Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Veterinarias
Programa de Doctorado Ciencias Veterinarias

DISTRIBUCIÓN DE GARRAPATAS DURAS (ACARI: IXODOIDEA) Y DETECCIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS DEL GÉNERO *BORRELIA, EHRLICHIA* Y *RICKETTSIA* PROVENIENTES DE DIFERENTES ECORREGIONES DE CHILE

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias

IGNACIO EDUARDO TRONCOSO TORO

CHILLÁN CHILE

2023

Profesor Guía: Dr. Daniel González Acuña
Dpto. de Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad de Concepción

Profesor Guía: Dra. Lucila Moreno Salas
Dpto. de Zoología. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Ciencia Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.

Profesor Guía

_____

Dr. Daniel González Acuña
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

_____

Dra. Lucila Moreno Salas
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora:

_____

Dr. Sebastián Muñoz Leal
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

_____

Dr. Claudio Verdugo Reyes
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Austral de Chile

Director de Programa

_____

Dr. Fidel Ovidio Castro Reboredo
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
I. RESUMEN	ix
II. ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Sistemática y taxonomía de las garrapatas	4
2.2 Biogeografía de las garrapatas	7
2.3 Garrapatas duras de Chile	10
2.3.1 Enfermedades vectoriales en Chile	17
2.4 Bacterias del género *Borrelia*	19
2.4.1 Taxonomía	19
2.4.2 Genética	21
2.4.3 Genoespecies	22
2.4.4 Filogenia *Borrelia*	25
2.4.5 Ciclo biológico	26
2.4.6.Situación *Borrelia* grupo Lyme en Chile	28
2.5 Bacterias del género *Rickettsia*	30
2.5.1 Taxonomía	31
2.5.2 Genética	32
2.5.3 Genoespecies	32
2.5.4 Filogenia	33
2.5.5 Ciclo biológico	34
2.5.6 Situación rickettsiosis en Chile	35
2.6 Bacterias del género *Ehrlichia*	36
2.6.1 Taxonomía	37
2.6.2 Genética	38
2.6.3 Filogenia	39
2.6.4 Biología	40
2.6.5 Situación Ehrlichiosis en Chile	41
2.7 Diagnóstico enfermedades vectoriales	41
2.8 Variables ambientales asociadas a la presencia de garrapatas y bacterias	45
2.9 Justificación del problema	51
3. HIPÓTESIS	52

4. OBJETIVOS 52

5. MATERIALES Y MÉTODOS 53

5.1 Área de muestreo 53

5.2 Descripción de las ecorregiones incorporadas en el estudio 54

5.3 Tamaño muestral 55

5.4 Recolección de garrapatas y muestras biológicas 55

5.5 Identificación morfológica de garrapatas 56

5.6 Identificación molecular de garrapatas 56

5.7 Identificación molecular de especies de *Borrelia* 57

5.8 Identificación molecular de especies *Rickettsia* 58

5.9 Identificación molecular de especies de *Ehrlichia* 58

5.10 Análisis de la diversidad genética de especies de *Borrelia*, *Rickettsia* y *Ehrlichia* 60

5.11 Análisis filogenéticos 60

5.12 Análisis variables ambientales 60

5.13 Análisis estadístico 63

6 RESULTADOS 64

7 DISCUSIÓN 88

8 CONCLUSIONES 103

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 105

10 ANEXOS 179

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Distribución global y dispersión de genoespecies de *Borrelia* del complejo Lyme (Margos et al., 2022).	24
Figura 2	Ciclo de transmisión de las tres principales especies patógenas de *Borrelia burgdorferi* s.l en Europa (Gray y Kahl, 2022).	27
Figura 3	Ciclo de vida de garrapatas duras y transmisión natural de *Rickettsia* (Eremeeva y Dasch, 2016).	35
Figura 4	Esquema general que integra el ciclo de vida de la garrapata *Ixodes*, el ciclo de transmisión de Anaplasmataceae y los hospedadores en la interfase animal doméstico-fauna silvestre. (Estrada-Peña y de la Fuente, 2014).	41
Figura 5	Ciclo de vida de las garrapatas ixódidas (Rajakaruna y Eremeeva, 2023)	48
Figura 6	Ecorregiones de Chile, indicando lugares de muestreo.	53
Figura 7	Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr 16S mitocondrial para garrapatas del género *Ixodes* bajo el modelo de sustitución (GTR +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco**.**	67
Figura 8	Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr de 16S mitocondrial para grupo de garrapatas del género *Amblyomma* bajo el modelo de sustitución (T92+G+I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco.	68
Figura 9	Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr de 16S mitocondrial para un subgrupo de garrapatas del género *Rhipicephalus* bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican	69

sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco.

Figura 10 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *flaB* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (T92 +G+I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco. 71

Figura 11 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *flaB* de *Borrelia* con genoespecies de zona neotropical bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco. 72

Figura 12 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *p66* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (HKY +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco**.** 73

Figura 13 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *ospC* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (GTR +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco**.** 74

Figura 14 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *gltA* de *Rickettsia* bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran con asterisco**.** 76

Figura 15 Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr 16S para Anaplasmataceae bajo el modelo de sustitución (T93 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco. 78

Figura 16	Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *gltA* de *Ehrlichia* bajo el modelo de sustitución (T93 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco**.**	79
Figura 17	Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *dsb* de *Ehrlichia* bajo el modelo de sustitución (K92 +G + I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcado con asterisco	80
Figura 18	Riqueza de especies de garrapatas distribuidas en cada una de las localidades de muestreo ordenadas de norte a sur, por zona geográfica	83
Figura 19	Análisis de PCA utilizando las 21 variables ambientales utilizadas en el análisis discriminatorio inicial	86

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Distribución geográfica de garrapatas duras con poblaciones establecidas, endémicas de (Familia Ixodidae) en Chile.	9
Tabla 2	Recopilación de enfermedades vectoriales en Chile (elaboración propia).	18
Tabla 3	Genoespecies del complejo *B. burgdorferi* (Adaptado de Krupka et al., 2007; Margos et al., 2011; Margos et al., 2022).	24
Tabla 4	Variables ambientales utilizadas, en negrita las resultantes en el análisis de componentes principales (PCA).	61
Tabla 5	Especies de garrapatas identificadas morfológica, además se muestra el porcentaje de muestras que amplificaron al gen (ARNr 16S mitocondrial).	64
Tabla 6	Especies y número de garrapatas positivas a las bacterias del género *Rickettsia, Ehrlichia* y *Borrelia*.	65
Tabla 7	Localidades de registro de garrapatas en el presente estudio ordenadas de forma descendiente geográficamente y por ecorregión.	81
Tabla 8	Test de diferencia de proporciones del porcentaje de ocurrencia de patógenos entre las ecorregiones analizadas, con su respectivo valor p.	82
Tabla 9	Distribución de muestras por ecorregión y valores de prevalencia para patógenos.	82
Tabla 10	Distribución y resultados de patógenos por ecorregión.	84
Tabla 11	Resultados del Análisis de Componentes Principales aplicado a las variables bioclimáticas y de clima del suelo. El significado correspondiente a cada una de las variables se encuentra disponible en la tabla 5.	86

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por vectores (CVBD), y especialmente por garrapatas, han aumentado a un ritmo desconocido en los últimos años, generando repercusión en la salud pública y animal. En vista de la escasa información epidemiológica sobre la presencia de microorganismos en garrapatas duras en Chile, el objetivo general de esta propuesta fue evaluar la presencia de bacterias *Ehrlichia, Borrelia* y *Rickettsia* asociadas a garrapatas duras (Acari: Ixodoidea) provenientes de diferentes ecorregiones de Chile, para responder a la hipótesis que la presencia de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Borrelia* y/o *Rickettsia* se asocia a zonas con mayor riqueza de garrapatas, esperando encontrar una mayor presencia de estas bacterias en las ecorregiones con climas templados y fríos en Chile. Para esto, se recolectaron 624 garrapatas provenientes de siete ecorregiones de Chile, las cuales se identificaron taxonómica y molecularmente usando un fragmento parcial (≈460-pb) del gen ARNr 16S mitocondrial. Luego, en cada garrapata, se buscó mediante técnicas moleculares la presencia de bacterias del género *Borrelia* (Spirochaetaceae), *Rickettsia* (Rickettsiaceae) y *Ehrlichia* (Anaplasmataceae), empleando la reacción en cadena de la polimerasa convencional (PCR) con los genes *flaB*, *gltA* y ARNr 16S como screening, respectivamente, para luego amplificar los genes *ospC*, *p66* e IGS para *Borrelia*, *dsb* y *gltA* para *Ehrlichia*, y *ompA*, *ompB* y *htrA* para *Rickettsia*. Del total de garrapatas, en 108 (18,68%) se obtuvo ADN de alguna de estas bacterias, siendo la presencia para los géneros *Ehrlichia* del 0,85%, *Rickettsia* del 17,5% y para *Borrelia* del 0,34%. Para *Borrelia* se efectuó confirmación de su identidad en dos garrapatas positivas (*Ixodes abrocomae*) utilizando los genes *p66*, IGS y *ospC*, los cuales, según BLAST, fueron 93% (611/657 pb), 84% (486/577 pb) y 78,4% (259/329 pb) idénticas a la secuencia de la genoespecie *Borrelia chilensis* VA1. En el caso de *Rickettsia*, del total de 103 muestras positivas al gen *gltA* empleado como screening, solo 10 muestras fueron secuenciadas (9,7%) obtenidas de *Amblyomma tigrinum* (80%) y de *Rhipicephalus sanguineus* (20%). Los haplotipos recuperados de *A. tigrinum* y *R. sanguineus* formaron un clado con secuencias de *Candidatus* Rickettsia andaenae obtenidas de *Ixodes boliviensis* (Perú), *Amblyomma parvum* (Brasil) y *Amblyomma triste* (Chile). En el caso de los genes *htrA, ompA* y *ompB,* según BLAST, fueron 100% idénticas a secuencias de *Ca.* R. andaenae obtenida de *A. parvum* en Brasil

(KY402193; MK522488.1; KF030933.1). Para *Ehrlichia*, 12 ejemplares de tres especies de garrapatas (*Ixodes uriae, Ixodes auritulus* e *Ixodes taglei*) fueron positivas al gen ARNr 16S empleado como screening, de estas, 2 (16,6%) obtenidas desde *I. uriae* (1 ninfa, 1 hembra) fueron secuenciadas, donde la secuencia obtenida de la ninfa fue 100% (306 pb/306 pb) idéntica a *Ehrlichia* spp*.* aislada en estudios previos de *I. uriae* en Chile (MK049840.1). Mientras que, la otra secuencia fue 99% (331 pb/335 pb) idéntica a *Candidatus* Midichloria mitochondrii obtenida de *Ixodes ricinus* en Francia (KU559921.1). Para el gen *dsb* la secuencia fue 94% (209 pb/307 pb) idéntica a una secuencia de *Ehrlichia* spp. obtenida de bazo de pingüino magallánico (*Spheniscus magellanicus*) de la Isla Magdalena (MK049838.1), y para el gen *gltA* fue del 86% (526 pb/611 pb) idénticas a una secuencia de *Ehrlichia muris* obtenida de bazo de un roedor silvestre de Japón (CP006917). Respecto a la ocurrencia de ADN de bacterias a través de las ecorregiones analizadas, la mayor ocurrencia para bacterias se registró en Puna (85,7%), seguida de Coquimbo (33,5%), Maule (24%), Bosque Valdiviano (23%), Atacama (16,2%), Patagonia central (1,54%) y Santiago (0%), además se evidenció asociación entre la presencia de *Rickettsia* y *Ehrlichia* con las ecorregiones. En relación con las variables bioclimáticas, las variables seleccionadas mediante el análisis de componentes principales (PCA) fueron: la temperatura promedio anual (Bio 1), temperatura máxima del periodo más caliente (Bio 5), temperatura mínima del periodo más frio (Bio 6), precipitación anual, rango medio diurno (Bio 2), Precipitación anual (mm) (Bio 12) y Precipitación en el trimestre más caluroso (mm) (Bio 18). Mientras que, al análisis de regresión logística binaria para género de bacteria y de garrapata recolectada, solo se evidenció significancia estadística para el género *Ixodes*, para las variables Bio1, Bio2, Bio6 y Bio15 (Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación). Finalmente, al evaluar la correlación entre la riqueza de garrapatas y el gradiente latitudinal, se obtuvo una correlación baja y no significativa entre estas variables. En el presente estudio, se logró detectar ADN de bacterias del género *Borrelia*, *Ehrlichia* y *Rickettsia* en garrapatas Ixodidae, existiendo asociación estadística entre la mayor ocurrencia de bacterias en las ecorregiones de la zona norte que en la sur.

Palabras clave: garrapatas duras; Chile; patógenos, borreliosis: rickettsiosis; ehrlichiosis; ecorregión.

ABSTRACT

Vector-borne diseases (CVBD), and especially tick-borne diseases, have increased at an unknown rate in recent years, generating repercussions on public and animal health. In view of the scarce epidemiological information on the presence of microorganisms in hard ticks in Chile, the general objective of this proposal was to evaluate the presence of *Ehrlichia*, *Borrelia* and *Rickettsia* bacteria associated with hard ticks (Acari: Ixodoidea) from different ecoregions of Chile, to respond to the hypothesis that the presence of bacteria of the *Ehrlichia*, *Borrelia* and/or *Rickettsia* genera is associated with areas with greater tick richness, hoping to find a greater presence of these bacteria in ecoregions with temperate and cold climates in Chile. For this, 624 ticks were collected from seven ecoregions of Chile, which were taxonomically and molecularly identified using a partial fragment (≈460-bp) of the mitochondrial 16S rRNA gene. Then, in each tick, the presence of bacteria of the genus *Borrelia* (Spirochaetaceae), *Rickettsia* (Rickettsiaceae) and *Ehrlichia* (Anaplasmataceae) was searched using molecular techniques, using the conventional polymerase chain reaction (PCR) with the genes *flaB*, *gltA* and 16S rRNA as screening, respectively, to then amplify the genes *ospC*, *p66* and IGS for *Borrelia*, *dsb* and *gltA* for *Ehrlichia*, and *ompA*, *ompB* and *htrA* for *Rickettsia*. Of the total number of ticks, DNA from some of these bacteria was obtained in 108 (18.68%), with the presence for the *Ehrlichia* genera being 0.85%, *Rickettsia* 17.5% and for *Borrelia* 0.34%. For *Borrelia*, confirmation of its identity was carried out in two positive ticks (*Ixodes abrocomae*) using the *p66*, IGS and *ospC* genes, which, according to BLAST, were 93% (611/657 bp), 84% (486/577 bp) and 78.4% (259/329 bp) identical to the sequence of the genospecies *Borrelia chilensis* VA1. In the case of *Rickettsia*, of the total of 103 samples positive for the *gltA* gene used as screening, only 10 samples were sequenced (9.7%) obtained from *Amblyomma tigrinum* (80%) and *Rhipicephalus sanguineus* (20%). The haplotypes recovered from *A. tigrinum* and *R. sanguineus* formed a clade with *Candidatus* Rickettsia andaenae sequences obtained from *Ixodes boliviensis* (Peru), *Amblyomma parvum* (Brazil) and *Amblyomma triste* (Chile). In the case of the *htrA*, *ompA* and *ompB* genes, according to BLAST, they were 100% identical to sequences of *Ca*. R. andaenae obtained from *A. parvum* in Brazil (KY402193; MK522488.1; KF030933.1). For *Ehrlichia*, 12 specimens of three species

of ticks (*Ixodes uriae*, *Ixodes auritulus* and *Ixodes taglei*) were positive for the 16S rRNA gene used as screening, of these, 2 (16.6%) obtained from *I. uriae* (1 nymph, 1 female) were sequenced, where the sequence obtained from the nymph was 100% (306 bp/306 bp) identical to *Ehrlichia* spp. isolated in previous studies of *I. uriae* in Chile (MK049840.1). While the other sequence was 99% (331 bp/335 bp) identical to *Candidatus* Midichloria mitochondrii obtained from *Ixodes ricinus* in France (KU559921.1). For the *dsb* gene the sequence was 94% (209 bp/307 bp) identical to a sequence from *Ehrlichia* spp. obtained from the spleen of a Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus)* from Magdalena Island (MK049838.1), and for the *gltA* gene it was 86% (526 bp/611 bp) identical to a sequence of *Ehrlichia muris* obtained from the spleen of a wild rodent from Japan (CP006917). Regarding the occurrence of bacterial DNA across the ecoregions analyzed, the highest occurrence for bacteria was recorded in Puna (85.7%), followed by Coquimbo (33.5%), Maule (24%), Bosque Valdiviano (23%), Atacama (16.2%), central Patagonia (1.54%) and Santiago (0%), in addition, an association was evident between the presence of *Rickettsia* and *Ehrlichia* with the ecoregions. In relation to the bioclimatic variables, the variables selected through principal component analysis (PCA) were the average annual temperature (Bio 1), maximum temperature of the hottest period (Bio 5), minimum temperature of the coldest period (Bio 6), annual precipitation, mean diurnal range (Bio 2), Annual precipitation (mm) (Bio 12) and Precipitation in the hottest quarter (mm) (Bio 18). While, in the binary logistic regression analysis for the genus of bacteria and the collected tick, statistical significance was only evident for the genus Ixodes, for the variables Bio1, Bio2, Bio6 and Bio15 (Seasonality of precipitation (Coefficient of variation). Finally, when evaluating the correlation between tick richness and the latitudinal gradient, a low and non-significant correlation was obtained between these variables. In the present study, it was possible to detect DNA from bacteria of the genus *Borrelia*, *Ehrlichia* and *Rickettsia* in Ixodidae ticks, existing statistical association between the greater occurrence of bacteria in the ecoregions of the northern zone than in the south.

Keywords: hard ticks; Chile pathogens, borreliosis: rickettsiosis; ehrlichiosis; ecoregion

1.-INTRODUCCIÓN

La emergencia o reemergencia de enfermedades transmitidas por vectores, definidas como aquellas transmitidas por ectoparásitos, ha aumentado a un ritmo desconocido en los últimos 30 años, resultado de la confluencia de factores medioambientales, ecológicos, sociales, económicos y políticos, los cuales han facilitado la interacción del agente infeccioso, vectores y el ser humano (Weaver y Reisen, 2010; Caminade et al., 2019; Caminade et al., 2021). Los aumentos en la incidencia y los patrones de distribución geográfica de vectores, hospederos, patógenos y enfermedades humanas se han atribuido a múltiples impactos antropogénicos, como el cambio climático, la modificación del uso de la tierra y los cambios de comportamiento humano (Sonenshine, 2018; Wikel, 2018), factores que favorecen la expansión de los vectores y crean las condiciones idóneas para la emergencia de nuevas enfermedades (Gould y Higgs, 2009; Caminade et al., 2021), donde los mamíferos domésticos y silvestres, tienen un rol importante en la transmisión como potenciales reservorios (Daszak et al., 2001).

Las enfermedades vectoriales generan un significativo impacto económico, y en salud pública y animal (Marcos-Marcos et al., 2018). A nivel mundial, las garrapatas sólo son superadas, en su capacidad vectorial, por los mosquitos (Parola y Raoult, 2001a), sin embargo, son consideradas como los vectores transmisores de enfermedades más importantes en el mundo (Jongejan y Uilenberg, 2004; Guglielmone et al., 2010a), ya que portan y transmiten agentes como protozoos, virus, hongos y bacterias (Anderson y Magnarelli, 2008; Sonenshine y Roe, 2014). Además, estos ectoparásitos hematófagos obligados parasitan prácticamente a todos los vertebrados terrestres, principalmente mamíferos, así como aves, reptiles, y algunos anfibios. Aunque han sido considerados parásitos cosmopolitas, numerosas especies están restringidas a regiones (hábitats) específicas (Guglielmone et al., 2010a), incluyendo zonas urbanas, lo que representa un riesgo potencial para la salud pública (Hansford et al., 2017).

Entre las principales enfermedades transmitidas por garrapatas al humano y los animales, se encuentran dermatofitosis producidas por hongos patógenos, babesiosis y teileriosis producidas por protozoos, enfermedad del Nilo Occidental (VNO) y otras

encefalitis transmitidas (TBE) producidas por virus, anaplasmosis granulocítica humana, ehrlichiosis monocítica humana, otras ehrlichiosis, tularemia, fiebre Q y la enfermedad de Lyme producidas por bacterias (Sonenshine y Hynes, 2008; Sonenshine y Roe, 2014). Incluso existe evidencia experimental de la transmisión de nematodos, tipo filarias, como *Dipetalonema dracunculoides* por parte de *Rhipicephalus sanguineus* (Olmeda-García et al., 1993). De ahí la importancia del conocimiento de la biología, los hospedadores, la distribución sistemática y geográfica de las especies de garrapatas, junto a los patógenos que estos transmiten, información esencial para el establecimiento de programas que pueden ser utilizados para el control y manejo de futuros eventos y emergencias de enfermedades transmisibles (Lloyd-Smith et al., 2009; Martins et al., 2011; Hartemink y Takken, 2016).

En un estudio publicado por Jones y colaboradores (2008), se analizaron un total de 335 eventos de las enfermedades emergentes, donde las bacterias fueron los agentes más representados con el 54,3%, por delante de virus y priones, que representaban el 25,4% de los agentes. Se destaca dentro de las enfermedades vectoriales la emergencia de patologías de etiología bacteriana (Kernif et al., 2016) identificándose, en muchos casos, el microorganismo antes de que se establezca su relación causal con una enfermedad o patología, donde se pueden citar los ejemplos de nuevos patógenos asociados con infecciones humanas que incluyen *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis*, Borrelia miyamotoi*, y algunas especies de *Rickettsia* (Parola et al., 2013). En América del Sur, las enfermedades transmitidas por garrapatas han sido principalmente estudiadas en la interfaz entre humanos y animales domésticos (Oscherov et al., 2011; Arraga-Alvarado et al.,2014; Vargas-Hernández et al., 2016; Nava et al. 2017; González-Ascanio y Sacramento, 2018). Sin embargo, estudios de especies parásitas de animales silvestres resaltan la existencia de agentes bacterianos y protozoarios que se perpetúan en ciclos enzoóticos (Parola et al., 2011; Gofton et al., 2015a). En particular, bacterias de la Familia Anaplasmataceae y de los géneros *Borrelia* o *Rickettsia,* han sido recientemente detectados en garrapatas asociadas a animales silvestres (Labruna, 2009; Wolf et al., 2016; Muñoz-Leal et al., 2018a; Muñoz-Leal et al., 2019a, 2019b; Sánchez et al., 2020).

Chile es un país relativamente aislado por barreras geográficas y se ha clasificado dentro de la región biogeográfica andina (Flynn et al., 2003; Morrone, 2018), siendo los endemismos en vertebrados chilenos comunes (Johnson et al., 1990; Meserve y Kelt, 1990; Jaksic, 1998). Presenta 8 ecorregiones que se caracterizan por presentar entomofauna endémica (Morrone, 2006) y un clima regional distintivo (Matteuci et al., 2016).

En el caso de la fauna de garrapatas en Chile, del total de 14 garrapatas duras, 4 de ellas (*Ixodes stilesi, Ixodes abrocomae, Ixodes chilensis,* e *Ixodes taglei*) son de exclusiva distribución en nuestro país (González-Acuña y Guglielmone, 2005; Muñoz-Leal et al., 2016; Nava et al., 2017; Guglielmone et al., 2021). Respecto a su distribución, 3 de las 14 garrapatas duras nativas se han descrito principalmente para las zonas septentrionales del país, mientras que, 10 de las 14, han sido descritas en el sur (González-Acuña y Guglielmone, 2005; González-Acuña, 2008; Venzal et al., 2008; Abarca et al., 2012; Venzal et al., 2013; Muñoz-Leal et al., 2016). Esta distribución concuerda con lo observado a nivel mundial, donde la mayoría de las especies de garrapatas de la Familia Ixodidae se encuentran en áreas con clima templado, y en ambientes húmedos hasta el frío extremo (Guglielmone et al., 2004). Por lo tanto, los factores ambientales serían determinantes en la distribución de las garrapatas duras, tanto para su establecimiento y propagación a nuevas áreas (Kulkarni et al., 2018). Por otra parte, conocer la distribución de las garrapatas es relevante debido a que la distribución de los patógenos que transmiten está estrechamente relacionada con su distribución y la de sus hospedadores (Parola & Raoult, 2001b)

En Chile, la información respecto a bacterias en garrapatas es escasa, existiendo solo evidencia molecular de las bacterias *Ehrlichia canis* (López et al., 2012), *Candidatus* Neoehrlichia chilensis y *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) en *Ixodes* sp., de *B. burgdorferi* s.l. en *Ixodes auritulus* (Muñoz-Leal et al*.,* 2019a) y de *Ehrlichia* sp. en la garrapata *Ixodes uriae* (Muñoz-Leal et al*.,* 2019b), lo cual asociado a la distribución sesgada de las garrapatas duras hacia zonas templadas y frías del país y al desconocimiento respecto a la distribución de las bacterias que puedan portar la

mayoría de las garrapatas presentes en el país, el presente trabajo tiene como hipótesis que la presencia de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Borrelia* y/o *Rickettsia* en garrapatas Ixodidae se asocia a zonas con mayor riqueza de garrapatas, esperando encontrar una mayor presencia de estas bacterias en las ecorregiones con climas templados y fríos en Chile. Los objetivos específicos de esta investigación fueron: (1) identificar las especies de garrapatas duras y la presencia de bacterias de los géneros *Borrelia*, *Rickettsia* y *Ehrlichia* (2) analizar filogenéticamente las garrapatas y las especies bacterianas encontradas, (3) asociar la distribución geográfica de las garrapatas duras de diferentes ecorregiones con la presencia de bacterias (4) evaluar la distribución de las especies de garrapatas a través del gradiente latitudinal de Chile, y (5) determinar las variables ambientales que explican la distribución de las garrapatas duras a lo largo de Chile. Esta información permitirá la delimitación de áreas biogeográficas donde exista distribución de estas bacterias y permitirá el reconocimiento de variantes genéticas que circulan en garrapatas de Chile, para evaluar de esta forma sus posibles implicancias zoonóticas. La integración de este conocimiento permitirá finalmente la implementación de medidas de manejo para prevenir / anticipar la transmisión emergente de enfermedades entre las poblaciones animal y humana.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las garrapatas son vectores de diversos patógenos y se consideran en segundo lugar en cuanto a su importancia en salud pública, después de los mosquitos (Hoogstraal, 1985). Sin embargo, son los invertebrados que más transmiten microorganismos a animales silvestres y domésticos (de La Fuente et al., 2008). Se estima que entre el 80 y 90% de las especies de garrapatas parasitan de forma exclusiva animales silvestres; sin embargo, algunas especies se han convertido en importantes vectores de patógenos zoonóticos emergentes (Labruna et al., 2005). El cambio climático puede interferir en la dispersión de garrapatas originarias de climas templados y tropicales hacia regiones climáticas distintas (Tokarevich et al., 2011). Otros factores como el transporte transcontinental de animales también pueden influir en la dispersión de especies exóticas (Keirans y Durden, 2005; Kelly et al., 2010; Rainey et al., 2018). Por ende, es de suma importancia conocer más sobre las garrapatas de cada país, que puedan parasitar animales domésticos o silvestres, pues muchas de estas actúan directamente en la mantención de patógenos en ambientes naturales (Labruna et al., 2005).

2.1.-SISTEMÁTICA Y TAXONOMÍA DE LAS GARRAPATAS

La historia evolutiva de los Ixodidae se fundamenta en la hipótesis que el área de origen sería probablemente Gondwana. La división basal en Ixodidae (155 millones de años) involucra a los clados Prostriata y Metastriata. Para el Jurásico Superior, América del Norte se había separado de Gondwana, en términos de clima, donde los grandes continentes eran en su mayoría áridos desde la latitud 40°N a 40°S (Ziegler et al., 2003). Sin embargo, Gondwana se había trasladado a zonas templadas caracterizadas por una importante diversidad biológica (Ziegler et al., 2003). Los Prostriata existentes se diversificaron primero (112 millones de años), y un linaje probablemente llegó al este de Gondwana (*Ixodes* australiano), mientras que, el otro ocupó la mayor parte del continente. Este grupo de garrapatas actualmente se encuentra en todos los continentes modernos, y pudo haber llegado a Laurasia a través de América del Sur, África o ambos. A diferencia de Prostriata, la topología basal del clado metastriado no está bien resuelta,

por falta de caracteres informativos, pero también porque este grupo de taxones realmente podría haber diversificado muy rápidamente (Beati y Klompen, 2019). Estos clados (con pocas excepciones) tienen fuertes afinidades africanas y euroasiáticas. Si la datación es correcta, estos linajes irradiaron metaestriada, cuando África y la India ya se habían separado de Gondwana. Dada la incertidumbre de datación en la topología basal del árbol, y la elección conservadora en la estrategia de calibración, la explicación más parsimoniosa es que tanto la radiación de Ixodida como la de Metastriata ocurrieron entre 30 y 40 Ma antes y que las modernas *Haemaphysalis* y Rhipicephalinae se trasladó con la masa terrestre africana y más tarde a Eurasia. Finalmente, el género *Amblyomma* tiene una fuerte firma antártica, con linajes basales que tienen una distribución entre Australia y el sur de América del Sur (Beati y Klompen, 2019).

Los primeros esfuerzos para clasificar las garrapatas en grupos se realizaron en función de la morfología, su historia de vida, asociación con hospedadores, la organización cromosomal o la biogeografía, lo cual dieron como resultado una serie de hipótesis un tanto contradictorias sobre las relaciones de las garrapatas y, más significativamente, sobre la taxonomía y sus principales linajes (Keirans y Durden, 2005). Las herramientas moleculares han ayudado a resolver una serie de cuestiones controvertidas, además de revelar problemas taxonómicos adicionales (Black y Piesman 1994; Black et al. 1997; Mangold et al. 1998; Klompen et al. 2000; Beati y Keirans 2001).

El estudio en sistemática molecular de las garrapatas fue basado en el análisis de la secuencia del gen mitocondrial 16S rDNA (Black y Piesman, 1994). Sin embargo, el gen elegido no proporcionó una buena resolución a niveles supra género, por lo cual, Black et al. (1997) analizaron representantes de todas las subfamilias de garrapatas utilizando secuencias del gen 18S rDNA más conservadas. Luego para resolver problemáticas taxonómicas, se han empleado un conjunto de marcadores, considerando sus tasas de mutación, concluyendo en general, que las secuencias de genes ribosomales nucleares son más informativas a nivel de Familia y subfamilia (Black et al. 1997; Fukunaga et al. 2000; Klompen et al. 2000; Beati et al. 2008; Mans et al. 2011), mientras que, los genes mitocondriales y los espaciadores intergénicos (ITS1 e ITS2) brindan una mejor resolución a nivel intra género e intraespecífico (McLain et al. 1995; Norris et al. 1996;

Barker 1998; Klompen et al. 2000; Beati y Keirans 2001; Szabó et al. 2005; Teglas et al. 2005; Mixon et al. 2006; Marrelli et al. 2007; Nava et al. 2008).

Actualmente existen 980 especies descritas de garrapatas en el mundo, de las cuales 221 especies son garrapatas blandas (Familia Argasidae), 758 corresponden a garrapatas duras (Familia Ixodidae) y una especie de la Familia Nutalliellidae (monotípico) (Nava et al., 2009; Nava et al., 2010; Dantas-Torres et al, 2012; Venzal et al., 2012a; Ash et al., 2017; Muñoz-Leal et al., 2017, Guglielmone et al., 2021). Si bien, existe un consenso general sobre la clasificación de los géneros de garrapatas duras (basado en gran medida en rasgos morfológicos) y se han logrado avances significativos utilizando enfoques moleculares (Barker y Murrell, 2002), quedan algunos problemas sin resolver con respecto a la ubicación de ciertas especies y las relaciones evolutivas entre los géneros. De las especies descritas, 280 especies de Ixodidae (36,9%) y 35 especies de Argasidae (15,8%) han sido reportados como parásitos de humanos (Guglielmone y Robbins, 2018; Llanos-Soto et al., 2020; Muñoz-Leal et al., 2020).

Desde el punto de vista morfológico, los Ixodidae se han dividido en dos grupos: Prostriata, que contiene garrapatas en las que el surco anal limita con el ano anteriormente, y Metastriata, en el que el surco anal, si está presente, se curva por detrás del ano. El grupo Prostriata consta únicamente del género *Ixodes* y actualmente contiene 265 especies, mientras que, el grupo Metastriata está compuesto por 492 especies y 16 géneros (Guglielmone et al. 2021), más un taxón asignado erróneamente al género *Haemaphysalis* (Chitimia-Dobler et al., 2018).

2.2.-BIOGEOGRAFÍA DE LAS GARRAPATAS

Las garrapatas duras se encuentran distribuidas en las seis regiones zoogeográficas (afrotropical, australasiana, neártico, neotropical, oriental y paleártico), sin embargo, la distribución de las especies en diferentes géneros no es uniforme. Por ejemplo, el género *Ixode*s tiene la distribución más amplia y se encuentra en las seis regiones zoogeográficas; donde 32 especies (13%) se encuentran en más de una región zoogeográfica, y la región afrotropical es la que contiene el mayor número de *Ixodes*

(Guglielmone et al., 2021).

Las especies de *Amblyomma* se encuentran en las seis regiones zoogeográficas, donde 25 especies se encuentran en más de una región zoogeográfica, y la región neotropical contiene el mayor número de especies (54) endémicas de una región. Para el caso de *Rhipicephalus* es básicamente un género afrotropical, con 63 especies (75% del total) endémicas de la región afrotropical, el género está representado en las seis regiones zoogeográficas, pero no existen *Rhipicephalus* exclusivos de las regiones neártico y neotropical, y 11 especies se encuentran en dos o más regiones (Guglielmone et al., 2021)

La región neotropical comprende las áreas tropicales de América del Sur, América Central, el sur y centro de México y las Antillas (Morrone 2018). En los análisis de regionalización biogeográfica más recientes se han reconocido 57 provincias (Morrone 2014; 2018; 2020; Martínez et al. 2017; Apodaca et al. 2019; Colli-Silva et al. 2019; Arana et al. 2021), y en dicha región se han documentado un total de 221 especies de Ixodoidea, de ellas 84 pertenecen a la Familia Argasidae y 137 a la Familia Ixodidae (Onofrio et al., 2006; Guglielmone et al., 2009; Labruna y Venzal, 2009; Nava et al., 2009; Dantas-Torres et al., 2012; Venzal et al., 2012a; Guglielmone et al., 2021).

En el caso del género *Ixodes*, se conocen 55 especies equivalente al 21% del total a nivel mundial, siendo 43 de ellas endémicas para la región neotropical (Guglielmone et al., 2021). En el caso del género *Amblyomma*, considerado el grupo más grande de especies que se encuentra en la región neotropical, con 67 especies (49% del total mundial), 54 de los cuales se conocen solo en esta región y muchas de ellas son parásitos comunes de los animales domésticos y los seres humanos (Guglielmone et al., 2009; Guglielmone et al., 2021). En el caso del género *Rhipicephalus,* se describen 3 especies (3,4%) en la región de un total de 87 a nivel mundial. Dentro del género *Dermacentor*, el 21% de todas las especies del género se encuentran en la región neotropical, pero solo cuatro de ellas son especies exclusivamente neotropicales. Finalmente, dentro del género *Haemaphysalis* se describen 3 especies en la región equivalentes al 2% del total a nivel mundial (Guglielmone et al., 2021).

La fauna de garrapatas chilenas hasta el año 2005, consideraba como especies endémicas o probablemente endémicas a un total de 19 especies, siendo 7 Argasidae y 12 Ixodidae (González-Acuña y Guglielmone, 2005). Posteriormente fueron descritas: *Ornithodoros rioplatensis* (Venzal et al., 2008a), *Ornithodoros peruvianus* (Venzal et al., 2012b), *Amblyomma triste* (Abarca et al., 2012), *Ornithodoros microlophi* (Venzal et al., 2013), *Ornithodoros lahillei* (Venzal et al., 2015), *Ornithodoros atacamensis* (Muñoz-Leal et al., 2016) e *Ixodes guglielmonei* (Apanaskevich et al., 2022), lo que hace un total de 26 especies descritas en Chile, siendo 14 Ixodidae y 12 Argasidae.

Las diferencias respecto a su distribución biogeográfica (Guglielmone et al., 2004) de Ixodidae y Argasidae, a nivel mundial también son respaldadas por estudios biogeográficos de garrapatas en Chile, donde las garrapatas blandas se han descrito principalmente para las zonas septentrionales del país, mientras que, 10 de las 13 garrapatas duras nativas, han sido descritas en el sur, con la excepción de *Amblyomma triste* Koch, 1844, *Ixodes abrocomae* Lahillei, 1916 y *Amblyomma parvitarsum* Neumann, 1901 (González-Acuña y Guglielmone, 2005; González-Acuña, 2008; Venzal et al., 2008; Abarca et al., 2012; Venzal et al., 2013; Muñoz-Leal et al., 2016) (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución geográfica de acuerdo a la región política y ecorregión de garrapatas duras (Ixodidae) en Chile.

