la población de aves del Bosque seco tropical de la Universidad Del Magdalena.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 TRABAJO DE CAMPO**

#### **2.1.1 ÁREA DE ESTUDIO**

El estudio se realizó en un fragmento de bosque seco tropical con un área de 50 x 200 m en la Universidad del Magdalena (11°13'18,31"N, 74°11'08,80" W,) el cual se caracteriza por presentar clima semi-árido con marcado déficit hídrico en la época seca, el régimen de precipitación es bimodal tetraestacional con dos períodos de concentración de lluvias, uno de mayo a junio y otro de septiembre a noviembre con su mayor intensidad en octubre; y dos períodos secos siendo el más intenso el que va de diciembre hasta abril y uno menos intenso de julio hasta agosto. La precipitación media mensual es de 578 mm. La temperatura promedio anual es de 27°C; la temperatura media máxima anual es 32,6°C y la media mínima es 23,3°C (Rangel-Ch, 2012; Rangel y Garzón, 1995).



**Figura 1.** Ubicación de la parcela permanente de bosque seco tropical en la Universidad del Magdalena, Santa Marta. Tomado y modificado de (Noriega et al., 2016).

---

## **2.1.2 RECOLECTA DE ESPECÍMENES**

La captura de aves se realizó utilizando redes de niebla (12 x 2.5, 38mm). Se instalaron 5 redes de niebla en el interior y borde del bosque, las cuales se abrieron de 6:00am a 12:00pm, con monitoreos cada 15 minutos durante tres días a la semana por días semanas, durante los meses de enero a abril y agosto y septiembre del 2021.

Cada ejemplar capturado se examinó cuerpo completo para la búsqueda de garrapatas, las cuales se recolectaron utilizando pinzas entomológicas de punta delgada y tomándolas de la parte distal del capítulo para evitar el desprendimiento del hipostoma (órgano bucal que perfora la piel) (Flores et al., 2014) y se depositaron en viales Eppendorf de 1,5 ml con alcohol al 99% debidamente rotulado.

Todas las aves capturadas se identificaron con la ayuda de la guía de campo de Quiñones (2019), fueron anilladas para determinar recapturas y finalmente fueron liberadas.

## **2.2 TRABAJO DE LABORATORIO**

### **2.2.1 IDENTIFICACIÓN DE ESPECÍMENES**

Las garrapatas fueron revisadas con la ayuda de un estereoscopio zeiss stemi 305 y un microscopio industrial motorizado Leica M205A y se identificaron hasta el nivel más específico posible siguiendo claves y descripciones taxonómicas específicas (Martins et al., 2010; Hooker et al., 1912). Para la confirmación de las especies se utilizaron técnicas moleculares para la amplificación de los genes COI (Folmer et al., 1994) y 16SrRNA (Mangold et al., 1998).

### **2.2.2 EXTRACCIÓN DE ADN**

La extracción de ADN de las garrapatas se realizó a partir del individuo completo, de forma individual o en grupos de ninfas o larvas por especie y por hospedador, dependiendo del número de garrapatas que se encontró de cada estadio. La extracción

se realizó utilizando el kit MasterPure™ Complete de Lucigen, la calidad del ADN se confirmó por medio de electroforesis en gel de agarosa y con tinción con GelRed (Biotium).

## 2.2.3 Amplificación de COI, 16sRNA, GLTA, SCA1 y OMPA.

Las especies de *Rickettsia* se identificaron mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en un termociclador Eppendorf Mastercycler® Pro thermal cycler, dirigida a la amplificación los genes GltA, Sca1 y ompA (Santodomingo et al., 2018; Labruna et al 2004a) (tabla 1). Estos se prepararon en un volumen de 25 µl que contenía tres µl de extracción de ADN, 0,5 µl Taq Polymerasa (BIOLASE™, Bioline), 1 µl MgCl (50 mM), 2,5 µl Buffer PCR (10X), 1 µl de dNTPs (10 mM), 1 µl de cada primer (10 µM) y 15,5 de H<sub>2</sub>O. Todas las reacciones de PCR incluían controles positivos y negativos.

**Tabla 1.** Condiciones y primers utilizados para la identificación molecular de garrapatas y *Rickettsia*.

| Grupo biológico | Gen amplificado | Tamaño del amplicon (pb) | Primer                                       | Secuencia del primer (5'-3')       | Temperatura de anidamiento (°C) | Referencia                  |
|-----------------|-----------------|--------------------------|--|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Garrapata       | COI             | 710                      | LCO1490                                      | GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G  | 45                              | (Folmer et al., 1994)       |
|                 |                 |                          | HCO2198                                      | TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA |                                 |                             |
|                 | 16SrRNA         | 460                      | 16S+1  | CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG T      | 48                              | (Mangold et al., 1998)      |
|                 |                 |                          | 16s-1  | GCT CAA TGA TTT TTT AAA TTG CTG T  |                                 |                             |
| Rickettsia      | GltA            | 401                      | CS-78  | GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT            | 54                              | (Labruna et al., 2004a)     |
|                 |                 |                          | CS-323                                       | GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT       |                                 |                             |
|                 | ompA            | 444                      | OMPA-F                                       | CAC YAC CTC AAC CGC AGC            | 52                              | (Phan et al., 2011)         |
|                 |                 | OMPA-R                   | AAA GTT ATATTTCTT AAA CCY GTA TAA KTA TCR GC |                                    |                                 |                             |
|                 | Sca1            | 488                      | SCA1-F2                                      | GGTGATGAAGAAGAGTCTC                | 49                              | (Anstead and Chilton, 2013) |
|                 |                 |                          | SCA1-R2                                      | CTCTTTAAAATTATGTTCTAC              |                                 |                             |

---

## 2.2.4 Análisis de secuencias

Las secuencias obtenidas fueron editadas con ayuda del programa BioEdit (Hall et al., 2011), fueron verificadas y comparadas con aquellas depositadas en el GenBank usando la herramienta BLAST de NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

## 2.2.5 Análisis filogenéticos

Adicionalmente, con el fin de complementar los resultados del Blast, las secuencias obtenidas en este trabajo, junto con secuencias disponibles en Genbank (tabla 2) fueron analizadas mediante métodos filogenéticos utilizando máxima verosimilitud (ML), construyendo arboles filogenéticos por cada uno de los genes y luego un árbol con todos los genes concatenados. Se utilizó el programa Mega-X (Kumar et al., 2018) para la alineación de las secuencias utilizando el algoritmo ClustalW (Larkin et al., 2007), todas las secuencias de genes codificantes (COI, *gltA*, *ompA* y *Sca1*) fueron alineadas por codones y se corrigió el marco de lectura con ayuda del programa AliView (Larsson, 2014) para eliminar los codones de parada y posteriormente ser limpiadas en TranslatorX (Abascal et al., 2010). Las secuencias de los genes no codificantes (16SrRNA) fueron alineadas por nucleótidos y posteriormente limpiadas con Gblocks 0.91b (Castresana, 2002), para la concatenación de los genes se utilizó el programa Geneious (Kearse et al., 2012) y se construyó un archivo particionado con los modelos obtenidos por gen. Para la selección de los mejores modelos de sustitución y para el análisis filogenético se utilizó IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016). Por último, se utilizó FigTree V1.4.4 (Rambaut, 2009) para el análisis y edición de los árboles filogenéticos generados. Los análisis de ML se realizaron utilizando el algoritmo de escalada rápida y 10.000 pseudorreplcados bootstrap (BP). Se consideró que los valores de bootstrap > 70% indicaban un alto apoyo estadístico (Hillis y Bull, 1993).