Especie	Región	Ecorregión
1. Ixodes auritulus	Región I (Tarapacá), Región VI (Libertador Bernardo O'Higgins), Región XVI (Ñuble), XII (Magallanes y Antártica)	Atacama – Santiago y Bosque Magallánico
2. Ixodes uriae	Región XII (Magallanes y Antártica)	Patagonia central
3. Ixodes stilesi	Región VIII (Biobío), IX (Araucanía), X (Los Lagos), XIV (Los Ríos)	Maule y Bosque Valdiviano
4. Ixodes chilensis	Región IX (Araucanía), XIV (Los Ríos)	Bosque Valdiviano
5. Ixodes cornuae	Región XII (Magallanes y Antártica)	Bosque Magallánico

6. *Ixodes taglei*	Región V (Valparaíso), XIV (Los Ríos)	Coquimbo y Bosque Valdiviano
7. *Ixodes sigelos*	Región RM (Metropolitana), Región XVI (Ñuble), VIII (Biobío), IX (Araucanía), XII (Magallanes y Antártica)	Santiago, Maule, Bosque Magallánico
8. *Ixodes neuquenensis*	Región X (Los Lagos)	Bosque Valdiviano
9. *Ixodes abrocomae*	Región III (Atacama), IV (Coquimbo)	Coquimbo
10. *Amblyomma triste*	Región XV (Arica y Parinacota)	Atacama
11. *Amblyomma parvitarsum*	XV (Arica y Parinacota), Región I (Tarapacá), II (Antofagasta), III (Atacama)	Atacama y Coquimbo
12. *Amblyomma tigrinum*	Región V (Valparaíso), Región RM (Metropolitana), Región XVI (Ñuble), VIII (Biobío), IX (Araucanía), Región de Aysén (XI)	Santiago, Maule, Bosque Valdiviano y Bosque Magallánico
13. Complejo *Rhipicephalus sanguineus**	XV (Arica y Parinacota), I (Tarapacá) – IX (Araucanía), Región RM (Metropolitana), Región XVI (Ñuble), Región V (Valparaíso), X (Los Lagos), XIV (Los Ríos)	Atacama, Coquimbo, Santiago, Maule y Bosque Valdiviano
14. *Ixodes guglielmonei*	XII (Magallanes y Antártica)	Patagonia Central

*especie no nativa

2.3 GARRAPATAS DURAS EN CHILE

La situación taxonómica de los Ixodidae se ha estudiado en profundidad, y existe un acuerdo casi completo sobre la posición sistemática de las familias y géneros. Ahora se considera que la Familia Ixodidae incluye los géneros *Ixodes, Haemaphysalis, Amblyomma, Rhipicephalus, Dermacentor, Hyalomma, Anomalohimalaya, Bothriocroton, Cosmiomma, Margaropus, Nosomma*, *Rhipicentor, Robertsicus* y *Archaeocroton* (más los representantes fósiles *Compluriscutula y Cornupalpatum*)

(Estrada Peña et al., 2017; Barker y Burger, 2018), existiendo en nuestro país a la fecha solo especies de garrapatas duras pertenecientes a tres géneros (*Ixodes*, *Amblyomma* y *Rhipicephalus*), siendo sus hospedadores y ubicación geográfica las siguientes:

1. *Ixodes auritulus* Neumann 1904. Es una garrapata común en aves, incluyendo aves marinas (Clifford et al., 1973). Su distribución abarca las regiones australianas, neártica y neotropical (Wilson, 1967; Gugliemone et al., 2021). En la región neotropical ha sido descrita en Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Panamá, Perú, Uruguay y Venezuela (Gugliemone et al., 2021). Existen varios registros de especímenes de garrapatas de este grupo obtenidos de aves de Chile de la Región de Magallanes (XII Región) (Neumann 1899; Nuttall 1916; Cooley y Kohls 1945; Kohls y Clifford 1966; Robbins et al. 2001). Se ha colectado del ictérido *Curaeus curaeus* en la ciudad de Chillán (González- Acuña et al., 2004a) y de Passeriformes de las familias Furnariidae, Turdidae y Emberizidae (González-Acuña y Guglielmone, 2005; González Acuña et al., 2009). Mas recientemente, se halló una larva de *I. auritulus* en gorriones en las Termas del Flaco, región de O'Higgins (Llanos-Soto et al., 2017). Con relación a patógenos detectados, existe el hallazgo en Chile de *Borrelia* (Muñoz-Leal et al., 2019a), como en otros países (Morshed et al., 2005; Scott y Foley, 2016; Carvalho et al., 2020) y *Ehrlichia* (Felix et al., 2021).

2. *Ixodes uriae* White, 1852. Esta especie tiene una distribución circumpolar, tanto en el hemisferio sur, como en el hemisferio norte (Wilson, 1967), y regiones adyacentes de las regiones zoogeográficas afrotropical, australasiana, neártica, neotropical y paleártica, así como varias islas (Guglielmone et al., 2014; Guglielmone et al., 2021). Es la única especie de garrapata que residente en el Ártico y la Antártica, lo que implica que está adaptada a la vida, tanto en climas secos, como fríos (Benoit et al., 2007). En la región neotropical ha sido descrita en el sur de Sudamérica, específicamente en Argentina y Chile (Nava et al., 2017). En Chile, Tagle (1971) registró su presencia en aves marinas, pero no proporcionó información sobre la distribución y los hospederos específicos. Posteriormente esta especie ha sido asociada a pingüinos pigoscélidos en la Península Antártica (Casanueva y Moyano, 2000; Barbosa et al., 2011; González-Acuña et al., 2013). También se ha encontrado

en pilpilén (*Haematopus ater*) y pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en la isla Magdalena, en la Región de Magallanes y Antártica chilena. Con relación a patógenos, es un vector bien conocido de múltiples virus y bacterias diferentes, incluida la *Borrelia burgdorferi* s.l (Olsén et al., 1993; Gylfe et al., 1999), el virus Gadgets Gully (Major et al., 2009), *Coxiella* y organismo similar a *Rickettsia* (Muñoz-Leal y González-Acuña, 2015), en el caso de Chile se ha detectado *Ehrlichia* sp. (Muñoz-Leal et al., 2019b).

3. *Ixodes stilesi* Neumann, 1911 (originalmente *I. elegans*). Esta especie ha sido recolectada en *Pudu puda* (Artiodactyla: Cervidae) en las regiones del Biobío, de Los Ríos y Los Lagos en el sur de Chile (Kohls, 1969; Osorio, 2001; Verdugo et al., 2017). También ha sido encontrada en ratón colilargo (*Oligoryzomys longicaudatus*) y en la vegetación del bosque valdiviano en la región de Los Ríos (Ivanova et al., 2014). Respecto a bacterias con potencial patógeno, se detectado ADN de la genoespecie *Borrelia chilensis* en *I. stilesi* obtenida de roedores (Ivanova et al., 2014) y de cérvidos en el sur de Chile (Verdugo et al., 2017).

4. *Ixodes abrocomae* Lahillei, 1916. Se describió a partir de un macho encontradoen *Abrocoma murayi* en Vallenar, región de Atacama. La descripción de Lahille (1916) fue breve, carecía de figuras y solo describía al macho. Recién en el 2010, Guglielmone et al. redescribe el macho y por primera vez a la hembra a partir de especímenes recolectados en los roedores *Abrothrix longipilis* colectado en el húmedo bosque Valdiviano en el Parque Nacional Bosque Fray Jorge y en *A. olivacea* y *Phyllotis xanthopygus* capturados en Los Molles, a más de 2.500 sobre el nivel del mar (Guglielmone et al., 2010b).

5. *Ixodes chilensis* Kohls, 1956. Esta especie se describió a partir de una hembra que fue tomada de un hospedador desconocido en la ciudad de Angol, Región de la Araucanía (Kohls, 1956). Posteriormente, Tagle (1971) especuló que el hospedador podría ser un caballo. Un reciente estudio registra a *I. chilensis,* parasitando al murciélago *Histiotus magellanicus* en la selva valdiviana en la zona sur de Chile (González-Acuña et al., 2018). Es importante considerar que *H. magellanicus* utiliza las cavidades de los árboles como sitios de descanso, donde también anidan

diferentes especies de aves (Altamirano et al., 2017); por lo que, se podría esperar futuros registros de *I. chilensis* en aves (González-Acuña et al., 2018).

6. *Ixodes cornuae* Arthur, 1960. Hasta la fecha, esta especie ha sido reportada solo una vez en Chile, en Cabo de Hornos (Región de Magallanes y Antártica Chilena) por Arthur (1960), colectada de un ave de la Familia Phasianidae (orden Galliformes) sin proporcionar su nombre científico (Guglielmone et al., 2014). También existen registros en Ecuador (Guglielmone et al., 2021).

7. *Ixodes taglei* Kohls, 1969. Esta especie fue descrita a partir de ejemplares machos y las hembras por Kohls (1969) recolectados en Santo Domingo (Región de Valparaíso) y Callumapu (región de Los Ríos). El único hospedador registrado para adultos de *I. taglei* es el ciervo *P. puda* (Kohls 1969; Verdugo et al., 2017).

8. *Ixodes sigelos* Keirans, Clifford y Corwin, 1976. La distribución geográfica de esta garrapata está restringida a Chile y Argentina (Guglielmone et al., 2005). En nuestro país se describen como hospedadores a los roedores: *Aconaemys fuscus*, *A. longipilus, A. olivacea* y *Rattus rattus* en la región del Biobío; *Phyllotis* spp. en Vilches Alto (Región del Maule); *Abrocoma bennetti* en Til Til (Región Metropolitana), *Octodon degus* en Cerro Manquehue (Región Metropolitana); *Rattus norvegicus* y *O. longicaudatus* en Chillán (Región del Ñuble) (Keirans et al., 1976; Osorio, 2001; González-Acuña et al., 2004a). Respecto a bacterias con potencial patógenos, solo se ha encontrado ADN de *Borrelia burgdorferi* s.l en garrapatas colectadas en la Patagonia argentina (Saracho-Bottero et al., 2016; Sebastian et al., 2016).

9. *Ixodes neuquenensis* Ringuelet, 1947. Esta garrapata es parásita del casiamenazado marsupial *Dromiciops gliroides*, hospedador endémico de la porción norte de los bosques templados del sur de Argentina y Chile, específicamente en Chiloé (Armesto et al., 1998; Marín-Vial et al., 2007). Solo se ha demostrado la presencia de material genético de *Borrelia burgdorferi* s.l. en esta garrapata en la Patagonia argentina (Saracho-Bottero et al., 2016; Sebastian et al., 2016).

10. *Amblyomma triste* Koch, 1844. Fue descrito por primera vez en 1844 en Uruguay. Es una especie de garrapata con distribución neártica y neotropical. Su distribución geográfica se limita a Argentina (Ivancovich, 1980), Bolivia (Lado et al., 2018), Brasil (Kohls 1956; Szabó et al., 2003), Colombia (Corrier et al 1978), Ecuador (Keirans, 1984), Paraguay (Nava et al., 2007), Perú (Guglielmone et al., 2003a), Uruguay (Sampaio et al., 1992; Venzal et al., 2001) y Venezuela (Forlano et al., 2008). En Chile, existen registros de esta especie en perros del área rural de Arica, en el norte de Chile (Región de Arica y Parinacota) (Abarca et al., 2012). Desde el punto de vista vectorial, se ha demostrado en otros países material genético de *Rickettsia parkeri* (Venzal et al., 2004; Cicuttin y Nava, 2013; Melo et al., 2015), *Candidatus* Rickettsia andaenae (Abarca et al., 2012) y *Ehrlichia* (Ciccutin et al., 2020).

11. *Amblyomma parvitarsum* Neumann, 1901. Es una especie sudamericana que se ha encontrado en: Argentina (Guglielmone y Nava 2006; Muñoz-Leal et al. 2014; Fantozzi et al. 2018); Bolivia (Muñoz-Leal et al. 2014); Perú (Muñoz-Leal et al., 2014). En Chile, se ha registrado en las regiones de Antofagasta, Arica y Parinacota y Atacama en vicuña (*Vicugna vicugna*), alpaca (*Lama pacos*), guanaco (*Lama guanicoe*), llama (*Lama glama*) y en la lagartija de James (*Liolaemus jamesi*) (Donoso, 1953; Tagle, 1971; Alcaíno y Gorman, 1999; Muñoz-Leal et al., 2014). Se encontraron larvas de *A. parvitarsum* en nueve localidades del norte de Chile y siete nuevos hospedadores en taxa reptiles (*L. alticolor, L. andinus, L. copiapoensis, L. nigriceps, L. ornatus, L. patriciaiturrae,* y *L. pleopholis*). Los registros en reptiles contribuyeron a confirmar que estos son hospedadores específicos de la larva de esta garrapata (Muñoz-Leal et al., 2014). Ha sido reportado la presencia de agentes rickettsiales en esta garrapata en Argentina y Chile (Ogrzewalska et al., 2016; Muñoz-Leal et al., 2018b).

12. *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844. Es una garrapata neotropical que se ha encontrado solo en América del Sur, específicamente en Argentina, Bolivia, Brasil, Guyana francesa, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela (Guglielmone et al., 2021). Su primera descripción en Chile fue realizada por Tagle y Álvarez (1957) en zorros (*Pseudalopex* spp.) provenientes de Arauco (Región del Biobío). Posterior a este

registro, se ha encontrado parasitando perros y zorros en Nahuelbuta (Región de la Araucanía), Valparaíso, Santo Domingo (Región de Valparaíso), Arauco, Concepción (Región del Biobío), Pirque y Santiago (Región Metropolitana) (Tagle, 1971; Muñoz y Casanueva, 2002; González-Acuña et al., 2003). Existen registros en aves, incluyendo la perdiz chilena (*Nothoprocta perdicaria*), la tórtola (*Zenaida auriculata*) y la codorniz californiana (*Callipepla californica*) en Ñuble (Región del Ñuble). Además, ha sido encontrada parasitando a un bovino (*Bos taurus*) proveniente de la localidad de Quirihue (Región de Ñuble) (González-Acuña et al., 2004b; González-Acuña et al., 2006). El ultimo antecedente data de enero de 2008, donde se colectaron dos garrapatas adultas en un canino, de la localidad de Fachinal, Región de Aysén, Chile, que se encuentra a 250 m s.n.m., a orillas del lago General Carrera, en una región de transición entre la provincia biogeográfica de Bosque Valdiviano y la provincia de la Patagonia (Mastropaolo et al., 2008). Ha sido reportado en otros países la presencia de agentes rickettsiales en esta garrapata (Tomassone et al., 2010; Lado et al., 2014; Romer et al., 2020) y *Ehrlichia* (Cicuttin et al., 2017; Eberhardt et al., 2020).

13. Complejo *Riphicephalus sanguineus* Latreille, 1806. *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto (s.s) se ha encontrado en las regiones neártica, neotropical y paleártica. La distribución geográfica neotropical abarca Argentina, Brasil, Chile y Uruguay. Mientras que, *R. sanguineus* sensu lato (s.l) tiene una distribución mundial, incluida una amplia gama en el Neotrópico en países como Antigua y Barbuda, Argentina, Aruba, Bahamas, Barbados, Belice, Bolivia, Bonaire, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, República dominicana, Ecuador, El Salvador, Guyana Francesa, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela (Guglielmone et al., 2021).

    En Chile, esta especie fue reportada por primera vez por Tagle (1976), quien la encontró en perros en Santiago (Región Metropolitana). Luego se informaron numerosos hallazgos en perros y eventualmente gatos de Buin a Colina por Alcaíno (1985) y Alcaíno et al. (1990). El rango de distribución de esta garrapata es desde Arica hasta Osorno (Moreno y González-Acuña, 2015; Oyarzún-Ruiz et al., 2021). Además de perros y gatos, esta especie ha sido registrada en *R. norvegicus* en Chillán y cabras de San Ignacio (Región del Ñuble) (González-Acuña et al. 2003b, 2006a).

También se ha registrado en San Juan Bautista, en la Isla Robinson Crusoe desde un perro (González-Acuña et al., 2008), y en Isla de Pascua (Región de Valparaíso) (Troncoso et al., 2021).

Rhipicephalus sanguineus s.l es una garrapata de origen africano que se ha diseminado a través de los humanos y sus perros (Keirans, 1992). La distribución geográfica de *R. sanguineus* es mundial, esta abarca de los 50° latitud norte y 35° latitud sur (Ramírez, 2014). En América, *R. sanguineus* está conformada por al menos dos linajes con distinta distribución biogeográfica y posiblemente distinta competencia vectorial (Moraes-Filho et al., 2015). El linaje tropical se encuentra relacionado filogenéticamente con garrapatas de África, mientras que el linaje templado, que se distribuye en localidades templadas de Argentina, Chile y Uruguay, y se relaciona con garrapatas del oeste de Europa (Nava et al., 2012; Chitimia-Dobler et al., 2017). El taxón nominal *R. sanguineus* (Latreille, 1806) se asoció recientemente con el "linaje templado", mientras que, el "linaje tropical" se denominó como *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826), lo cual se determinó realizando la secuenciación del genoma completo de *R. linnaei* de Australia, Fiji y Laos, con el ensamblaje de su ADN mitocondrial completo (~15 kb), lo cual permitió confirmar la identidad genética y la distinción de todas las demás especies conocidas dentro del complejo de especies (Šlapeta et al., 2021).

En Chile, este complejo de especies se distribuye desde Arica en el extremo norte (18 °29′01 “S) hasta Osorno en el sur (39 ° 49′11” S) (López et al., 2015, Abarca et al., 2016, Oyarzún-Ruiz et al., 2021). Anteriormente, Díaz et al. (2018), demostró una distribución más amplia para el linaje tropical, abarcando hasta la latitud 22°S en Chile (Argentina, 23°S; Paraguay, 25°S; Brasil, 28°S), mencionando como el límite norte del linaje templado en Chile en la latitud 20°S y sugieren que las distribuciones de los linajes tropical y templado se superponen, formando una zona de transición de aproximadamente 200 km en la costa norte de Chile (desde Iquique hasta Tocopilla). Finalmente, data el antecedente de la presencia de garrapatas del complejo *R. sanguineus* s.s. en Chile insular (Troncoso et al., 2021). Varias poblaciones de ambos linajes son vectores de patógenos como *Rickettsia rickettsii*, *Anaplasma platys* o

Ehrlichia canis en América (Moraes-Filho et al., 2015; Ciccutin et al., 2015; Martínez-Caballero et al., 2018; Di Cataldo et al., 2021). Para el caso de Chile existe evidencia en esta garrapata de *Rickettsia felis* en la Región Metropolitana y Región de Arica y Parinacota (Abarca et al., 2013) y de *Ca.* Rickettsia andaenae en Chile Insular (Troncoso et al., 2021).

14. *Ixodes guglielmonei* Apanaskevich 2022. Garrapata de distribución neotropical, de la cual se han realizado colectas en Argentina (Provincia de Tierra del Fuego) y Chile (Provincia de Antártica Chilena). Todos los estadios conocidos de *I. guglielmonei* fueron recolectados de aves: *Phalcoboenus australis* (Falconiforme*s:* Falconidae)*; Cinclodes fuscus* (Passeriformes: Furnariidae) y *Charadrius modestus* (Charadriiformes: Charadriidae) (Apanaskevich et al., 2022).

2.3.1- ENFERMEDADES VECTORIALES EN CHILE

En Chile, las enfermedades transmitidas por vectores no son frecuentes, sin embargo, existen registros en perros domésticos de dirofilariosis subcutánea (López et al., 2012b), tripanosomiasis (Correa et al., 1982), anaplasmosis (Abarca et al., 2007), ehrlichiosis (López et al., 2012a) y bartonelosis (Pérez-Martínez et al., 2009), mientras que, en gatos domésticos se ha diagnosticado tripanosomiasis (Correa et al., 1982; Schenone et al., 1991) y bartonelosis (Zaror et al., 2002). Por otra parte, en humanos la enfermedad más importante transmitida por vectores es la tripanosomiasis y recientemente han ocurrido brotes de tifus de los matorrales, enfermedad transmitida por ácaros trombicúlidos. También existen registros aislados de dirofilariosis subcutánea y *Borrelia* (Maggi y Kramer, 2019).

Específicamente las bacterias potencialmente patógenas registradas en Chile y que son transmitidos por artrópodos vectores son: *Anaplasma platys* (Abarca et al., 2007), *Ehrlichia canis* (López et al., 2012), *Ca.* Rickettsia andeanae*, Rickettsia felis* (Abarca et al., 2013a; Abarca et al., 2013b; Troncoso et al., 2021), *Borrelia chilensis* VA1 (Ivanova et al., 2014; Verdugo et al., 2017 y *Candidatus* Orientia chiloensis (Weitzel et al., 2018; Abarca et al., 2020) (Tabla 2).

Tabla 2. Recopilación de microorganismos transmitidos por vectores indicando hospederos registrados en Chile (elaboración propia).

Microorganismo	Hospedero	Referencias
Dirofilaria repens	Caninos Humanos	Pérez y Arce, 2007 López et al., 2012b
Hepatozoon canis	Garrapatas Roedores	Muñoz-Leal et al., 2019a Alabí et al., 2021
Trypanosoma cruzi	Caninos Humanos	Schenone et al., 1986 Burchard et al., 2016
Anaplasma platys *Anaplasma phagocytophilum*	Caninos Garrapatas Equinos Pudú	Abarca et al., 2007 López et al., 2007 Weinborn et al., 2018 Muñoz-Leal et al., 2019a Acosta-Jamett et al., 2020 Hurtado et al., 2020 Santodomingo et al., 2023
Bartonella henselae *Bartonella rochalimea* *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffi*	Felinos Roedores Pulgas Caninos Humanos	Zaror et al., 2002 Ferres et al., 2005 Pérez-Martínez et al., 2009 Troncoso et al., 2016 Müller et al., 2017 Núñez et al., 2017 Müller et al., 2020 Weinborn-Astudillo et al., 2020 Sepúlveda-García et al., 2023
Borrelia spp. *Borrelia chilensis*	Garrapatas Roedores	Abarca et al., 1996 Neira et al., 1996 Ivanova et al., 2014 Verdugo et al., 2017 Muñoz-Leal et al., 2019a Sánchez et al.,2020 Thompson et al., 2021
Ehrlichia canis *Ehrlichia* spp.	Caninos Humanos Pingüinos Garrapatas	López et al., 1999 López et al., 2003 López et al., 2012a Muñoz-Leal et al., 2019b
Mycoplasma spp.	Zorros Murciélagos	Alabí et al., 2010 Cabello et al., 2013 Vergara et al., 2016

	Caninos Roedores Felinos Guiña	Soto et al., 2017 Millán et al., 2019 Di Cataldo et al., 2021 Echeverry et al., 2021
Rickettsia felis *Candidatus* Rickettsia andaenae	Caninos Zorros Pulgas Garrapatas	López et al., 2007 Labruna et al., 2007 Abarca et al., 2013a Cabello et al., 2013 Poo-Muñoz et al.,2016 Müller et al., 2018a Muñoz-Leal et al., 2019a Moreno-Salas et al., 2020 Troncoso et al., 2021 Di Cataldo et al., 2022 Millán et al., 2023
Candidatus Orienta chiloensis	Caninos Humanos Ácaros	Abarca et al., 2018 Weitzel et al., 2018 Abarca et al., 2020 Weitzel et al., 2020 Silva de la Fuente et al., 2023

A continuación, se abordan los tres géneros de bacterias, en las que está enfocada la presente investigación.

2.4. BACTERIAS DEL GÉNERO *BORRELIA*

2.4.1 TAXONOMÍA

Las especies incluidas en el género *Borrelia* son bacterias pertenecientes al Phylum Spirochaetes, clase Spirochaetes y orden Spirochaetales, en el cual se incluyen cinco Familias: Spiroquetaceae, Braquispiraceae Lepstospiraceae, Brevinemataceae y Borreliaceae (Trevisan et al., 2021). La última Familia contiene dos géneros: *Borrelia* y *Cristispira* (Trevisan et al., 2021). Dentro del género *Borrelia***,** se han descrito especies transmitidas por vectores artrópodos, las que presentan una patogenicidad variable en hospedadores mamíferos, aves y reptiles (Margos et al., 2011; Stanek y Reiter, 2011; Brisson et al., 2012; Cutler et al., 2017). El género comprende actualmente 60 especies propuestas y nombradas, varias de las cuales tienen el estado de "Candidatus", lo que significa que no se dispone de aislados cultivados (Stackebrandt et al. 2002; Wolcott et

al., 2021; Margos et al., 2022).

La clasificación de las infecciones causadas por especies patógenas de *Borrelia* ha cambiado a través del tiempo. En un principio se clasificaban en cinco grupos: a) fiebre recurrente (FR), causada por *B. recurrentis* (El- Bahnsawy et al., 2012); b) borreliosis aviar, causada por *B. anserina* (Saif, 2013); c) borreliosis bovina, asociada con *B. theileri* (Smith et al., 1978); d) aborto enzoótico bovino, relacionado *B. coriaceae* (Teglas et al., 2011*);* e) Borreliosis de Lyme o enfermedad de Lyme (EL), causada por diferentes especies del complejo *B. burgdorferi* sensu lato (s.l) (Socolovsch et al., 2009). Posteriormente, estos cinco grupos fueron reducidos a solo dos: Grupo enfermedad de Lyme (EL) y grupo fiebre recurrente (FR) (Wang y Schwartz, 2011). Para esta última se describieron dos formas clínicas: (1) la epidémica transmitida por piojos y (2) la endémica transmitida por garrapatas blandas del género *Ornithodoros* o garrapatas duras del género *Ixodes* spp. (Anda et al., 1996; Krause et al., 2013). Actualmente, *Borrelia* se clasifica en tres grupos, incorporándose a los dos anteriores el grupo asociado a reptiles (REP), aunque se desconoce si causan enfermedad en humanos (Cutler, 2010; Takano et al., 2010; Margos et al., 2011; Stanek y Reiter, 2011).

Posteriormente, basado en análisis filogenéticos moleculares, el género *Borrelia* se dividió en dos géneros: un género enmendado de *Borrelia* que contiene los agentes causales de la fiebre recurrente (FR) y el género *Borreliella* gen. nov. que contiene los agentes causales de la enfermedad de Lyme (EL) (Adeolu y Gupta, 2014). Sin embargo, dicha propuesta fue rechazada por Margos et al. (2017, 2020), debido a que no se incluyó material tipo para todas las especies, lo cual es relevante para efectos taxonómicos (Konstantinidis y Tiedje, 2005; Tindall et al., 2010; Varghese et al., 2015; Garrity, 2016). Luego, dos estudios independientes evaluaron la propuesta de la separación de género considerando dos enfoques para la delimitación de estos, concluyendo que el nuevo género propuesto no estaba suficientemente respaldado (Xin et al., 2014; Margos et al., 2018; Estrada-Peña y Cabezas-Cruz, 2019). Por ende, en el presente estudio fue utilizada la clasificación descrita por Wang y Schwartz (2011).

2.4.2 GENÉTICA

El genoma de *Borrelia* es relativamente pequeño, está compuesto por un cromosoma de ADN lineal de aproximadamente 1 Mpb, con 21 plásmidos (12 circulares y 9 lineales) que corresponden al 40% del total del ADN de la bacteria (Tilly et al., 2008). El genóforo bacteriano contiene 853 genes (Agüero-Rosenfeld et al., 2005), con una relación de guanina-citosina que oscila entre el 23 y el 32% (Fraser et al., 1997). Es considerado uno de los genomas más complejos dentro de los procariotes (Porcella y Schwan, 2001), puesto que, aproximadamente 8% de todos los marcos de lectura abiertos (ORF) codifican lipoproteínas y el 6% está dedicado a motilidad y quimiotaxis (Fraser et al., 1997).

En comparación con los genomas más largos de la mayoría de las bacterias de vida libre, el genoma de *B. burgdorferi* s.l. contiene al menos 132 genes que codifican para lipoproteínas, donde las proteínas de membrana externa (Osp's) son predominantemente inmunogénicas (Escudero-Nieto y Guerrero-Espejo, 2005). Además, presenta una organización única de los genes que codifican para las subunidades ribosomales del ácido ribonucleico (ARNr). Tienen una copia simple del gen de la subunidad 16S (rrs) y dos copias repetidas en tándem de los genes que codifican para las subunidades 23S (rrl) y 5S (rrf) (Davidson et al., 1992). También se ha demostrado que en estos microorganismos los genes rrs están alejados de los genes rrl/rrf, y se expresan de forma separada (Fukunaga et al., 1992).

En relación a la estructura de la envoltura externa, destaca la presencia de dos lipoproteínas externas de superficie, denominadas ospA y ospB (de 29-31 kDa y 34 kDa respectivamente) codificadas por genes localizados en el plásmido lineal (Barbour et al., 1986). La lipoproteína ospA se expresa exclusivamente en aislados procedentes de garrapatas, antes de producirse la alimentación hemática.

Dattwyler y Luft, (1989), describieron la presencia de otra lipoproteína externa de superficie, denominada ospC (22-25 kDa), cuya producción es iniciada por la espiroqueta en garrapatas que se han alimentado. Según Fung et al. (1994), la lipoproteína ospC está presente en la mayoría de las cepas europeas y raramente en las cepas norteamericanas. Muchas poblaciones de *Borrelia*, producen ospA y ospC cuando están

en los intestinos de la garrapata, otras producen lipoproteína externa de un solo tipo y algunas no la producen (Ohnishi et al., 2001).

Además de estas lipoproteínas de membrana, *B. burgdorferi* posee un sistema genético con el potencial de generar variaciones antigénicas en las moléculas de superficie, un sistema de proteína mayor variable (Vmp) que codifica para lipoproteínas expuestas de superficie de dos clases de tamaño: proteína variable pequeña (Vsp) y proteína variable grande (Vlp) (Porcella y Schwan, 2001).

Entre los antígenos de *Borrelia* más importantes figuran la flagelina, la proteína mayor estructural del flagelo, las proteínas de choque térmico, las proteínas de membrana y otras proteínas de función desconocida (Montes et al., 2014). No se reconocen genes que codifiquen para toxinas, por lo tanto, la infección causada por este patógeno se produce por la migración a través de los tejidos, adherencia a las células del hospedador, respuesta inmunomediada y la evasión del sistema inmune (Steere, 2004). Además, el microorganismo carece de la maquinaria para la síntesis de nucleótidos, aminoácidos, ácidos grasos y cofactores enzimáticos, lo cual debe obtener del hospedero (Stanek et al., 2012).

2.4.3. GENOESPECIES

El género *Borrelia* fue descrito por primera vez por Swellengreb 1907 (Skerman et al., 1989) con *Borrelia anserina* elegida como especie tipo. El género comprende actualmente 45 especies nombradas (LPSN bacterio.net), incluidas 21 especies dentro del grupo asociado a la fiebre recurrente (RF), 23 especies dentro del grupo asociado a la borreliosis de Lyme (LB) (Tabla 3) (Fig. 1) (Casjens et al., 2011; Margos et al., 2011; Stanek y Reiter, 2011; Ivanova et al., 2014; Margos et al., 2014; Pritt et al., 2016; Margos et al., 2022) siendo registradas hasta la fecha seis de ellas patógenas para el ser humano (Pritt et al., 2016) y una especie (*B. turcica*) dentro del nuevo grupo asociado a reptiles.

Para definir una nueva genoespecie, el espaciador intergénico 5S–23S, ospA, o el locus de flagelina (flaB) o la proteína de superficie externa (osp) C, otros objetivos cromosómicos de copia única como hbb, rrf -rrl, polC, SrRNK, p66, recA, bmpA, rpoB,

rpoC y gyr, u objetivos unidos a plásmidos como dbpA, vlsE y proteínas de superficie externa (ospA, ospB, ospC) (Lohr et al., 2022) juegan un papel importante para la discriminación de especies y linajes dentro de la especie *B. burgdorferi* s.s. (Wang et al., 2014). Un inconveniente importante para efectuar filogenia, es el hecho de que algunos objetivos moleculares, especialmente los genes diana codificados por plásmidos (p. ej., *ospA, ospB, ospC*), tienen una alta variabilidad inter e intracepa, lo que puede provocar a pérdidas de amplificación (resultados falsos negativos). Otros (por ejemplo, flagelina: fla) no pueden discriminar entre las diferentes genoespecies de *Borrelia* debido a su naturaleza genética más conservada, por lo cual, se cree que los ensayos dirigidos a genes codificados por plásmidos, son más sensibles que los dirigidos a genes cromosómicos (Lohr et al., 2018), limitaciones analíticas y variabilidades que han llevado a la recomendación de que las pruebas moleculares deben emplear al menos dos secuencias diana de ADN diferentes para aumentar la fiabilidad diagnóstica (Fingerle et al., 2016, Hoffman et al., 2021), y desde 2006, se han propuesto varios esquemas de tipificación de secuencias multilocus, de 8 genes housekeeping localizados cromosomalmente (Rudenko et al., 2011b),

Originalmente, se pensó que *B. burgdorferi* s.l era el único patógeno que causaba la enfermedad (Krupka et al., 2007), sin embargo, de las genoespecies descritas, la única especie de *Borrelia* que causa enfermedad en América del Norte en humanos es *B. burgdorferi sensu stricto* (s.s) (denominada *B. burgdorferi*), mientras que, en Europa, al menos cinco especies de *Borrelia* (*Borrelia afzelii, Borrelia garinii, B bissettiae, Borrelia spielmanii* y *Borrelia bavariensis*) pueden causar la enfermedad, lo que conlleva a un mayor espectro de manifestaciones clínicas (Rudenko et al., 2011a).

Además, otras especies (*Borrelia lusitaniae* y *Borrelia valaisiana*), se han detectado de forma esporádica en humanos, no siendo reconocidas como patógenos de importancia en salud humana (Fingerle et al., 2008; Rudenko et al., 2009a).

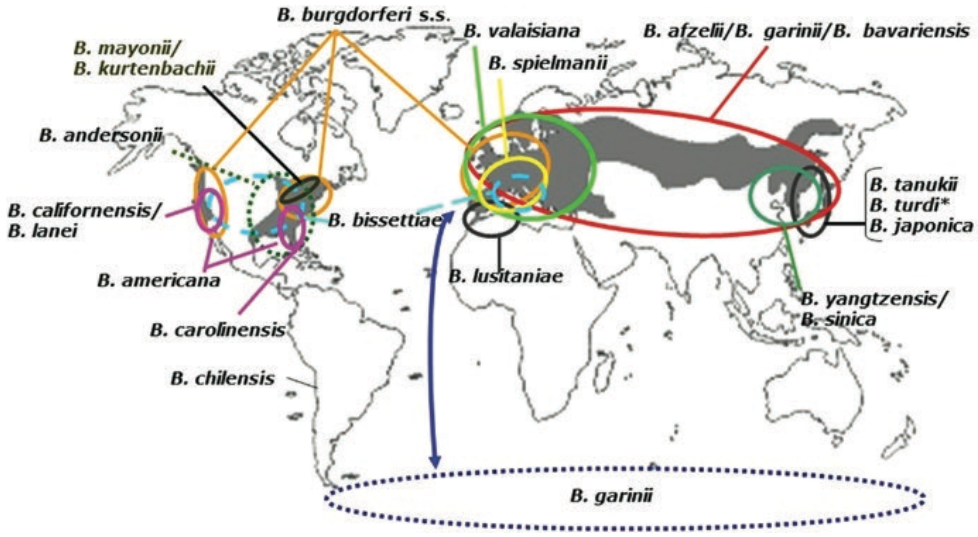

Fig. 1. Distribución global y dispersión de genoespecies de *Borrelia* del complejo Lyme (Margos et al., 2022).

Tabla 3. Genoespecies del complejo *Borrelia burgdorferi* (Adaptado de Krupka et al., 2007; Margos et al., 2011; Margos et al., 2022).

Especie	Distribución geográfica	Referencias
B. burgdorferi sensu stricto*	EE.UU., Europa Occidental	Johnson et al.,1984
B. garinii *	Europa, partes de Asia	Baranton et al.,1992
B. afzelii *	Europa, partes de Asia	Canica et al.,1993
B. japonica	Japón	Kawabata et al.,1993
B. andersonii	Norteamérica	Marconi et al.,1995
B. tanukii	Japón	Fukunaga et al., 1996a–c
B. turdi	Japón	Fukunaga et al., 1996a–c
B. valaisiana	Europa, partes de Asia	Wang et al.,1997
B. lusitaniae	Europa Central y Mediterránea	Le Fleche et al.,1997
B. sínica	China	Masuzawa et al. 2001
B. spielmanii *	Europa	Richter et al., 2006

B. bissettiae *	EE.UU.	Postic et al., 2007
B. californiensis	EE.UU. (Oeste)	Postic et al., 2007
B. yangtze	China	Chu et al., 2008
B. americana	Norteamérica	Rudenko et al., 2009c
*B. bavariensis**	Europa	Margos et al., 2009
B. kurtenbachii	Norteamérica	Margos et al., 2010
B. finlandensis	Europa	Casjens et al., 2011
B. carolinensis	EE.UU. (Sureste)	Rudenko et al., 2011a
B. chilensis	Chile	Ivanova et al., 2014
B. mayonii	Norteamérica	Pritt et al., 2016
B. lanei	Norteamérica	Margos et al., 2017b
B. maritima	Norteamérica	Margos et al., 2020b

*patógenas para humanos.

2.4.4 FILOGENIA DE BORRELIA

El ancestro común de todas las especies de *Borrelia* parece ser un parásito obligado que interactuó exclusivamente con o dentro de los entornos del vector y del hospedero, por ende, tanto los vectores y hospederos constituyen el entorno selectivo al que *Borrelia* debe adaptarse para maximizar su supervivencia y la eficacia de transmisión (Haven et al., 2011). La red de interacciones entre *Borrelia*, vectores y hospederos crea presiones de selección que impulsan la evolución de *Borrelia* (Tsao, 2009, Haven et al., 2011), afectan la migración y las distribuciones geográficas de *Borrelia* (Comstedt et al., 2011; Vollmer et al., 2011; Vollmer et al., 2013; Seifert et al., 2015; Khatchikian et al., 2015; Munro et al., 2019; Norte et al., 2020), y dan forma a las tasas de mutación y la deriva genética (Brisson et al., 2012), aunque las dos últimas fuerzas evolutivas son difíciles de discernir en las poblaciones naturales, y han dado como resultado adaptaciones moleculares divergentes que pueden conducir a una mayor especialización en un subconjunto de vectores o huéspedes. En muchos casos, la mayor especialización aumenta las presiones selectivas sobre otras moléculas para aumentar la eficacia de sus interacciones con moléculas en

algunos hospederos o vectores a costa de disminuir la eficacia de interacción en otras especies de huéspedes o vectores (Wang et al., 2001; Tufts et al., 2019).

La hipótesis para evaluar la evolución del género *Borrelia*, se ha propuesto de tipo "funcional" probando si se comparten proteínas con la misma función. Estos autores identificaron que solo existen diferencias funcionales marginales entre las especies de *Borrelia*, incluidas las especies RF y LB: la diferencia general entre géneros separados bien aceptados (es decir, *Treponema* y *Leptospira*) fue mucho mayor que entre las especies de RF y LB. Las redes filoproteómicas evaluadas en el estudio realizado por Estrada-Peña y Cabezas-Cruz (2019) fueron más eficaces que otros métodos (incluidos POCP y CSI/CSP) para evaluar la relación evolutiva entre taxones y concluyeron de forma independiente que existe poco apoyo para dividir el género *Borrelia*.

Además, los estudios ecológicos y genéticos han revelado cómo la variación en estos mecanismos moleculares ha seguido dando forma a la evolución de *Borrelia*, impulsando cambios en el flujo de genes y la distribución geográfica, y alterando los efectos de la mutación y la deriva genética (Brisson et al., 2012; Khatchikian et al., 2015; Seifert et al., 2015)

2.4.5 CICLO BIOLÓGICO

Borrelia es transmitida por ectoparásitos hematófagos, principalmente por garrapatas y piojos, aunque en casos raros y experimentalmente pueden ser transmitidos por moscas de caballo, mosquitos y pulgas (Magnarelli et al., 1987).

Uno de los componentes más importantes para entender la ecología de la borreliosis, es la identificación de los hospedadores y reservorios del ciclo natural (ciclo enzootico), puesto que, estos mantienen la población de garrapatas portadoras delmicroorganismo (Derdáková y Lencáková, 2005). El ciclo enzoótico involucra a las garrapatas de la Familia Ixodidae como principales vectores, y a los pequeños mamíferos y aves como reservorios (Anderson, 1988).

En el vector, la transmisión de *Borrelia* puede ser transovárica o transestadial, sin embargo, es importante tener en cuenta que la transmisión está intrínsecamente

relacionada con la cepa, la región geográfica, la especie de *Borrelia* y la asociación con otros patógenos (Hoogstraal, 1985). Las garrapatas de la Familia Ixodidae pueden soportar ambos modos de transmisión (Smith et al., 1978; Burgdorfer et al., 1985). Dentro de las garrapatas del género *Ixodes* que sirven como vectores, las especies *I. scapularis, I. pacificus* e *I. ricinus*, son consideradas vectores competentes de *B. burgdorferi* (Barbour y Cook, 2018).

Algunas de las garrapatas de la Familia Ixodidae necesitan de tres hospedadores para completar su ciclo, es decir, son aquellas especies en que ambas mudas tienen lugar en el suelo, de modo que las garrapatas en estado de ninfa deben encontrar un segundo hospedador y las adultas un tercero después de la muda (Kierans et al., 1999; Jongejan y Uilenberg, 2004). Generalmente parasitan a los roedores o pequeños mamíferos, aves y reptiles, pero también se alimentan de grandes mamíferos incluyendo ciervos (Keirans et al., 1999). Adquieren el patógeno cuando se alimentan de estos hospedadores vertebrados infectados (Fig. 2) o por medio de la co-alimentación, o sea, cuando la espiroqueta pasa desde una garrapata infectada a otra no infectada, situación que se da en un hospedador con hiperparasitismo, y que aún no presente la infección sistémica (Derdáková y Lencáková, 2005; Caimano et al., 2007).

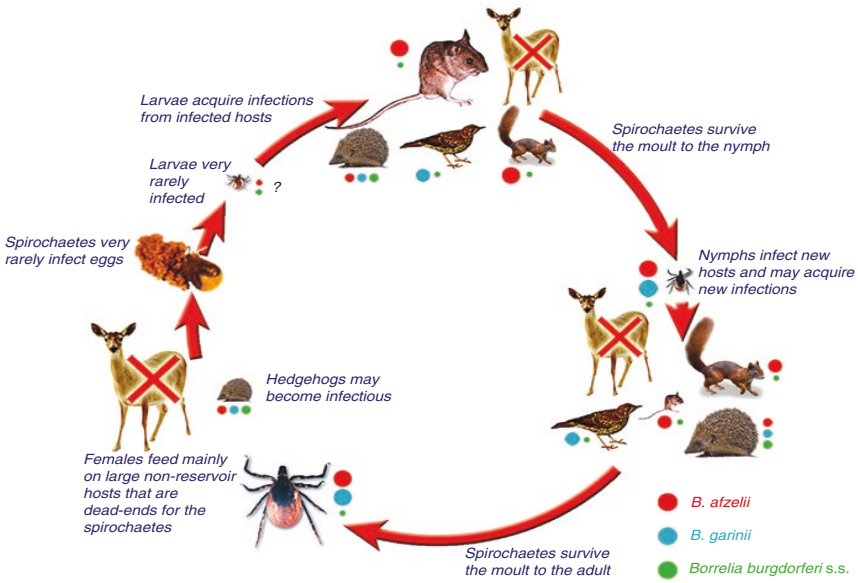

Fig. 2. Ciclo de transmisión de las tres principales especies patógenas de *Borrelia burgdorferi* s.l en Europa (Gray y Kahl, 2022).

Como modelo para explicar el ciclo de *Borrelia* asociada a EL se puede emplear el ciclo

de vida de *I. scapularis* portador más común en E.E.U.U de *B. burgdorferi*, de aproximadamente 2 años (Márquez-Jiménez et al., 2005), existiendo 3 estadios en su desarrollo: larva, ninfa y garrapata adulta dimórfica, por ende, necesita de tres periodos de alimentación (Ostfeld et al., 2006). Las larvas y ninfas pueden parasitar a casi todos los animales de endotermos y también a los reptiles, aunque se alimentan mejor sobre pequeños mamíferos, mientras que, las hembras necesitan alimentarse de la sangre de grandes animales como ciervos, ovejas, vacas y perros (Guerrero, 2001). Las larvas de garrapatas raramente son infectadas (Mather y Mather, 1990), mientras que, el 25% de las ninfas y el 50% de las hembras adultas estan infectadas después de alimentarse de un hospedador reservorio infectado (Montes et al., 2014).

2.4.6. SITUACIÓN BORRELIA GRUPO LYME EN CHILE

La presencia de la enfermedad conocida como borreliosis en Chile no se ha esclarecido, a pesar de los antecedentes clínicos publicados. Se sospechó por primera vez su presencia en 1989 en 25 pacientes con patología neurológica de etiología no precisada (Barahona et al., 1989). El estudio se basó en diagnóstico clínico y serológico a través de ELISA, sin embargo, el agente no pudo ser aislado para su confirmación. En la misma época, un caso de eritema crónico migrans (ECM) fue comunicado en Chile, este caso presentó las características clásicas de este tipo de lesión, revelando el estudio de la biopsia cutánea microorganismos de forma espirilar (Berner et al., 1989). Algunos años más tarde se describió otro caso de ECM con respuesta favorable al tratamiento antimicrobiano (Guzmán y Neira, 1993). Posteriormente, 118 pacientes con signos y síntomas sugerentes de EL derivados de los servicios de Neurología y Dermatología, fueron estudiados en Chile (Neira et al., 1996), de estos, solo cinco (4,2%) reaccionaron a la técnica serológica de ELISA e IFAT, sin embargo, el estudio de confirmación (Inmunoblot) y bacteriológico no pudo confirmar la presencia de EL en ellos. El ultimo antecedente publicado fue el de un paciente de 9 años de edad con antecedentes previos de contacto con un hámster traído desde Alemania, con signología neurológica compatible, que posteriormente fue confirmado mediante técnicas de ELISA e Inmunoblot con la presencia de anticuerpos IgM (Abarca et al., 1996). Estos resultados llevaron a concluir que no se contaba con evidencia suficiente para confirmar la presencia del agente en el país. No obstante, a partir de estos estudio surgieron hipótesis tales como la posible

existencia de una cepa local de *Borrelia* antigénicamente diferente o con perfil epidemiológico distinto al investigado en el estudio (Neira et al., 1996).

En enero de 2008, el Colegio Médico de Chile denunció que al menos cinco facultativos que realizaban su beca de psiquiatría en el Hospital del Salvador en la comuna de Providencia en la Región Metropolitana, sufrieron lesiones cutáneas las que atribuyeron a picaduras de pulgas. Tras capturar un artrópodo y enviarlo a analizar, confirmaron que se trataba de ácaros de los roedores. Se procedió entonces a la toma de muestras de sangre de los posibles afectados, las que fueron enviadas al Instituto de Salud Pública (ISP). Cuatro de los 15 médicos muestreados resultaron positivos y uno indeterminado para la presencia de anticuerpos anti *Borrelia.* Frente a este hecho, el 25 de Enero de 2008 el Subsecretario de Redes Asistenciales, Ricardo Fábrega, declaró que en Chile no existe la enfermedad de Lyme ni su agente, y que los análisis hechos a los afectados no confirman la presencia de la enfermedad. Por su parte, la doctora en infectología de la Pontificia Universidad Católica de Chile, Katia Abarca, descartó la existencia de la enfermedad de Lyme y su vector (Villanueva, 2009).

Otro estudio hecho con el objeto de detectar la presencia de *B. burgdorferi* en garrapatas chilenas, fue realizado por Osorio (2001) que analizó un total de 62 garrapatas recolectadas de roedores silvestres (*Abrothrix longipilus, A. olivaceus* y *R. rattus*) y un pudú, a través de PCR. Las garrapatas correspondían a *Ixodes sigelos* obtenidas de los roedores e *Ixodes stilesi* aisladas del cérvido. A pesar de que todos los elementos requeridos para el ciclo enzoótico de *B. burgdorferi* estaban presentes en el país, los resultados obtenidos por medio de este ensayo fueron negativos.

Posteriormente en el año 2014, Ivanova y colaboradores, a partir de dos grupos de garrapatas de *I. stilesi* obtenidas desde la vegetación del bosque valdiviano y de ratón colilargo (*O. longicaudatus*), realizaron la búsqueda de *Borrelia* mediante el cultivo microbiológico y análisis molecular. El primero reveló microorganismos morfológicamente similares a espiroquetas luego de 1 semana de incubación en medio Barbour-Stoenner-Kelley (BSK)-H, y en el segundo, se logró caracterizar ADN de *Borrelia* por tipificación de genes housekeeping y secuenciación de otros cinco loci (genes ribosómicos 16S y 23S, espaciador intergénico 5S-23S, *flaB* y *ospC*). Resultados genéticos que al

contrastar con la cepa de referencia *B. burgdorferi B31A3*, permitió concluir que se trataba de una nueva genoespecie, la número 20 dentro del grupo de EL en ese momento, denominándose en honor a su país de origen como *Borrelia chilensis* VA1.

Posteriormente, Verdugo y colaboradores en el año 2017, lograron detectar la presencia de ADN de *Borrelia* en garrapatas *I. stilesi* obtenidas de pudú, empleando los marcadores moleculares del gen *fla* y ARNr 16s. Los análisis filogenéticos colocaron estas muestras en el mismo clado que *B. chilensis* VA1 previamente descrito en Chile. Estos hallazgos sugerían que *I. stilesi* puede jugar un papel en la persistencia local de *B. chilensis*, sin embargo, se requerían más estudios para comprender completamente los mecanismos de transmisión natural y el posible riesgo de infección en humanos.

2.5. BACTERIAS DEL GÉNERO *RICKETTSIA*

Las rickettsias son un grupo de bacterias que filogenéticamente ocupan una posición entre bacterias y virus. Estos patógenos están incluidos en el orden Rickettsiales, tribu Rickettsiae y Familia Rickettsiaceae. La Familia Rickettsiaceae comprende tres géneros: *Rickettsia*, *Orientia* y *Ehrlichia*. Las rickettsias son parásitos intracelulares estrictos, anteriormente, el género *Coxiella* estaba incluido en la Familia Rickettsiaceae, pero ahora ha sido excluido porque, a diferencia de otros géneros de la Familia Rickettsiaceae, los organismos *Coxiella* no son principalmente parásitos intracelulares obligados, y pueden crecer en medios libres de células (Parija, 2023)

Las rickettsiosis son enfermedades infecciosas de carácter zoonótico, causadas por bacterias del orden Ricketsiales, transmitidas al humano a través de artrópodos vectores (Renvoisé y Raoult, 2009; Merhej y Raoult, 2011), como garrapatas, pulgas y piojos; asimismo, pueden infectar varias especies de vertebrados terrestres (Ricketts, 1907; Perlman et al., 2006; Walker, 2007; Parola et al., 2013).

Actualmente, las enfermedades producidas por *Rickettsia* son reconocidas mundialmente como enfermedades emergentes y re-emergentes, y su epidemiología se encuentra estrechamente relacionada con la presencia del vector específico (Merhej et al., 2014). Hasta hace pocos años, *Rickettsia rickettsii* era la única especie patógena transmitida por

garrapatas en América; sin embargo, el avance de los métodos de diagnóstico molecular ha permitido describir nuevas especies en las últimas décadas, como es el caso de *Rickettsia parkeri* (Parola et al., 2013). Aunque para algunas especies de *Rickettsia* su patogenicidad aún no ha sido confirmada, las bacterias de este género pueden ser consideradas como potenciales patógenos (Parola et al., 2013), y son responsables de enfermedades leves a mortales, como el tifus epidémico y la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas (Raoult y Roux, 1997)

Los microorganismos del género *Rickettsia* son alfa-proteobacterias intracelulares obligadas, de morfología cocobacilo de entre 0.7- 2.0 µm de longitud y de 0.3-0.5 µm de ancho, Gram negativas y no formadoras de esporas (Weinert et al. 2009; Weinert et al., 2015). Estos microorganismos viven en estrecha asociación con una amplia gama de hospedadores, incluidos artrópodos, vertebrados, plantas, algas, anélidos, amebas, ciliados y medusas (como hospedadores primarios y vectores) (Parola et al., 2013; Pilgrim et al., 2020).

2.5.1 TAXONOMÍA

El género *Rickettsia* comprende 35 especies válidas de bacterias cocobacilos intracelulares (https://lpsn.dsmz.de/genus/rickettsia) que pueden infectar varios taxones eucariotas, con un marcado proceso de dispersión a través de varias clases de artrópodos, particularmente entre ácaros, garrapatas e insectos (Dykova et al., 2003; Merhej et al., 2014; Murray et al., 2016). Estos microorganismos son miembros del Orden Rickettsiales, el cual incluye tres Familias: Anaplasmataceae, Rickettsiaceae y “Candidatus Midichloriaceae” (Montagna, 2013); los cuales comprenden diferentes géneros bacterianos que incluyen varias especies patógenas de importancia humana y animal como *Anaplasma, Ehrlichia, Neorickettsia, Rickettsia* y *Orientia* spp. (Lu et al., 2019).

Las rickettsias representan un linaje antiguo que establece interacciones ecológicas complejas y cambiantes entre sus hospederos invertebrados, particularmente en varios taxones donde se consideran endosimbiontes (Dykova et al., 2003; Perlman et al., 2006; Perotti et al., 2006; Merhej et al., 2014; Murray et al., 2016).

2.5.2. GÉNETICA

Las rickettsias tienen genomas pequeños de entre 1.1–2.3 Mb como resultado de la evolución por reducción (perdida de genes). El contenido de G+C varía entre 33% y 29%. Distintas especies tienen diferentes temperaturas optimas de crecimiento, pero en general varían entre 32 y 35°C (Andersson y Andersson, 1996; Fournier y Raoult, 2009). Investigaciones posteriores han revelado varias características genéticas y evolutivas dentro de estas bacterias como (i) un alto grado de sintenia genómica entre especies; (ii) evolución reducida posiblemente en relación con su estricto estilo de vida intracelular; (iii) un enriquecimiento en contenido de A+T, homopolímeros poli A/T; (iv) la falta de algunas vías metabólicas para las cuales las células huésped proporcionan los metabolitos que faltan; (v) maquinaria conjugativa y mecanismos de adhesión al huésped y motilidad; y (vi) una distribución variable de plásmidos (Andersson et al., 1998; Ogata et al., 2001; Blanc et al., 2007; Gillespie et al., 2008; Gillespie et al., 2015; El Karkouri et al., 2016).

Aunque inicialmente se pensó que carecía de plásmidos, en varias *Rickettsia* spp. se demostró que albergan dichos elementos genéticos móviles (El Karkouri et al., 2017), si bien no se encontró una asociación entre la patogenicidad y la adquisición de factores de virulencia en *Rickettsia* spp. (Darby et al., 2007), otros estudios asociaron el aumento de la virulencia con la reducción del genoma en este género (Fournier et al., 2009).

2.5.3 GENOESPECIES

Inicialmente para definir género, grupo y especie de *Rickettsia*, era necesaria la secuenciación de cinco genes: ARNr 16S (*rrs*), *gltA*, *ompA*, *ompB* y *sca4* (gene D) (Fournier et al., 2003). De acuerdo con los anteriores criterios, para que sea considerada una nueva especie de *Rickettsia,* no debe tener más de uno de los siguientes grados de similaridad con las demás especies de *Rickettsia* validadas: ≥99.8 y ≥99.9% para los genes *rrs* y *gltA*, respectivamente. De ≥98.8, ≥99.2 y ≥99.3% para *ompA*, *ompB* y el gen D, respectivamente (Fournier et al., 2003). Posteriormente, un estudio realizado por (Diop et al., 2020), basados en la secuencia del genoma a la relación estándar de oro de hibridación ADN-ADN (DDH), y en particular la identidad de nucleótido promedio (ANI),

menciona que para ser clasificado como una nueva especie de *Rickettsia*, un aislado no debe presentar valores de DDH u ANI con una especie de *Rickettsia* con un nombre válidamente publicado igual o superior a 92,30% y 99,19%, respectivamente. El ultimo antecedente de Chung et al. (2022), destaca que el ARN ribosómico 23S (ARNr 23S) se expresa constitutivamente, es potencialmente más estable y tiene un mayor número de copias que los objetivos de ADN o ARNm diseñados más tradicionalmente. Incluso existen más copias de ARNr 23S por célula de *Rickettsia* que el objetivo de ADN cromosómico de una sola copia. Los genes ARNr 23S y 5S ARNr, están bien conservados entre las *Rickettsia*, incluidas aquellas que son patógenas para los humanos. Esta disposición de genes es diferente del operón de ARNr 16S (rrs). Este arreglo de genes, y más específicamente, las secuencias conservadas que flanquean la región intergénica 23S ARNr y 5S ARNr ha servido previamente como un objetivo para la detección de *Rickettsia*, mientras que, la variación de secuencia en la región intergénica se usa para la diferenciación de especies (Kakumanu et al., 2016). El gen ARNr 16S también se ha utilizado para la detección de *Rickettsia* debido a las secuencias altamente conservadas que se encuentran entre las especies de este género (Giulieri et al., 2012)

2.5.4 FILOGENIA

Presumiblemente, el hospedador principal de Rickettsiae fue un artrópodo, y algunas especies cambiaron más tarde a otros eucariotas, como los protistas y las sanguijuelas (Weinert et al., 2009). Se ha estimado que el 24% de las especies de artrópodos albergan Rickettsiae (Weinert et al., 2015). Curiosamente, los hospedadores de garrapatas duras (Ixodidae) se encuentran en toda la filogenia de Rickettsiae, y las especies de rickettsias relacionadas tienden a compartir especies de hospedadores de garrapatas relacionadas. Esto sugiere que una garrapata fue el hospedador ancestral más plausible para las especies de rickettsiosis asociadas con los artrópodos (Weinert et al., 2015).

Con el apoyo de análisis filogenéticos multilocus y del genoma completo, la diversidad del género *Rickettsia* se ha dividido en 5 grupos, algunos de ellos compuestos por especies patógenas con funciones conocidas de transmisión vectorial, pero una gran mayoría representada por organismos de patogenicidad desconocida y endosimbiontes (Weinert

et al., 2009; Kurtti et al., 2015; Murray et al., 2016; Shpynov et al., 2018). En base a caracteres moleculares, los miembros del género *Rickettsia* se clasifican actualmente en cinco grupos: I) el grupo ancestral o basal (BG) (*Rickettsia bellii*), II) el grupo intermedio (IG) (*Rickettsia canadensis*), III) el grupo de transición (TRG) (p. ej., *Rickettsia akari* y *Rickettsia felis*), IV) el grupo del tifus (TG) (*Rickettsia prowazekii* y *Rickettsia typhi*), y V) el grupo de la fiebre maculosa (SFG) (p. ej., *Rickettsia conorii*, *Rickettsia massiliae* , *Rickettsia rickettsii* y *Rickettsia parkeri*) (Perlman et al., 2006; Merhej et al., 2014; Murray et al., 2016; El Karkouri et al., 2022). Sin embargo, los TG y los SFG concentran los principales agentes causantes de enfermedades que han afectado históricamente a las poblaciones humanas, como *R. prowazekii, R. typhi, R. conorii* y *R. rickettsii,* que causan tifus epidémico, tifus murino, fiebre botonosa mediterránea, y fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, respectivamente (Perlman et al., 2006; Parola et al., 2013).

2.5.5 CICLO BIOLÓGICO

Desde su descubrimiento, el estudio de este linaje de bacterias ha estado históricamente sesgado hacia las garrapatas duras (Ixodidae) (Fig. 3) (Eremeeva y Dasch, 2015), principalmente por el papel de vector y reservorio que tienen estos parásitos, ya que albergan *Rickettsia* patógenas de relevancia para la salud pública (Socolovschi et al., 2009; Parola et al., 2013).

Estos artrópodos pueden adquirir la infección por vías diferentes: 1) transmisión horizontal, cuando un artrópodo no infectado se alimenta de un vertebrado infectado que tiene bacteriemia activa; 2) mantenimiento transovárico, en el que el patógeno se transmite de la hembra a la descendencia durante la embriogénesis; y, por último, 3) 'transmisión por co-alimentación', que se produce cuando el patógeno se transmite entre vectores que se alimentan muy próximos entre sí del mismo hospedador y al mismo tiempo, pudiendo infectarse entre sí aunque el hospedador no es bacterémico (Perotti et al., 2006; Merhej et al., 2014; Nováková y Šmajs, 2018).

Por otra parte, la presencia de *Rickettsia* no patógenas se ha correlacionado con una disminución de la capacidad de transmisión transovárica de algunas especies patógenas. Por ejemplo, la interacción entre el simbionte *Rickettsia peacockii* y *R. rickettsii* disminuye

los brotes de fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, y en la relación entre *R. rhipicephali* y *R. montanensis*, la presencia de uno inhibe la transmisión del otro (Perlman et al., 2006).

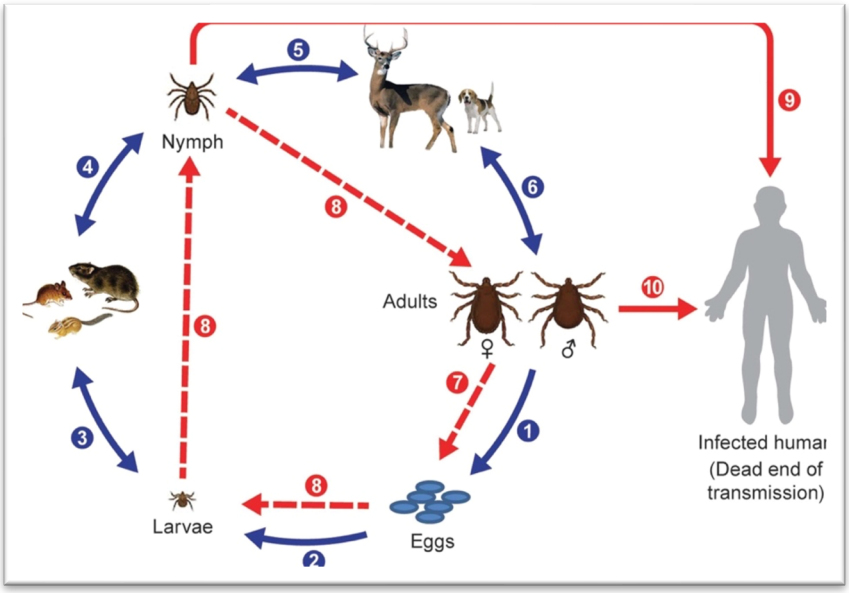

Fig. 3. Ciclo de vida de garrapatas duras y transmisión natural de *Rickettsia* (Eremeeva y Dasch, 2016).

2.5.6. SITUACIÓN RICKETTSIA EN CHILE

En Chile, se han identificado a la fecha tres agentes rickettsiales: *Rickettsia felis*, en pulgas de gato *Ctenocephalides felis* y *R. sanguineus* s.l. (Labruna et al., 2007; Abarca et al., 2013), *Ca.* Rickettsia andeanae detectada en garrapatas del género *Amblyomma* (*A. tigrinum* y *A. triste*), y *R. sanguineus* s.s (presente estudio), agente del que aún se desconoce su rol patógeno para las personas o mascotas (Abarca et al., 2012; Abarca et al., 2013a) y *Ca.* Orientia chiloensis relacionada con larvas de ácaros de la Familia Trombiculidae encontrada en roedores y lesiones en personas del sur de Chile, Chiloé y Chile continental (Abarca et al., 2020).

En Chile, *R. felis* se encontró hace algunos años, en 21 de 30 pulgas de gato (*C. felis*) tomadas de varios felinos de una misma casa (Labruna et al. 2007) y en 1/100 ejemplares de *R. sanguineus* (López, datos no publicados); en ambos casos, los ectoparásitos fueron

tomados de mascotas residentes en Santiago (Región Metropolitana). Luego, Abarca et al. (2013a), realizó un muestreo domiciliario en localidades urbanas y rurales de dos zonas distantes del país, la Región Metropolitana en el centro y la norteña ciudad de Arica. Encontrando la garrapata *R. sanguineus* en el 50% de los 460 perros analizados, lográndose identificar *R. felis* por amplificación y secuenciación de los genes *gltA, ompA* y *ompB* en ambas regiones, con predominio en Arica. *R*. *felis*, agente causante de la fiebre maculosa (Parola et al., 2005), considerado un patógeno emergente transmitido por artrópodos, incluso se han identificado casos en humanos en Norteamérica, Europa y Asia (Angelakis et al., 2016; López et al., 2022).

Para el caso de *Ca.* Rickettsia andaenae ha sido detectada en *A. triste* de un sector rural de Arica (Región de Arica y Parinacota) y en *A. tigrinum* de Coquimbo (Región de Coquimbo) y Angol (Región de la Araucanía), las cuales fueron obtenidas en muestreos domiciliario y localidades rurales cercanas, durante la primavera-verano 2011-2012. En el trabajo se efectuó identificación taxonómica y posterior amplificación y secuenciación de los genes *glt*A y *omp*A. El ultimo antecedente data del año 2021, donde se logró detectar en dos *R. sanguineus* secuencias idénticas de *gltA* compatibles con *Ca.* Rickettsia andaenae, que formaban un clado monofilético con aislados obtenidos en Brasil, Chile y Perú (Troncoso et al., 2021).

2.6. BACTERIAS DEL GÉNERO *EHRLICHIA*

Dentro de las alfaproteobacteria en el orden Rickettsiales, se incluye la Familia Anaplasmataceae que abarca los géneros *Anaplasma, Ehrlichia, Neorickettsia* y *Wolbachia*, organismos intracelulares Gram negativos que se multiplican dentro de las vacuolas unidas a la membrana (Dumler et al., 2001; Kersters et al., 2006). Con la excepción *Neorickettsia* spp., estos microorganismos son transmitidos por las garrapatas duras (Kersters et al., 2006) a los hospedadores animales domésticos o silvestres y pueden causar enfermedades severas en ganado, animales de compañía y vida silvestre (Gaaf et al., 2014), e incluso provocar zoonosis (Rikihisa, 2006).

Las garrapatas duras constituyen los principales vectores invertebrados de este grupo bacteriano, a través de la saliva durante la infección de la garrapata (Futse et al., 2003), infectando las células sanguíneas de las especies de mamíferos, incluidos los humanos (Ismail et al., 2010). Con base en la evidencia molecular, Dumler et al. (2001) reorganizó esta Familia de proteobacterias en cuatro géneros anteriormente descritos: *Anaplasma, Ehrlichia, Neorickettsia* y *Wolbachia.* Además, un quinto género potencial, *Candidatus* Neoehrlichia, se ha caracterizado molecularmente a partir de varias garrapatas del género *Ixodes*, tejidos de sus hospederos asociados (Kawahara et al., 2004), y también de la sangre de humanos enfermos mordidos por garrapatas (Li et al., 2012; Grankvist et al., 2015).

2.6.1 TAXONOMÍA

Los géneros de las Familias Rickettsiaceae y Anaplasmataceae en el orden Rickettsiales se reorganizaron en el 2001 sobre la base de análisis genéticos de 16 S rRNA (rrs) y genes del operón *groESL*, así como características biológicas y antigénicas (Dumler et al., 2001), una época en la que había unos 300 genomas bacterianos secuenciados (Land et al., 2015), un número limitado de genomas de *Rickettsia* (Ogatta et al., 2001) y ningún genoma de Anaplasmataceae (Brayton et al., 2005; Dunning et al., 2006). A partir de 2014, se secuenciaron cerca de 14.000 genomas bacterianos, y con este aumento en la información genómica disponible, se pueden tomar decisiones más informadas con respecto a la clasificación taxonómica (Land et al., 2015). Mediante el uso de alineaciones del genoma central, se puede condensar genomas completos y usar la identidad de secuencia para inferir relaciones filogenómicas. Siendo posible identificar umbrales de identidad de secuencia para estas alineaciones que son consistentes con especies bacterianas clásicamente definidas y pueden superponerse en árboles filogenéticos generados a partir de la misma alineación (Chung et al., 2018). Empleando este enfoque, dentro de las Anaplasmataceae, las designaciones de especies se realizan con frecuencia en función de la similitud de secuencias y los patrones de agrupamiento a partir de análisis filogenéticos generados utilizando las secuencias de genes como ARNr 16S, *groEL* y *gltA* (Rar et al., 2015).

En el trabajo realizado por Chung et al. (2018), la alineación del genoma central (CGASI) construida utilizando 16 genomas de *Ehrlichia*, representativos de cuatro especies definidas, produce una alineación de 0,49 Mbp, lo que equivale al 39,8% del tamaño promedio del genoma de *Ehrlichia* (1,25 Mbp). Utilizando un límite de especies CGASI del 96,8%, los genomas de *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia ruminantium* se recuperaron como especies monofiléticas y bien respaldadas. Las dos *Ehrlichia muris* y *Ehrlichia* sp. cepa Wisconsin tienen valores de CGASI del 97,8%, lo que indica que los tres genomas representan una especie, y finalmente los genomas de *Ehrlichia* sp. cepa HF y *E. canis* Jake no tienen valores de CGASI de 96,8% con ninguna otra especie, lo que confirma su estado como especies individuales.

Actualmente, hay siete especies de *Ehrlichia* reconocidas, incluidas *E. chaffeensis, E. ewingii, E. canis, E. ruminantium, E. muris* subsp *muris, E. muris* subsp eauclairensis y *E. minasensis* (Cabezas-Cruz et al., 2016; Su et al., 2021), aunque basado en técnicas moleculares, se ha revelado la aparición de nuevas variantes genéticas y especies novedosas como *Candidatus* Ehrlichia shimanensis (Kawahara et al., 2006), *Candidatus* Ehrlichia khabarensis (Rar et al., 2015), *Candidatus* Ehrlichia occidentalis (Gofton et al., 2017) y *Candidatus* Ehrlichia ornithorhynchi (Gofton et al., 2018).

2.6.2 GENÉTICA

Los miembros del género *Ehrlichia* exhiben un alto grado de parentesco genético y antigénico. Los miembros son al menos 97,67% similares en las secuencias del gen ARNr 16S, y los anticuerpos policlonales muestran un alto grado de reactividad cruzada entre los miembros por inmunofluorescencia (Dumler et al., 2001).

Los genomas completos de *Ehrlichia* (*E. chaffeensis*, *E. canis* y *E. ruminantium*) revelan un alto grado de sintenia genómica entre los miembros del género, pero la caracterización molecular de algunos genes altamente inmunorreactivos de cada especie indica que algunas especies exhiben una diversidad sustancial (*E. chaffeensis* y *E. ruminantium*) y otras muy conservadas (*E. canis*) (Collins et al., 2005; Dunning Hotopp et al., 2006; Mavromatis et al., 2006). El genoma completo de *Ehrlichia* es un cromosoma circular único

de doble cadena de 1.148.904 pb con un contenido global de G+C de ~30% (Dunning Hotopp et al., 2006, Thirumalapura et al., 2014). El genoma una copia de cada uno de los genes de ARNr 5S, 16S y 23S, que están separados en 2 ubicaciones con los rRNA 5S y 23S adyacentes como en otros miembros secuenciados de la Familia Anaplasmataceae (Massung et al., 2002). Treinta y seis genes de ARNt se identifican, similar a otras *Ehrlichia* spp.

2.6.3 FILOGENIA

El género *Ehrlichi*a pertenece a la Familia Anaplasmataceae y al orden Rickettsiales, y es miembro de la subdivisión α de las proteobacterias. Los géneros de las Familias Rickettsiaceae y Anaplasmataceae en el orden Rickettsiales se reorganizaron en 2001 sobre la base de análisis genéticos de 16 S rRNA (rrs) (y genes groESL, así como características biológicas y antigénicas (Dumler et al., 2001). El estudio modificó el orden Rickettsiales mediante la eliminación de las tribus Rickettsieae, Ehrlichieae, Wolbachieae y Anaplasmataceae. Se propuso ampliar el género *Anaplasma* para incluir *Anaplasma* (anteriormente *Ehrlichia*) *phagocytophila*, *Anaplasma* (anteriormente *Ehrlichia*) *bovis* y *Anaplasma* (anteriormente *Ehrlichia*) *platys.* La especie *Cowdria ruminantium* se colocó en el género *Ehrlichia* como *Ehrlichia ruminantium* con las especies existentes *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichi*a *ewingii*, *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia muris*, y el género *Neorickettsia* se amplió para incluir las especies *Neorickettsia* (antes *Ehrlichia*) *risticii* y *Neorickettsi*a (antes *Ehrlichia*) *sennetsu*. La especie *Wolbachia pipientis* se mantuvo provisionalmente como el único miembro del género *Wolbachia*.

Los miembros del género *Ehrlichia* exhiben un alto grado de parentesco genético y antigénico. Los miembros son al menos 97±7% similares en las secuencias del gen 16 S rRNA, y los anticuerpos policlonales muestran un alto grado de reactividad cruzada entre los miembros por inmunofluorescencia (Dumler et al., 2001).

2.6.4 CICLO BIOLÓGICO

La epidemiología de las ehrlichiosis está determinada por la distribución geográfica de los hospederos reservorio y especies de garrapatas que pueden transmitir bacterias de los géneros *Anaplasma* y *Ehrlichia* (Dumler et al., 2001; Guglielmone et al., 2014). Estos microorganismos se asocian principalmente con infecciones en animales, pero recientemente se sabe que varios tienen un potencial zoonótico.

Hasta la fecha, los mamíferos son los únicos vertebrados descritos como hospedadores competentes para mantener las infecciones por *Ehrlichia* en la naturaleza (Rar y Golovljova, 2011; Gofton et al., 2018), de forma excepcional se menciona a los reptiles y a las garrapatas de los reptiles como posibles hospedadores (Tijsse-Klasen et al., 2010; Andoh et al., 2015; Muñoz-Leal et al., 2019b).