**Tabla 2.** Números de accesión de las especies de *Rickettsia* y garrapatas descargadas de GenBank que se incluyeron en los análisis filogenéticos.

| <b>Especie</b>                           | <b>Genes<br/>amplificados</b> | <b>Numero de accesión GenBank</b>  |
|--|-------------------------------|------------------------------------|
| <i>Rickettsia</i> sp.                    | gltA/ompA                     | MH936452/MH939138                  |
| <i>Rickettsia</i> sp.                    | gltA/ompA                     | MH936461/MH939139                  |
| <i>Candidatus R. colombianensi</i>       | gltA/ompA                     | MH196484/MH196501                  |
| <i>Rickettsia</i> sp. cepa Colombianensi | gltA/ompA                     | JF905456/KF691749                  |
| <i>Rickettsia</i> sp. clone Necocli 181  | gltA                          | JX519577                           |
| <i>Rickettsia</i> sp. clon Turbo 31      | gltA                          | JX519576                           |
| <i>Rickettsia</i> sp. clon Necocli 190   | gltA                          | JX519583                           |
| <i>Rickettsia monacensis</i>             | gltA/ompA/Sca1                | DQ100163/LN794217/LN794217         |
| <i>Rickettsia tamurae</i>                | gltA/ompA/Sca1                | AF394896.1/DQ103259.1/JFKF01000062 |
| <i>Rickettsi felis</i>                   | gltA/Sca1                     | CP000053                           |
| <i>Rickettsia rhipicephali</i>           | gltA/ompA/Sca1                | DQ865206/KX099901/DQ306915         |
| <i>Rickettsia massiliae</i>              | gltA/ompA/Sca1                | HM050293/DQ494551/MF002499.1       |
| <i>Rickettsia aeschlimannii</i>          | gltA/ompA/Sca1                | AY259084/AY259083/MF002554         |
| <i>Rickettsia africae</i>                | gltA/ompA/Sca1                | U59733/MH781755/CP001612           |
| <i>Rickettsia conorii</i>                | gltA/ompA/Sca1                | U59728/AY346453/DQ306906           |
| <i>Rickettsia honei</i>                  | gltA/ompA/Sca1                | AF018074/AF018075/AY355351         |
| <i>Rickettsia mongolotimonae</i>         | gltA/ompA                     | DQ097081/DQ097082                  |
| <i>Rickettsia parkeri</i>                | gltA/ompA/Sca1                | KJ158742/KJ158741/AY355354         |
| <i>Rickettsia sibirica</i>               | gltA/ompA/Sca1                | MT521745/MW013078/MT521748         |
| <i>Rickettsia rickettsii</i>             | gltA/ompA/Sca1                | CP006009/KX544816/CP006009         |
| <i>Rickettsia slovacae</i>               | gltA/ompA/Sca1                | U59725/MT511330/MF002533           |
| <i>Rickettsia bellii</i>                 | gltA/Sca1                     | JQ519684/AY970507                  |
| <i>Rickettsia akari</i>                  | gltA/Sca1                     | CP000847/AY355359                  |
| <i>Rickettsia australis</i>              | gltA/Sca1                     | U59718/DQ306903                    |
| <i>Rickettsia typhi</i>                  | gltA/Sca1                     | U59714/DQ306919                    |
| <i>Amblyomma dissimile</i>               | COI/16S                       | MF353128/MF363072                  |
| <i>Amblyomma mixtum</i>                  | COI/16S                       | MZ020603/MF353125                  |
| <i>Amblyomma patinoi</i>                 | 16S                           | KP036467                           |
| <i>Amblyomma escultum</i>                | COI/16S                       | NC_032369                          |
| <i>Amblyomma cajennense</i>              | COI/16S                       | MH513214/MH513256                  |
| <i>Amblyomma scutatum</i>                | COI                           | LR745649                           |
| <i>Amblyomma rotundatum</i>              | COI/16S                       | KU720275/MK511993                  |
| <i>Rhipicephalus sanguineus</i>          | COI/16S                       | NC_002074/NC_002075                |
| <i>Dermacentor nitens</i>                | COI/16S                       | NC_023349                          |

### 3. RESULTADOS

Un total de 367 aves fueron capturadas, distribuidas en 41 especies, 35 géneros, 17 familias y 7 órdenes, de las cuales 60 (16.35%) se encontraron infestadas por garrapatas (524 larvas y 9 ninfas). El detalle de las aves capturadas y la abundancia media de garrapatas observada para cada familia se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3.** Orden, familia, especie y cantidad de aves capturadas e infestadas por *Amblyomma dissimile*.

| Aves                                   |                             |                                 |  | Garrapatas |        |                |       |
|--|-----------------------------|---------------------------------|--|------------|--------|----------------|-------|
| Orden                                  | Familia                     | Especie                         | No. Individuos infestados /No. Individuos capturados (%) | Larvas     | Ninfas | AM por familia |       |
|  |                             |                                 |  |            |        | Larva          | Ninfa |
| Passeriformes                          | Passerellidae               | <i>Arremonops conirostris</i>   | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
|  | Troglodytidae               | <i>Campylorhynchus griseus</i>  | 6/6 (100)  | 223        |        | 22,7           | 0,33  |
|  |                             | <i>Troglodytes aedon</i>        | 5/9 (55)   | 118        | 5      |                |       |
|  |                             | <i>Cantopus virens</i>          | 0/8 (0)  |            |        |                |       |
|  | Tyrannidae                  | <i>Megarynchus pitangua</i>     | 0/1 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Pitangus sulphuratus</i>     | 2/10 (20)  | 6          |        | 0,1            |       |
|  |                             | <i>Myiarchus tyrannulus</i>     | 0/4 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Myiodynastes maculatus</i>   | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Tyrannus melancholicus</i>   | 0/11 (0)   |            |        |                |       |
|  | Parulidae                   | <i>Geothlypis philadelphia</i>  | 0/1 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Parkesia noveboracensis*</i> | 10/15 (66)   | 51         |        | 1,18           |       |
|  |                             | <i>Protonotaria citrea</i>      | 0/4 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Setophaga petechia</i>       | 0/23 (0)   |            |        |                |       |
|  | Cardinalidae                | <i>Pheucticus ludovicianus</i>  | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Piranga rubra</i>            | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
|  | Furnariidae                 | <i>Dendroplex picus</i>         | 1/1 (100)  | 2          |        | 2,3            |       |
|  |                             | <i>Furnarius leucopus</i>       | 4/8 (50)   | 19         |        |                |       |
|  | Icteridae                   | <i>Icterus nigrogularis</i>     | 1/40 (2)   | 1          |        |                |       |
|  |                             | <i>Quiscalus lugubris</i>       | 5/22 (22)  | 10         |        | 0,17           |       |
|  |                             | <i>Quiscalus mexicanus</i>      | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
|  | Thraupidae                  | <i>Saltator coerulescens</i>    | 8/49 (16)  | 18         |        |                |       |
|  |                             | <i>Volatinia jacarina</i>       | 0/10 (0)   |            |        | 0,27           |       |
|  |                             | <i>Thraupis episcopus</i>       | 0/7 (0)  |            |        |                |       |
|  |                             | <i>Catharus minimus*</i>        | 1/4 (25)   | 3          |        |                |       |
|  |                             | <i>Turdus leucomelas</i>        | 1/2 (50)   | 5          |        | 1,3            |       |
|  | Mimidae                     | <i>Mimus gilvus</i>             | 0/1 (0)  |            |        |                |       |
| Vireonidae                             | <i>Cyclarhis gujanensis</i> | 3/7 (42)                        | 3  |            | 0,4    |                |       |
|  | <i>Leptotila verreauxi</i>  | 3/17 (17)                       | 9  |            |        |                |       |
|  | <i>Columbina passerina</i>  | 0/4 (0)                         |  |            | 0,44   |                |       |
| Columbiformes                          | Columbidae                  | <i>Columbina squammata</i>      | 1/8 (12)   | 10         |        |                |       |
|  |                             | <i>Columbina talpacoti</i>      | 0/14 (0)   |            |        |                |       |
| Cuculiformes                           | Cuculidae                   | <i>Coccyzus americanus*</i>     | 1/2 (50)   | 2          |        |                |       |
|  |                             | <i>Crotophaga ani</i>           | 2/8 (25)   | 1          | 1      | 0,27           | 0,09  |
|  |                             | <i>Crotophaga major</i>         | 0/1 (0)  |            |        |                |       |
| Piciformes                             | Picidae                     | <i>Melanerpes rubricapillus</i> | 2/22 (9)   | 2          |        | 0,8            |       |
|  |                             | <i>Colaptes punctigula</i>      | 0/1 (0)  |            |        |                |       |
| Psittaciformes                         | Psittacidae                 | <i>Eupsittula pertinax</i>      | 0/2 (0)  |            |        |                |       |
| Strigiformes                           | Strigidae                   | <i>Glaucidium brasilianum</i>   | 1/2 (50)   | 18         |        | 0,9            |       |
| Galbuliformes                          | Bucconidae                  | <i>Hypnelus ruficollis</i>      | 3/3 (100)  | 23         | 3      | 7,6            | 1     |
| * ave migratoria, AM= abundancia media |                             |                                 |  | 524        | 9      |                |       |

---

Se realizaron extracciones de 7 ninfas y 235 larvas (que se procesaron de forma individual o en agrupaciones por especie de garrapata y por hospedador). En total se obtuvieron 67 muestras de ADN (7 ninfas y 60 pools de larvas), a los cuales se les realizó una PCR convencional para la amplificación de los genes de garrapata (COI, 16SrRNA) y *Rickettsia* (GltA, Sca1 y ompA) (tabla 1).