Garrapatas duras como *Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis* y *Dermacentor variabilis* son los principales vectores biológicos de *Ehrlichia* y *Anaplasma* para los humanos y otros animales (Fig. 4), más específicamente *E. canis* transmitida por garrapatas *R. sanguineus*; *E. chaffeensis* se transmite principalmente por garrapatas *A. americanum* (Fourie et al., 2013), también se ha informado evidencia molecular de ADN de *E. chaffeensis* en garrapatas *Haemaphysalis yeni* y *A. testudinarium* en el sur de China, garrapatas *R. sanguineus* de Camerún (Ndip et al., 2010; Trout et al., 2017), *H. longocornis* e *Ixodes persculatus* (Luo et al., 2016) y finalmente *E. ewingii* es transmitida por garrapatas de *A. americanum* (Esemu et al., 2011).

La mayoría de estas bacterias se transmiten biológicamente (con la reproducción del patógeno dentro del hospedero) a los humanos a través de la picadura de garrapatas infectadas (Estrada-Peña y de la Fuente, 2014). En las garrapatas, ciertas especies bacterianas de *Ehrlichia* y *Anaplasma* pueden transmitirse transestadialmente y por transmisión transovárica. Por último, además de la transmisión biológica a través de garrapatas, se ha reportado transmisión mecánica (sin reproducción del patógeno dentro del hospedador) por picadura de moscas, particularmente tábanos (Yunik et al., 2016).

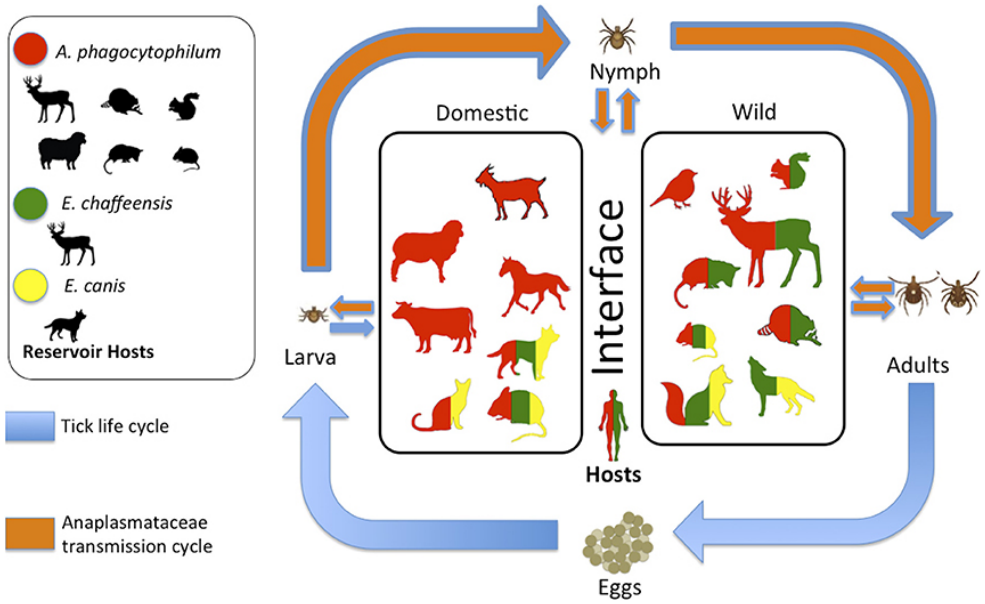

Fig. 4. Esquema general que integra el ciclo de vida de la garrapata *Ixodes*, el ciclo de transmisión de Anaplasmataceae y los hospedadores en la interfase animal doméstico-fauna silvestre (Estrada-Peña y de la Fuente, 2014).

2.6.5. SITUACIÓN EHRLICHIOSIS EN CHILE

El único caso confirmado de Ehrlichiosis Monocítica Canina en Chile es en una hembra canina, de raza mestiza y 10 años, procedente de la ciudad de Arica, la cual fue infestada por garrapatas, y presentó manifestaciones hemorrágicas (hematomas y sangrado del hocico) y postración (López et al., 2012). El diagnostico fue confirmado a través de pruebas hematológicas, una prueba rápida de inmunocromatográfica y la amplificación y secuenciación de un fragmento del gen ARNr 16S de una muestra de sangre, esta última mostró 100% de homología con *E. canis* de Perú. Otros antecedentes de *Ehrlichia*, presumiblemente nueva, en Chile, son desde muestras de bazo (n = 72) y pulmón (n = 17), recuperadas de 72 cadáveres de pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) obtenidos en Brasil y Chile (Muñoz-Leal et al., 2019b) y desde muestras de garrapatas de *I. uriae*, y órganos de tres pingüinos procedentes de Isla Magdalena (XII Región).

2.7 DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VECTORIALES

Una de las herramientas más empleadas para el diagnóstico de enfermedades vectoriales, son las técnicas moleculares, basado en la PCR, la cual presenta una clara ventaja sobre

la serología, al detectar una infección "activa" en una sola muestra y en un solo punto de tiempo (Maggi et al., 2014). Además, la PCR se puede usar para detectar específicamente un patógeno a nivel de especie o cepa, mediante el uso de diferentes conjuntos de primers y la posterior secuenciación de los productos amplificados. Si bien se necesitan algunos conocimientos o suposiciones *a priori* sobre la secuencia de ADN de un patógeno para diseñar ensayos basados en PCR, la PCR no requiere un conocimiento definitivo de la secuencia de ADN del patógeno. Además, la PCR no requiere que se aíslen los patógenos o que se produzcan sus antígenos para lograr el desarrollo y la validación de un ensayo, incluso se pueden detectar múltiples patógenos o especies utilizando ensayos de PCR multiplex (Sampath et al., 2007;Ecker et al., 2009).

La coinfección de patógenos puede causar competencia en el proceso de reacción de la PCR, por ejemplo, las concentraciones sustancialmente más altas de un patógeno en comparación con los otros pueden resultar en la detección de un solo organismo a pesar de la presencia de una coinfección (Maggi y Breitschwerdt, 2005). Sin embargo, se debe considerar que la co-detección de patógenos por PCR en garrapatas recolectadas en el campo y/o hospedero vertebrado no siempre indica una co-infección viable. Esto puede sesgar una imagen general de la perspectiva de la ecología y la evolución de las coinfecciones de patógenos transmitidos por garrapatas. Por lo tanto, es importante realizar más estudios experimentales de coinfección y establecer nuevos modelos de investigación para superar el problema (Gómez-Chamorro et al., 2021).

La principal limitación de las pruebas de PCR es el requisito de un templado adecuado (ácido nucleico del organismo objetivo) en la muestra del paciente o el vector, para así lograr la amplificación de la secuencia de ADN objetivo. Algunas otras desventajas técnicas de las pruebas basadas en PCR incluyen posibles resultados falsos negativos debido a la presencia de inhibidores de PCR que no se eliminaron durante el proceso de purificación de ácidos nucleicos y la posibilidad de contaminación del laboratorio que da como resultado reacciones falsas positivas en muestras que no están infectadas (Maggi et al., 2014). El nested-PCR (PCR anidado), que es una variación de la técnica de PCR, ha mostrado ser una herramienta más sensible para fines diagnóstico. La técnica se basa en la utilización de la PCR para la amplificación de una secuencia interna de un fragmento

previamente amplificado. Este tipo de amplificación aumenta en gran medida la sensibilidad de esta técnica, en relación a la PCR convencional (Millar et al., 2003).

Para el diagnóstico de CVBD, en primer lugar, se debe realizar la clasificación de la garrapata, mediante una identificación cuidadosa de las características morfológicas antes de cualquier estudio posterior. En un estudio de prueba ciego comparativo realizado por varios expertos europeos en garrapatas, fue posible determinar que si el investigador no estaba familiarizado con una especie determinada, podría identificarse erróneamente (Estrada-Peña et al., 2017). Por ende, es recomendable el uso de técnicas moleculares como confirmatorias, que pueden basarse en el estudio de genes conservados y moderadamente conservados, como el ARNr mitocondrial 12S y 16S u otros como el segundo espaciador interno transcrito del ADNr (ITS2) (Estrada -Peña et al., 2017; Sanches et al., 2018; Santos et al., 2018).

En el caso de *Borrelia*, al ser un microorganismo fastidioso de cultivar, las técnicas de biología molecular basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación se han incorporado a la rutina diagnóstica, para un diagnóstico temprano y confiable de borreliosis (Dunaj et al., 2013). Estas técnicas se han empleado en fluidos y tejidos de humanos, animales y fragmentos de garrapata (Soares et al., 2000), gracias a su sensibilidad y especificidad, como por su simplicidad, rapidez y relativo bajo precio (Renesto et al., 2000). Los métodos de detección y tipado molecular (fenotipado y genotipado) de *B. burgdorferi* s.l han sido exhaustivamente recopilados y comentados por Wang et al. (1999) y otros autores (Schimdt, 1997; Sparagano et al., 1999; Lee et al., 2000 y Renesto et al., 2000).

La limitante más importante de esta técnica se debe al pequeño número de espiroquetas que se encuentran en tejidos infectados, así, cuando está presente, la sensibilidad ronda el 50-70% (Jaulhac et al., 1996). También varios trabajos han reportado el uso del nested-PCR para la detección del agente etiológico de la borreliosis, tanto en pacientes, como en muestras ambientales (Morrison et al., 1999; Wang et al., 2003; Clark et al., 2005). La PCR permite, además, que los fragmentos amplificados sean posteriormente analizados para confirmar su identidad o para hacer estudios filogenéticos. Estos análisis posteriores a la

amplificación son, básicamente, la secuenciación, el análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, de restriction fragment length polimorphism) y/o la hibridación con sondas genoespecíficas mediante la técnica del reverse line blot (RLB). (Wang et al., 2014). Se aceptan diferentes patrones de secuencias marcadoras moleculares para el análisis filogenético de las secuencias de ADN de *Borrelia*, entre ellas los genes *fla* (flagelina), *recA,* 16S rDNA, *p66*, *hbb*, *rpoB*, espaciadores intergénicos en los genes 23S y 5S y portadores de plásmidos (*ospA, ospB y ospC*) (Dunaj et al., 2013).

Para el caso de la Famila Anaplasmataceae, el gen ARNr 16S, se ha utilizado para el diagnóstico de *Ehrlichia*, y como herramienta taxonómica y filogenética, cuando se encuentran especies o cepas de *Ehrlichia* previamente desconocidas en estudios de campo (Allsopp et al., 1999), *a posteriori* se han desarrollado diversas variaciones en la detección de *Ehrichia* basada en PCR, dirigidas a numerosos genes que incluyen *gp120, groEL, gltA, dsb* y *p28* (McBride et al., 1996; Sumner et al., 1999; Gusa et al., 2001; Inokuma et al., 2002; Stich et al., 2002; Loftis et al., 2003; Olano et al., 2003) incluidos algunos en el presente trabajo, sin embargo, por su sensibilidad analítica ARNr 16s, permite detectar niveles bajos de organismos erlichiales circulantes (Buller et al., 1999; Childs et al., 1999; Gusa et al., 2001; Paddock et al., 2001).

Finalmente, para la detección molecular de *Rickettsia*, a través de métodos de PCR se basa en la identificación de un único patógeno o de un número limitado de patógenos a través de primers o sondas individuales (Abdad et al., 2018), sin embargo, tiene algunas limitaciones como la baja sensibilidad cuando la muestra proviene de animales que no presentan altas rickettsemias y a la imposibilidad de obtener el aislamiento (Perlman et al., 2006), mientras que, los relacionados con el gen ribosomal 16S no son muy útiles por la alta homología que se presenta entre las especies (≥97%).

La detección de la presencia o ausencia de ADN de rickettsiosis dentro de una muestra se puede lograr inicialmente mediante el uso de primers específicos del género diseñados para amplificar porciones conservadas de los genes que codifican dos proteínas de la membrana externa: *ompA, ompB*, también se utiliza el gen *gltA,* que codifica la enzima

citrato sintetasa presente en todas las rickettsias, el gen que codifica la proteína de 17-kDa presente en todas las rickettsias del GFM (Tzianabos et al., 1989; Roux y Raoult, 2000) y el gen D presente en la mayoría de las especies (Founier et al., 2003). Dado que muchos conjuntos de cebadores amplifican porciones relativamente conservadas de genes, puede ser necesario analizar porciones de secuencias de un fragmento de gen con suficiente diversidad para identificar las especies infectantes (Blanton y Walker, 2016), en nuestro caso empleamos el gen codificante para citrato sintetasa (*gltA*), presente en todas las especies de *Rickettsia* (Labruna et al., 2004).

2.8 VARIABLES AMBIENTALES ASOCIADAS A LA PRESENCIA DE GARRAPATAS Y BACTERIAS

La detección de patógenos transmitidos por vectores, esta indisolublemente asociado a variables ambientales, el cambio climático, el efecto invernadero, las olas de calor, los fenómenos meteorológicos extremos, los cambios en los patrones de precipitaciones y la reducción de la biodiversidad, entre otros (Thuiller et al., 2005; Bittner et al., 2014). De hecho, una revisión sistemática de la literatura desde 1997 a 2017, reveló que las enfermedades más sensibles al clima son las transmitidas por artrópodos (51 % de las enfermedades que son sensibles a factores climáticos), de las cuales el 41% pertenecen a enfermedades transmitidas por garrapatas (Omazic et al., 2019). Alteraciones en las condiciones climáticas que proporcionan escenarios más o menos adecuados para que los vectores artrópodos sobrevivan en función de sus requisitos biológicos.

La distribución geográfica de una especie de garrapata está determinada por un conjunto de complejos procesos ecológicos, geológicos y evolutivos de cada taxón, por lo que, la ubicación geográfica correcta de un registro de una especie es crucial para la generación de modelos exitosos (Mori et al., 2018), que pueden ser asociados con diferentes patógenos vectoriales. Dentro de los factores abióticos que influyen para los modelos de distribución de garrapatas se incluyen, entre otros, la temperatura del aire, humedad y evaporación del aire, luminosidad, viento, altitud, hidrografía, paisaje, calidad del suelo y uso de tierra (Monge-Nájera, 2008; Vial, 2009; Sonenshine y Roe, 2013).

En general, las garrapatas tienen requisitos fisiológicos que requieren ciertas características ambientales que son óptimas para su desarrollo y supervivencia (Kessler et al., 2019a), según literatura se describe una tasa de humedad >85%, temperaturas del aire >6°C a 7°C y mayor abundancia de hospedadores (Suss et al., 2008). En el caso del factor temperatura, tanto las temperaturas bajas como las altas inhiben la actividad de búsqueda de hospederos, mientras que, la humedad afecta el tiempo que los vectores realizan dicha búsqueda (Vail et al., 1998; Vail et al., 2002). En las regiones tropicales y subtropicales, las temperaturas generalmente se mantienen por encima de 0ºC durante la mayor parte del año, con la excepción de las regiones montañosas, por lo que, las garrapatas pueden estar activas todo el año (López-Vélez y Molina, 2005). Sin embargo, en las áreas templadas del mundo donde las temperaturas se rigen por el cambio estacional, las etapas del ciclo biológico de muchas garrapatas tienen períodos distintivos de actividad, principalmente asociados con temperaturas superiores a 5-7ºC y utilizan la diapausa para mantener las poblaciones durante los períodos más fríos del año (López y Arturo, 2023).

Otro factor importante a considerar es que las garrapatas ixódidas habitan en ambientes abiertos como pastizales, bosques y caminos de montaña, por ende, pasan la mayor parte de su vida en las capas superficiales del suelo o en la capa de hojarasca de su hábitat, experimentando un desarrollo lento de su ciclo biológico o simplemente esperando a que pasen las inclemencias del tiempo (Ogden, 2004). En los bosques templados, la capa superficial del suelo es más cálida que la temperatura del aire en invierno y permite suavizar las variaciones diarias de la temperatura del aire (López y Arturo, 2023).

Otro factor relevante de abordar es el comportamiento de búsqueda de hospedadores de las garrapatas, lo cual se denomina 'búsqueda' y se refiere a una serie estereotipada de comportamientos en los que las garrapatas trepan pastos altos y vegetación, se detienen y extienden sus patas delanteras y esperan para adherirse a un hospedador que pasa (Holderman y Kaufman, 2013; VanAcker y Diuk-Wasser, 2019). La duración y la altura a la que la búsqueda de garrapatas puede influir en la selección del hospedero (Randolph y Storey, 1999; Randolph, 2004), pero la búsqueda continua a mayores alturas puede presentar un riesgo de desecación (Needham y Teel, 1991; Portugal et al., 2020).

La búsqueda de hospedero varía dependiendo del tipo de garrapata, por ejemplo los Argasidae (garrapatas blandas) a menudo se asocian con un comportamiento endófilo y, por lo general, viven en espacios cerrados de madrigueras, nidos o áreas de descanso de sus hospederos vertebrados, aunque se sabe que se dispersan a una escala geográfica pequeña en busca de hospedadores, mientras que los Ixodidae (garrapatas duras) puede ser endofílica o exófila, con algunas especies esperando a sus hospederos o algunas buscando en la vegetación (Beati y Klompen, 2019). Por ejemplo, las garrapatas de los géneros *Amblyomma* tienden a ser grandes, lo que reduce su área de superficie relativa, pero aun así deben refugiarse en grietas y debajo de piedras, en muchos casos deben cazar activamente, viajando rápido de un refugio a otro de manera oportunista (Sonenshine, 1991). Otras especies de garrapatas viven en hábitats mucho menos desafiantes pero tienen menor tolerancia al estrés hídrico, pueden asentarse en la vegetación para buscar hospedadores que pasen, pero deben limitar esta actividad para mantener su equilibrio hídrico (Sonenshine, 1991).

Otro factor importante, es el ciclo de vida de las garrapatas (Fig. 5), existiendo aquellas de ciclo de un solo hospedero, en el cual permanecen en el mismo hospedero durante las etapas de larva, ninfa y adulto, y solo las hembras grávidas abandonan el hospedero antes de poner huevos. También pueden ser garrapatas con un ciclo de vida de dos hospederos: donde la larva muda a ninfa en el primer hospedador, pero las ninfas dejarán al hospedero para mudar a adultos. El segundo hospedador puede ser el mismo animal que el primer hospedador, la misma especie o una especie animal diferente. Y finalmente están las garrapatas con ciclo de vida de tres hospedadores: las larvas, las ninfas y las hembras grávidas llenas de sangre caen del hospedador después de alimentarse de sangre; los hospedadores pueden ser de la misma especie, o incluso del mismo individuo, o de tres especies animales diferentes según la disponibilidad de hospedadores. Los seres humanos pueden servir como hospedadores incidentales de primera, segunda o tercera etapa (Rajakaruna y Eremeeva, 2023).

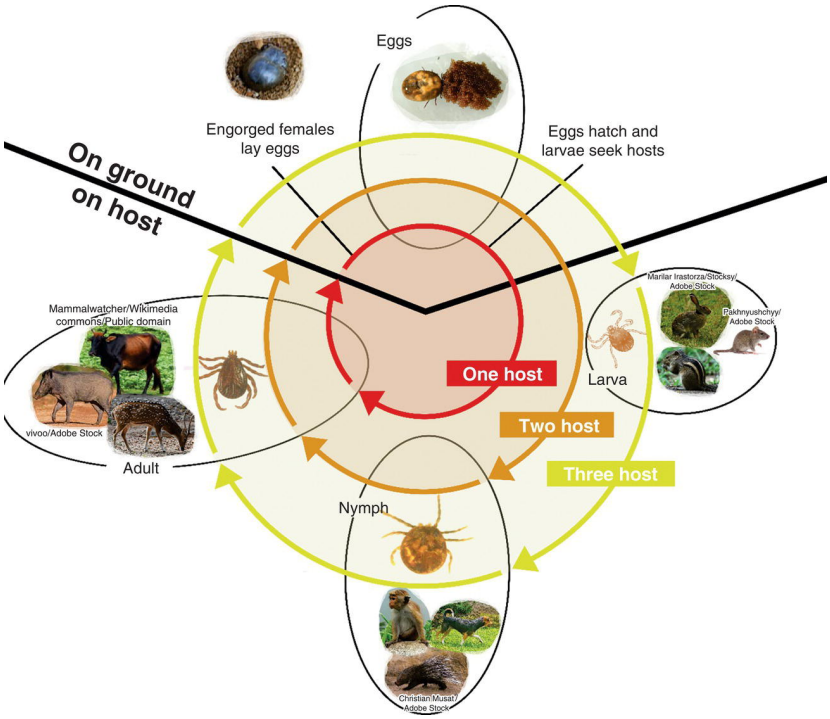

Figura 5. Ciclo de vida de las garrapatas ixódidas (Rajakaruna y Eremeeva, 2023)

En el caso de los ixódidos, producto de su comportamiento no-nidícola o exófilo, y comportamiento respecto a la búsqueda de alimento, se encuentran expuestos por largos periodos de tiempo a las condiciones ambientales, por lo que estas resultan ser determinantes en su distribución (Hoogstraal, 1985; Vial, 2009). En situaciones extremas, las garrapatas utilizan la vegetación o el sustrato del suelo para protegerse, siendo este, otros de los factores utilizados para determinar su distribución (Monge-Najera, 2008; Vial, 2009).

Aunque los factores extrínsecos del entorno juegan un papel importante en el comportamiento de búsqueda de garrapatas, los factores intrínsecos, como la infección por patógenos, también influyen en el comportamiento de búsqueda de hospedadores (Benelli, 2020), por ejemplo, las garrapatas *Ixodes ricinus* infectadas con *Borrelia* spp., exhiben una mayor vida útil y resistencia a la desecación y, como resultado, se ha demostrado que pasan más tiempo buscando en comparación con las garrapatas no infectadas (Herrmann y Gern, 2015). De manera similar, las ninfas de *Ixodes scapularis* infectadas con *Borrelia* buscan a mayor altura y muestran una mayor tendencia a superar barreras u obstáculos físicos para poder buscar (Lefcort y Durden, 1996). Busby et al.

encontró que las garrapatas infectadas con *Anaplasma phagocytophilum* mostraron una mayor velocidad de búsqueda y un menor riesgo de desecación (Busby et al., 2012).

En el caso de Chile, al ser un país que se extiende a lo largo de 4.300 km de norte a sur y que incluye una diversidad de climas, que van desde los desiertos del norte hasta los campos de hielo del sur, pasando por regiones mediterráneas y continentales (Mann, 1960), la precipitación y la temperatura también difieren drásticamente entre las distintas áreas bioclimáticas (INE, 2014). Por las características topográficas variadas del país, el clima de Chile se ve notoriamente influenciado por factores como las corrientes atmosféricas y oceánicas, la latitud y la altura. La forma en que se combinan en cada región los elementos del clima y la intensidad con que estos son modificados por los diferentes factores, da lugar a que hayan variados tipos de climas (Moreno et al., 2018).

Esta variedad de condiciones climáticas de nuestro país proporcionan escenarios más o menos adecuados para que los vectores artrópodos sobrevivan en función de sus requisitos biológicos, por ende, se espera en nuestro estudio evaluar la distribución de las garrapatas por ecorregión, las cuales son definidas como un área del país caracterizada por un clima regional distintivo, basado en tres factores: la precipitación media anual, la presencia o ausencia de estación seca y su duración media cuando existe y la presencia o ausencia de estación fresca o fría (Matteuci et al., 2016), que podrían explicar la distribución del vector (Guisan y Zimmermann, 2000), y en consecuencia debido a la capacidad de las garrapatas de transmitir patógenos de importancia médica y veterinaria, estas localidades pueden ser consideradas como áreas de riesgo importantes (Bouchard et al., 2019), para la presencia de patógenos transmitidos por vectores, como pueden ser bacterias de los géneros *Borrelia, Ehrlichia* y *Rickettsia*

La adaptación ambiental que presentan las garrapatas varía dentro del rango de prácticamente todas las especies, causando distribuciones irregulares en lugar de homogéneas, con una supuesta menor abundancia (riqueza) en las áreas menos adecuadas (Peterson et al., 1999). Es esta heterogeneidad impulsada por el medio ambiente la que sustenta el modelado de distribución de especies (es decir, modelado de hábitat, modelado de nicho ecológico, ambiental o climático), que identifica lugares adecuados para la supervivencia de las poblaciones mediante la identificación de sus

requisitos ambientales (Allison 1999). Estos modelos comúnmente usan asociaciones entre variables ambientales y registros de presencia y/o ausencia de especies conocidas para identificar las condiciones dentro de las cuales se pueden mantener las poblaciones (Pearson et al., 2002; Soberon y Nakamura, 2009). Actualmente, este patrón de distribución no solo se asocia a la riqueza de especies, sino que permite explicar aspectos taxonómicos, filogenéticos y funcionales de la biodiversidad a distintas escalas geográficas, tanto en ambientes terrestres como marinos (Gaston 2000; Willig et al. 2003; Schemske et al. 2009; Willig y Presley 2018).

Los factores que determinan la distribución de abundancia y riqueza de especies son temas que aún se encuentran en debate en ecología, planteándose diversas hipótesis sobre los patrones observados (Amarante et al., 2016; Evans et al., 2008; Weber et al., 2017), dentro de los cuales podemos mencionar i) la riqueza de especies se asocia negativamente con la latitud (Poulin et al. 2011), ii) La diversidad de hospedadores tiene efectos sobre la diversidad de los parásitos por una limitación del nicho que estos ocupan, y por lo tanto, tienden a exhibir el mismo patrón latitudinal (Poulin 2014).

Por otra parte, los gradientes latitudinales de diversidad (GLD, en adelante) se han reconocido como patrones biogeográficos que explican la diversidad biológica global, donde la riqueza de especies tiende a correlacionarse negativamente con la latitud, decreciendo desde las regiones tropicales hacia los polos (Rohde 1992; Gaston 2000; Willig et al. 2003; Willig y Presley 2018). El gradiente latitudinal de diversidad es dependiente de una serie de factores abióticos (e.g., temperatura, precipitaciones, entre otros), los cuales pueden afectar la distribución y estructura poblacional de las especies en tiempo ecológico y/o evolutivo (Willig et al., 2003). Sin embargo, entre las especies de parásitos, se sabe considerablemente menos acerca de cómo su riqueza y abundancia varían en escalas geográficas más grandes (Poulin, 2014), convirtiéndose en un desafío la integración de la investigación sobre la diversidad de parásitos en conjunto con investigaciones biogeográficas.

2.9 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Como se mencionó anteriormente, las garrapatas varían en su distribución, la cual se encuentra restringida por un conjunto de variables ambientales (ej. temperatura, humedad) y características del hábitat (ej. cobertura de suelo, presencia de hospedadores) en donde estas se encuentran que potencialmente puedan determinan los límites de distribución del rango norte y sur (Gaston, 2003; Gavin & Feng, 2006; Estrada Peña et al., 2016). Pese a que las garrapatas tienen gran importancia en la salud animal y humana, y que conocer su distribución y los factores que determinan esta son relevantes para predecir la presencia de patógenos, dentro de la literatura nacional publicada, no existe ningún estudio que evalué los patrones de distribución de garrapatas, ni de las bacterias asociadas a estas, solo existen registros de la presencia del vector o patógeno asociado en alguna localidad. Chile, con su variada geografía, otorga el escenario ideal para poner a prueba hipótesis respecto a la distribución de las garrapatas y sus bacterias. Debido a la limitada información que existe sobre garrapatas duras y los potenciales patógenos que están portan, esta investigación espera ampliar el conocimiento de la distribución de las garrapatas duras y potenciales bacterias patógenas que estas puedan albergar, aportando con conocimiento novedoso respecto a las variables que explican su distribución y la asociación con bacterias con potencial patógeno.

3. HIPÓTESIS

En Chile, las garrapatas pertenecientes a la Familia Ixodidae se distribuyen principalmente en la zona sur del país, por ende, la presencia de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Borrelia* y/o *Rickettsia* en garrapatas Ixodidae se asocia a zonas con mayor riqueza de garrapatas, esperando encontrar una mayor presencia de estas bacterias en las ecorregiones con climas templados y fríos en Chile.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la distribución de las especies de garrapatas duras (Acari: Ixodidae) y la presencia en estas de ADN de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Borrelia* y *Rickettsia* en Chile.

Objetivos específicos

- Identificar las especies de garrapatas duras y presencia de bacterias de los géneros *Borrelia*, *Rickettsia* y *Ehrlichia* en Chile.
- Analizar la filogenia de las garrapatas y especies bacterianas encontradas.
- Asociar la distribución geográfica de las garrapatas duras obtenidas de diferentes ecorregiones de Chile con la presencia de bacterias
- Evaluar la distribución de las especies de garrapatas a través del gradiente latitudinal de Chile.
- Determinar las variables ambientales que se asocian con la distribución de las garrapatas duras y los géneros bacterianos analizados a lo largo de Chile.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de muestreo

Se recolectaron garrapatas duras desde 33 localidades pertenecientes a siete ecorregiones (regiones biogeográficas) descritas previamente por Morrone (2006): Atacama, Puna, Coquimbo, Santiago, Maule, Bosque Valdiviano y Patagonia central (Figura 6). Las capturas de vertebrados contaron con los permisos 6007/2014 y 4470/2016 otorgados por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). El trabajo de campo en Parques Nacionales y Reservas Nacionales fue autorizado mediante las licencias 033/2014 y 039/2016 otorgadas por la Corporación Nacional Forestal (CONAF). Durante el estudio, cada lugar se visitó de 3 a 5 días, dos veces al año, durante las estaciones cálidas (primavera-verano) y frías (otoño-invierno). Los diferentes muestreos fueron financiados por los proyectos Fondecyt 1100695 y 1130948.

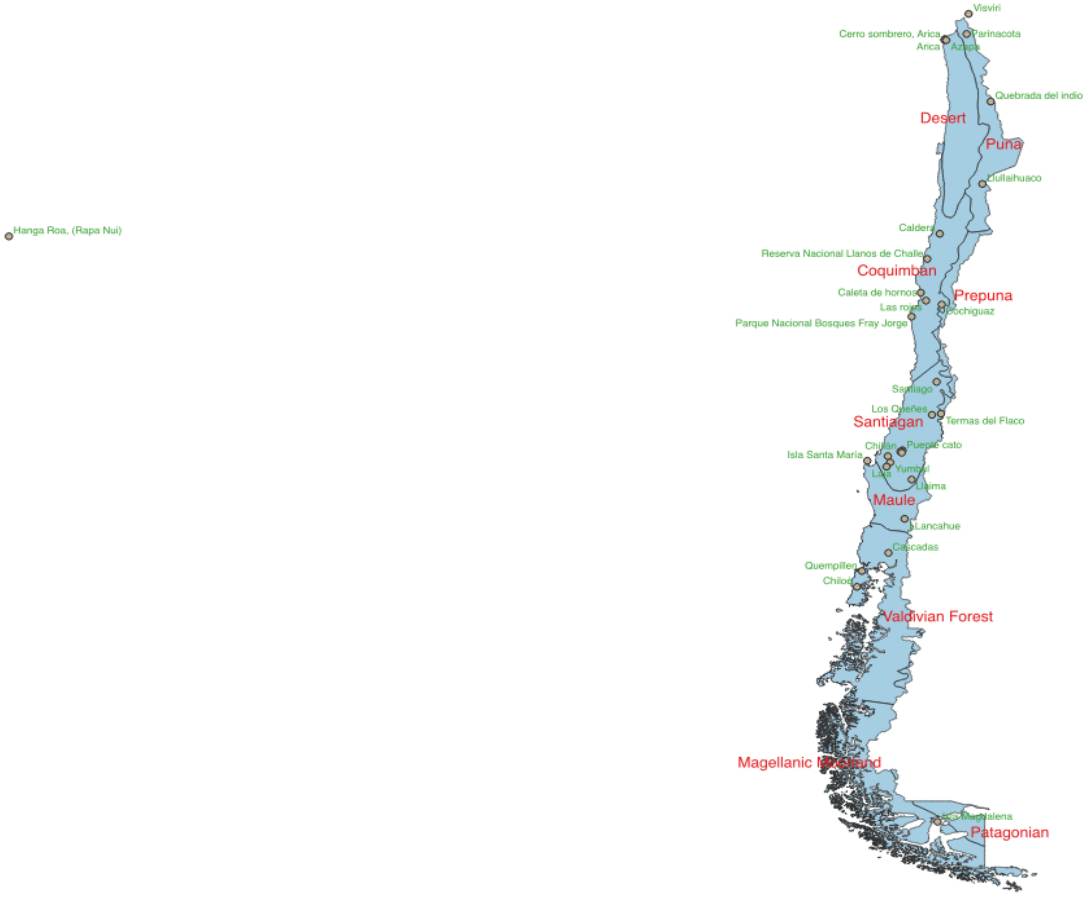

Fig. 6: Ecorregiones de Chile (en rojo), indicando lugares de muestreo (en verde)

5.2 Descripción de las ecorregiones incorporadas en el estudio

América del Sur ha sido dividido en las regiones: andinas, neotropical y la zona de Transición de América del Sur (Morrone, 2006). La zona de transición de América del Sur Sudamericana se extiende a lo largo de los Andes entre el oeste de Venezuela y el norte de Chile, y el centro oeste de la Argentina. A su vez se divide en seis provincias, siendo una de ellas la subregión de Atacama, que comprende el norte de Chile, entre las latitudes 18 y 28 sur, donde se incluyen la ecorregión atacama, puna y prepuna (Morrone, 2006). La región de los Andes, se extiende básicamente en el centro de Chile y la Patagonia, y comprende tres subregiones: Chile central, Subantártico y la Patagonia. La subregión de Chile Central se extiende en el centro de Chile, entre el 30º y el 34° de latitud sur, donde se asignan dos provincias: la provincia de Coquimbo que representa el centro norte de Chile, entre las latitudes 28 y 32º sur y la provincia de Santiago que representa la zona centro sur de Chile, entre las latitudes 32 y 36º al sur. La subregión Subantártica comprende los Andes australes de 37º a Cabo de Hornos, el archipiélago del sur de Chile y las islas de Juan Fernández, y se subdivide en seis provincias: Maule, Selva Valdiviana, Bosque Magallánico, Magallanes de Páramos, Archipiélago Juan Fernández, y las Islas Malvinas.

La subregión Patagónica comprende dos provincias: la provincia de la Patagonia Subandina y la Provincia de la Patagonia Central. La primera se extiende hasta el sudoeste argentino, constituyendo una estrecha franja a lo largo de los Andes australes, al sur de los 51° de latitud sur, ensanchándose hacia el sur hasta Santa Cruz. Mientras que, la provincia de la Patagonia Central comprende el suroeste argentino, desde el centro de Mendoza hasta el sur de Santa Cruz, y llega hasta Chile en Aysén y Magallanes.

Para el presente estudio las localidades seleccionadas en el muestreo abarcaron siete ecorregiones biogeográficas presentes en Chile y los resultados se describen de acuerdo con esta clasificación: (1) Atacama, (2) Puna, (3) Coquimbo, (4) Santiago, (5) Maule (6), Bosque Valdiviano, y (7) Patagonia central. Para poder asociar la presencia de bacterias por zona, se consideró como zona norte las ecorregiones (1,2,3 y 4), mientras que para zona sur lo fueron (5,6 y 7)

5.3 Tamaño muestral

Para este trabajo de enfoque cuantitativo, se utilizó un diseño metodológico prospectivo, alcance exploratorio y de corte transversal. El tipo de muestreo fue de tipo probabilístico y aleatorio simple. El cálculo del tamaño de muestra se realizó en el programa Epi 6 (http://www.winepi.net) utilizando la fórmula de poblaciones infinitas, al no existir estudios previos sobre el tema, se empleó una proporción esperada de 50%, con un nivel de confianza de 95% y una precisión del 5%, obteniendo como resultado un tamaño muestreal (n) de 385 garrapatas, lográndose finalmente procesar un "n" total de 624 muestras, equivalente a un incremento del 62%.

5.4 Recolección de garrapatas y muestras biológicas.

En cada localidad, las garrapatas se recolectaron del entorno o directamente de sus hospedadores. En el primer caso, se aplicó la técnica de arrastre empleando una bandera o paño de 1m x 1,5m sobre la vegetación (Goddard, 1992; Sonenshine, 1993). Además, se buscaron garrapatas bajo las rocas, cuevas y madrigueras frecuentadas por el hospedador, y en la superficie del suelo durante un período de 30 minutos en cada lugar (Daniels et al., 2000; Frenot et al., 2001). Para cada lugar, se establecieron rutas uniformes con una cantidad de tiempo fijo. Para animales gregarios, se tomaron muestras del suelo, heces, grietas, hendiduras de pared y techos de cuevas.

Las garrapatas se han descrito en todo tipo de animales terrestres, por esta razón las clases terrestres de vertebrados que habitan los diferentes hábitats se capturaron de la siguiente manera:

-Aves. Se colocaron cuatro redes niebla (20 x 2,8 m con malla de 28 y 36 mm) en un perímetro determinado dentro del hábitat durante todo el día (Dunn y Ralph, 2004; Ralph et al., 2004). El período de manejo de las aves no excedió los tres minutos y las aves fueron liberadas después de marcarlas con un anillo de aluminio en el tarso.

-Pequeños mamíferos (pequeños roedores y marsupiales). Los individuos fueron capturados usando trampas tipo Sherman (24x9,4 x 7,5 cm) (Sikes et al., 2011). Las trampas se colocaron en un área de cinco líneas paralelas, dejando 20 trampas por cada línea. Las trampas permanecieron activas durante tres noches, siendo inspeccionadas *in situ* cada cuatro horas. Como algunas especies de roedores pueden portar el patógeno

viral que causa el síndrome pulmonar de Hantavirus (HPS), el manejo de trampas, la captura de animales y la identificación se realizaron de acuerdo con los protocolos de bioseguridad establecidos (Mills et al., 1995).