Todas las garrapatas fueron identificadas taxonómicamente como *Amblyomma dissimile* (Fig. 2 y Fig. 3) y confirmadas molecularmente con las secuencias presentes en GenBank de COI y 16SrRNA, obteniendo un porcentaje de identidad del 99.61%, 99.81% (MF095086.1) y 100% (MF095084.1) para COI y 99.47%, 100% (MF026013.1) y 100% (KY389392.1) para 16SrRNA.

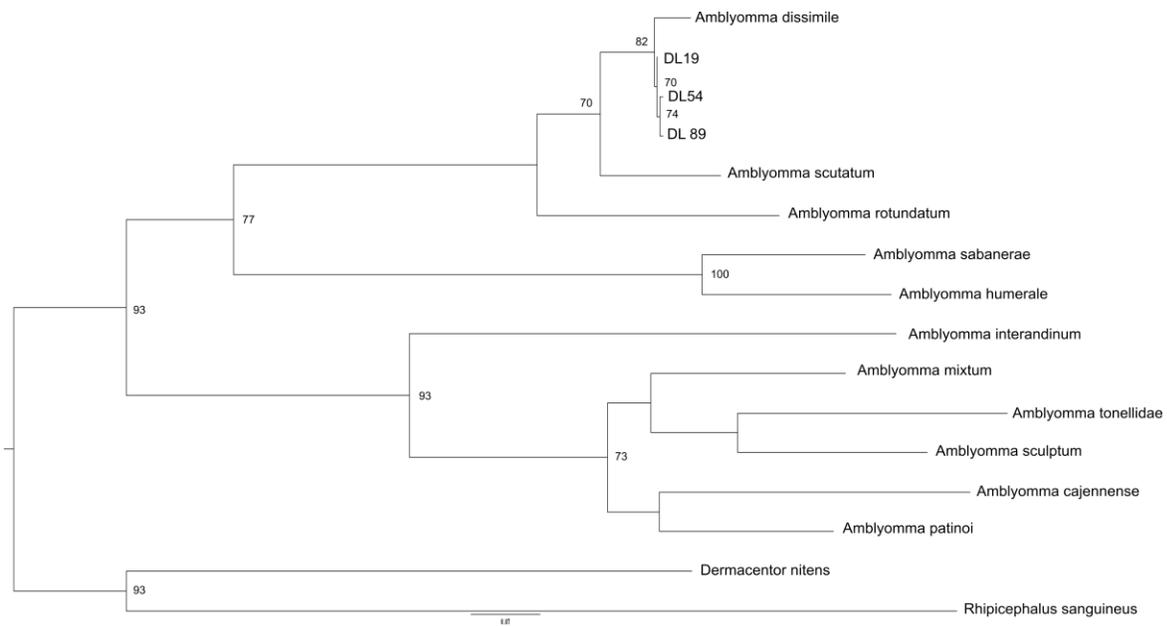


**Figura 2.** Ninfa de *Amblyomma dissimile* (a) vista dorsal (b) vista ventral.



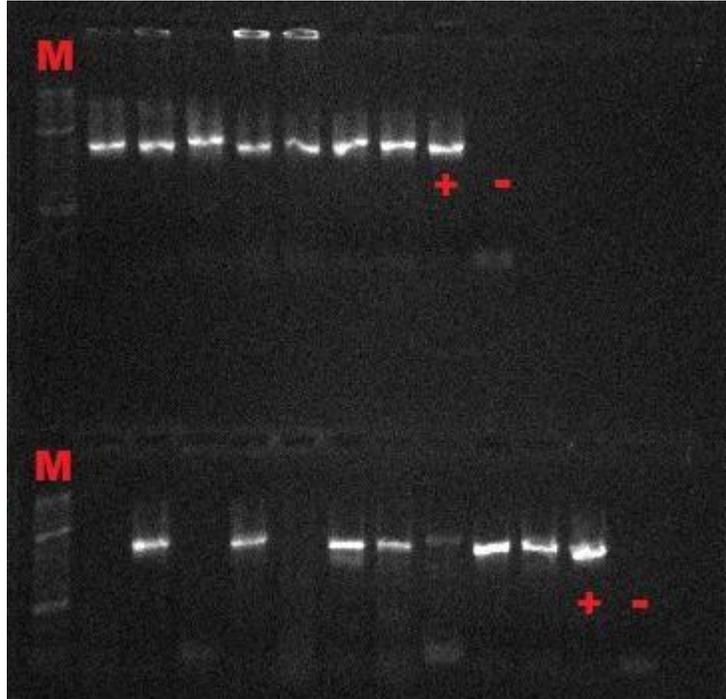
**Figura 3.** Larva de *Amblyomma dissimile* **(a)** vista dorsal **(b)** vista ventral.

Lo anterior fue confirmado mediante análisis filogenéticos por máxima verosimilitud y pseudorreplicados bootstrap, en donde se obtuvo TN+F+I como el mejor modelo de sustitución de nucleótidos para las posiciones del codon 1,2 y el HKY+F+G4 para la posición 3 del gen COI y TPM3+F+G4 para las posiciones 1, 2 y 3 del gen 16SrRNA. Agrupando nuestras secuencias de *A. dissimile* (DL19, DL54 y DL89) y formando un clado con secuencias de *Amblyomma scutatum* y *Amblyomma rotundatum* obtenidas de la base de datos GenBank, siendo estas las especies más estrechamente cercanas, con soporte de Bootstrap de 100% (Fig. 4).



**Figura 4.** Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud de las secuencias concatenadas COI y 16SrRNA de *Amblyomma* obtenidas en este estudio y otras de GenBank. Los números de nodos corresponden a los valores de Bootstrap.