-Mamíferos medianos (roedores grandes y carnívoros medianos). Las trampas Tomahawk se colocaron utilizando alimentos comerciales para carnívoros, como carne, pescado y atún enlatado o sardinas (Sikes et al., 2011). Una vez capturados, se inyectó por vía intramuscular una combinación de ketamina y xilazina (Kregeer et al., 2002), y se marcaron con etiquetas en el pabellón auricular para su identificación. Se evitaron las capturas de pudú debido a la alta susceptibilidad de esta especie al estrés durante el proceso de manipulación.

Las garrapatas fueron colectadas por extracción manual (Vassallo et al., 2000; Barker et al., 2004), con cuidado para no estropear las estructuras bucales y mantenidas vivas en condiciones de temperatura y humedad adecuadas. Luego fueron transportadas y almacenadas en condiciones apropiadas al Laboratorio de Parásitos y Enfermedades de Fauna Silvestre la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

5.5 Identificación morfológica de garrapatas

Las garrapatas fueron separadas por estadio y se identificaron a nivel de especie utilizando las descripciones de Nuttall (1916); Keirans y Clifford (1978); Barros- Battesti et al. (2013); Guglielmone et al. (2004); Nava et al. (2017) y Guglielmone et al. (2021). Posterior a la identificación morfológica se efectuó extracción de ADN para todas las muestras de garrapatas recolectadas y analizadas morfológicamente.

5.6 Identificación molecular de garrapatas

Para remover los residuos orgánicos de las garrapatas, estas fueron lavadas a través del método de flashing empleando agua destilada y posteriormente fueron sometidas a tres lavados sucesivos utilizando etanol al 70% y agua ultrapura. La extracción de ADN se realizó utilizando la técnica de isotiocianato de guanidina (Sangioni et al., 2005). El pellet de DNA resultante fue eluído en 10 a 150 ul de TE (solución buffer de Tris- EDTA)

dependiendo del estadio de la garrapata, para luego conservarse a -20ºC para su análisis. Para evaluar la viabilidad del ADN, se realizó un PCR convencional para todas las garrapatas recolectadas, buscando amplificar un fragmento parcial (≈460-bp) del gen ARNr 16S mitocondrial, lo cual se amplificó siguiendo el protocolo establecido por Mangold et al. (1998) (Tabla 1, Anexos).

5.7 Identificación molecular de especies de *Borrelia*

En primer lugar, como screening se realizó una PCR anidada (nested) para detección de una porción del gen de la flagelina B (*flaB*). La primera ronda de amplificación se realizó con los partidores FlaLL y FlaRL que amplifican un fragmento de 658-pb (Stromdahl et al., 2003). Utilizando como molde el producto de PCR de la primera ronda de amplificación, la segunda ronda de amplificación se efectuó con los partidores FlaLS y FlaRS que amplifican un fragmento de 354 pb (Barbour et al., 1996).

Para la amplificación de la secuencia génica que codifica el espacio intergénico rrs–rrlA IGS de *B. burgdorferi* se empleó una PCR anidada. La primera ronda de amplificación se realizó con los partidores IGS-F y IGS-R que amplifican un fragmento de 987 pb (Bunikis et al., 2004). Utilizando como molde el producto de PCR de la primera ronda de amplificación, la segunda ronda de amplificación se realizó con los partidores IGS-Fn y IGS-Rn que amplifican un fragmento de 945 pb (Tabla 2, anexos).

Para la amplificación de la secuencia génica que codifica la proteína externa de membrana *ospC* de *B. burgdorferi* se empleó una PCR anidada. La primera ronda de amplificación se realizó con los partidores ospC-F y ospC-R que amplifican un fragmento de 657-pb(Bunikis et al., 2004). Utilizando como molde el producto de PCR de la primera ronda de amplificación, la segunda ronda de amplificación se hizo con los partidores ospC-Fn y ospC-Rn que amplifican un fragmento de 617 pb (Bunikis et al., 2004) (Tabla 2, anexos).

Finalmente, para la amplificación de la secuencia génica que codifica la proteína externa de membrana *p66* de *B. burgdorferi* se empleó una PCR anidada. La primera ronda de

amplificación se realizó con los partidores p66-F y p66-R, que amplifican un fragmento de 744-pb (Bunikis et al., 2004). Utilizando como molde el producto de PCR de la primera ronda de amplificación, la segunda ronda de amplificación se hizo con los partidores p66-Fn y p66-Rn que amplifican un fragmento de 683-pb (Bunikis et al., 2004) (Tabla 2, anexos).

Todas las muestras se analizaron usando un control positivo que contiene ADN de la cepa *Borrelia anserina* (grupo fiebre recurrente) (Ataliba et al., 2007) y un control negativo que contenía agua libre de nucleasas.

5.8 Identificación molecular de especies de *Rickettsia*

Para detectar ADN de *Rickettsia,* como screening se utilizaron los partidores CS-78 y CS-323 diseñados para un fragmento conservado de 401 pb del gen codificante para citrato sintetasa (*gltA*), presente en todas las especies de *Rickettsia* (Labruna et al., 2004). Las muestras que produjeron amplificados de tamaño esperado posteriormente se sometieron a diferentes protocolos de PCR utilizando primers dirigidos a fragmentos parciales de los genes rickettsiales: *ompA, ompB* y *htrA* (Tabla 3, anexos).

Todas las muestras se analizaron usando un control positivo que contiene ADN de la cepa *Rickettsia vini* (Novakova et al., 2016) y un control negativo que contiene agua libre de nucleasas.

5.9 Identificación molecular de especies de *Ehrlichia*

Para detectar ADN de Anaplasmataceae*,* se realizó una PCR convencional dirigida al gen de ARNr 16S (Inokuma et al., 2000) de un tamaño de 346 pb, en el caso de obtener amplificación, se procedió en una segunda etapa a realizar PCR anidados específicos para *Ehrlichia* amplificando fragmentos de genes *dsb* (disulfuro de oxireductasa) (Doyle et al., 2005) y *gltA* (citrato sintetasa) (Loftis et al., 2006), de 349 pb y 650 pb, respectivamente (Tabla 4, anexos). Todas las muestras se analizaron sin controles positivos y un control negativo que contiene agua libre de nucleasas.

Para la amplificación se determinó un volumen final de 25 µl, utilizando una mezcla de reacción para cada una de las muestras compuesta por: 9,5 µl de agua destilada desionizada; 1 µl del iniciador F1 (100 pmol) y 1µl del iniciador F2 (100 pmol) (TIB MOLBIOL. Synthese labor) añadiéndose a la mezcla 1µl de ADN total y 12,5 µl de Taq polimerasa (Boehringer). Del producto de la primera amplificación se tomaron 1 µl para realizar la siguiente amplificación para un volumen final de 25µl, utilizando una mezcla de reacción para cada una de las muestras compuesta por: 9,5 µl de agua destilada desionizada; 1 µl del iniciador (100 pmol) y 1 µl del iniciador (100 pmol) (TIB MOLBIOL. Synthese labor) añadiéndose a la mezcla 1 µl de ADN total y 12,5 µl de Taq polimerasa. Las reacciones de amplificación se realizaron en el termociclador ProFlex PCR System (Applied Biosystems®).

Los amplicones de garrapatas y patógenos fueron depositados en geles de 2% de agarosa (Bio-Rad 162-0125) en tampón 1X TBE pH 7,5 y un voltaje de 4,5 V/cm durante la primera media hora, tras la cual se incrementó a 6 V/cm aplicados durante 60 min. Como marcadores de peso molecular se utilizaron un patrón con 15 bandas de 8,5 a 0,35- kbp (ADN molecular weight VII Boehringer-Mannheim) y un patrón secuencial de 100 a 1000-bp (ADN molecular weight 100-bp ladder Boehringer-Mannheim). Para la visualización y registro fotográfico los geles fueron colocados en transiluminador.

Los amplicones no visibles o que no presentasen el tamaño esperado fueron desechados y excluidos de los análisis adicionales. En el presente estudio solo se realizó secuenciamiento, cuando se lograba detectar algún patógeno bacteriano (*Borrelia*, *Ehrlichia* y/o *Rickettsia*) al PCR convencional, material que se enviaba en conjunto con el fragmento parcial (≈460-bp) del gen ARNr 16S mitocondrial de la garrapata Los productos de PCR fueron enviados para purificación al Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. Las secuencias editadas se compararon con organismos similares disponibles en la base de datos de GenBank utilizando BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) (Altschul et al., 1990).

5.10 Análisis de la diversidad genética de especies de *Borrelia, Rickettsia* y *Ehrlichia*

Las secuencias editadas de los patógenos se alinearon utilizando el software MAFFT. La distancia genética fue calculada mediante las distancias intraespecíficas e interespecíficas (p) (Tamura et al., 2013), utilizando el software MEGA11.

5.11 Análisis filogenéticos

Para evaluar relaciones filogenéticas de las bacterias y garrapatas, se seleccionaron secuencias de garrapatas duras y bacterias de los tres géneros de haplotipos descritos en Chile y en la región neotropical. Los árboles se construyeron utilizando máxima verosimilitud (ML) utilizando MEGA11, bajo un modelo de sustitución apropiado (General time reversable (GTR), Tamura-nei (T92, T93) o Hasegawa-Kishino-Yano (HKY)). La solidez de cada nodo se evaluó mediante el arranque y las probabilidades anteriores obtenidas a partir de generaciones suficientes para alcanzar la convergencia. Se tomó como señal de soporte robusto valores bootstrap de 70% o más para clados reales (Hillis y Bull, 1993).

Se emplearon como outgroup para los árboles de garrapatas del género *Ixodes*, secuencias de *A. triste*, para género *Amblyomma* secuencias de *R. sanguineus* sensu stricto, y para garrapatas del género *Rhipicephalus* secuencias de *A. triste* y *A. parvitarsum*. En el caso de bacterias del género *Borrelia,* se emplearon secuencias de *Borrelia miyamotoi (ospC), Borrelia anserina* (*p66*) y *Leptospira interrogans* y *Borrelia bissettiae* (*flaB*)*,* mientras que, para arboles de *Rickettsia* se empleó secuencia de *Rickettsia canadiensis* (*gltA*), finalmente para el género *Ehrlichia,* se utilizaron secuencias de *Coxiella burnetii* (ARNr 16s), *Neorickettsia ristici* y *N. sennetsu* (*gltA*) *y Escherichia coli* (*dsb*).

5.12. Análisis variables ambientales

Se recopilaron un total de 101 registros de localidades para especies de Ixodidae en todo Chile, de estos, 33 registros corresponden a los reportados en la presente tesis y 68 a registros obtenidos de estudios científicos anteriormente publicados (Casanueva y

Moyano, 2000; Muñoz y Casanueva, 2002; González-Acuña et al., 2003; González-Acuña et al., 2003b; González-Acuña et al., 2004; González-Acuña et al., 2004b; González-Acuña et al., 2005; Guglielmone et al., 2005; González-Acuña et al., 2006; Guglielmone et al., 2007; González-Acuña et al., 2009; Abarca et al., 2012; Muñoz-Leal et al., 2014; Muñoz-Leal y González-Acuña, 2015; Muñoz-Leal et al., 2016; Llano-Soto et al., 2017; Verdugo et al., 2017; Díaz et al., 2018; González-Acuña et al., 2018; Muñoz-Leal et al., 2019a; Muñoz-Leal et al., 2019b; Muñoz-Leal et al., 2019c; Oyarzún-Ruiz et al., 2021). Los datos fueron divididos aleatoriamente en dos submuestras: un 32,3% (33) como datos de prueba y un 77,7% (68) como datos de entrenamiento, sin embargo, para evaluar las predicciones, solo se lograron emplear 76 de los 101 registros obtenidos, debido a que los restantes 25 quedaban fuera del análisis por estar fuera del límite del shape de Chile o al extraer el point sampling tool, no se obtenía datos de las variables bioclimáticas, las cuales estaban asociadas a muestras de Antártica o de Isla de Pascua.

Desde el portal de la Biblioteca del Congreso Nacional de Chile (BCN) se obtuvieron los shapefiles para Chile y sus regiones. Por otro lado, se recuperó un total de 21 variables ambientales en formato Geotiff o Raster, 20 variables bioclimáticas con una resolución espacial de 30 segundos (~ 1 km2), recolectada de la versión de base de datos de WorldClim (v.) 2.1 (Fick y Hijmans, 2017), y una variable de cobertura del suelo obtenida de el Laboratorio de Geomática y Ecología del Paisaje (GEP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, de la Universidad de Chile (Tabla 4).

Tabla 4. Variables ambientales utilizadas, en negrita las resultantes en el análisis de componentes principales (PCA).

Variable	Código
Temperatura promedio anual (ºC)	**Bio1**
Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC)	**Bio2**
Isotermalidad (BIO1/BIO7) *100(Co)	Bio3
Estacionalidad en temperatura (SD x 100) (ºC)	**Bio4**
Temperatura máxima del periodo más caliente (ºC)	**Bio5**
Temperatura mínima del período más frio (ºC)	**Bio6**

Rango anual de temperatura (BIO 5 – BIO 6) (ºC)	Bio7
Temperatura media en el trimestre más lluvioso (ºC)	**Bio8**
Temperatura promedio en el trimestre más seco (ºC)	Bio9
Temperatura promedio en el trimestre más caluroso (ºC)	Bio10
Temperatura promedio en el trimestre más frío (ºC)	Bio11
Precipitación anual (mm)	**Bio12**
Precipitación en el periodo más lluvioso (mm)	Bio13
Precipitación en el período más seco (mm)	**Bio14**
Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación)	**Bio15**
Precipitación en el trimestre más lluvioso (mm)	**Bio16**
Precipitación en el trimestre más seco (mm)	Bio17
Precipitación en el trimestre más caluroso (mm)	**Bio18**
Precipitación en el trimestre más frio (mm)	Bio19
Elevación	Elev
Cobertura de suelo	**Land**

Las ediciones y visualizaciones de archivos ráster utilizados en este documento se hicieron con el software QGIS v. 3.12.3-Bucureşti. Los nuevos registros y los informes anteriores fueron georreferenciados con Google Earth Pro v. 7.3.3.7786 y se exportaron en formato.kml para crear registros de presencia. Posteriormente, las 21 variables se recortaron con la herramienta Clipper a los límites políticos de Chile y se exportaron en archivos ASCII con la herramienta *Translate* de la Biblioteca de abstracción de datos geoespaciales o Geospatial Data Abstraction Library (GDAL). Asimismo, la extracción de datos de las variables para cada coordenada geográfica se realizó con la herramienta Point sampling tool complement y exportó los archivos de datos en formato.csv para un Análisis de Componentes Principales (PCA) en el software Statplus. Debido a la cantidad de variables, el análisis de PCA es necesario para evitar que existan multicolinealidad entre algunas variables, ya que se podrían generar estimaciones sesgadas para los modelos resultantes (Quinn y Keough, 2002). En nuestro caso se tomaron como modelo las variables del estudio de Clarke-Crespo et al. (2020), empleadas para garrapatas

duras de 4 géneros. Posteriormente, se efectuó una regresión logística binaria que permitió evaluar el efecto entre la variable dependiente de respuesta dicotómica y el conjunto de las variables regresoras (Cea D'Ancona, 2002), para cada uno de tres géneros de garrapatas duras (*Amblyomma*, *Ixodes* y *Rhipicephalu*s) recolectadas y tres géneros bacterianos analizados (*Borrelia*, *Ehrlichia* y *Rickettsia*), para cada uno de los puntos georreferenciados analizados en el PCA, considerando como variables dependientes la presencia o ausencia, y como dependiente las variables ambientales seleccionadas según el PCA, además de la latitud y longitud.

Para evaluar la distribución de especies (riqueza parasitaria) según zona geográfica, se consideró la clasificación: Norte grande (hasta 27ºS), norte chico (hasta 33ºS), central (hasta 37ºS), sur (hasta 42ºS) y zona austral (Sarricolea et al., 2017).

Todos los mapas ilustrando la de distribución especies se procesaron enQGIS con el área geográfica de Chile.

5.13 Análisis estadístico

La ocurrencia de ADN de bacterias en garrapatas para cada especie bacteriana, género de garrapata y ecorregión se calculó con la frecuencia relativa y absoluta del total de muestras analizadas. Se realizó para evaluar la hipótesis del trabajo la prueba de Fisher (Reiczigel et al., 2019) entre la ocurrencia de muestras positivas, y por género, con la respectiva ecorregión, mientras que, el test de Fisher y la prueba de diferencia de proporciones se empleó para evaluar la asociación y las diferencias en la presencia de patógenos entre las diferentes ecorregiones. Además, para realizar el análisis de los datos empleando variables ambientales, se empleó el análisis de componentes principales (PCA) y una regresión logística binaria desde un modelo de Regresión Logística Binomial. En relación con la riqueza parasitaria (número de especies de parásitos), se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (R) para indagar si los índices de riqueza parasitaria están correlacionados con el gradiente latitudinal (medido en UTM). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando paquetes apropiados disponibles en Statplus:mac versión 8, empleando un nivel de confianza del 95% y con una significancia estadística ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

I. Identificación de las especies de garrapatas duras y la presencia de bacterias del género *Ehrlichia, Borrelia* y *Rickettsia* en diferentes ecorregiones de Chile.

624 garrapatas (60 larvas, 273 ninfas, 143 hembras y 148 machos) fueron recolectadas desde siete ecorregiones del país, de estas 561 (89,9%) fueron identificadas morfológicamente a nivel de especie y 63 (10,01%) a nivel de género. Se identificaron morfológicamente 9 especies de garrapatas pertenecientes a los géneros *Amblyomma*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Tabla 5). Posteriormente se realizó extracción de ADN y PCR a través de la amplificación del gen ARNr 16S mitocondrial en 587 de ellas (94%) para evaluar viabilidad del ADN.

Tabla 5. Especies de garrapatas identificadas morfológica, además se muestra el porcentaje de muestras que amplificaron al gen (ARNr 16S mitocondrial).

Especie de garrapata	Número garrapatas analizadas morfología	Número de garrapatas ARNr +	Número de garrapatas ARNr -	Proporción detección ADN
Amblyomma argentinae	1	0	1	0%
Amblyomma parvitarsum	20	12	8	60%
Amblyomma spp.	17	17	0	100%
Amblyomma tigrinum	140	138	2	99,2%
Ixodes abrocomae	2	2	0	100%
Ixodes auritulus	10	10	0	100%
Ixodes sigelos	25	21	4	84%
Ixodes sp. grupo *sigelos*	19	16	3	84,2%
Ixodes taglei	4	2	2	50%

Ixodes neuquenensis	3	1	2	33%
Ixodes spp.	27	24	3	88,8%
Ixodes uriae	256	246	10	96%
Rhipicephalus sanguineus	101	98	3	97%
Total	**624**	**587**	**36**	**94%**

ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal (16S)

En relación con la detección de ADN de bacterias, del total de garrapatas que amplificaron al PCR (587), en 108 (18,68%) se obtuvo ADN de alguna bacteria en 6 de las 7 ecorregiones analizadas (Atacama, Puna, Coquimbo, Maule, Bosque Valdiviano y Patagonia central) (Tabla 7), siendo la frecuencia relativa por género: *Ehrlichia* del 0,85% (5/587), *Rickettsia* del 17,54% (103/587) y finalmente para *Borrelia* del 0,34% (2/587) (Tabla 6). Además, se logró detectar coinfección en un 1,85% (2/108) de las muestras positivas, específicamente, para *Rickettsia* y Anaplasmataceae en una muestra de *A. tigrinum* (ninfa) de la ecorregión Maule y otra de *I. taglei* (hembra), de la ecorregión Bosque Valdiviano.

Ahora bien, si procedemos a desglosar la positividad a bacterias por género de garrapata se evidenció una frecuencia de bacterias para *Amblyomma* del 53,9% (96/178), para *Ixodes* 3,4% (12/346) y finalmente para *Rhipicephalus* del 1,9% (2/101).

Tabla 6. Especies y número de garrapatas positivas para ADN de las bacterias de los géneros *Rickettsia, Ehrlichia* y *Borrelia.*

Especie de garrapata	**Número ejemplares analizados**	**Género *Rickettsia***	**Género *Ehrlichia***	**Género *Borrelia***
Ixodes uriae	256	2**	2*	0
Amblyomma argentinae	1	0	0	0
Amblyomma spp.	17	0	0	0
Amblyomma tigrinum	140	84 (8*)	0	0

Ixodes spp.	27	1	0	0
Ixodes sp grupo *sigelos*	44	0	0	0
Ixodes abrocomae	2	0	0	2*
Rhipicephalus sanguineus	101	2*	0	0
Ixodes auritulus	10	1**	1**	0
Amblyomma parvitarsum	20	12**	0	0
Ixodes taglei	4	1**	2**	0
Ixodes neuquenensis	3	0	0	0
TOTAL	**624**	**103**	**5**	**2**

* muestras secuenciadas
** muestras no secuenciadas

II. Filogenia de las garrapatas y bacterias detectadas

II.1 Garrapatas

Género *Ixodes*

Molecularmente solo se efectuó confirmación para dos *I. abrocomae* (macho y hembra) obtenidas de ratón orejudo de Darwin (*Phyllotis darwini*) desde el Parque Nacional Fray Jorge, en la ecorregión Coquimbo y dos *I. uriae* (ninfa y hembra ingurgitada) obtenidas desde el ambiente en Punta Neko, ecorregión Patagonia. Las secuencias analizadas de *I. abrocomae* fueron 99% (402/ 405 pb) idénticas a *I. abrocomae* obtenida de *A. olivaceus* (ratón oliváceo) en Chile (GU188043) (Fig. 6), mientras que, la secuencia obtenida desde *I. uriae* fueron 99% (407/409 pb) idénticas a *I. uriae* de Chile (MH183257.1). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (GTR +G), evidenció clados diferenciados para el grupo de *Ixodes sigelos* e *Ixodes abrocomae*, generando un clado monofilético con genoespecies que parasitan roedores de las especies *Ixodes abrocomae* e *Ixodes* sp. obtenidas del parque nacional Fray Jorge, por Muñoz-Leal (2019a), con un bootstrap de 86 (Fig. 6).

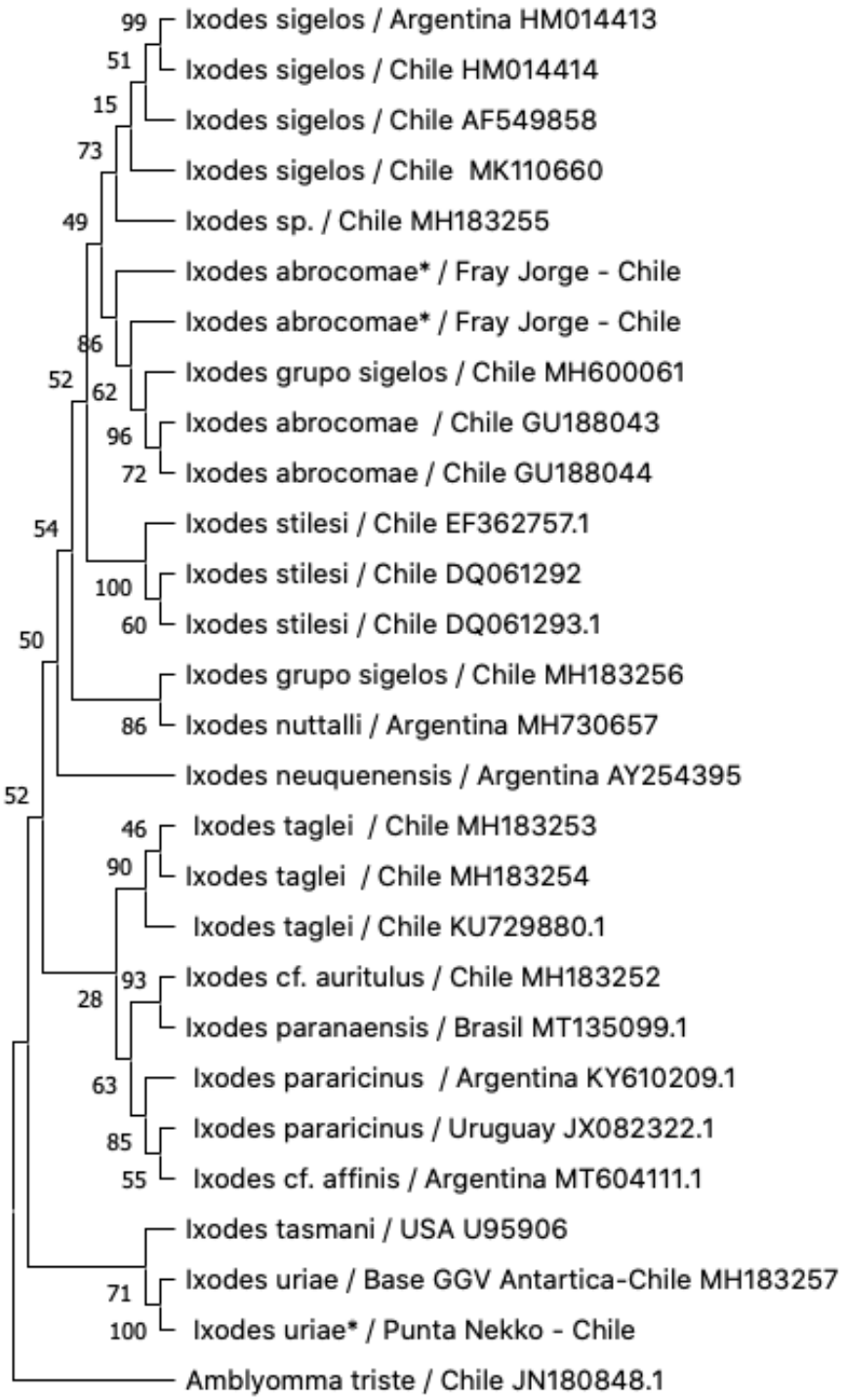

Fig. 7. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr 16S mitocondrial para garrapatas del género *Ixodes* bajo el modelo de sustitución (GTR +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco**.**

Género *Amblyomma*

La confirmación molecular de las especies de este género solo se realizó para ocho ejemplares de *A. tigrinum* (2 ninfas, 3 machos y 3 hembras), las que resultaron tener un 99% (405/ 406 pb) de similitud con *A. tigrinum* recolectada de un canino (*Canis lupus familiaris*) en Brasil (KX434747.1). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T92+G+I), evidencia que las muestras de este trabajo esta relacionadas con un boostrap 100, formando un clado monofiletico, con genoespecies de *A. tigrinum* obtenidas de Argentina, Chile y Brasil, desde zorro gris (*Lycalopex griseus)*, zorro culpeo (*Lycalopex culpaeus)* y del ambiente respectivamente (Fig. 8).

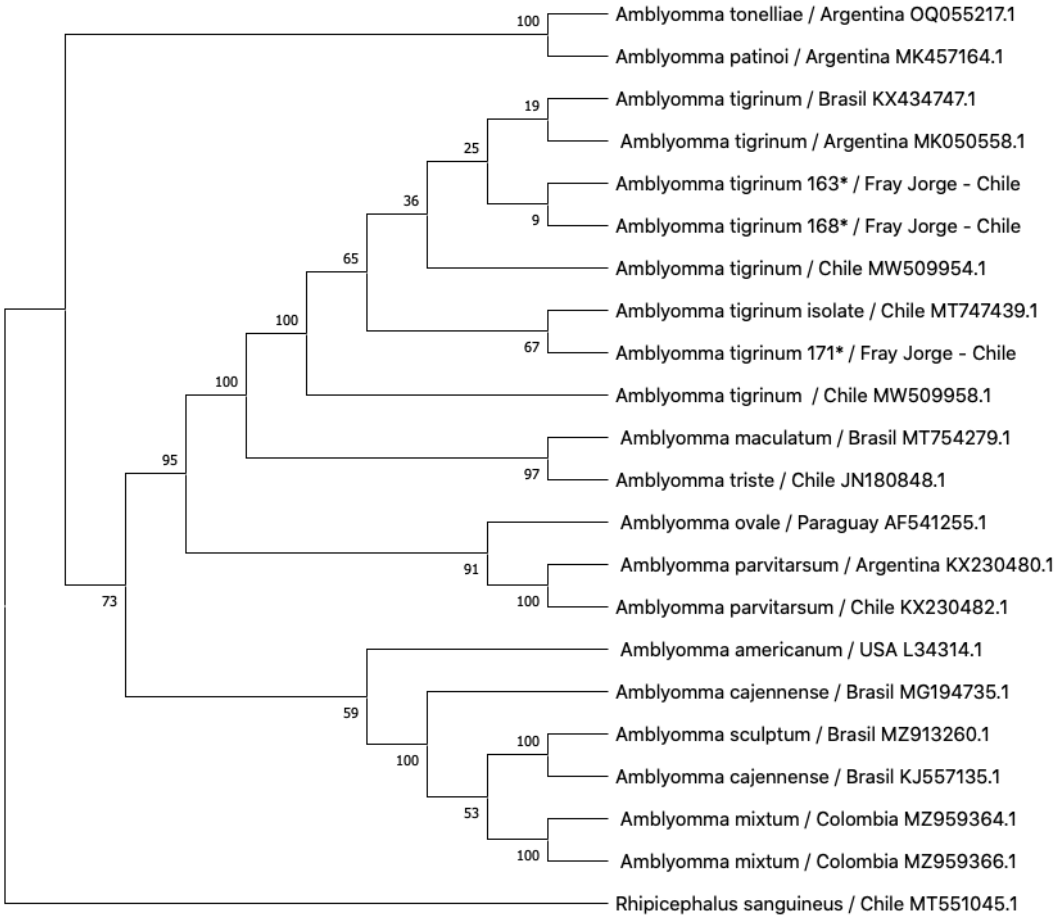

Fig. 8. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr de 16S mitocondrial para grupo de garrapatas del género *Amblyomma* bajo el modelo de sustitución (T92+G+I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco.

Género *Rhipicephalus*

A través de identificación morfológica y confirmación molecular en este estudio se registra por segunda vez a *R. sanguineus* s.s linaje templado en la isla de Pascua. Los dos ejemplares analizados (macho y hembra) fueron 99% (379 pb) idénticos a *R. sanguineus* de Estados Unidos de América (MH018852). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T92 +G), evidencia que las muestras de este estudio se relacionaron filogenéticamente con *R. sanguineus* s.s., formando un clado monofilético con genoespecies de linaje templado obtenidas de España, Argentina, Uruguay, USA y Chile, con un boostrap de 75 (Fig. 9).

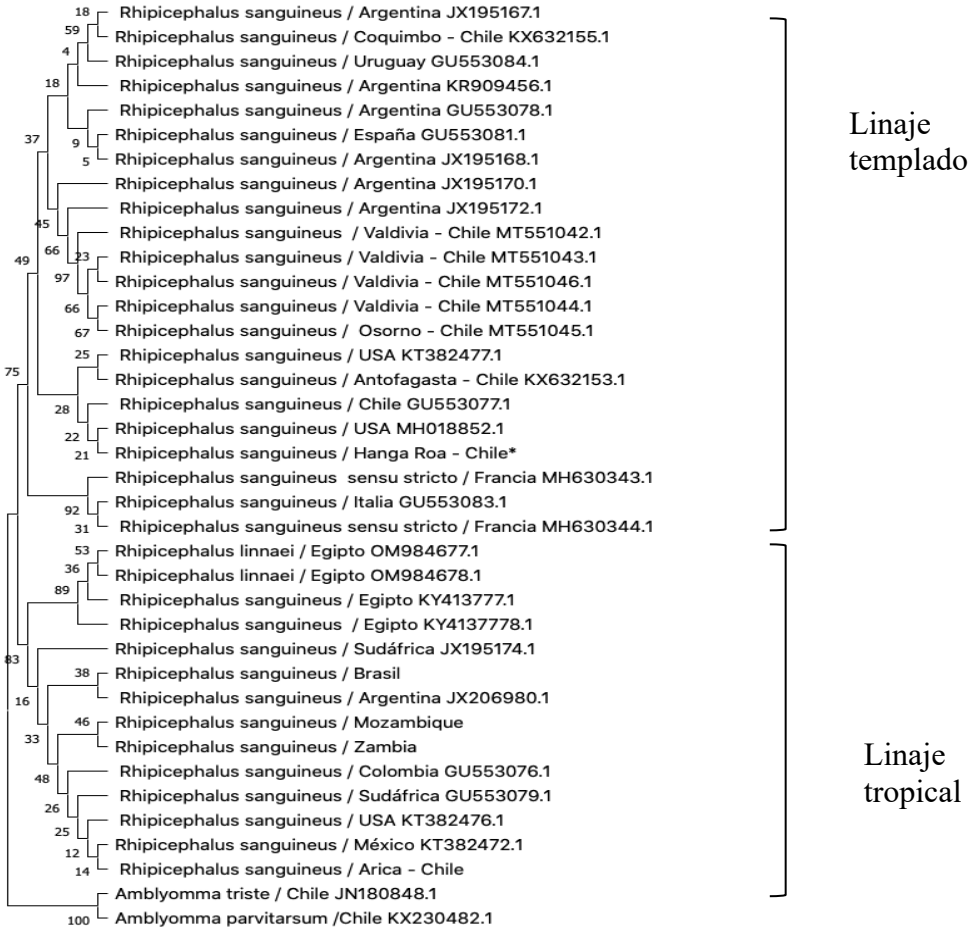

Fig. 9. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr de 16S mitocondrial para un subgrupo de garrapatas del género *Rhipicephalus* bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco.

II.2 Bacterias

Género *Borrelia*

Se efectuó la detección de amplicones de *Borrelia* en dos garrapatas obtenidas de ratón orejudo de Darwin (*Phyllotis darwini)*. Las secuencias de *flaB* obtenidas fueron alineadas con 22 secuencias homólogas de otros aislados de *Borrelia* del grupo EL (Grupo Enfermedad de Lyme) y del grupo FG (Grupo Fiebre Recurrente) y tuvieron un 99% (304/307 pb) de identidad con la secuencia de *Borrelia* obtenida de *Ixodes* sp*.* recolectada de *Phyllotis darwini*, en Parque Nacional Bosque de Fray Jorge, Chile (MH187987) (Fig. 7). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T92 +G+I), evidenció que las genoespecies pertenecientes a las *Borrelia* EL y FG se separaron en dos clados principales (Fig. 10), donde los haplotipos recuperados de *I. abrocomae* están relacionados con un boostrap (97), con el clado de EL. Luego al realizar un árbol filogenético bajo el modelo de sustitución (T92 +G) empleando solo secuencias de *Borrelia* obtenido de la región neotropical, nuestras secuencias forman un clado monofilético con *Borrelia* sp obtenidas de *I. auritulus* (Argentina y Chile)*,* de *I. stilesi* (Chile) e *Ixodes* sp*.* (Parque Nacional Bosque de Fray Jorge*,* Chile) (Fig. 11).

Al evaluar la distancia por pares para el gen *flaB* entre los dos haplotipos del estudio y las 7 cepas depositadas en GenBank de *Borrelia* del grupo Lyme en Chile, reveló una heterogeneidad genética del 2,02%, donde la distancia por pares entre haplotipos osciló entre 0,3% a un 3,86% (Tabla 5, anexos). Al contrastar con los haplotipos obtenidos de roedores en Sudamérica de los estudios de D'Agnoll et al. (2017), Thomas Sánchez et al. (2020), Weck et al. (2022), se obtiene una heterogeneidad media del 0,02% (Anexo: Tabla 6).

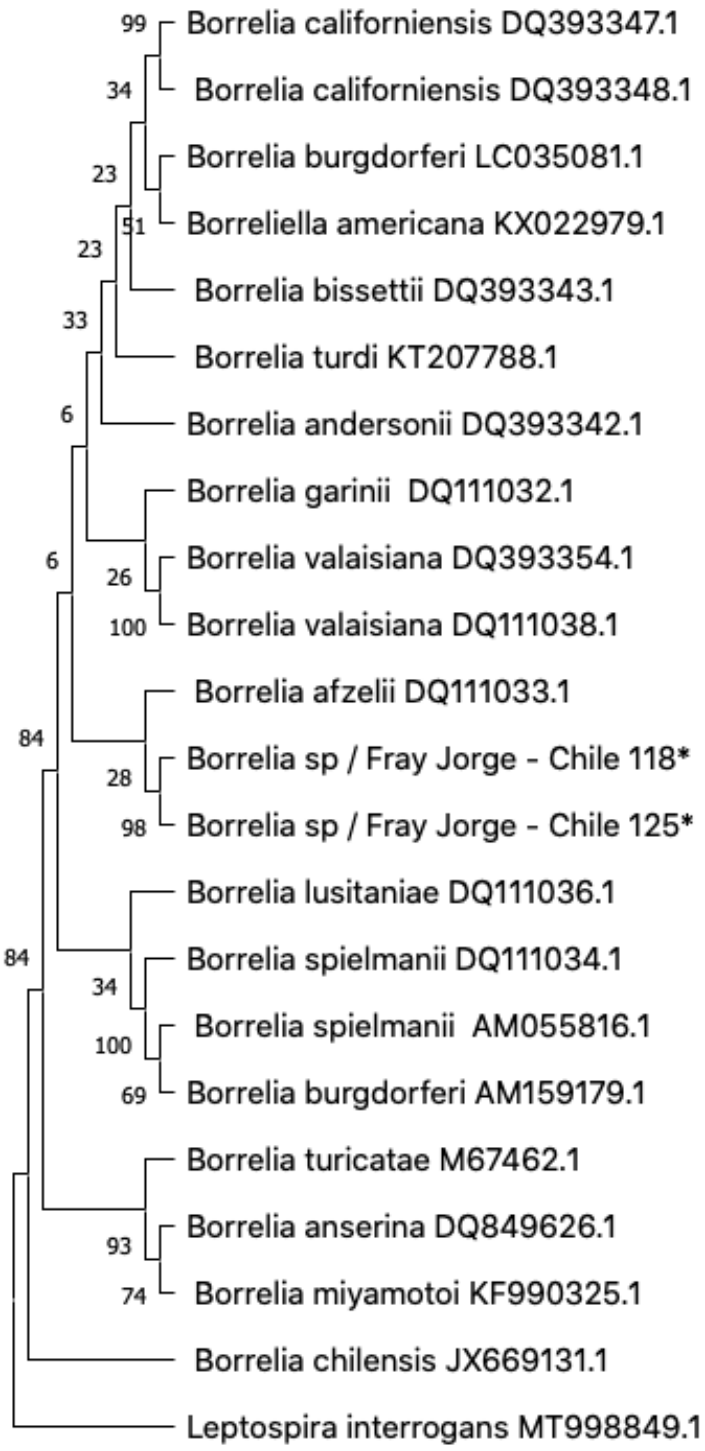

Fig. 10. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *flaB* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (T92 +G+I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco.

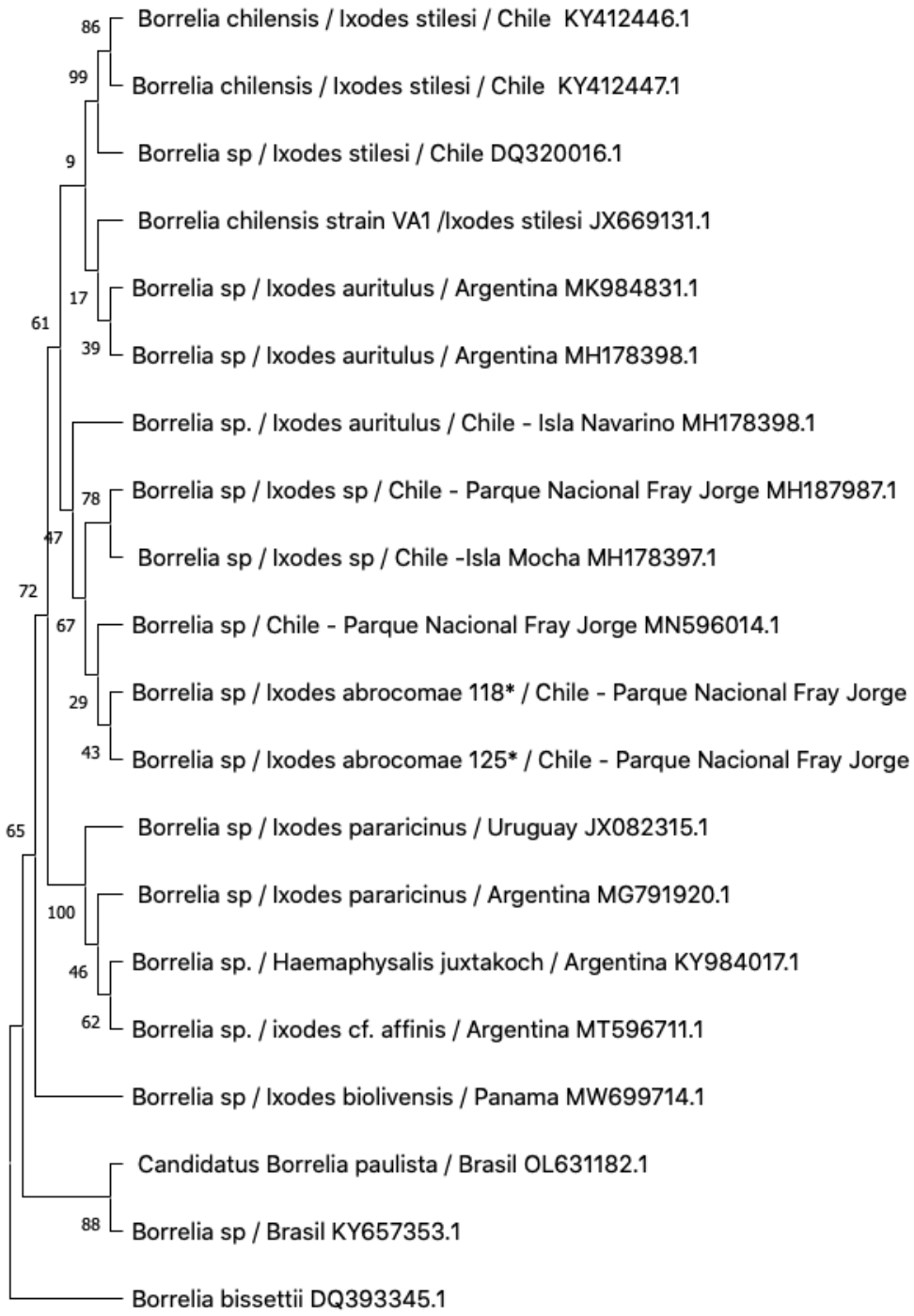

Fig. 11. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *flaB* de *Borrelia* con genoespecies de zona neotropical bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco**.**

En el caso del gen *p66* (Fig. 12) empleando el modelo de sustitución (HKY +G), IGS y *ospC* con el modelo (GTR +G) (Fig. 13) se relacionaron filogenéticamente con *Borrelia chilensis*, coincidente con el porcentaje de identidad según BLAST del 93% (611/657 pb), 84% (486/577 pb) y 78,4% (259/329 pb) idénticas a la secuencia de *Borrelia chilensis* VA1(CP009910.1).

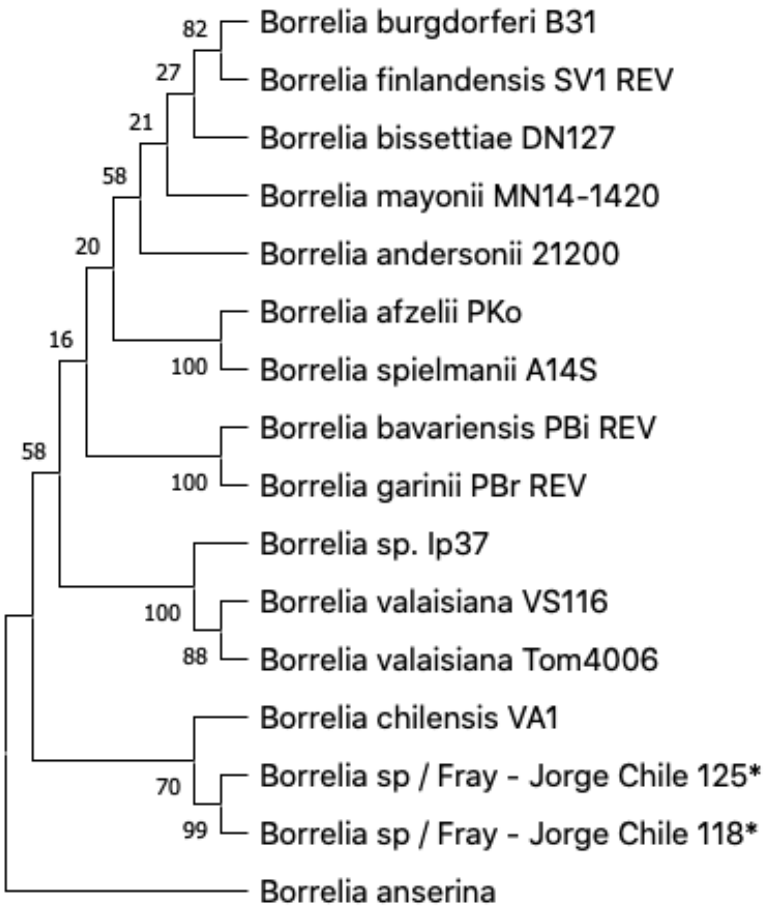

Fig. 12. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *p66* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (HKY +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran marcadas con asterisco**.**

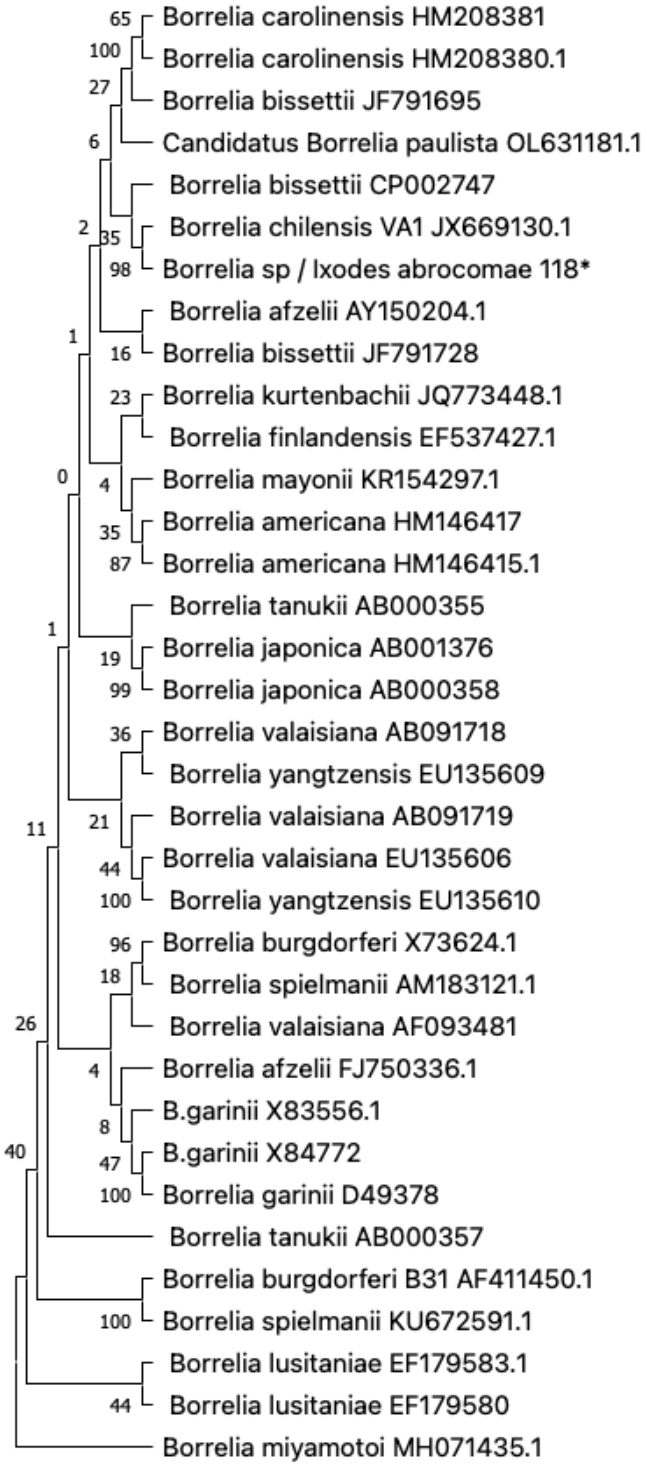

Fig. 13. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *ospC* de *Borrelia* bajo el modelo de sustitución (GTR +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco**.**

II.3 Género *Rickettsia*

Del total de 103 muestras positivas al gen *gltA* empleado como screening en la primera etapa, se logró secuenciar 10 muestras (9,7%). Los haplotipos de *gltA Rickettsia* recuperados de *A. tigrinum* según BLAST fueron 100% similares a una secuencia de *Candidatus* Rickettsia andaenae (*Ca*. R. andaenae) obtenidas de *A. triste* (Chile) (JN180849.1), en el caso de los genes *htrA, ompA* y *ompB* según BLAST fueron 100% idénticas a secuencias de *Ca.* Rickettsia andaenae obtenida de *A. parvum* en Brasil, respectivamente (KY402193; MK522488.1; KF030933.1) (Tabla 10, Anexos).

En relación con *R. sanguineus*, en dos garrapatas (macho y hembra) se logró amplificar el gen *gltA* para *Rickettsia* (25%) y las secuencias obtenidas fueron 100% (350/350 pb) idénticas a una secuencia de *Ca.* R. andaenae obtenida de *A. parvum* en Brasil (KY402176). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T92 +G), demuestra un clado monofilético con haplotipos de *Ca*. R, andaenae obtenidos de Chile (Fig. 14).

La distancia por pares entre los dos haplotipos del estudio y las 20 cepas depositadas en GenBank de *Ca.* Rickettsia andaenae en América, reveló una heterogeneidad genética del 0,33 %. La distancia por pares entre haplotipos osciló entre 0% a un 1,57%. (Tabla 7, anexos).

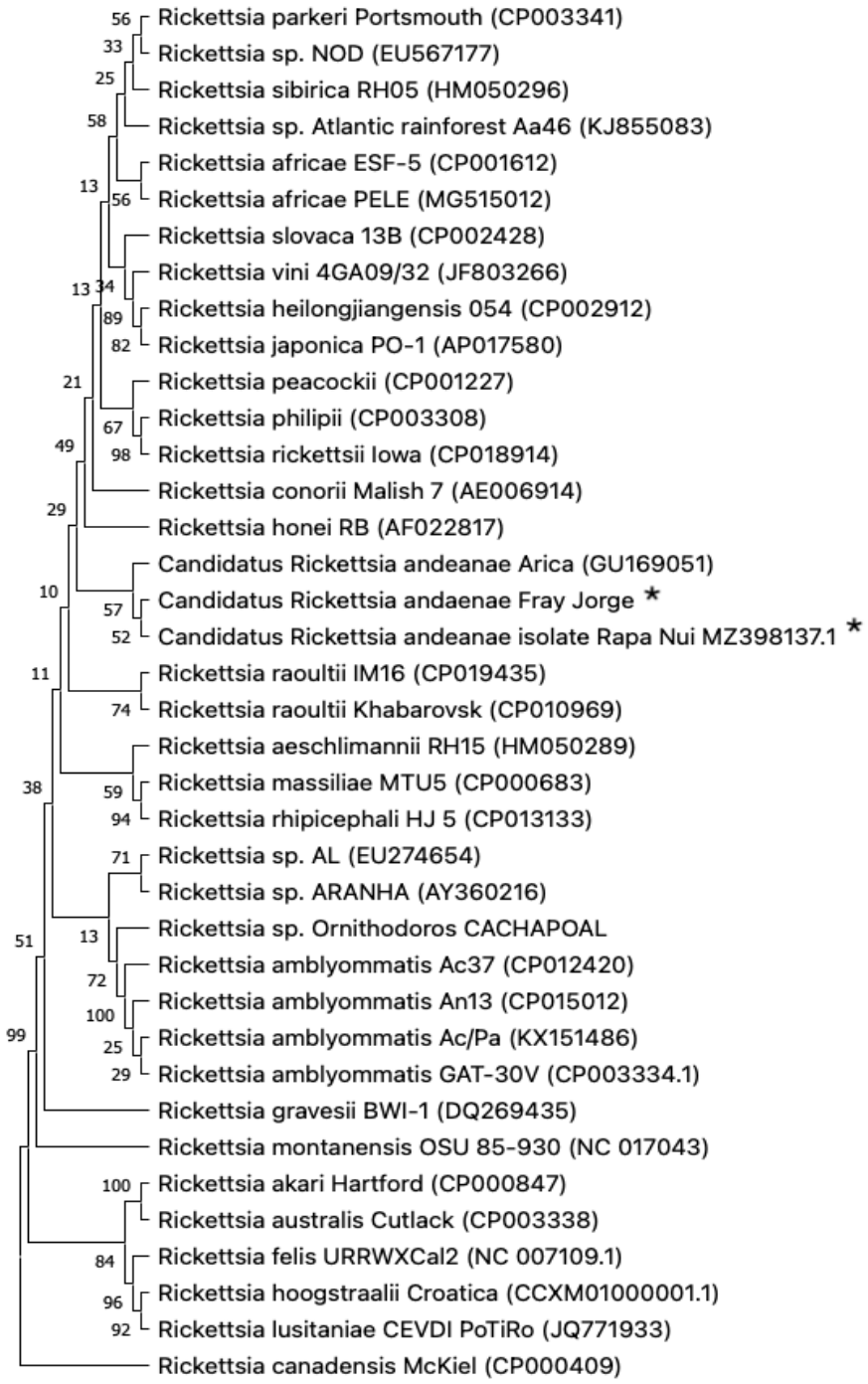

Fig. 14. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *gltA* de *Rickettsia* bajo el modelo de sustitución (T92 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. Las secuencias generadas en este estudio se encuentran con asterisco**.**

II.4 Género *Ehrlichia*

Del total de 12 muestras positivas al gen EHR16 empleado como screening, se logró secuenciar 2 muestras (16,6%), siendo una de las secuencias obtenidas (ninfa) 100% (306 pb/306 pb) idénticas a *Ehrlichia* spp. obtenida de *I. uriae* de Chile (MK049840.1) y la segunda secuencia (hembra) fue 99% (331 pb/335 pb) idéntica a *Candidatus* Midichloria mitochondrii (*Ca* M. mitochondrii) obtenida de una hembra de *I. ricinus* en Francia (KU559921.1).

El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T93 +G) para EHR 16s, evidenció que las genoespecies pertenecientes a los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Rickettsia* y *Midichloria* se separaron en los clados principales (Fig. 15), y que nuestras secuencias están relacionadas con haplotipos de *Ehrlichia* sp. obtenidos de garrapatas que parasitan aves en Chile y Argentina, específicamente *I. uriae* e *I. auritulus*, y con secuencia de endosimbiontes de *Ca.* Midichloria mitocondrii obtenida de *Amblyomma aureolatum* y *Haemaphysalis wellingtoni* de Argentina y Tailandia, respectivamente.

En el caso del gen *dsb* se obtuvo 94% (209 pb/307 pb) de similitud a una secuencia de *Ehrlichia* spp. obtenida de bazo de pingüino magallánico (*S. magellanicus*) de la Isla Magdalena, Región de Magallanes y la Antártica Chilena (MK049838.1) (Fig. 17), lo cual también refleja el árbol de ML bajo el modelo de sustitución (K92 +G + I) con un boostrap de (100)

Finalmente, para el gen *gltA* se obtuvo un 86% (526 pb/611 pb) de similitud con una secuencia de *E. muris* obtenida de bazo de un roedor silvestre de Japón (CP006917). El árbol de ML bajo el modelo de sustitución (T93 +G) evidencia un clado monofilético con genoespecies de *Ehrlichia* obtenidas en Japón, China y USA, con un boostrap 84 (Fig. 16).

Al realizar un análisis de distancia por pares entre el haplotipo de *Ehrlichia* de nuestro estudio y las 14 cepas depositadas en GenBank de *Ehrlichia* spp. en Sudamérica, reveló una heterogeneidad genética del 1,66 %, mientras que, la distancia por pares

entre haplotipos osciló entre 0,01% a un 3,73% (Anexo: Tabla 8), y la secuencia de *Ehrlichia* encontrado en este estudio, presentaba una similitud del 100% con lo obtenido por Muñoz-Leal et al. (2019a).

Al realizar un análisis de distancia por pares entre el haplotipo de *Ca* M. mitochondrii de nuestro estudio y las 8 cepas depositadas en GenBank de haplotipos descritos de *Ca* M. mitochondrii en América, reveló una heterogeneidad genética del 0,02%, oscilando la distancia por pares entre haplotipos entre 0,02% y 0,04% (Tabla 9, anexos).

Fig. 15. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen ARNr 16S para Anaplasmataceae bajo el modelo de sustitución (T93 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco.

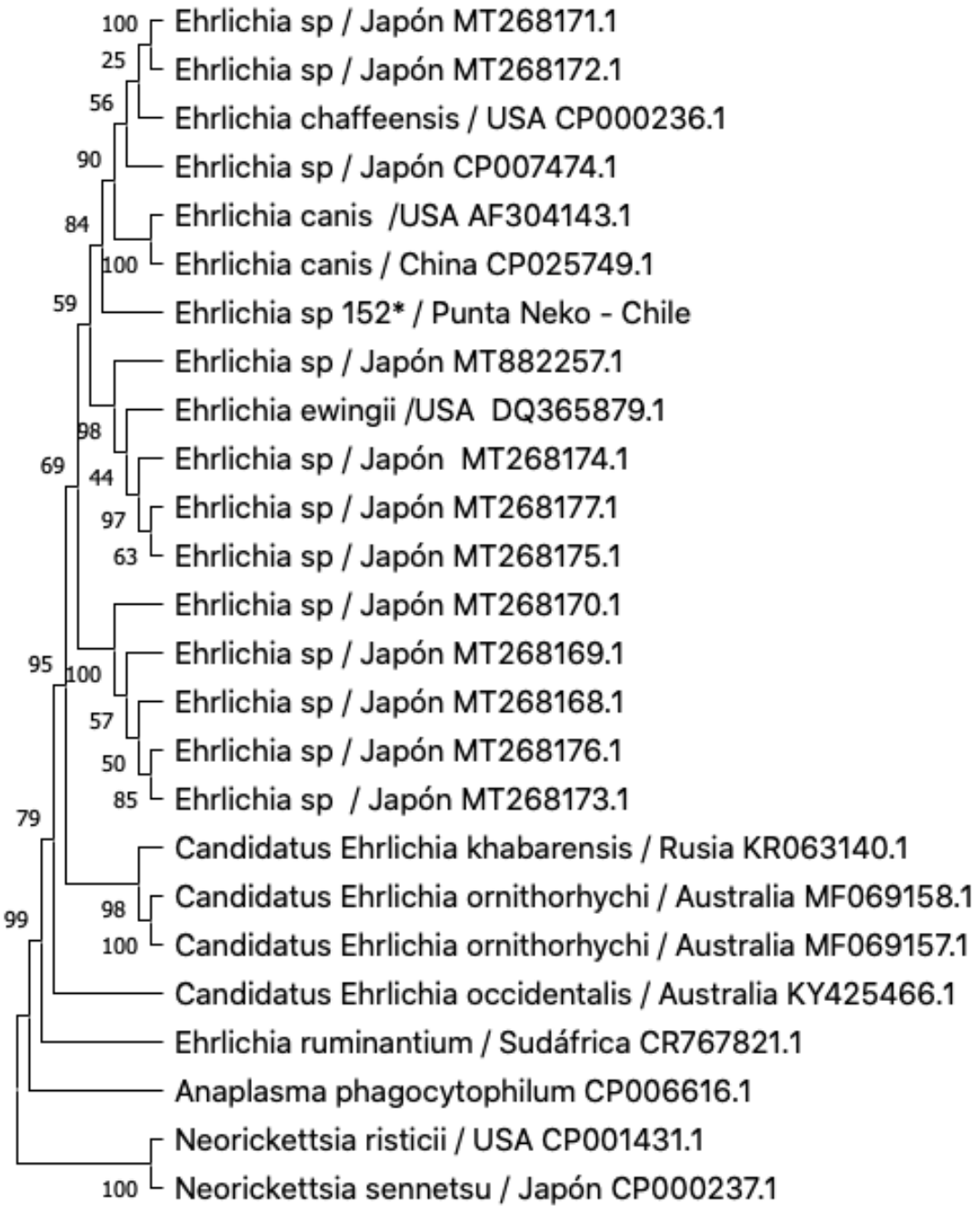

Fig. 16. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *gltA* de *Ehrlichia* bajo el modelo de sustitución (T93 +G). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcada con asterisco**.**

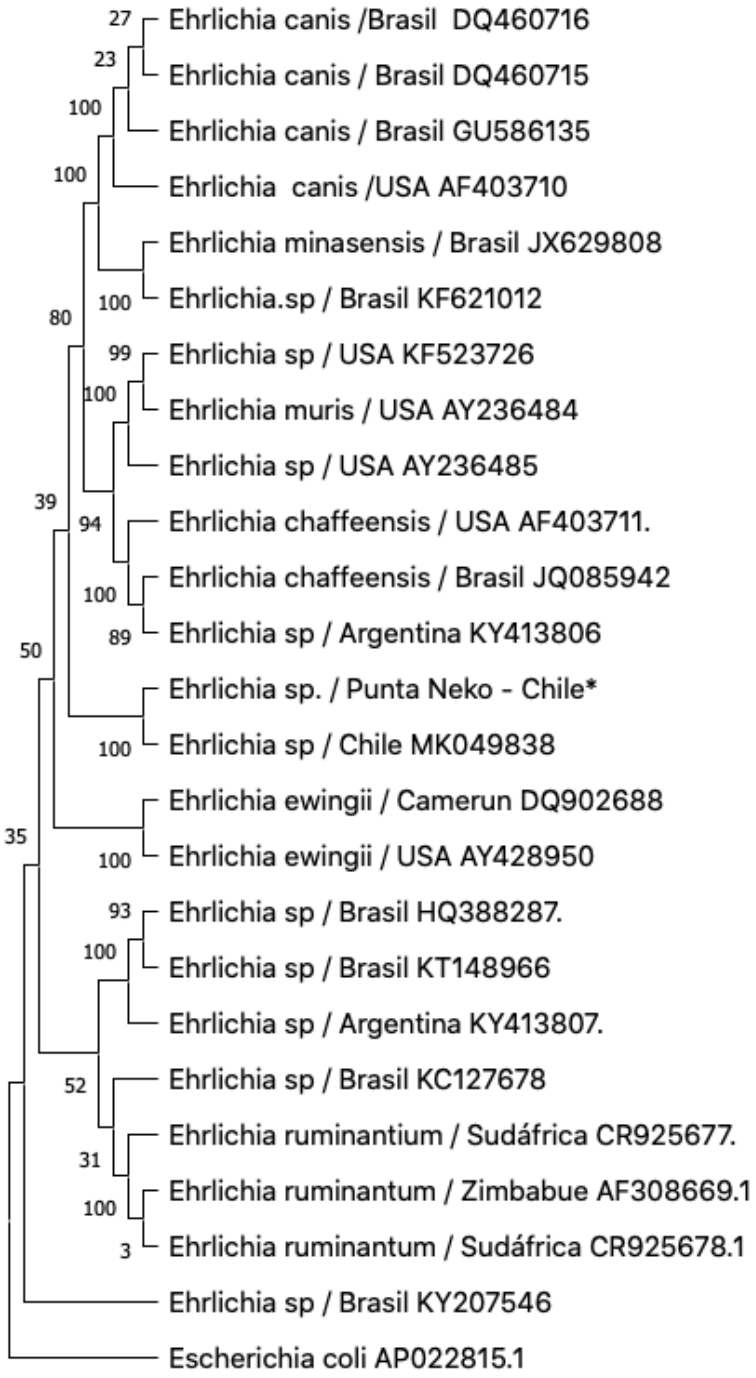

Fig. 17. Árbol filogenético inferido para un fragmento parcial del gen *dsb* de *Ehrlichia* bajo el modelo de sustitución (K92 +G + I). Los valores de soporte se indican sobre o bajo las principales ramas del árbol. La secuencia generada en este estudio se encuentra marcado con asterisco.

III. Asociación de la distribución geográfica de las garrapatas duras obtenidas de diferentes ecorregiones de Chile con la presencia de bacterias

Se detectó garrapatas positivas a bacterias en 6 de las 7 ecorregiones (85,7%), ordenados de forma decreciente de la siguiente manera: Puna, Coquimbo, Atacama, Maule, Bosque Valdiviano y Patagonia central, mientras que, para la ecorregión Santiago la frecuencia fue del 0% (Tabla 7). La menor ocurrencia, fue Patagonia central y se diferenció significativamente de todas las demás ecorregiones. (Tabla 8). Al realizar la prueba de Fischer, se evidenció asociación entre la ocurrencia de bacterias y ecorregiones, siendo mayor en la zona norte (p: <0,05). Respecto a la presencia de bacterias por ecorregión, Maule y bosque Valdiviano presentaron porcentajes de ocurrencia similares y no se diferenciaron significativamente, sin embargo, la ocurrencia fue significativamente mayor que Atacama, Santiago y Patagonia central (Tabla 9). Al efectuar test de Fisher por género bacteriano y las diferentes ecorregiones, se evidenció diferencia estadística para *Rickettsia* (p:< 0,05) y *Ehrlichia* (p:0,0042), y, pero no para *Borrelia* (p: 0,07), mencionando que *Borrelia* solo fue detectada en la ecorregión Coquimbo, *Ehrlichia* en las ecorregiones Maules, Bosuqe Valdiviano y Patagonia, mientras que *Rickettsia* estuvo presente en todas las ecorregiones exceptuando Santiago. (Tabla 9)

Tabla 7. Distribución de muestras analizadas y positivas para ADN de bacterias para cada una de las ecorregiones analizadas.

Ecorregión	Muestras	Positivas	Porcentaje
Atacama	37	6	16,22%
Puna	7	6	85,7%
Coquimbo	176	59	33,5%
Santiago	6	0	0%
Maule	125	30	24%
Bosque Valdiviano	13	3	23%
Patagonia central	260	4	1,54%
Total	**624**	**108**	**17,31%**

Tabla 8. Test de diferencia de proporciones del porcentaje de ocurrencia de patógenos entre las ecorregiones analizadas, con su respectivo valor p.

Ecorregión	Atacama	Puna	Coquimbo	Santiago	Maule	Bosque valdiviano	Patagonia central
Atacama	**NA**	0,87^{ns}	0,0007*	0,9^{ns}	0,007*	0,537^{ns}	< 0,05*
Puna	0,87^{ns}	**NA**	0,0576^{ns}	< 0,05*	0,13^{ns}	< 0,05*	0,009*
Coquimbo	0,0007*	0,0576 ^{ns}	**NA**	< 0,05*	0,11^{ns}	0,04*	0,0041*
Santiago	0,9 ^{ns}	< 0,05*	< 0,05*	**NA**	< 0,05*	< 0,05*	< 0,05*
Maule	0,0077*	0,13^{ns}	0,11^{ns}	< 0,05*	**NA**	0,10^{ns}	< 0,05*
Bosque Valdiviano	0,537^{ns}	< 0,05*	0,04*	< 0,05*	0,10^{ns}	**NA**	< 0,05*
Patagonia central	< 0,05*	0,009*	0,0041*	< 0,05*	< 0,05*	< 0,05*	**NA**

***** diferencia estadística significativa (p< 0,05)
^{ns} no significativo.
NA: no aplica

Tabla 9. Distribución y resultados de detección molecular de ADN de bacterias por ecorregión.

Ecorregión	Número de garrapatas positivas a bacterias	Género de bacterias (número de muestras positivas)*	Especie de garrapata
Atacama	6	*Rickettsia (6)*	*Amblyomma parvitarsum*
Puna	6	*Rickettsia (6)*	*Amblyomma parvitarsum*
Coquimbo	59	*Rickettsia (57)* *Borrelia (2)*	*Amblyomma tigrinum* *Ixodes* spp. *Ixodes abrocomae* *Rhipicephalus sanguineus*
Maule	30	*Rickettsia (30)* *Ehrlichia (1)*	*Amblyomma tigrinum* *Ixodes auritulus*
Bosque Valdiviano	3	*Ehrlichia (3)* *Rickettsia (1)*	*Ixodes taglei* *Ixodes auritulus*
Patagonia central	4	*Rickettsia (2)* *Ehrlichia (1)* *Candidatus* Midichloria *(1)*	*Ixodes uriae*
Total	**108**		

***** ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal (16S)

IV.- Distribución de las especies de garrapatas a través del gradiente latitudinal de Chile.

Respecto a la riqueza de especies de garrapatas, esta varió de 1 a 5 especies por localidad, con una media de 1,24 especies, donde la riqueza máxima se reportó en la localidad Parque Nacional Fray Jorge (-30,67° lat.) con 5 especies: *I. sigelos*, *I. abrocomae*, *Ixodes* sp. grupo sigelos, *A. tigrinum* e *Ixodes* sp., mientras que, en 28 localidades la riqueza fue solo de 1 especie.

En las ecorregiones de la zona Centro y sur del país (Maule y Bosque Valdiviano) existió una mayor riqueza de garrapatas, siendo las localidades con mayor riqueza de especies: Isla Santa María, Yumbel y Llancahue. Las localidades del norte (ecorregión Coquimbo) que concentran una mayor riqueza de especies fueron el Parque Nacional Fray Jorge (-30,67° lat.) y Reserva Nacional Llanos de Challe (-28,13 lat.) con 5 y 2 especies, respectivamente (Fig. 18). Al evaluar la correlación entre la riqueza de garrapatas y el gradiente latitudinal, se obtuvo una correlación baja y no significativa entre estas variables (correlación de Pearson r:0,02751, p:0,88).

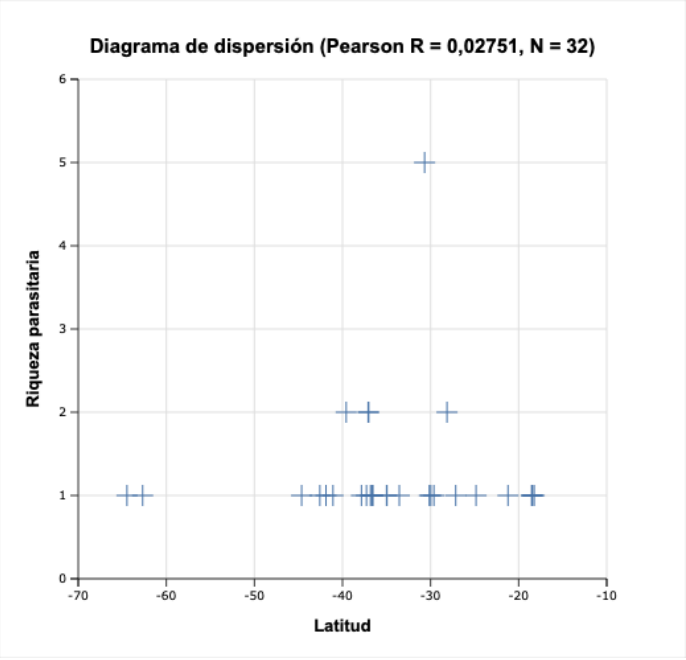

Fig. 18. Diagrama de dispersión de la riqueza de especies de garrapatas distribuidas a lo largo de Chile.

V.- Variables ambientales asociadas con la distribución de las garrapatas duras y los géneros bacterianos analizados a lo largo de Chile.

Se recopilaron un total de 101 registros de localidades para especies de Ixodidae en todo Chile. De estos, 33 registros corresponden a los reportados en la presente tesis (Tabla 10) y 68 a registros obtenidos de estudios anteriormente publicados (Tabla 11, Anexos), cada uno con su respectiva latitud y longitud. Del total de datos de registros recopilados finalmente se emplearon 76 registros, debido a que los restantes 25 quedaban fuera del análisis por estar fuera del límite del shape de Chile o al extraer el point sampling tool, no se obtenía datos de las variables bioclimáticas, siendo 27 (35,5%) puntos obtenidos en el presente trabajo y 49 (64,5%) de estudios anteriores.

Tabla 10. Localidades de registro de garrapatas en el presente estudio ordenadas de forma descendiente geográficamente y por ecorregión.

Localidad	Latitud	Longitud	Especie de garrapata	Ecorregión
Visviri	-17.35	-69.28	*Amblyomma parvitarsum*	Atacama
Parinacota	-18.23	-69.36	*Amblyomma parvitarsum*	Atacama
Arica	-18.47	-70.28	*Amblyomma* sp.	Atacama
Cerro sombrero, Arica	-18.49	-70.29	*Amblyomma* sp.	Atacama
Azapa	-18.50	-70.22	*Amblyomma* sp.	Atacama
Quebrada del indio	-21.20	-68.35	*Amblyomma parvitarsum*	Atacama
Llullaihuaco	-24.83	-68.70	*Amblyomma parvitarsum*	Puna
Caldera	-27,03	70,49	*Rhipicephalus sanguineus*	Coquimbo
Hanga Roa (Rapa Nui)	-27.14	-109.42	*Rhipicephalus sanguineus*	Coquimbo
Reserva Nacional Llanos de Challe	-28.13	-71.01	*Ixodes grupo sigelos, Ixodes* sp.	Coquimbo
Caleta de Hornos	-29.62	-71.28	*Rhipicephalus sanguineus*	Coquimbo
Las Rojos	-29.97	-71.06	*Rhipicephalus sanguineus*	Coquimbo
Cochiguaz	-30.14	-70.40	*Ixodes* sp.	Coquimbo
Parque Nacional Bosques Fray Jorge	-30.67	-71.66	*Ixodes sigelos, Ixodes abrocomae, Ixodes grupo sigelos, Amblyomma tigrinum, Ixodes* sp.	Coquimbo

Santiago	-33.54	-70.61	*Amblyomma argentinae*	Santiago
Termas del Flaco	-34.94	-70.43	*Ixodes* sp.	Santiago
Los Queñes	-34.99	-70.81	*Ixodes* sp	Santiago
Puente Cato	-36.55	-72.04	*Rhipicephalus sanguineus*	Maule
Chillán	-36.60	-72.10	*Rhipicephalus sanguineus*	Maule
Chillán Viejo	-36.62	-72.13	*Rhipicephalus sanguineus*	Maule
Quilmo	-36.66	-72.07	*Amblyomma tigrinum*	Maule
Florida	-36.82	-72.65	*Rhipicephalus sanguineus*	Maule
Isla Santa María	-37.02	-73.51	*Rhipicephalus sanguineus, Ixodes auritulus*	Maule
Yumbel	-37.09	-72.56	*Rhipicephalus sanguineus, Amblyomma tigrinum*	Maule
Laja	-37.27	-72.71	*Ixodes sigelos*	Maule
Llaima	-37.84	-71.66	*Ixodes* sp	Maule
Llancahue	-39.57	-71.96	*Ixodes auritulus, Ixodes taglei*	Bosque Valdiviano
Cascadas	-41.07	-72.63	*Ixodes neuquenensis*	Bosque Valdiviano
Quempillén	-41.87	-73.74	*Ixodes auritulus*	Bosque Valdiviano
Chiloé	-42.57	-73.95	*Ixodes neuquenensis*	Bosque Valdiviano
Isla Magdalena	-52.91	-70.58	*Ixodes uriae*	Patagonia Central
Hanna Point	-62.68	-60.86	*Ixodes uriae*	Patagonia Central
Punta Neko	-64.46	-62.35	*Ixodes uriae*	Patagonia Central

Al realizar el gráfico de distribución de las muestras según ecorregión, solo fue posible graficar 76 (75%) de ellos para hacer el análisis de PCA (Fig. 19). La carga de los factores del análisis de PCA están dispuestos en la Tabla 11.