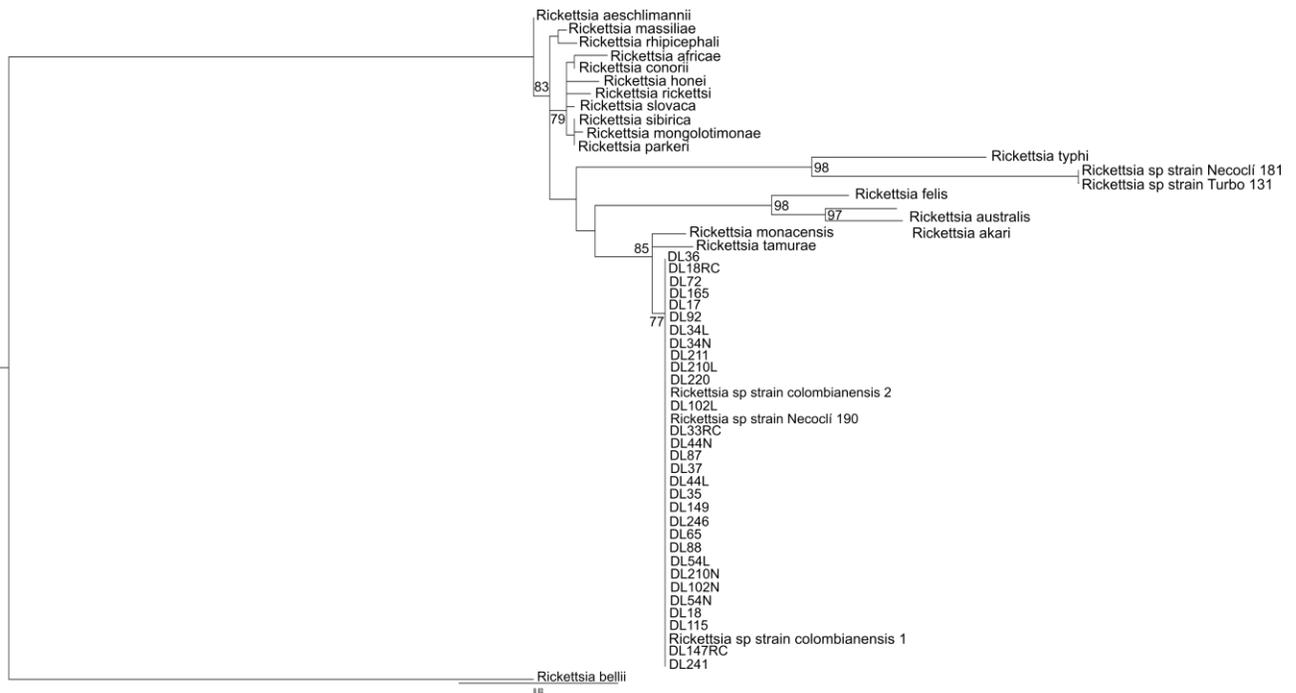
De las 60 aves infestadas con garrapatas, 40 presentaban garrapatas con ADN positivo para *Rickettsia*, lo que representa una prevalencia del 66%. 16 especies de aves fueron residentes y dos especies migratorias (tabla 4), en donde los géneros que presentaron mayor número de garrapatas con infección por rickettsia fueron *Parkesia*, *Saltator*, *Campylorhynchus* y *Troglodytes*. De 60 pools de larvas y 7 ninfas, el ADN de rickettsia fue detectado en 47/60 (78%) pools de larvas y 7/7 (100%) ninfas (Fig. 5).



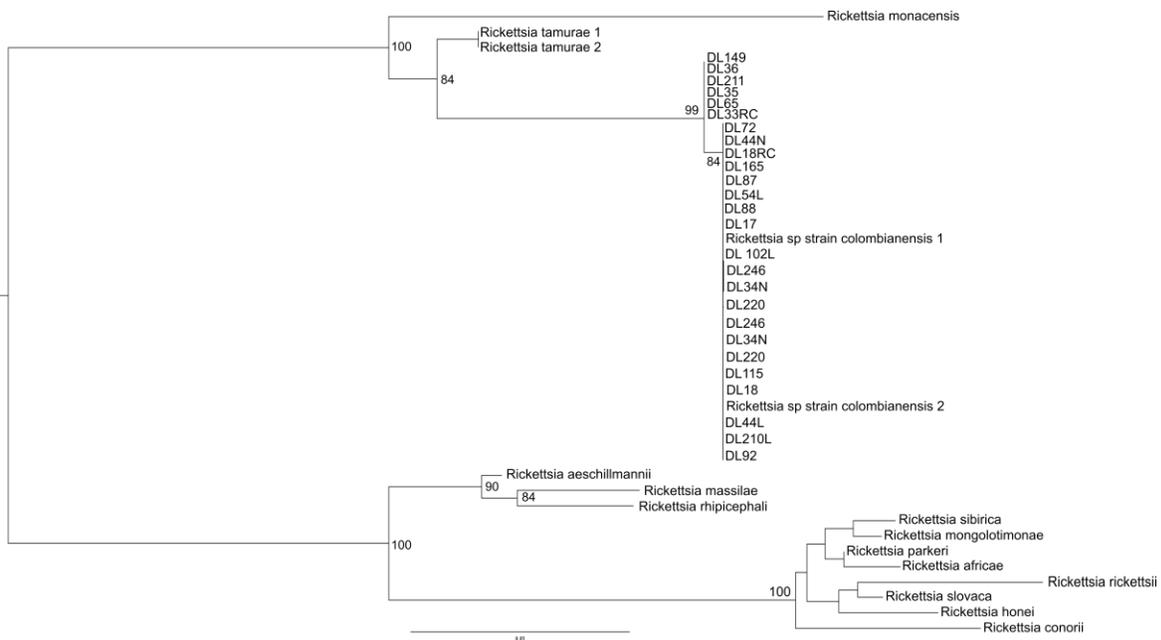
**Figura 5.** Electroforesis de PCR positiva para *Rickettsia*. Marcador de peso molecular (M), control positivo (+) y control negativo (-).

Se detectó *Candidatus Rickettsia colombianensis* en *A. dissimile* con las secuencias de los genes *GltA*, *Sca1* y *ompA*, mostraron una identidad del 100% con secuencias de *Candidatus Rickettsia colombianensis* (MG563768.1; MN058024.1 y MG020421.1) y *Rickettsia sp* (MH936461.1; MG020421.1) (tabla 4) evidenciado mediante la herramienta Blast en GenBank.

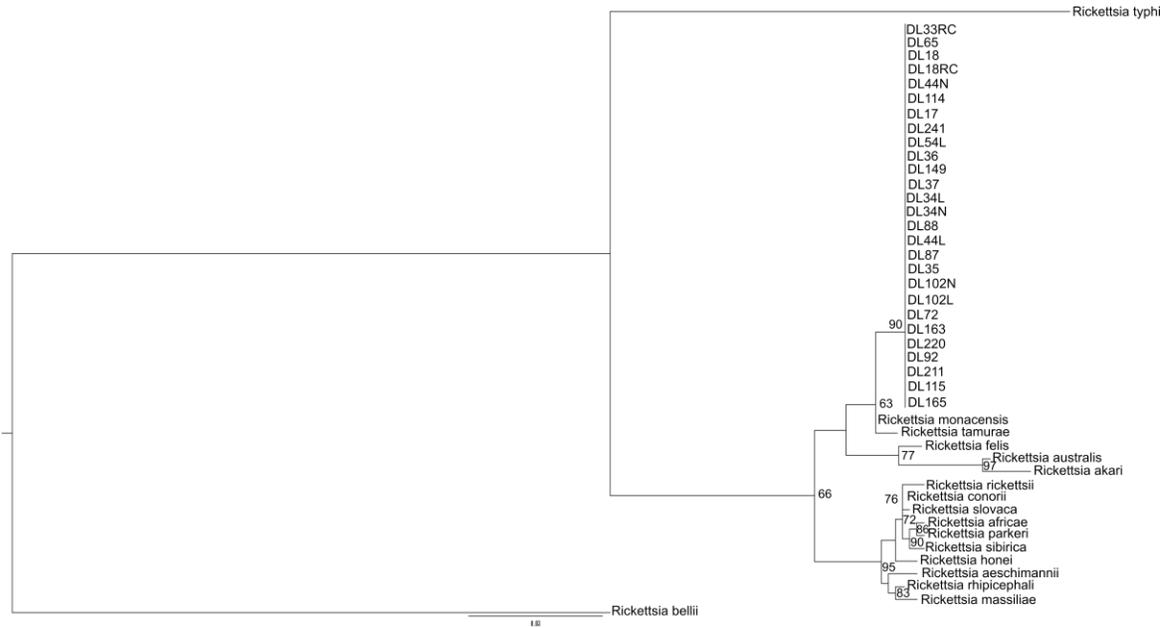
El mejor modelo de sustitución para la construcción de la filogenia en las posiciones del codon 1, 2 y 3 del gen *gltA* fue K3PU+F+I, para *ompA* fue TPM3+F+I y *Sca1* TPM3+F+G4, obteniendo las filogenias para *GltA* (Fig. 6), *ompA* (Fig. 7), *Sca1* (Fig. 8) y concatenado (Fig. 9), lo cual nos ayudó a confirmar que el 100% de las secuencias de *rickettsia* obtenidas en este estudio corresponden a *Candidatus Rickettsia colombianensis*, esto mediante la agrupación de nuestras secuencias con secuencias de *Candidatus Rickettsia colombianensis*, disponibles en la base de datos GenBank (Tabla. 2).