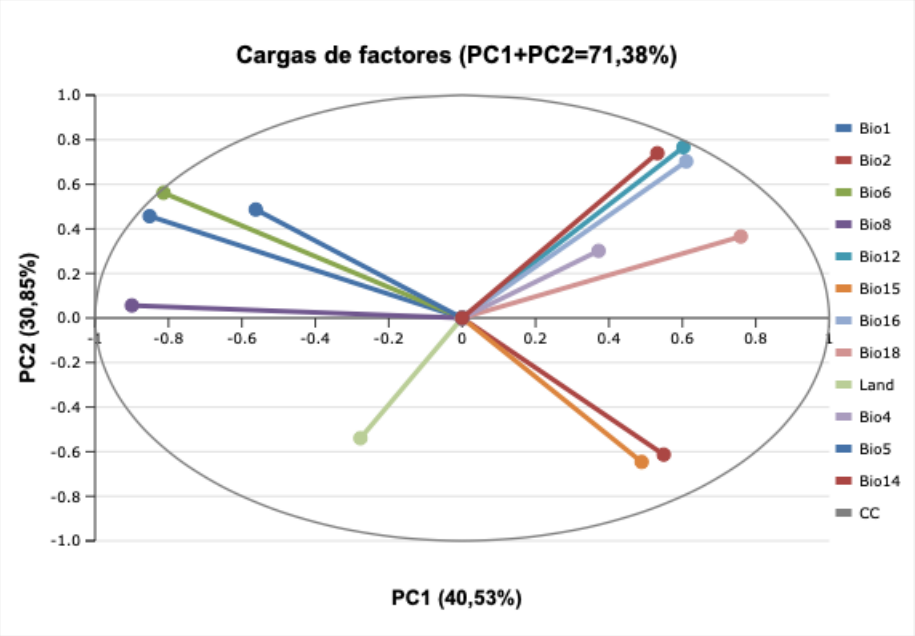

Fig. 19. Análisis de PCA para las 21 variables ambientales utilizadas en el análisis discriminatorio inicial.

Tabla 11. Resultados del Análisis de Componentes Principales aplicado a las variables bioclimáticas (Bio) y de clima del suelo (Land).

Variable	PC1	PC2
Temperatura promedio anual (ºC) Bio1	-0,85141	0,45695
Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC) Bio2	0,54923	-0,61315
Temperatura mínima del período más frio (ºC) Bio6	-0,81349	0,56183
Temperatura media en el trimestre más lluvioso (ºC) Bio8	-0,89987	0,05641
Precipitación anual (mm) Bio12	0,60276	0,76657
Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación) Bio15	0,48901	-0,64607
Precipitación en el trimestre más lluvioso (mm) Bio16	0,61043	0,70268
Precipitación en el trimestre más caluroso (mm) Bio18	0,75901	0,36557
Cobertura de suelo (Land)	-0,27715	-0,53958
Estacionalidad en temperatura (SD x 100) (ºC) Bio 4	0,37166	0,30139
Temperatura máxima del periodo más caliente (ºC) Bio5	-0,56226	0,48694
Precipitación en el período más seco (mm) Bio14	0,53181	0,73961

De acuerdo con los resultados observados al PCA, las variables: (Bio2) Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC), (Bio 12) precipitación anual (mm) y precipitación en trimestre más lluvioso (Bio 16) están relacionadas positivamente con la presencia de las garrapatas, pero están correlacionadas negativamente con la variable cobertura de suelo (Land). Basado en los valores en PC1 y PC2, quien representa mejor las variables bioclimáticas y explica la distribución de los ixódidos en Chile, es la variable precipitación en el trimestre más caluroso (Bio 18), seguido de la variable Bio12 y Bio14.

Al realizar el análisis de regresión logística binaria considerando las variables ambientales seleccionadas por el PCA (Bio1, Bio2, Bio4, Bio5, Bio6, Bio8, Bio12, Bio 14, Bio15, Bio16, Bio18 y Land), para cada género de garrapata y de bacterias analizadas, se obtuvo que para el género *Ixodes*, las variables que se asocian a la distribución de estas garrapatas fueron: la latitud, longitud, Bio1 (Temperatura promedio anual (ºC), Bio2 (Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC), Bio6 (Temperatura mínima del período más frio (ºC) y Bio15 (Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación)) (Tabla 12, anexos). Para las garrapatas del género *Amblyomma* (Tabla 13, anexos) o *Rhipicephalus*. (Tabla 14, anexos), no existió asociación significativa con ninguna de las variables, para este último género, las variables Bio2 (Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) y Bio7 (Rango anual de temperatura) su valor p estaba cerca del nivel de significancia (p: 0,05). A su vez, al efectuar el análisis de regresión logística para cada género bacteriano con las variables ambientales seleccionadas por el PCA, no se observó asociación significativa para ninguno de ellos. Para *Rickettsia* (Tabla 15, anexos), la variable más cercana al valor de significancia estadística fue Bio5 (Temperatura máxima del periodo más caliente (ºC)), mientras que, para *Ehrlichia* (Tabla 16, anexos) lo fue la cobertura de suelo (Land).

7. DISCUSIÓN

El presente estudio puso a prueba la hipótesis que la presencia de bacterias de los géneros *Borrelia*, *Ehrlichia* y/o *Rickettsia* en garrapatas de la Familia Ixodidae, sería mayor en las ecorregiones con climas templados y fríos en Chile, lo cual se rechaza, debido a que los valores de ocurrencia de patógenos obtenida, fueron mayores en las ecorregiones de la zona norte (Puna, Coquimbo), del país en comparación con los de la zona sur (Maule, Bosque valdiviano y Patagonia central), encontrándose además asociación estadística, y una correlación positiva muy baja, pero no significativa entre la riqueza parasitaria y el gradiente latitudinal. Además, en nuestro trabajo, se pudo demostrar una distribución amplia para bacterias del género *Rickettsia* presente en 6 ecorregiones y en 6 especies de garrapatas de los tres géneros, desde Atacama (17°35“S) hasta Patagonia (64°36“S). Mientras que, para *Ehrlichia* esta se detectó en 3 especies de garrapatas pertenecientes a ecorregiones de la zona sur (Maule, Bosque Valdiviano y Patagonia central), finalmente para el género *Borrelia* solo se presentó en una ecorregión de la zona norte (Coquimbo, 30°67“S). Además, es importante destacar que, en esta investigación, se estudió la presencia de bacterias en una amplia diversidad de especies de garrapatas duras en Chile, equivalente a un 69,2% del total de especies existentes en Chile (Guglielmone et al., 2021).

En relación, a la ocurrencia de bacterias, se logró amplificar molecularmente ADN de los géneros *Borrelia*, *Ehrlichia* y *Rickettsia*, en garrapatas proveniente de 6 de las 7 ecorregiones muestreadas en el estudio, solo en la ecorregión Santiago no se evidenciaron resultados positivos para algún género. La ocurrencia de las distintas bacterias difirió (*Borrelia*: 0,34%, *Ehrlichia*: 0,85% y *Rickettsia*: 17,54%), sin embargo, este resultado puede estar asociado a la ausencia de especies de garrapatas competentes en la transmisión de estas. Por ejemplo, en el caso de *Borrelia,* su presencia se asocia a la presencia de garrapatas del género *Ixodes,* a nivel mundial las especies de garrapatas descritas como vectores competentes para *Borrelia* se distribuyen en gran parte del hemisferio norte (Neártico y Paleártico) y están estrechamente relacionadas con *Ixodes scapularis* (Ej. *I. pacificus, I. ricinus, I. persulcatus*) (Margos et al., 2023), todas

especies ausentes en la región Neotropical. Para el caso de *Rickettsia*, su presencia está relacionado con la presencia de garrapatas del género *Amblyomma*, que a pesar de la amplía distribución en la región Neotropical (con 67 especies), en nuestro país solo se describen tres especies de *Amblyomma* y en ellas se han descrito solo dos rickettsias (*R. felis* y *Ca.* Rickettsia andaenae) (Abarca et al., 2013). Mientras que, para *Ehrlichia* es importante la presencia de garrapatas como *Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis* y *Dermacentor variabilis*, en Chile se ha descrito la presencia del vector *R. sanguineus* variante tropical y los hallazgos de *E. canis* en la zona norte del país (Abarca et al., 2013) y *Ehrlichia* sp. en órganos de pingüinos y la garrapata *Ixodes uriae* (Muñoz-Leal et al 2019b).

Además de que pueden estar ausentes las garrapatas competentes para portar las bacterias analizadas, otra de las explicaciones para los bajos porcentajes de muestras positivas para algunos géneros puede ser debido al tiempo y condiciones de almacenamiento de las muestras, las cuales algunas al momento del análisis molecular tenían entre 6 y 8 años de almacenamiento (16,3% de las muestras analizadas). El prolongado almacenamiento en condiciones de conservación que no son las óptimas, conduce a la degradación del ADN, incidiendo directamente en la cantidad y calidad de los ácidos nucleicos obtenidos (Jewell et al., 2002).

A nivel de Sudamérica, en estudios que detectan la prevalencia de algunas de estas bacterias es variable, dependiendo de muchas variables como la técnica de extracción de ADN empleado, los genes o primers utilizados, los tamaños muestrales, las especies de garrapatas analizadas entre otros. Por ejemplo, un estudio realizado por Cotes-Perdomo et al. (2020), analizó la presencia de *Borrelia* cinco especies de garrapatas duras (*A. mixtum, A. dissimile, D. nitens, R. sanguineus* y *R. microplus*) reportando una prevalencia del 0% para *Borrelia,* valor que podría explicarse debido a que estos autores no analizaron garrapatas del género *Ixodes*. Mientras que, en Chile el único antecedente sobre patógenos en garrapatas duras fue efectuado por Muñoz-Leal et al. (2019a), donde se analizaron en forma individual y en pools un total de 138 garrapatas duras de las siguientes cinco especies: *I. auritulus I. neuquenensis*, *I. sigelos*, *I. taglei* e *I. uriae*, logrando evidenciar haplotipos para *Borrelia* en *Ixodes cf auritulus* de Isla Navarino con

un porcentaje del 20%, en *Ixodes cf. sigelos* obtenidos de Parque Nacional Fray Jorge e Isla Mocha con una positividad del 8,7% y 16%, respectivamente, las diferencias en la ocurrencia de bacterias del género *Borrelia* con nuestro estudio puede atribuirse, a la diferencia en la proporción de muestras tomadas de roedores siendo en el estudio de Muñoz-Leal et al. (2019a), del 70,8% y en nuestro caso solo un 7%.

Al analizar los valores de ocurrencia por cada género de microorganismo analizado en nuestro estudio, para el caso de Anaplasmataceae, se detectó ADN de *Ehrlichia* en garrapatas del género *Ixodes* que parasitan aves como (*I. auritulus*), pingüinos (*I. uriae*), como cérvidos (*I. taglei*) (Tabla 11). En nuestro estudio solo fue posible secuenciar la muestra obtenida de *I. uriae*, lo cual equivale la primera detección de ADN de *Ehrlichia* sp. en el continente antártico, y al segundo hallazgo encontrado en la garrapata *I. uriae* en Chile, la cual estuvo relacionada filogenéticamente con una *Ehrlichia* spp. obtenida de *I. uriae* de Chile (MK049840.1) (Muñoz-Leal et al. 2019b). Considerando que todas las etapas de desarrollo de *I. auritulus* e *I. uriae* son garrapatas parásitas de aves, y que están relacionados filogenéticamente y comparten perfiles eco-epidemiológicos, es razonable afirmar que estos genotipos de Anaplasmataceae puedan probablemente estar asociado con las aves, lo cual se puede apoyar en los antecedentes que reconocen a *Ixodes* spp. como vectores de *Ehrlichia* spp. en otros ecosistemas (Shibata et al., 2000; Bjöersdorff et al., 2001; Pritt et al., 2017). Lo anterior, sumado al presente hallazgo en *I. uriae* e *I. auritulus* refuerza la hipótesis de que las aves deben evaluarse como hospedadores competentes para las bacterias de este género. Otro antecedente que refuerza estos hallazgos, es el de Vanstreels et al. (2018), quien demostró una nueva especie *Candidatus* Anaplasma sphenisci que se asoció con inclusiones citoplasmáticas en los eritrocitos de un pingüino africano (*Spheniscus demersus*) en Sudáfrica. Por ende, el conocimiento de las rutas de migración de las aves y de la distribución espacial de las especies de garrapatas y los patógenos transmitidos por garrapatas es crucial para comprender el posible impacto de las aves como transmisores de garrapatas y patógenos transmitidos por garrapatas.

En el Cono Sur de América del Sur, la mayoría de las *Ehrlichia* spp. han sido detectadas en garrapatas se han encontrado en los géneros *Amblyomma* (Ciccutin et al., 2020,

Sebastian et al., 2022; Tarragona et al., 2022), *Rhipicephalus* (Ciccutin et al., 2015) y en *Ixodes* (Felix et al., 2021), lo cual tiene relación con distribución de hospedadores, siendo relevante la presencia de especies de garrapatas que parasiten cánidos domésticos y/o silvestres, tal como se demuestra para Chile (Di Cataldo et al., 2021). Pese a que el 41,3% (258 muestras) de las garrapatas analizadas en este estudio son parasitas de perros (género *Amblyomma* y *Rhipicephalus*) (Muñoz y Casanueva, 2002; Abarca et al., 2012; Abarca et al., 2016), no se logró encontrar muestras positivas. Estos bajos resultados para *Ehrlichia* también podrían tener relación con la ecorregión desde la cual se obtuvieron las muestras, puesto que el 70% (180/258) de estas garrapatas provenían de la zona centro-sur y solo un 30% de la zona norte (78/258), destacando que la única detección molecular del género *Ehrlichia* en Chile, ocurrió en un perro del extremo norte del país, específicamente en la ciudad de Arica (López et al., 2012), coincidiendo con la presencia del linaje tropical de *R. sanguineus* que es capaz de transmitir la especie *E. canis* (Diaz et al., 2018). En nuestro estudio, las 101 muestras de *R. sanguineus*, fueron obtenidas de 10 de las 33 localidades, pertenecientes a solo dos ecorregiones (Tabla 11), siendo el lugar más al norte Caldera (27ºS). En esta latitud debiera estar presente el linaje templado y no el tropical, que presenta como límite sur los 22°S en Chile (Díaz et al., 2018), aunque para países cercanos se ha reportado en latitudes más altas (Argentina, 23°S; Paraguay, 25°S; Brasil, 28°S). Entonces, en Chile central y sur solo existiría el linaje templado de *R. sanguineus* donde se ha detectado haplotipo del género *Anaplasma* (Diaz et al., 2018).

Dentro de los resultados positivos para la Familia Anaplasmataceae, además, se logró amplificar en una hembra *I. uriae,* obtenida en Antártica (Tabla 11), la bacteria endosimbionte *Ca* M. mitochondrii, equivalente al primer registro a nivel nacional y el segundo encontrado en *I. uriae* a nivel mundial (Buysse y Duron, 2018). Esta bacteria fue descrita por primera vez en las mitocondrias de la garrapata *Ixodes ricinus* (Lewis, 1979) como microorganismo like-rickettsia, para recién en 2006 confirmar su posición filogenética (Sassera et al., 2006) junto con otras bacterias endosimbionte similares a *Francisella,* detectadas también en garrapatas (Duron et al., 2017). Posteriormente, diversos estudios detectaron bacterias estrechamente relacionadas con *Ca* M. mitochondrii (Epis et al., 2008; Beninati et al., 2009) en múltiples especies de garrapatas,

incluyendo cada uno de los seis géneros descritos para la Familia Ixodidae (Loftis et al., 2006; Dergousoff et al., 2011; Cafiso et al., 2016), existiendo solo un reporte de esta bacteria en garrapatas blandas (*Ornithodoros maritimus*) (Cafiso et al., 2017).

La prevalencia de *Ca* M. mitochondrii en estadios adultos y la carga bacteriana en etapas inmaduras de garrapatas Ixodidae es muy variable (Sassera et al., 2008), por ejemplo, en hembras de *Ixodes ricinus* se han registrado prevalencias del 100% y en machos del 44% en análisis realizados en diferentes latitudes y con tamaños muestrales mayores a 100 ejemplares (Lo et al., 2006; Loftis et al., 2006; Sassera et al., 2008). En el presente estudio la amplificación fue solo obtenida en una garrapata hembra de un total de 143 muestras de estadio hembras analizadas (0,7%). La prevalencia en general de este endosimbionte fue baja, solo del 0,28%, lo cual tiene relación, a que los mayores valores de prevalencia citados en trabajos se asocian con la presencia de las especies de garrapata *Ixodes ricinus, Ixodes aucalodi o Ixodes holocyclus* (Lo et al., 2006;Beninati et al., 2009; Gofton et al., 2015b; Cafiso et al., 2016; Duron et al., 2017) ausentes en la región Neotropical (Guglielmone et al., 2021). A nivel regional destaca el hallazgo de endosimbiontes del género *Midichloria* en garrapatas pero del género *Amblyomma* (Venzal et al., 2008b, Arrais et al., 2021; Ciccutin et al., 2022), específicamente en las especies *A. triste*, *A. tigrinum* y *A. aureolatum,* respectivamente. El cómo esta bacteria endosimbionte puede haber ingresado a la garrapata de aves marinas *I. uriae*, es desconocido. Para comprender de mejor forma la llegada de estas bacterias a garrapatas marinas *I. uriae* de la Antártica, es necesario efectuar más estudios para verificar para comprender si es solo una bacteria endosimbionte o existe riesgo de encontrar dicha bacteria en un hospedero.

La ocurrencia más baja en este estudio se obtuvo para bacterias del género *Borrelia*, cuya detección tiene relación con la distribución de hospedadores y garrapatas del género *Ixodes* que impulsan el mantenimiento de bacterias del complejo Lyme en un ecosistema determinado (Hofmeester et al., 2017). En nuestro caso se obtuvo un 0,34%, de ocurrencia obtenidos para *Borrelia*, lo que nos permiten clasificarlos dentro de la categoría de “ausente”, si empleásemos los rangos del estudio de Estrada-Peña et al. (2018) para comunidades de garrapatas, donde se organizaron la distribución de frecuencias para

Europa, reportada para cada especie de *Borrelia* en ninfas, en quintiles como: “ausente” (<1%), “muy baja” (1–4%), “ bajo” (4–9%), “medio” (9–21%), “alto” (21–46%) y “muy alto” (>46%). La baja frecuencia de ADN de *Borrelia* encontrada se podría explicar porque se analizaron géneros de garrapatas donde se han registrado prevalencias de *Borrelia* bajas, como son *Amblyomma* o *Rhipicephalu*s. En el caso del primer género, solo se ha recuperado ADN de *Borrelia* de nueve especies del género *Amblyomma* a nivel mundial (Güner et al., 2004; Takano et al., 2010; Kalmár et al., 2015; Cicuttin et al., 2019), con valores de prevalencia promedios del 2,5% (Mixson et al., 2006). Específicamente en Sudamérica, en *Amblyomma longirostre* en Brasil, en *Amblyomma aureolatum* en Argentina (Cicuttin et al., 2019; Pacheco et al., 2019; Takano et al., 2011), como también en *Amblyomma sculptum* (Higa et al., 2020), y *Amblyomma brasiliense* en Brasil (Dos Santos et al., 2020), mientras que, para el género *Rhipicephalus*, se asocia con *Borrelia theileri* transmitida por garrapatas duras del subgénero *Boophilus* (Elelu, 2018), existiendo solo evidencia en Brasil (Rezende et al., 2008), especies de garrapatas ausentes en nuestro país.

En nuestro caso la detección para *Borrelia* fue solo en el género *Ixodes*, donde se analizaron 6 especies y 346 muestras de garrapatas, y solo se obtuvo respuesta positiva en la especie *I. abrocomae* obtenida de roedores desde la ecorregión Coquimbo, mientras que, no se logró amplificar haplotipos en otras especies del género *Ixodes* como (*I. auritulus*, *I. taglei*, *I. neuquenesis*, *I. sigelos* o *I. uriae)*, hallazgo que corresponde al primer reporte de bacterias del género *Borrelia* del grupo Lyme en *I. abrocomae* y la segunda vez que se detecta ADN de *Borrelia* en garrapatas obtenidas de ratón orejudo de Darwin (*Phyllotis darwini)*, destacando que en el primer estudio realizado por Muñoz-Leal et al. (2019a) no se logró dilucidar con que genoespecie estaba estrechamente asociada un haplotipo de *Borrelia* sp. en *Ixodes* sp., en Parque Nacional Bosques de Fray Jorge, inquietud que se pudo completar con este estudio, que demuestra estar muy relacionado filogenéticamente con *B. chilensis*. Antecedentes que sugieren que los genotipos LB de *Borrelia* asociados a roedores podrían constituir un grupo monofilético relacionado con *B. chilensis*.

En América la mayoría de los estudios se han centrado en el complejo de garrapatas *Ixodes ricinus* el más relevante para el hemisferio norte (Rudenko et al., 2011a), mientras

que, solo la genoespecie *Borrelia chilensis* (Ivanova et al., 2014) y varias variantes genéticas detectadas en *Ixodes* spp. se han comenzado a diagnosticar en Sudamérica desde el año 2013, siendo reconocida hasta la fecha, la presencia molecular de genoespecies de *Borrelia burgdorferi* s.l, además de Chile, en Argentina (Nava et al., 2014, Sebastian et al., 2016, Bottero et al., 2017, Flores et al., 2018, Cicuttin et al., 2019, Flores et al., 2020), Brasil (D'Agnoll et al., 2017; Muñoz-Leal et al., 2020; Weck et al., 2022), Colombia (Muñoz-Leal et al., 2020) y Uruguay (Barbieri et al., 2013, Carvalho et al., 2020).

Hasta la fecha, en Chile, se han reportado diferentes haplotipos del gen *flaB* pertenecientes al grupo Lyme, a saber, *Borrelia* sp. Navarino (MH178398), caracterizado a partir de *I. auritulus* recolectados en el ave *Troglodytes musculus*, y varios genotipos relacionados con *B. chilensis* a partir de garrapatas del grupo *I. sigelos* (Ivanova et al.2014; Muñoz-Leal et al., 2019a) o *I.stilesi* (Ivanova et al., 2014, Verdugo et al., 2017). Al contrastar con el estudio de Muñoz-Leal et al. (2019a), las diferencias en la ocurrencia de bacterias del género *Borrelia* con nuestro estudio puede atribuirse, que en el estudio de Muñoz-Leal et al. (2019a), el 70,8% (148) de las garrapatas analizadas fueron *Ixodes* obtenidas de roedores *(Phylottis* darwini, *Octodon degus* y *Abothrix longipilis*), mientras que, en nuestro caso solo un 7% muestras analizadas fueron obtenidas de roedores *(A. hitra, O. longicaudatus, P. darwini, Irenomys tarsalis).* Posteriormente, Thomas Sánchez et al. (2020), obtuvo evidencia de ADN de *Borrelia* en tres individuos de la Familia Cricetidae (*P. xanthopygus* y *O. longicaudatus*). Los análisis filogenéticos realizados mostraron que las secuencias se agruparon con genotipos homólogos, de los grupos de fiebre recurrente y borreliosis de Lyme (Thomas Sánchez et al. 2020). Considerando este escenario, Weck et al. (2022), evaluó la presencia de ADN de *Borrelia* en 12 especies de pequeños mamíferos (diez roedores y dos marsupiales) de Brasil, lográndose detectar ADN de *Borrelia* spp. pertenecientes a los grupos LB y RF en dos roedores cricétidos (*P. xanthopygus* y *O. longicaudatus*).

Se ha propuesto una hipótesis que apunta a que puede existir un grupo natural de borrelias que infectan a los roedores, lo cual ha sido evaluado mediante análisis filogenéticos de los haplotipos de *Borrelia* detectados en garrapatas asociadas a roedores (Sebastian et al., 2016), cricétidos (Rodentia: Cricetidae) y octodontidos (Rondentia:

Octodontidae), que pudiesen ser reservorios vertebrados naturales de estas borrelias (Ivanova et al., 2014, Sebastian et al., 2016; Muñoz-Leal et al., 2019c), lo cual también describe en su estudio (Wolcott et al., 2021), mencionando como reservorios competente para *Borrelia* a los roedores, además a las aves terrestres, erizo europeo, y una especie de reptil. Sumado a lo mencionado por Estrada-Peña et al. (2023), que describe que el 60% de las especies de garrapatas neotropicales en sus tres estadios (larva, ninfa o adulto) están asociadas al orden Rodentia, familia Cricetidae.

El valor más alto de ocurrencia, comparado con las otras bacterias analizadas, se obtuvo para el género *Rickettsia* en garrapatas de los géneros *Ixode*s, *Amblyomma*, y *Rhipicephalus,* siendo las especies positivas *I. uriae, I. auritulus, I. taglei, A. tigrinum, A. parvitarsum, y R. sanguineus* respectivamente. En la zona neotropical existen 219 informes publicados sobre *Rickettsia* en garrapatas con 599 registros, los cuales incluyen 31 especies de *Rickettsia* (incluidas varias especies de 'Candidatus' y aún sin nombre) registradas en 50 especies de Ixodidae (Estrada Peña et al. 2021), siendo el hallazgo de rickettsiales que es más frecuente en especies del género *Amblyomma* (Binetruy et al., 2020). En este estudio se detectó *Ca*. R. andaenae en dos especímenes de *R. sanguineus* s.s de la ecorregión Coquimbo y en *A. tigrinum*, tanto de ambiente rural como urbano en dos ecorregiones (Coquimbo y Maule) (Tabla 11). *Candidatus* R. andaenae, corresponde a un agente rickettsial que se limita a garrapatas del género *Amblyomma* y a zonas rurales, lo que concuerda con lo documentado en el presente estudio, donde las garrapatas fueron en obtenidas en el Parque Nacional Bosque de Fray Jorge, en la región de Coquimbo, además de Quilmo, localidad rural en la región de Ñuble, perteneciente a la ecorregión Maule. Antecedentes a nivel continental, destacan los hallazgos realizados en distintas localidades de Argentina en *A. tigrinum* que resultaron 100% idéntica a *Ca.* Rickettsia andaenae (Ciccutin et al., 2016; Eberhardt et al., 2019; De Salvo et al., 2021).

En relación al hallazgo en *R. sanguineus* s.s, corresponde al segundo reporte de bacterias del género *Rickettsia* en este complejo de especies de garrapatas en Chile, posterior al hallazgo de *R. felis* en la Región Metropolitana en Santiago, y en localidades urbanas y rurales de Arica (Abarca et al., 2013). Siendo el único antecedente previo a nivel mundial de *Ca*. R. andeanae en *R. sanguineus,* reportado por Flores-Mendoza et al., (2013), quienes detectaron esta bacteria en dos garrapatas obtenidas de perros en Perú, por

ende, los resultados de nuestro estudio representarían el segundo reporte a nivel mundial y el primero para Chile, mencionando que en el estudio de Flores-Mendoza et al., (2013), no se esclarece el linaje de *Rh. sanguineus*, sin embargo, basado en lo mencionado por Guglielmone et al., 2021, seria *Rh. sanguineus* s.l.

Ca. R. andeanae pertenece al grupo etiológico de las fiebres manchadas (Jiang et al., 2005) y fue descrita por primera vez en América del Sur en 2004 en *A. maculatum* e *I. boliviensis* en Perú (Jiang et al., 2005). Posteriormente, fue reportada en *A. parvum* y *A. pseudoconcolor* en Argentina (Pacheco et al., 2007; Tomasone et al., 2010; Monje et al., 2019) y en *A. parvum* de Brasil (Nieri-Bastos et al., 2014).

Aun cuando *Ca*. R. andeanae ha sido cultivada en líneas celulares de mamíferos su rol como patógeno en humanos y animales es aún desconocido. Sin embargo, es importante mencionar que varias especies de *Rickettsia* inicialmente consideras como apatógenas fueron documentadas posteriormente como virulentas en humanos (Luce – Fedrow et al., 2012). Por ello, toda especie de *Rickettsia* encontrada en un hospedero invertebrado debe considerarse *a priori* como potencialmente patógena, más aún si consideramos que los adultos de *A. tigrinum* son comunes parásitos de perros en ambientes rurales y periurbanos, además los humanos también son frecuentemente picados por esta especie de garrapata (Fantozzi et al., 2018b).

El presente trabajo es pionero en evaluar como las variables ambientales puedan explicar la distribución de las garrapatas duras a lo largo de Chile, evidenciando que las precipitaciones (precipitación en el trimestre más caluroso (Bio 18), seguido de la variable precipitación anual (mm) (Bio12) y precipitación en el período más seco (mm) (Bio14) fueron las más relevantes para explicar la distribución de las garrapatas duras en Chile. Es importante señalar que los efectos de los factores climáticos locales (principalmente la temperatura, las precipitaciones y el viento) son generalmente no lineales. En muchos estudios, las precipitaciones también han demostrado un efecto no lineal sobre los vectores, por ejemplo, se ha demostrado que un lapso de más de 28 días de precipitación hace que el número de garrapatas aumente significativamente (Yao et al., 2020), sin embargo, grandes cantidades y largos períodos de precipitación

pueden eliminar las garrapatas, sus huevos y sus larvas, reduciendo así la población (Ogden y Lindsay, 2016), nuestros resultados indican que tres variables relacionadas con precipitación estaban asociadas con la distribución de las garrapatas duras, lo cual coincide con el estudio de Bacon et al., 2022, quien encontró que la precipitación era el predictor más consistente de la abundancia de garrapatas cuando se controlaban las interrelaciones de las variables climáticas, y que el papel de la precipitación cambiaba según la región. Hahn et al. (2016) y Hacker et al. (2021), también señalan que la precipitación está asociada con la abundancia de garrapatas debido al impacto que tiene sobre la humedad, un factor que se ha demostrado que disminuye la probabilidad de desecación de la garrapata *Ixodes.*

El análisis de las variables medioambientales realizado en nuestro trabajo fue efectuado para cada genero por separado de garrapatas ixódidas, sin embargo, podrían existir diferencias en las preferencias ambientales de algún género en particular y que determinen una distribución más o menos restringida, dificultad asociada respecto a las dificultades de un muestreo no proporcional y la escasez de registros precisos con georreferencias en muestreos anteriores o publicaciones, lo cual obstaculiza la realización de análisis más precisos, lo cual queda demostrado al realizar el PCA, puesto que solo se pudo incluir un 75% (76/101) de los puntos recopilados. La incertidumbre posicional en los puntos de datos reduce la precisión de predicción del modelo (Naimi et al., 2014), pero los modelos se pueden construir utilizando bases de datos históricas y colecciones de historia natural con una certeza muy variable debido a cambios en los métodos de ubicación (Gilliam et al., 2020)., así como identificaciones erróneas, clasificaciones taxonómicas cambiantes y origen desconocido de los especímenes (Graham et al., 2004).

Se obtuvo que para el género *Ixodes*, las variables que se asocian a la distribución de estas garrapatas fueron: la latitud, longitud, Bio1 (Temperatura promedio anual (ºC), Bio2 (Rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC), Bio6 (Temperatura mínima del período más frio (ºC) y Bio15 (Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación), resultado para el género *Ixode*s, que coincide con los trabajos de Hancock et al., (2011), Clarke-Crespo et al. (2020); Janzén et al. (2023), quienes mencionan la importancia de la abundancia de garrapatas del género

asociado a variaciones de temperatura, en muchos casos estas variaciones tienen un efecto negativo débil y significativo sobre la presencia tanto de larvas como de ninfas. En la mayoría de estudios se emplea como modelo la especie *I. ricinus*, las cuales buscan activamente en temperaturas que oscilaban entre 3℃ y 27℃, siendo particularmente sensibles a las altas temperaturas (~30 ◦C) y a la pérdida de agua (Yoder et al., 2009a) y las temperaturas más altas se asocian con una mayor mortalidad, un menor éxito de la oviposición y una actividad de búsqueda de hospedador. Mientras que, para las garrapatas del género *Amblyomma* o *Rhipicephalus*, no existió asociación significativa con ninguna de las variables analizadas, para el primer género la variable más cercana a significancia estadística fue Bio5 y para el segundo género fue Land, lo cual no coincide con el estudio de Bermúdez et al. (2016), donde la variable con mayor contribución (mayor carga) a la distribución climática para *Amblyomma* fue Bio9 y para *R. sanguineus* s.l. la variable con mayor ganancia fue Bio5. Luego, al evaluar los factores ambientales asociados con la distribución cada género bacteriano analizado, no se observó asociación significativa para ninguno de ellos.

Es importante mencionar que nuestra capacidad para detectar asociaciones con variables climáticas es limitada porque medimos el clima a una escala amplia en lugar de a nivel de microhábitat. Es probable que las garrapatas estén más influenciadas por el microclima, como la humedad relativa en la hojarasca, que por el macroclima, como la humedad relativa en el área circundante total (Bertrand y Wilson 1996, Vail y Smith 1998, Lindsay et al., 1998, Berger et al. 2014; James et al., 2015). No controlamos la influencia del tipo de hábitat y es posible que este sea el principal impulsor de las diferencias en la abundancia de adultos entre regiones (Hahn et al., 2016, Gilliam et al., 2018, Soucy et al., 2018, Wojan et al., 2021). Las variaciones del microclima pueden aumentar o disminuir las tasas de supervivencia y desarrollo de las garrapatas e inducir cambios en el crecimiento de su población, comportamiento, susceptibilidad a agentes patógenos, período de incubación de patógenos, variaciones estacionales en los hábitos de picadura y capacidad de transmisión de patógenos (Gethmann et al., 2020; Semenza y Paz, 2021). Estos factores pueden afectar el rango de distribución, la dinámica de la población y la capacidad de transmisión de los vectores (Medlock y

Leach, 2015) y, por ende, la respuesta a la distribución y desarrollo de los patógenos (Sternberg y Thomas, 2014).

Ahora bien, si lo abordamos estos resultados del punto de vista de las condiciones bioclimáticas de distribución para cada género bacteriano, para *Rickettsia*, en nuestro caso no se obtuvo significancia estadística para ninguna variables, siendo la más cercana al valor de significancia estadística la Bio5 (Temperatura máxima del periodo más caliente (ºC), lo cual lo podemos contrastar con el estudio realizado por Zhang et al. (2022), donde se analizaron las 17 especies de SFGR, las cuales según los predictores ambientales y ecoclimáticos, para *Ca.* Rickettsia andaenae, la cual está relacionada filogenéticamente con el grupo III, las variables más importantes fueron una alta precipitación anual, un alto porcentaje de tierras de cultivo y una gran riqueza de mamíferos, vale la pena mencionar que el estudio de Zhang et al., (2022) consideró 708 publicaciones de hallazgo de Rickettsia en vectores, encontrándose 146 especies de garrapatas, de las cuales 8 reportes fueron de *Ca*. Rickettsia andaenae.