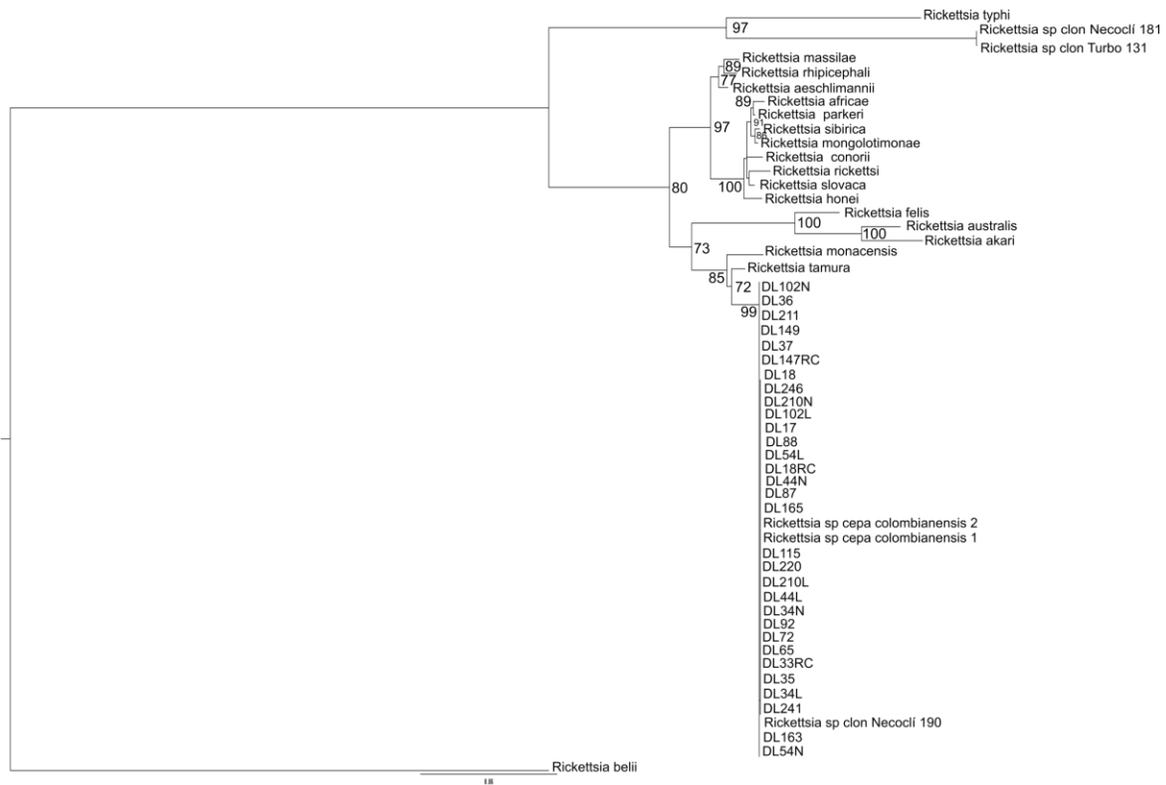
**Figura 6.** Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud para el gen GltA de *Rickettsia*. El árbol filogenético fue generado con el modelo K3PU+F+I, los números de nodos corresponden a los valores de Bootstrap.



**Figura 7.** Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud del gen ompA de El árbol filogenético fue generado con el modelo TPM3+F+I, los números de nodos corresponden a los valores de Bootstrap



**Figura 7.** Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud del gen *sca1* para *Rickettsia*. El árbol filogenético fue generado con el modelo TPM3+F+G4, los números de nodos corresponden a los valores de Bootstrap.



**Figura 8.** Reconstrucción filogenética de máxima verosimilitud para los genes de *GltA*, *ompA* y *Sca1* de *Rickettsia* obtenidos en este estudio y otros de Genbank. El árbol filogenético fue generado mediante un archivo de partición utilizando los modelos por gen, los números de nodos corresponden a los valores de Bootstrap.

**Tabla 4.** Especies de aves con garrapatas infestadas por rickettsia.

| Sp de ave hospedera             | (# de garrapatas/estadio) | No. Infestado por rickettsia/No. Testeado (%) | Identidad cercana en Genbank (% Gen número de acceso)  |
|---------------------------------|---------------------------|---|--|
| <i>Hypnelus ruficollis</i>      | (23/L; 3/N)               | 3/3 (100)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 100%  |
| <i>Campylorhynchus griseus</i>  | (223/L)                   | 4/6 (66)                                      | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MF428453.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 99.82%   |
| <i>Troglodytes aedon</i>        | (118/L; 5/N)              | 5/5 (100)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%     |
| <i>Leptotila verreauxi</i>      | (9/L)                     | 3/3 (100)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 99.55 y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%    |
| <i>Salinator coerulescens</i>   | (18/L)                    | 4/8 (50)                                      | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 99.83%   |
| <i>Cyclarhis guianensis</i>     | (3/L)                     | 2/3 (66)                                      | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MG563768.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%     |
| <i>Melanerpes rubricapillus</i> | (2/L)                     | 1/2 (50)                                      | <i>Rickettsia sp</i> (MG020420.1) 100%   |
| <i>Icterus nigrogularis</i>     | (1/L)                     | 0/1 (0)                                       |  |
| <i>Furnarius leucopus</i>       | (19/L)                    | 3/4 (74)                                      | <i>Rickettsia sp</i> (MH936461.1) 100%   |
| <i>Columbina squammata</i>      | (10/L)                    | 0/1 (0)                                       |  |
| <i>Crotophaga ani</i>           | (1/L; 1/N)                | 1/2 (50)                                      | Mala calidad del ADN   |
| <i>Dendroplex picus</i>         | (2/L)                     | 1/1 (100)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 99.73% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 99.65% |
| <i>Turdus leucomelas</i>        | (5/L)                     | 0/1 (0)                                       |  |
| <i>Pitangus sulphuratus</i>     | (6/L)                     | 0/2 (0)                                       |  |
| <i>Catharus minimus*</i>        | (3/L)                     | 1/1 (100)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%     |
| <i>Coccyzus americanus</i>      | (2/L)                     | 0/1 (0)                                       |  |
| <i>Glaucidium brasilianum</i>   | (18/L)                    | 1/1 (100)                                     | <i>Rickettsia sp</i> (MH936461.1) 100%   |
| <i>Quiscalus lugubris</i>       | (10/L)                    | 2/5 (40)                                      | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 99.45 y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%    |
| <i>Parkesia noveboracensis*</i> | (51/L)                    | 9/10 (90)                                     | <i>Candidatus r. colombianensis</i> (MN058024.1) 100% y <i>Rickettsia sp</i> (MG020421.1) 100%     |
| <b>Total:</b>                   |                           | <b>40/60(66%)</b>                             |  |

L= Larva, N= Ninfa, \* Ave migratoria

---

## 4. DISCUSIÓN

Este estudio reporta el parasitismo de *Amblyomma dissimile* en aves silvestres en un fragmento de bosque seco tropical en el departamento del Magdalena, así como también, la infección de *Candidatus Rickettsia colombianensis* en garrapatas. *Amblyomma dissimile* había sido reportada parasitando aves silvestres, incluyendo otras especies de garrapatas como *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma varium*, *Amblyomma nodosum*, *Amblyomma calcaratum*, *Amblyomma mixtum*, *Haemaphysalis leporispalustris*, e *Ixodes sp* en los departamentos de Caldas y Arauca (Martínez-Sánchez et al., 2021; Cardona-Romero et al., 2020).

*Amblyomma dissimile* es una garrapata con un amplio número de hospederos (Nava et al., 2017). En Colombia se ha encontrado parasitando desde mamíferos como *Hydrochoerus hydrochaeris* y *Proechimys semispinosus*, anfibios como *Rhinella humboldti* y *Rhinella horribilis*, réptiles como *Iguana iguana* y animales domésticos como caninos, bovinos, equinos, además de humanos y vegetación (Miranda et al. 2012; Miranda y Mattar, 2014; Quintero et al., 2013; 2017; Rivera-Paez et al., 2018; Sanchez et al., 2016; Londoño et al., 2014; Cotes-Perdomo et al., 2018; Santodomingo et al., 2018; 2019).

Al igual que en nuestro estudio Cotes-Perdomo et al. (2020; 2018) y Santodomingo et al. (2018), reportaron *A. dissimile* como la única especie de garrapata presente en el bosque seco tropical en los departamentos del Cesar, La Guajira y Magdalena Colombia. Sin embargo, los estadios de garrapatas encontrados fueron adultos y ninfas, a diferencia de nuestro estudio donde en su gran mayoría fueron larvas y pocas ninfas, lo que podría estar relacionado con los hábitos de las aves hospederas. Las especies de aves reportadas con mayor número de garrapatas (*Campylorhynchus griseus*, *Furnarius leucopus*, *Parkesia noveboracensis* y *Troglodytes aedon*) suelen deambular en la hojarasca y/o vegetación baja (Quiñones, 2019), donde se encuentran las larvas y algunas ninfas, que tras la muda se hidratan en la capa vegetal, a pocos milímetros del suelo (Estrada-Peña, 2015).

---

Los análisis filogenéticos agruparon nuestras secuencias de COI y 16SrRNA de *A. dissimile* junto con las especies *Amblyomma scutatum* y *Amblyomma rotundatum*, lo que concuerda con las filogenias del género *Amblyomma* (Santodomingo et al., 2021; Nava et al., 2017; Quintero et al., 2017). *Amblyomma rotundatum*, *A. dissimile* y *A. scutatum* son garrapatas que presentan una estrecha relación en aspectos morfológicos, genéticos e igualdad de hospederos que parasitan (Nava et al., 2017; Lampo et al., 1997). Estas especies de garrapata tienen una amplia distribución en el Neártico y Neotrópico, especialmente *A. dissimile*, mientras que *A. scutatum* tiene una distribución limitada a América Central, con distribución potencial en América del Sur (Guglielmo y Nava, 2010; Dantas-Torres et al., 2009; Nava et al., 2007). Estas especies han sido estudiadas por varios autores debido a su estrecha relación, lo que suele dificultar sus identificaciones mediante claves taxonómicas, por lo que se suelen utilizar técnicas moleculares para corroborar las especies.

*Candidatus Rickettsia colombianensis* forman un clado con las especies *Rickettsia monacensis* y *Rickettsia tamurai*, especies estrechamente cercanas, coincidiendo con estudios publicados por Cotes-Perdomo et al. (2018) y Miranda et al. (2012), obteniendo como resultado la confirmación de *Candidatus rickettsia colombianensis* mediante análisis filogenéticos con igual agrupación de clado (Fig. 9), lo cual confirma nuestros resultados, con niveles de Bootstrap bien soportados. Así mismo, la topología de los árboles construidos por gen coincidió con la topología del árbol concatenado. Al momento de concatenar los genes *GltA*, *ompA* y *Sca1* (Fig. 9), se tiene una información genética más completa de las especies, lo cual nos permite construir un árbol filogenético más completo, mejor soportado y manteniendo las relaciones entre las ramas con estudios ya publicados (Cotes-Perdomo et al., 2018; Santodomingo et al., 2018; Miranda et al., 2012; 2014; 2020).

*Candidatus Rickettsia sp.* cepa *colombianensis* fue reportada en garrapatas de la especie *A. dissimile* recolectada en iguanas en el departamento de Córdoba, Colombia y fue agrupada como una nueva especie de *Rickettsia* del GFM (Miranda et al., 2012). Sin embargo, su patogenicidad aún es indeterminada (Nava et al., 2017). Aunque son varios los estudios que reportan a *Candidatus Rickettsia colombianensis* en garrapatas del género *Amblyomma*, esta suele ser encontrada principalmente en *A. dissimile*. Así mismo, es importante resaltar que no

---

solamente se ha encontrado *Candidatus rickettsia colombianensis* en la especie de garrapata *Amblyomma dissimile*. También se ha detectado en esta *R. monacensis* (KU586332.1), *R. tamurae* (KT753265.1), *R. bellii* (NR\_074484.2) (Bermúdez et al., 2021; Ogrzewalska et al., 2019; Cotes-Perdomo et al., 2018).

En Colombia solo se cuenta con dos estudios donde reportan la infestación por *Rickettsia* en garrapatas recolectadas de aves silvestres, uno de estos es el de Martínez-Sánchez et al. (2021) quien reporta el parasitismo de *Candidatus rickettsia colombianensis* en *A. dissimile* recolectada en la especie de ave migratoria boreal *Oporornis agilis* en el departamento de Caldas, obteniendo una prevalencia general del 11%, inferior a lo obtenido en nuestro estudio. Sin embargo, este autor reporta otras especies de *Rickettsia*, como lo son *Rickettsia amblyommatis* en *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma varium* e *Ixodes sp.* Cardona-romero et al. (2020) reporta *Rickettsia parkeri* y *Rickettsia africae* en *Amblyomma nodosum*, *Amblyomma longirostre*, y *Amblyomma mixtum* en Arauca, en el cual, al igual que en nuestro estudio las especies de aves *T. aedon* y *C. griseus* fueron las que mostraron una mayor infestación por garrapatas.

Al momento de comparar la abundancia media en las familias de las especies de aves que presentaron garrapatas, encontramos que en este estudio fue mayor a la obtenida en los estudios realizados por Cardona-Romero et al. (2020) y Martínez-Sánchez et al. (2020) en Colombia (Tabla 3). Creemos que esto se debe a las características que presentan las áreas de estudio de los trabajos antes mencionados, como lo son precipitación abundante durante todo el año y el otro fue realizado en sabanas inundables. Si bien, las garrapatas son cosmopolitas, la mayoría se encuentran principalmente en climas cálidos (Guglielmo et al., 2004; Labruna., 2009). Cabe mencionar que la mayor interacción observada entre garrapatas y rickettsia en los estudios antes mencionados puede deberse a que estos fueron realizados en áreas de estudio más amplias, que incluían de 8 a 11 localidades, incluyendo elevaciones de 178 a 3845 m. Mientras que nuestro estudio se realizó en un relicto de bosque seco, rodeado por una matriz urbana.

---

Como evidencia del papel que juegan las aves como dispersores de garrapatas, en Toronto, Canadá, se reporta el hallazgo de *Amblyomma dissimile* en *Catharus fuscescens*, una especie migratoria boreal que se encuentra en Colombia entre septiembre y noviembre, la cual probablemente habría transportado la garrapata durante su vuelo migratorio (Quiñones et al., 2019; Scott et al., 2015). La especie *Catharus minimus* una de las especies migratorias reportadas en nuestro estudio pertenece al mismo género, la cual fue encontrada con *Amblyomma dissimile* positiva para la infección con *Candidatus rickettsia colombianensi*.

---

## 5. CONCLUSIÓN

Este estudio reporta por primera vez para el departamento del Magdalena (Colombia), la presencia de *Candicatus Rickettsia colombianensis* en *Ambyomma dissimile* recolectadas de aves silvestres de un relicto de bosque seco tropical. Estas aves mostraron una alta abundancia media de parasitismo por garrapatas en comparación con otros estudios. No obstante, hay que tener en cuenta que se requiere extender estudios que incluyan muestras de sangre para determinar infección de *Rickettsia* en las aves y así ampliar el conocimiento entre la asociación aves, garrapatas y *Rickettsia*. Como recomendación se hace necesario ampliar el estudio a lugares con bosques más conservados, para así conocer qué otras especies de garrapatas parasitan a las aves de este ecosistema y así mismo, ver que otras posibles especies de *Rickettsia* se encuentran presentes.

---

## **6. Referencias bibliográficas.**

---

Abascal, F., Zardoya, R., y Telford, M. J. (2010). TranslatorX: multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations. *Nucleic acids research*, 38(suppl\_2), W7-W13.

Acosta, J., Urquijo, L., Díaz, A., Sepúlveda, M., Mantilla, G., Heredia, D & Castañeda, E. (2006). Brote de rickettsiosis en Necoclí, Antioquia. *Inf Quinc Epidemiol Nac*, 11(12), 177-92.

Anstead, C. A., y Chilton, N. B. (2013). A novel Rickettsia species detected in vole ticks (*Ixodes angustus*) from Western Canada. *Applied and environmental microbiology*, 79(24), 7583-7589.

Bermúdez, S., Martínez-Mandiche, J., Domínguez, L., Gonzalez, C., Chavarria, O., Moreno, A., y Martínez, A. A. (2021). Diversity of Rickettsia in ticks collected from wild animals in Panama. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 12(4), 101723.

Budachetri, K., Williams, J., Mukherjee, N., Sellers, M., Moore, F. Y Karim, S. (2017). The microbiome of neotropical ticks parasitizing on passerine migratory birds. *Ticks and tick-borne diseases*, 8(1), 170-173.

Cardona-Romero, M., Martínez-Sánchez, E. T., Londono, J. A., Tobón-Escobar, W. D., Ossa-López, P. A., Pérez-Cárdenas, J. E., y Rivera-Páez, F. A. (2020). Rickettsia parkeri strain Atlantic rainforest in ticks (Acari: Ixodidae) of wild birds in Arauca, Orinoquia region of Colombia. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 13, 106-113.

Castresana, J. (2002). Gblocks, v. 0.91 b. versión en línea disponible en [http://molevol.cmima.csic.es/castresana.Gblocks\\_server.html](http://molevol.cmima.csic.es/castresana/Gblocks_server.html).

Cohen, E. B., Auckland, L. D., Marra, P. P., y Hamer, S. A. (2015). Las aves migratorias facilitan la invasión de garrapatas neotropicales y patógenos transmitidos por garrapatas en los Estados Unidos. *Microbiología aplicada y ambiental*, 81 (24), 8366-8378.

---

Cotes-Perdomo, A. P., Oviedo, Á., y Castro, L. R. (2020). Molecular detection of pathogens in ticks associated with domestic animals from the Colombian Caribbean region. *Experimental and Applied Acarology*, 82(1), 137-150.

Cotes-Perdomo, A., Santodomingo, A., y Castro, L. R. (2018). Infección por hemogregarina y rickettsias en garrapatas de sapos del noreste de Colombia. *Revista internacional de parasitología: parásitos y vida silvestre*, 7 (2), 237-242.

Dabanch, J. (2003). Zoonosis. *Revista chilena de infectología*, 20, 47-51.

Dantas-Torres, F., Onofrio, V. C., y Barros-Battesti, D. M. (2009). The ticks (Acari: Ixodida: argasidae, ixodidae) of Brazil. *Systematic and Applied Acarology*, 14(1), 30-46.

Drancourt, M., y Raoult, D. (1994). Taxonomic position of the rickettsiae: current knowledge. *FEMS microbiology reviews*, 13(1), 13-24.

Estrada-Peña, A. (2015). Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDEA-SEA*, 13, 30-36.

Faccini-Martínez, Á. A., Forero-Becerra, E. G., Cortés-Vecino, J. A., Polo-Teran, L. J., Jácome, J. H., Vargas, J. J., e Hidalgo, M. (2013). Caso probable de fiebre manchada (*Rickettsia felis*) transmitida por pulgas. *Biomédica*, 33(1), 9-13.

Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates *Mol Mar Biol Biotechnol*. 3: 294-9.

Flores, F.S., Nava, S., Batall'an, G., Tauro, L.B., Contigiani, M.S., Diaz, L.A., y Guglielmo, A.A. (2014). Ticks (Acari: Ixodidae) on wild birds in north-central Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5. 715-721. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.05.004>.

---

Guglielmone, A. A., y Nava, S. (2010). Anfitriones de *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 y *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Zootaxa*, 2541 (1), 27-49.

Guglielmone, A., Bechara, H., Szabó, P., Barros, M., Faccini, L., Labruna, M., De La Vega, R., Arzua, M., Campos, M., Furlong, J., Mangold, J., Martins, J., Rodríguez, M., Venzal, M., y Estrada, A. (2004). Garrapatas de importancia médica y veterinaria: América Latina y El Caribe. *The Netherlands: International Consortium on Ticks and Tick – borne Diseases* (ICTTD – 2). 44 p.

Guglielmone, A., Estrada-Peña, A., Keirans, E., y Robbins, G. (2003). Ticks (Acari: Ixodidae) of the neotropical zoogeographic region. *The Netherlands: International Consortium on Ticks and Tick - borne Diseases* (ICTTD – 2). 173 p.

Hall., T, Biociencias I., y Carlsbad, C. (2011). BioEdit: un software importante para la biología molecular. *GERF Bull Biosci*, 2 (1), 60-61.

Hernández, N., y Mercado, A. (2014). Seroprevalencia a rickettsia, grupo de las fiebres manchadas, en zona rural del municipio de Toluviejo, Sucre. Universidad de Sucre.

Hidalgo, M., Miranda, J., Heredia, D., Zambrano, P., Vesga, J. F., Lizarazo, D., y Valbuena, G. (2011). Outbreak of Rocky mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(1), 117-118.

Hidalgo, M., Salguero, E., De La Ossa, A., Sánchez, R., Vesga, J. F., Orejuela, L., y Valbuena, G. (2008). Murine typhus in Caldas, Colombia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 78(2), 321-322.

Hillis, D.M., y Bull, J.J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42, 182-192.

Hooker, W. A., Bishopp, F. C., y Wood, H. P. (1912). *The life history and bionomics of some North American ticks* (No. 106). US Department of Agriculture, Bureau of Entomology.

---

Horak, G., Camicas, L., y Keirans, E. (2002). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. *Experimental and Applied Acarology*, 28(1-4):27-54.

Jongejan, F., y Uilenberg G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129. doi: 10.1017/s0031182004005967.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., y Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., y Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.

Labruna, B. (2009). *Ecology of Rickettsia in South America*. Ann NY Acad Sci; 1166: 156-66.

Labruna, M. B., Whitworth, T., Bouyer, D. H., McBride, J., Camargo, L. M. A., Camargo, E. P., y Walker, D. H. (2004a). *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondonia, Western Amazon, Brazil. *Journal of medical entomology*, 41(6), 1073-1081.

Lampo, M., Rangel, Y., y Mata, A. (1997). Genetic markers for the identification of two tick species, *Amblyomma dissimile* and *Amblyomma rotundatum*. *The Journal of parasitology*, 83(3), 382-386.

Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., y Higgins, D. G. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21), 2947-2948.

Londoño, A. F., Díaz, F. J., Valbuena, G., Gazi, M., Labruna, M. B., Hidalgo, M., Y Rodas, J. D. (2014). Infection of *Amblyomma ovale* by *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, Colombia. *Ticks and tick-borne diseases*, 5(6), 672-675.

Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276-3278.

---

Luz, H.R., Faccini, J.L.H., y McIntosh, D., (2017). Molecular analyses reveal an abundant diversity of ticks and rickettsial agents associated with wild birds in two regions of primary Brazilian Atlantic Rainforest. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8, 657-665. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.012>.

Mangold, A. J., Bargues, M. D. y Mas-Coma, S. (1998). Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of Rhipicephalus and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitology research*, 84(6), 478-484.

Mansueto, P., Vitale, G., Cascio, A., Seidita, A., Pepel., y Carroccio, A., (2012). New insight into immunity and immunopathology of rickettsial diseases. *Clinical and Developmental Immunology*. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/967852>.

Martínez-Sánchez, E. T., Cardona-Romero, M., Ortiz-Giraldo, M., Tobón-Escobar, W. D., López, D. M., Ossa-López, P. A., y Castaño-Villa, G. J. (2020). Associations between wild birds and hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 11(6), 101534.

Martínez-Sánchez, E. T., Cardona-Romero, M., Ortiz-Giraldo, M., Tobón-Escobar, W. D., Moreno-López, D., Ossa-López, P. A., y Rivera-Páez, F. A. (2021). Rickettsia spp. en garrapatas (Acari: Ixodidae) de aves silvestres en Caldas, Colombia. *Acta Tropica*, 213, 105733.

Miranda, J., Portillo, A., Oteo, J. A., y Mattar, S. (2012). Rickettsia sp. strain colombianensi (Rickettsiales: Rickettsiaceae): a new proposed Rickettsia detected in Amblyomma dissimile (Acari: Ixodidae) from iguanas and free-living larvae ticks from vegetation. *Journal of medical entomology*, 49(4), 960-965.

Miranda, J., y Mattar, S. (2014). Molecular detection of Rickettsia bellii and Rickettsia sp. strain Colombianensi in ticks from Cordoba, Colombia. *Ticks and tick-borne diseases*, 5(2), 208-212.

---

Miranda, J., Violet-Lozano, L., Barrera, S., Mattar, S., Monsalve-Buriticá, S., Rodas, J., y Contreras, V. (2020). Candidatus *Rickettsia colombianensi* in ticks from reptiles in Córdoba, Colombia. *Veterinary World*, 13(9), 1764.

Mukherjee, N., Beati, L., Sellers, M., Burton, L., Adamson, S., Robbins, R.G., Moore, F., y Karim, S., (2014). Importation of exotic ticks and tick-borne spotted fever group rickettsiae into the United States by migrating songbirds. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5. 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.09.009>.

Nava, S., Lareschi, M., Rebollo, C., Benítez Usher, C., Beati, L., Robbins, R. G., y Guglielmone, A. A. (2007). The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Paraguay. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 101(3), 255-270.

Nava, S., Venzal, J. M., Acuña, D. G., Martins, T. F., y Guglielmone, A. A. (2017). *Garrapatas del cono sur de América: diagnóstico, distribución y hospederos con taxonomía, ecología e importancia sanitaria*. Prensa Académica.

Ogrzewalska, M., Machado, C., Rozental, T., Forneas, D., Cunha, L. E. y De Lemos, E. R. S. (2019). Microorganisms in the ticks *Amblyomma dissimile* Koch 1844 and *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 collected from snakes in Brazil. *Medical and veterinary entomology*, 33(1), 154-161.

Ogrzewalska, M., Uezu, A., Jenkins, C. N., y Labruna, M. B. (2011). Efecto de la fragmentación del bosque sobre las infestaciones de aves por garrapatas y las tasas de infección por garrapatas por *Rickettsia* en el Bosque Atlántico de Brasil. *EcoHealth*, 8 (3), 320-331.

Ogrzewalska, Maria, Pacheco, R.C., Uezu, A., Richtzenhain, L.J., Ferreira, F., y Labruna, M. B. (2009a). Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in an atlantic rain forest region of Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 46. 1225-1229. <https://doi.org/10.1603/033.046.0534>.

---

Ortiz, J., Miranda, J., Ortiz, L., Navarro, Y., y Mattar, S. (2015). Seroprevalencia de Rickettsia sp. en indígenas Wayuü de la Guajira y Kankuamos del Cesar, Colombia. *Infectio*, 19(1), 18-23. doi: 10.1016/j.infect.2014.11.003.

Pacheco, E., Rosa, M., Duran, M., Hidalgo, M., Galeano, A., y Echeverril. (2008). Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimientode Alto de Mulatos - Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia. *Inf Quinc Epidemiol Nac*, 13:145---60.6.

Parola, P., Paddock, C.D., Socolovschi, C., Labruna, M.B., Mediannikov, O., Kernif, T., Abdad, M.Y., Stenos, J., Bitam, I., Fournier, P.E., y Raoult, D. (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 657-702. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-13>.

Patiño, F., Uribe, L. F., Mendoza, J. T., Guerrero, J., y Newcomb, K. M. (1989). Levantamiento de la frecuencia del parásito del corazón (Dirofilaria immitis) en la población canina colombiana. *MSD AGVET Merial*, 1-5.

Phan, J. N., Lu, C. R., Bender, W. G., Smoak III, R. M., y Zhong, J. (2011). Molecular detection and identification of Rickettsia species in Ixodes pacificus in California. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(7), 957-961.

Quintero, J. C., Londoño, A. F., Díaz, F. J., Agudelo-Flórez, P., Arboleda, M., y Rodas, J. D. (2013). Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica*, 33(1), 38-51.

Quintero, V. J. C., Paternina, T. L. E., Uribe, Y. A., Muskus, C., Hidalgo, M., Gil, J., y Rojas, A. C. (2017). Análisis ecoepidemiológico de la seropositividad rickettsial en zonas rurales de Colombia: un enfoque multinivel. *PLoS enfermedades tropicales desatendidas*, 11 (9), e0005892.

Quiñones, F. A. (2019). *Guía Ilustrada de la Avifauna Colombiana*. Panamericana Formas e Impresos S. A, Bogotá, Colombia.

---

Rambaut, A. (2009). FigTree. Tree figure drawing tool. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.

Ramírez Hernández, A. (2014). Identificación molecular y análisis de la relación filogenética de especies de Rickettsias presentes en garrapatas provenientes de tres regiones de Colombia. *Dissertation, Universidad Nacional de Colombia*.

Rangel-Ch, J. O. (2012). Colombia Diversidad Biótica XII: La región Caribe de Colombia. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales.

Rangel-Ch, O. y GARZÓN, A. (1995). Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). Colombia diversidad biótica, Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá, DC, 155-70.

Raoult, D., Dutour, O., Houhamdi, L., Jankauskas, R., Fournier, PE, Ardagna, Y., y Aboudharam, G. (2006). Evidencia de enfermedades transmitidas por piojos en soldados del Gran Ejército de Napoleón en Vilnius. *Revista de enfermedades infecciosas*, 193 (1), 112-120.

Rivera-Páez, F. A., Labruna, M. B., Martins, T. F., Perez, J. E., Castaño-Villa, G. J., Ossa-López, P. A., y Camargo-Mathias, M. I. (2018). Contributions to the knowledge of hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(1), 57-66.

Sanchez, L., Cogollo, V. C., Velillaq, S. M., González, I. R., Molina, A. D., y Castro, D. F. (2019). Primera detección de *Candidatus Rickettsia colombianensi* en el departamento del Meta, Colombia.

Santodomingo, A., Cotes-Perdomo, A., Foley, J., y Castro, L. R. (2018). Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) from reptiles in the Colombian Caribbean. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(3), 623-628.

Santodomingo, A., Sierra-Orozco, K., Cotes-Perdomo, A., y Castro, L. R. (2019). Molecular detection of *Rickettsia* spp., *Anaplasma platys* and *Theileria equi* in ticks collected from horses in Tayrona National Park, Colombia. *Experimental and Applied Acarology*, 77(3), 411-423.

---

Santodomingo, A., Uribe, J. E., Lopez, G., y Castro, L. R. (2021). Phylogenetic insights into the genus *Amblyomma* in America, including the endangered species *Amblyomma albopictum*, *Amblyomma macfarlandi*, and *Amblyomma usingeri*. *International Journal of Acarology*, 1-9.

Scott, J. D., y Durden, A. L. (2015a). First record of *Amblyomma rotundatum* tick (Acari: Ixodidae) parasitizing a bird collected in Canada. *Systematic & Applied Acarology*, 20 (2): 155-161

Scott, J. D., y Durden, L. A. (2015b). *Amblyomma dissimile* Koch (Acari: Ixodidae) parasitizes bird captured in Canada. *Systematic and Applied Acarology*, 20(8), 854-860

Scott, J., Fernando, K., Banerjee, S., Durden, L., Byrne, S., Banerjee, M., Mann, R., y Morshed, M. (2001). Birds Disperse Ixodid (Acari: Ixodidae) and *Borrelia burgdorferi*-Infected Ticks in Canada. *Journal of Medical Entomology*, 38(4): 493-500.

Sonenshine, D.E., Lane, R.S., y Nicholson, W.L. (2002). Chapter 24: ticks (ixodida). Medical and veterinary entomology. *Medical and Veterinary Entomology*, 517-558.

Strewe, R., Villa de León, C., Alzate, J., Beltrán, J., Moya, J., Navarro, C., y Utria, G. (2009). Las aves del campus de la Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. *Intropica: Revista Del Instituto de Investigaciones Tropicales*, 4(1),8. doi: 10.21676/23897864.141.

Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (Vol. 1). Pan American Health Org. Washington, D.C.

Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2016). *Nucl. Acids Res.* 44 (W1): W232-W235. doi: 10.1093/nar/gkw25.

Vélez, J, C, Q., Hidalgo, M., y González, J. D. R. (2012). Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas scientiarum*, 17(1), 82-99.

Vivas, R. I. R., Chi, M. O., González, M. B., y Aguilar, J. A. R. (2019). Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrocencias*, 12(1).

---

Walker, D, H., e Ismail, N. (2008). Rickettsiosis emergentes y reemergentes: infección de células endoteliales y eventos de enfermedad temprana. *Nature Reviews Microbiology*, 6 (5), 375-386.