Al no existir más estudios que asocien la distribución de algún género bacteriano según condiciones ambientales, podemos considerar los estudios que analizan al vector que puede contener al microorganismo. Para el caso de *Rickettsia* específicamente al género *Amblyomma*, el cual tiene una baja resistencia a la desecación (Strey et al., 1996) y poca tolerancia a las variaciones de temperatura (Needham y Teel, 1991; Sanders et al., 2013). Su presencia está asociada con localidades cálidas y húmedas que varían en altura hasta los 1.000 m sobre el nivel del mar y con una alta productividad del ecosistema según estudios realizados en el Hemisferio Norte (Goddard, 1983; Estrada-Peña et al., 2014). En nuestro estudio fue posible detectar *Rickettsia* en la especie *A. tigrinum*, que según el estudio de Cuervo et al. (2021) ocupa nichos con mayor isotermalidad, tolera condiciones más secas durante el mes más seco y una estacionalidad de precipitación más amplia, coincidente con los patrones de temperaturas isotérmicos y sequedad del norte, como con la abundancia de precipitaciones de la zona sur, lo cual hace más probable encontrar dicha garrapata en ambos zonas geográficas. Además se evidenció *Rickettsia* en especies del género *Rhipicephalus*, que en las Américas tiene especies que se han adaptado bien a los ecosistemas tropicales y templados (Labruna et al., 2017). Un estudio de Zemtsova et al. (2016), logró demostrar la distribución de cada clado de *R. sanguineus*

s.l. y su correlación con la temperatura media anual cerca de la superficie, demostrando que las especies del linaje tropical se encuentran en áreas con temperatura media anual entre 20 y 30°C, mientras que, las muestras pertenecientes al linaje templado se encuentran en áreas con temperatura media anual que varía entre 10 y 20°C (Zemtsova et al., 2016), en nuestro caso, las muestras positivas a patógeno fueron obtenidas desde muestras de linaje templado de localidades como Hanga Roa, en Chile insular, localidad de bioclima tropical, donde las temperaturas medias mensuales nunca bajan de 18ºC (Luebert y Pliscoff, 2012).

Para el caso de *Borrelia*, es relevante la distribución de garrapatas del género *Ixode*s, son consistentes las asociaciones de estas garrapatas a ecosistemas con un porcentaje relativamente alto de vegetación que cubre el suelo, ya que han demostrado ser sensibles a temperaturas extremas y condiciones secas (Clarke-Crespo et al., 2020). Se ha demostrado que la vegetación genera condiciones microambientales que evitan que la temperatura descienda por debajo de los 0ºC, incluso durante los períodos invernales intensamente fríos de los ambientes boscosos, donde estas garrapatas se encuentran regularmente. Además, se ha demostrado que los miembros del género *Ixodes* son particularmente sensibles a las altas temperaturas (~30ºC) y la pérdida de agua (Yoder et al., 2009b), con temperaturas más altas asociadas con una mayor mortalidad, menor éxito de oviposición y actividad de búsqueda de hospedadores. La mayoría de los modelos de distribución de *Borrelia*, se basan en la distribución de las especies consideradas vectores competentes de *B. burgdorferi,* tal como lo demuestra el estudio de Zajac et al., 2021, quien menciona que la temperatura es un factor crítico que induce la actividad de las garrapatas en primavera (Randolph, 2004), mientras que, el nivel de humedad (aprox. 70%) tiene un impacto considerable en la actividad de *I. ricinus* durante el día/estación (Kiewra y Sobczyński, 2006). En nuestro estudio las muestras positivas para *Borrelia* fueron detectadas en la ecorregión de Coquimbo, una ecorregión de transición, ya que se encuentra entre las zonas desérticas y templada mediterránea, siendo su mayor característica la abundante nubosidad, temperaturas moderadas, con un promedio de precipitaciones de 130 mm anuales con un período seco de ocho a nueve meses, con una humedad relativa del 74%.

Finalmente, para el caso de *Ehrlichia*, no existen estudios que aborden como las variables ambientales afectan directamente la distribución de este género, solo es posible asociar su presencia en regiones donde solo se encuentre el linaje tropical de *Rh sanguineus*, que según estudios como el de (Clarke-Crespo et al., 2020; Pascoe et al., 2022), describen que la idoneidad de distribución de este vector es óptima donde las temperaturas son relativamente cálidas y estables y hay precipitaciones mínimas, y que el tipo de suelo, vegetación y precipitación anual también estaban fuertemente asociados con la distribución de esta especie, en nuestro caso no se evidenció alguna asociación con alguna variable de temperatura o precipitación, siendo la más cercana al nivel de significacia el tipo de suelo, lo que coincide con lo descrito por (Pascoe et al., 2022), mencionando que se describe la presencia de *Ehrlichia* en lugares donde abunda el linaje templado de *R. sanguineus*, para lo cual Cicuttin et al. (2017b) propone tres hipótesis para explicar esto: o los perros fueron traídos de una zona donde está presente el linaje tropical; el linaje templado tiene algún grado de competencia para *E. canis*; o algún *R. sanguineus* s.l. emigró del Norte sin establecerse más en la zona.

Las diferencias en los indicadores ambientales entre los estudios pueden reflejar diferencias biológicas reales para las garrapatas o sus organismos hospedadores, pero también pueden surgir por una serie de otras razones, incluidas las diferencias en la metodología de selección de variables y la resolución espacial utilizada en los estudios (Elith & Graham , 2009; Farashi & Alizadeh-Noughani, 2018). La mayor parte de los estudios de especies ixodidos utilizan herramientas similares a las utilizadas en este trabajo, como las variables provenientes de WorldClim, como análisis de PCA, en el proceso de selección de estas y el apoyo de otras herramientas para generar los mapas de distribución potencial de especies (Estrada-Peña *et al.,* 2010; Sonenshine y Roe, 2013; Donaldson *et al.,* 2016; Sage *et al.,* 2017). Según un estudio recopilatorio (Kopsco et al., 2022), donde se analizaron 107 artículos revisados por pares que cumplieron con los criterios de inclusión, refleja que las distribuciones de especies de garrapatas se han modelado predominantemente en América del Norte o Europa y han modelado principalmente la idoneidad del hábitat para la especie *Ixodes ricinus* (n = 23; 21,5%).

A pesar que la distribución biogeográfica de especies de garrapatas duras en Chile, es mayor en la zona sur, el hallazgo de patógenos no fue mayor en las ecorregiones de la

zona sur, lo cual puede explicarse, como lo menciona Lippi et al. (2021), porque los patrones de temperatura y precipitación a gran escala no son necesariamente los principales impulsores de la presencia de garrapatas en el ambiente, lo cual entra en conflicto con muchos de los estudios (Illoidi-Rangel et al., 2012, Kessler et al., 2019a, Kessler et al., 2019b, Raghavan et al., 2019), incluido el nuestro que dependen en gran medida de capas de datos climáticos a largo plazo, como variables bioclimáticas, como los principales predictores de la idoneidad de las garrapatas. Además, con la excepción de los indicadores de estacionalidad, los principales predictores climáticos y de cobertura terrestre en la literatura varían mucho según las especies y la extensión geográfica. Dada la estrecha asociación entre las garrapatas y sus hospedadores vertebrados, esto puede indicar que no es el nicho del vector lo que se está modelando, sino el nicho de los organismos hospedadores que sustentan las poblaciones de garrapatas, sin embargo, los datos sobre la densidad de hospederos no se incluyen en la mayoría de estos trabajos, probablemente debido a la dificultad de obtener conjuntos de datos georreferenciados, de tipo cuantitativos y coincidentes sobre las densidades de población de la vida silvestre.

El conocimiento sobre la diversidad de garrapatas ixódidas y las características ecológicas que determinan su distribución en Chile está lejos de completarse. Las mejoras técnicas en el modelado de nichos ecológicos y la generación de bases de datos de calidad pueden ayudar a los procesos de toma de decisiones para evitar la aparición de brotes infecciosos que amenazan el bienestar humano y la salud animal. Reconociendo varias limitaciones de este análisis bioclimático lo que también presentan oportunidades para estudios e investigaciones adicionales. Los estudios futuros deberían medir la importancia relativa del microclima y el macroclima en la abundancia de garrapatas, controlando el tipo de hábitat

8. CONCLUSIONES

- Se logró detectar 9 especies de garrapatas y ADN de bacterias del género *Borrelia, Ehrlichia* y *Rickettsia* en 7 especies de garrapatas Ixodidae procedentes de 7 ecorregiones de Chile, además del endosimbionte *Candidatus* Midichloria mitochondrii.

- Se determinó presencia de ADN de *Borrelia chilensis* en *Ixodes abrocomae*, de *Ehrlichia* sp. y *Candidatus* Midichloria mitochondrii en *Ixodes uriae*, y *Candidatus* Rickettsia andaenae en Chile insular en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus s.s* y en Chile continental en *Amblyomma tigrinum.*

- Existió una mayor proporción de garrapatas positivas para ADN de bacterias en las ecorregiones de Puna, Coquimbo y Maule, siendo esta diferencia estadísticamente significativa por ecorregión, además de existir asociación entre la presencia de *Ehrlichia* y *Rickettsi*a y las ecorregiones.

- Se evidenció un coeficiente de correlación positiva baja entre la riqueza de especies de garrapatas y el gradiente latitudinal, en las localidades muestreadas, sin ser estadísticamente significativa.

- Las variables que explicaron de mejor manera la distribución de ixódidos en Chile fueron la temperatura promedio anual, temperatura máxima del periodo más caliente, temperatura mínima del periodo más frio y la precipitación anual. Se evidenció que la distribución del género *Ixodes*, podría explicarse por las variables ambientales temperatura promedio anual, rango medio diurno (temp máx. – temp min; promedio mensual) (ºC), temperatura mínima del periodo más frio y estacionalidad de la precipitación.

- El presente trabajo es un estudio exploratorio sobre garrapatas duras y sus patógenos en Chile. Por lo mismo, se recomienda realizar nuevas investigaciones que permitan conocer de mejor manera factores bioclimáticos y de hospederos que permitan comprender de mejor manera los ciclos biológicos de estos parásitos y sus respectivos vectores.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABARCA, K., GÁRATE, D., LÓPEZ, J., & ACOSTA-JAMETT, G. (2016). Flea and ticks species from dogs in urban and rural areas in four districts in Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, *48*(2), 247-253.
2. ABARCA, K., J. LOPEZ, G. ACOSTA-JAMETT, P. LEPE, J. SOARES y M. LABRUNA. (2012). A third *Amblyomma* species and the first tick-borne Rickettsia in Chile. J. Med. Entomol. 49:219-222
3. ABARCA, K., LÓPEZ, J., ACOSTA-JAMETT, G., y MARTINEZ-VALDEBENITO, C. (2013a). Identificación de *Rickettsia andeanae* en dos regiones de Chile. Revista chilena de infectología, 30(4), 388-394.
4. ABARCA, K., LÓPEZ, J., ACOSTA-JAMETT, G., y MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C. (2013b). *Rickettsia felis* in *Rhipicephalus sanguineus* from two distant Chilean cities. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 13(8), 607-609.
5. ABARCA, K., LÓPEZ, J., PERRET, C., GUERRERO, J., GODOY, P., VELOZ, A., ... y AZÓCAR, T. (2007). Anaplasma platys in dogs,Chile. *Emerging infectious diseases*, *13*(9), 1392.
6. ABARCA, K., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., ANGULO, J., JIANG, J., FARRIS, C. M., RICHARDS, A. L., ... & WEITZEL, T. (2020). Molecular description of a novel Orientia species causing scrub typhus in Chile. *Emerging infectious diseases*, *26*(9), 2148.
7. ABARCA V, K., RIVERA M, M., PRADO DONOSO, P., LOBOS T, T., PALACIOS F, M. O., FERRÉS G, M., ... & VIAL CLARO, P. (1996). Neuroborreliosis en Chile: caso pediátrico de probable adquisición por mascotas importadas. *Rev. méd. Chile*, 975-9.
8. ABARCA, K., WEITZEL, T., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., & ACOSTA-JAMETT, G. (2018). Tifus de los matorrales, una enfermedad emergente en Chile. *Revista chilena de infectología*, *35*(6), 696-699.
9. ABDAD, M.Y.; ABOU ABDALLAH, R.; FOURNIER, P.E.; STENOS, J.; VASOO, S. A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of

Rickettsioses: *Rickettsia* and *Orientia* spp. *J. Clin. Microbiol.* 2018, *56*, e01728-17.

10. ACOSTA-JAMETT, G., WEITZEL, T., LÓPEZ, J., ALVARADO, D., & ABARCA, K. (2020). Prevalence and risk factors of antibodies to Anaplasma spp. in Chile: a household-based cross-sectional study in healthy adults and domestic dogs. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *20*(8), 572-579.
11. ADEOLU, M., y GUPTA, R. S. (2014). A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus Borrelia into two genera: the emended genus Borrelia containing only the members of therelapsing fever Borrelia, and the genus Borreliella gen. nov. containing the members of the Lyme disease Borrelia (Borrelia burgdorferi sensu lato complex). *Antonie Van Leeuwenhoek*, *105*(6), 1049-1072.
12. AGÜERO-ROSENFELD ME, WANG G, SCHWARTZ I, WORMSER GP. (2005). Diagnosis of Lyme Borreliosis. Clin Microbiol Rev. 18(3):484-509.
13. ALABÍ, A. S., MONTI, G., OTTH, C., SEPULVEDA-GARCÍA, P., PERLES, L., MACHADO, R. Z., ... & MÜLLER, A. (2021). Genetic diversity of Hepatozoon spp. in rodents from Chile. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *30*.
14. ALABÍ, A. S., MONTI, G., OTTH, C., SEPULVEDA-GARCÍA, P., SÁNCHEZ-HIDALGO, M., DE MELLO, V. V. C., ... & MÜLLER, A. (2020). Molecular survey and genetic diversity of hemoplasmas in rodents from Chile. *Microorganisms*, *8*(10), 1493
15. ALCAÍNO, H. (1985). Antecedentes sobre la garrapata café del perro (Rhipicephalus sanguineus). *Monog Med Vet*, *7*, 48-55
16. ALCAINO, H., y GORMAN, T. (1999). Parásitos de los animales domésticos en Chile. *Parasitología al día*, *23*(1-2), 33-41.
17. ALCAÍNO, H., GORMAN, T., y J I M É N E Z , F. (1990). Ecología del Rhipicephalus sanguineus (Ixodidae) en la región Metropolitana de Chile. *Arch Med Vet*, *22*(2), 159-68.
18. ALTAMIRANO, T. A., IBARRA, J. T., NOVOA, F., VERMEHREN, A., MARTIN, K., & BONACIC, C. (2017). Registro de utilización de cavidades de árboles como refugios por un murciélago de bosque (Histiotus magellanicus) en ecosistemas templados andinos del sur de Chile. *Bosque*

(Valdivia), *38*(2), 421-425.

19. Allison PD. (1999) Multiple Regression: A Primer (Research Methods and Statistics). Thousand Oaks, California, USA: Pine Forge Press. ISBN-13: 978-0761985334.
20. ALLSOPP, M. T. E. P., HATTINGH, C. M., VOGEL, S. W., & ALLSOPP, B. A. (1999). Evaluation of 16S, map1 and pCS20 probes for detection of Cowdria and Ehrlichia species. *Epidemiology & Infection*, *122*(2), 323-328.
21. ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W., y LIPMAN, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, *215*(3), 403-410.
22. AMARANTE, C.F. DO, TASSINARI, W. DE S., LUQUE, J.L., PEREIRA, M.J.S., 2016. Parasite abundance and its determinants in fishes from Brazil: an eco-epidemiological approach. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. 25, 196–201.
23. ANDA P, SÁNCHEZ-YEBRA W, DEL MAR VITUITIA M, PÉREZ E, RODRÍGUEZ I, MILLER NS, ET AL. (1996). A new *Borrelia* species isolated from patients with relapsing fever in Spain. Lancet 3348:62-5.
24. ANDERSON JF (1988) Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi*. Ann N Y Acad Sci 539:180-191.
25. ANDERSSON, J. O., & ANDERSSON, S. G. (1999). Insights into the evolutionary process of genome degradation. *Current opinion in genetics & development*, *9*(6), 664-671.
26. ANDERSON JF, MAGNARELLI LA. (2008). Biology of ticks. Infect Dis Clin North Am; 22:195-215.
27. ANDERSSON, S. G., ZOMORODIPOUR, A., ANDERSSON, J. O., SICHERITZ-PONTÉN, T., ALSMARK, U. C. M., PODOWSKI, R. M., ... & KURLAND, C. G. (1998). The genome sequence of Rickettsia prowazekii and the origin of mitochondria. *Nature*, *396*(6707), 133-140
28. ANDOH, M., SAKATA, A., TAKANO, A., KAWABATA, H., FUJITA, H., UNE, Y., ... & ANDO, S. (2015). Detection of Rickettsia and Ehrlichia spp. in ticks associated with exotic reptiles and amphibians imported into Japan. *PLoS One*, *10*(7), e0133700.

29. ANGELAKIS, E., MEDIANNIKOV, O., PAROLA, P., & RAOULT, D. (2016). Rickettsia felis: the complex journey of an emergent human pathogen. *Trends in Parasitology*, *32*(7), 554-564.
30. APANASKEVICH, D. A., APANASKEVICH, M. A., KLIMOV, P. B., EDGY, B. M., BERMDEZ, S. E., LABRUNA, M. B., ... & BARKER, S. C. (2022). Description of eight new species of Ixodes Latreille, 1795 (Acari: Ixodidae) and redescription of I. auritulus Neumann, 1904, parasites of birds in the Australasian, Nearctic and Neotropical Regions. *Zootaxa*, *5173*(1), 1-73.
31. APODACA, M. J., KATINAS, L., & GUERRERO, E. L. (2019). Hidden areas of endemism: Small units in the south-eastern Neotropics. *Systematics and Biodiversity*, *17*(5), 425-438
32. ARANA-MAESTRE, J., ÁLVAREZ-TOLENTINO, D., MIRANDA, R., TOBES, I., ARAUJO-FLORES, J., CARRASCO-BADAJOZ, C., & RAYME-CHALCO, C. (2021). Distribución altitudinal de macroinvertebrados acuáticos y su relación con las variables ambientales en un sistema fluvial amazónico (Perú). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, *45*(177), 1097-1112.
33. ARMESTO J.J., ROZZI R., SMITH- RAMIREZ C. AND ARROYO M.T.K. (1998). Conservation targets in South American temperate forests. Science 282: 1271–1272.
34. ARRAIS, R. C., PAULA, R. C., MARTINS, T. F., NIERI-BASTOS, F. A., MARCILI, A., & LABRUNA, M. B. (2021). Survey of ticks and tick-borne agents in maned wolves (Chrysocyon brachyurus) from a natural landscape in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*(2), 101639.
35. ARRAGA-ALVARADO, C. M., QUROLLO, B. A., PARRA, O. C., BERRUETA, M. A., HEGARTY, B. C., & BREITSCHWERDT, E. B. (2014). Case report: molecular evidence of Anaplasma platys infection in two women from Venezuela. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *91*(6), 1161.
36. ARTHUR D.R, (1960). A review of some ticks (Acarina: Ixodidae) of sea birds. Part II. The taxonomic problem associated with the Ixodes auritulus – percavatus group of species. Parasitology 50: 199–226.

37. ASH A, ELLIOT A, GODFREY A, BURMEJ H, YAZID ABDAD M, NORTHOVER A, WAYNE A, MORRIS K, CLODE P, LYMBERY A, THOMPSON RCA. (2017). Morphological and molecular description of *Ixodes woyliei* n. sp. (Ixodidae) with consideration for co-extinction with its critically endangered marsupial host. Parasites and Vectors 10: 70.

38. ASTORGA, F., ESCOBAR, L. E., POO-MUÑOZ, D. A., & MEDINA-VOGEL, G. (2015). Dog ownership, abundance and potential for bat-borne rabies spillover in Chile. *Preventive Veterinary Medicine*, *118*(4), 397-405.

39. ATALIBA, A. C., RESENDE, J. S., YOSHINARI, N., y LABRUNA, M. B. (2007). Isolation and molecular characterization of a Brazilian strain of Borrelia anserina, the agent of fowl spirochaetosis. Research in veterinary science, 83(2), 145-149.

40. BACON, E. A., KOPSCO, H., GRONEMEYER, P., MATEUS-PINILLA, N., & SMITH, R. L. (2022). Effects of climate on the variation in abundance of three tick species in Illinois. *Journal of medical entomology*, *59*(2), 700-709.

41. BARAHONA J, LOBOS T, COURT J, PFENNIGER A. (1989) Enfermedad de Lyme en Chile. Rev Méd Chile 1989; 117: 946-7.

42. BARANTON, G., POSTIC, D., SAINT GIRONS, I., BOERLIN, P., PIFFARETTI, J.C., ASSOUS, M., GRIMONT, P.A., (1992). Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. Int. J. Syst. Bacteriol. 42, 378–383.

43. BARBIERI, A. M., VENZAL, J. M., MARCILI, A., ALMEIDA, A. P., GONZÁLEZ, E. M., y LABRUNA, M. B. (2013). Borrelia burgdorferi sensu lato infecting ticks of the Ixodes ricinus complex in Uruguay: first report for the Southern Hemisphere. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 13(3), 147-153.

44. BARBOSA, A., BENZAL, J., VIDAL, V., D'AMICO, V., CORIA, N., DIAZ, J., ... y CHITIMIA, L. (2011). Seabird ticks (*Ixodes uriae*) distribution along the Antarctic Peninsula. *Polar Biology*, *34*(10), 1621-1624.

45. BARBOUR, A. G., ADEOLU, M., y GUPTA, R. S. (2017). Division of the genus Borrelia into two genera (corresponding to Lyme disease and relapsing fever groups) reflects their genetic and phenotypic distinctiveness and will lead to a better understanding of these two groups of microbes (Margos et

al.(2016) There is inadequate evidence to support the division of the genus Borrelia. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *67*(6), 2058-2067

46. BARBOUR, A. G., y COOK, V. J. (2018). Genotyping Strains of Lyme Disease Agents Directly From Ticks, Blood, or Tissue. In *Borrelia burgdorferi* (pp. 1-11). Humana Press, New York, NY.
47. BARBOUR, A. G., MAUPIN, G. O., TELTOW, G. J., CARTER, C. J., y PIESMAN, J. (1996). Identification of an uncultivable Borrelia species in the hard tick Amblyomma americanum: possible agent of a Lyme disease-like illness. *Journal of Infectious Diseases*, *173*(2), 403-409.
48. BARBOUR AG, HAYES SF, HEILAND SA, SCHRUMPF ME, TESSIER SL. (1986). A Borrelia-specific monoclonal antibody binds to a flagelar epitope. Infect Immun 52: 549-554.
49. BARKER, S.C. (1998) Distinguishing species and populations of rhipicephaline ticks with ITS 2 ribosomal RNA. J. Parasitol. 84:887–892.
50. BARKER, S. C., & BURGER, T. D. (2018). Two new genera of hard ticks, Robertsicus n. gen. and Archaeocroton n. gen., and the solution to the mystery of Hoogstraal's and Kaufman's "primitive" tick from the Carpathian Mountains. *Zootaxa*, *4500*(4), 543-552.
51. BARKER, R. W., A. A. KOCAN, S. A. EWING, R. P. WETTEMANN, y MARK E. PAYTON. (2004). Occurrence of the Gulf Coast Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild and Domestic Mammals in North-Central Oklahoma. J. Med. Entomol. 41: 170-178.
52. BARKER, S. C. & MURRELL, A. Phylogeny, evolution and historical zoogeography of ticks: a review of recent progress. *Exp. Appl. Acarol.* 28, 55–68 (2002).
53. BARROS-BATTESTI, D. M., RAMIREZ, D. G., LANDULFO, G. A., FACCINI, J. L. H., DANTAS-TORRES, F., LABRUNA, M. B., ... y ONOFRIO, V. C. (2013). Immature argasid ticks: diagnosis and keys for Neotropicalregion. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *22*(4), 443-456.
54. BAZZOCCHI, C., MARICONTI, M., SASSERA, D., RINALDI, L., MARTIN, E., CRINGOLI, G., ... & EPIS, S. (2013). Molecular and serological evidence for

the circulation of the tick symbiont Midichloria (Rickettsiales: Midichloriaceae) in different mammalian species. *Parasites & vectors*, *6*(1), 1-7.

55. BEATI, L. AND KEIRANS, J.E. (2001) Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. J. Parasitol. 87:32–48.
56. BEATI, L., KEIRANS, J.E., DURDEN, L.A., AND OPIANG, M.D. (2008) *Bothriocroton oudemansi* (Neumann, 1910), n. comb. (Acari: Ixodida: Ixodidae), an ectoparasite of the western long-beaked echidna in Papua New Guinea: redescription of the male and first description of the female and nymph. Syst. Parasitol. 69:185–200.
57. BEATI, L., & KLOMPEN, H. (2019). Phylogeography of ticks (Acari: Ixodida). *Annual review of entomology*, *64*, 379-397.
58. BENINATI, T., RIEGLER, M., VILCINS, I. M. E., SACCHI, L., MCFADYEN, R., KROCKENBERGER, M., ... & LO, N. (2009). Absence of the symbiont Candidatus Midichloria mitochondrii in the mitochondria of the tick Ixodes holocyclus. *FEMS microbiology letters*, *299*(2), 241-247.
59. BENELLI, G. (2020). Pathogens manipulating tick behavior—through a glass, darkly. *Pathogens*, *9*(8), 664.
60. BENOIT, J. B., YODER, J. A., LOPEZ-MARTINEZ, G., ELNITSKY, M. A., LEE JR, R. E., DENLINGER, D. L., (2007). Habitat requirements of the seabird tick, Ixodes uriae (Acari: Ixodidae), from the Antarctic Peninsula in relation to water balance characteristics of eggs, nonfed and engorgedstages. Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic and Environmental Physiology. Vol. 177: 205–215.
61. BERGER, K. A., H. S. GINSBERG, K. D. DUGAS, L. H. HAMEL, AND T. N. MATHER. 2014. Adverse moisture events predict seasonal abundance of Lyme di- sease vector ticks (*Ixodes scapularis*). Parasit. Vectors. 7: 1–8.
62. BERNER E, MONCADA X, ARIS HE, SAZUNIC I. (1989). Eritema crónico migrans y enfermedad de Lyme. Rev Méd Chile 117: 1271-4

63. BERTRAND, M. R., AND M. L. WILSON. 1996. Microclimate-dependent survival of unfed adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in nature: life cycle and study design implications. J. Med. Entomol. 33: 619–627.
64. BINETRUY, F., BUYSSE, M., LEJARRE, Q., BAROSI, R., VILLA, M., RAHOLA, N., ... & DURON, O. (2020). Microbial community structure reveals instability of nutritional symbiosis during the evolutionary radiation of Amblyomma ticks. *Molecular Ecology*, *29*(5), 1016-1029.
65. BITTNER, T., TEJ, P., BOUŠKA, P., & VOKÁČ, M. (2014). Degradation of laminated glass as result of increased temperature. In *Advanced Materials Research* (Vol. 923, pp. 209-212). Trans Tech Publications Ltd.
66. BJÖERSDORFF, A., BERGSTRÖM, S., MASSUNG, R. F., HAEMIG, P. D., & OLSEN, B. (2001). Ehrlichia-infected ticks on migrating birds. *Emerging Infectious Diseases*, *7*(5), 877.
67. BLACK, W.C., IV, KLOMPEN, J.S.H., AND KEIRANS, J.E. (1997) Phylogenetic relationships among tick sub- families (Ixodida: Ixodidae: Argasidae) based on the 18S nuclear rDNA gene. Mol. Phylogenet. Evol. 7:129–144.
68. BLACK, W.C., IV AND PIESMAN, J. (1994) Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91:10034–10038.
69. BLANC, G., OGATA, H., ROBERT, C., AUDIC, S., CLAVERIE, J. M., & RAOULT, D. (2007). Lateral gene transfer between obligate intracellular bacteria: evidence from the Rickettsia massiliae genome. *Genome Research*, *17*(11), 1657-1664.
70. BLANTON, L. S., & WALKER, D. H. (2016). The Rickettsiaceae, Anaplasmataceae, and Coxiellaceae. *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, 461-472.
71. BONNET, S. I., BINETRUY, F., HERNÁNDEZ-JARGUÍN, A. M., & DURON, O. (2017). The tick microbiome: why non-pathogenic microorganisms matter in tick biology and pathogen transmission. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *7*, 236.
72. BOTTERO, M. N. S., SEBASTIAN, P. S., CARVALHO, L. A., CLAPS, L. G.,

MASTROPAOLO, M., MANGOLD, A. J., ... y NAVA, S. (2017). Presence of Borrelia in different populations of Ixodes parariciNus from northwestern Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *8*(4), 488-493.

73. BOUCHARD, C., DIBERNARDO, A., KOFFI, J., WOOD, H., LEIGHTON, P. A., & LINDSAY, L. R. (2019). Climate change and infectious diseases: the challenges: N increased risk of tick-borne diseases with climate and environmental changes. *Canada Communicable Disease Report*, *45*(4), 83.
74. BRAYTON, K. A., KAPPMEYER, L. S., HERNDON, D. R., DARK, M. J., TIBBALS, D. L., PALMER, G. H., ... & KNOWLES JR, D. P. (2005). Complete genome sequencing of Anaplasma marginale reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(3), 844-849.
75. BRISSON, D., DRECKTRAH, D., EGGERS, C. H., y SAMUELS, D. S. (2012). Genetics of Borrelia burgdorferi. *Annual review of genetics*, *46*, 515-536.
76. BULLER, R. S., ARENS, M., HMIEL, S. P., PADDOCK, C. D., SUMNER, J. W., RIKIHISA, Y., ... & STORCH, G. A. (1999). Ehrlichia ewingii, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. *New England Journal of Medicine*, *341*(3), 148-155.
77. BUNIKIS, J., GARPMO, U., TSAO, J., BERGLUND, J., FISH, D., y BARBOUR, A. G. (2004). Sequence typing reveals extensive strain diversity of the Lyme borreliosis agents Borrelia burgdorferi in North America and Borrelia afzelii in Europe. *Microbiology*, *150*(6), 1741-1755.
78. BURCHARD L, CORNEJO J, CRUZ L, CONTRERAS MC, VARGAS L, VILLARROEL F, ET AL. Epidemiologia de la enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales. Infestacion triatomidea domiciliaria e infestacion por *Trypanosoma cruzi* del vector y de los mamiferos domesticos de la II Region (1983). Bol Chil Parasitol. 1984;39:17–9.
79. BURGDORFER W, BARBOUR AG, BENACH JL, DAVIS JP, GRUNWALDT E, HAYES SF. (1982). Lyme disease-A tick borne spirochetosis? Science 216: 1317-9.
80. BURGDORFER W, LANE RS, BARBOUR AG ET AL. (1985). The western

black-legged tick, *Ixodes* pacificus: a vector of *Borrelia burgdorferi*. Am J Trop Med Hyg 34: 925–930.

81. BUSBY, A. T., AYLLÓN, N., KOCAN, K. M., BLOUIN, E. F., DE LA FUENTE, G., GALINDO, R. C., ... & DE LA FUENTE, J. (2012). Expression of heat shock proteins and subolesin affects stress responses, Anaplasma phagocytophilum infection and questing behaviour in the tick, Ixodes scapularis. *Medical and Veterinary Entomology*, *26*(1), 92-102.
82. BUYSSE, M., & DURON, O. (2018). Multi-locus phylogenetics of the Midichloria endosymbionts reveals variable specificity of association with ticks. *Parasitology*, *145*(14), 1969-1978.
83. CABEZAS-CRUZ, A., ZWEYGARTH, E., VANCOVA, M., BRONISZEWSKA, M., GRUBHOFFER, L., PASSOS, L. M. F., ... & DE LA FUENTE, J. (2016). Ehrlichia minasensis sp. nov., isolated from the tick Rhipicephalus microplus. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *66*(3), 1426-1430.
84. CABELLO, J., ALTET, L., NAPOLITANO, C., SASTRE, N., HIDALGO, E., DÁVILA, J. A., & MILLÁN, J. (2013). Survey of infectious agents in the endangered Darwin's fox (Lycalopex fulvipes): high prevalence and diversity of hemotrophic mycoplasmas. *Veterinary microbiology*, *167*(3-4), 448-454.
85. CAFISO, A., BAZZOCCHI, C., DE MARCO, L., OPARA, M. N., SASSERA, D., & PLANTARD, O. (2016). Molecular screening for Midichloria in hard and soft ticks reveals variable prevalence levels and bacterial loads in different tick species. *Ticks and tick-borne diseases*, *7*(6), 1186-1192.
86. CAFISO, A., PLANTARD, O., SERRA, V., FLORIANO, A. M., BANDI, C., SASSERA, D., & BAZZOCCHI, C. (2017). Molecular screening for Midichloria in hard and soft ticks reveals different prevalences and horizontal transmission. In *International Symposium on Tick-Borne Pathogens and Disease* (pp. 114-114). Austrian Society for Hygiene, Microbiology and Preventive Medicine (OGHMP).
87. CAIMANO, M. J., IYER, R., EGGERS, C. H., GONZALEZ, C., MORTON, E. A., GILBERT, M. A., ... y RADOLF, J. D. (2007). Analysis of the RpoS regulon in *Borrelia burgdorferi* in response to mammalian host signals provides insight

into RpoS function during the enzootic cycle. *Molecular microbiology*, *65*(5), 1193-1217.

88. CAMINADE, C. (2021). eo4 How to Model the Impact of Climate Change on Vector-Borne Diseases?. *Climate, Ticks and Disease*, 26.
89. CAMINADE, C., MCINTYRE, K. M., & JONES, A. E. (2019). Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1436*(1), 157-173.
90. CANICA, M.M., NATO, F., DU MERLE, L., MAZIE, J.C., BARANTON, G., POSTIC, D. (1993). Monoclonal antibodies for identification of Borrelia afzelii sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Scand. J. Infect. Dis. 25, 441–448.
91. CÁRDENAS-JIRÓN, L. A., & MORALES-SALINAS, L. (2019). Urbanismo bioclimático en Chile: propuesta de biozonas para la planificación urbana y ambiental. *EURE (Santiago)*, *45*(136), 135-162.
92. CARVALHO, L. A., MAYA, L., ARMUA-FERNANDEZ, M. T., FÉLIX, M. L., BAZZANO, V., BARBIERI, A. M., ... & VENZAL, J. M. (2020). Borrelia burgdorferi sensu lato infecting Ixodes auritulus ticks in Uruguay. *Experimental and Applied Acarology*, *80*(1), 109-125.
93. CASANUEVA, M. E., y MOYANO, H. I. (2000). Ixodes uriae white 1852 (acari: ixodidae) asociado con el pinguino papua, *Pygoscelis papua* (forster), en la peninsula antartica. *Gayana (Concepción)*, *64*(2), 235-236.
94. CASJENS, S. R., FRASER-LIGGETT, C. M., MONGODIN, E. F., QIU, W. G., DUNN, J. J., LUFT, B. J., y SCHUTZER, S. E. (2011). Whole genome sequence of an unusual Borrelia burgdorferi sensu lato isolate. Journal of bacteriology, 193(6), 1489-1490.
95. CEA D'ANCONA, M. Á. (2002). Análisis multivariable: Teoría y práctica en la investigación social.
96. CEVIDANES, A., ULLOA-CONTRERAS, C., DI CATALDO, S., LATROFA, M. S., GONZALEZ-ACUÑA, D., OTRANTO, D., & MILLÁN, J. (2021). Marked host association and molecular evidence of limited transmission of ticks and fleas between sympatric wild foxes and rural dogs. *Medical and Veterinary Entomology*, *35*(3), 239-250.

97. CLARKE-CRESPO, E., MORENO-ARZATE, C. N., & LÓPEZ-GONZÁLEZ, C. A. (2020). Ecological niche models of four hard tick genera (Ixodidae) in Mexico. *Animals*, *10*(4), 649.
98. CHILDS, J. E., SUMNER, J. W., NICHOLSON, W. L., MASSUNG, R. F., STANDAERT, S. M., & PADDOCK, C. D. (1999). Outcome of diagnostic tests using samples from patients with culture-proven human monocytic ehrlichiosis: implications for surveillance. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(9), 2997-3000.
99. CHITIMIA DOBLER L, LANGGUTH J, PFEFFER M, KATTNER S, KÜPPER T, FRIESE D ET AL. (2017). Genetic analysis of Rhipicephalus sanguineus sensu lato ticks parasites of dogs in Africa north of the Sahara based on mitochondrial DNA sequences. Vet. Parasitol. 239: 1–6.
100. CHU, C.Y., LIU, W., JIANG, B.G., WANG, D.M., JIANG, W.J., ZHAO, Q.M., ZHANG, P.H., WANG, Z.X., TANG, G.P., YANG, H., CAO, W.C. (2008). Novel genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from rodents and ticks in Southwestern China. J. Clin. Microbiol. 46, 3130–3133.
101. CHUNG, M., MUNRO, J. B., TETTELIN, H., & DUNNING HOTOPP, J. C. (2018). Using core genome alignments to assign bacterial species. *MSystems*, *3*(6), e00236-18
102. CHUNG, I. H., ROBINSON, L. K., STEWART-JUBA, J. J., DASCH, G. A., & KATO, C. Y. (2022). Analytically sensitive Rickettsia species detection for laboratory diagnosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *106*(5), 1352.
103. CICUTTIN, G. L., DE SALVO, M. N., PÉREZ, P. D., SILVA, D., FÉLIX, M. L., VENZAL, J. M., & NAVA, S. (2020). A novel Ehrlichia strain (Rickettsiales: Anaplasmataceae) detected in Amblyomma triste (Acari: Ixodidae), a tick species of public health importance in the Southern Cone of America. *Pathogens and Global Health*, *114*(6), 318-322.
104. 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.

105. CICUTTIN, G. L., DE SALVO, M. N., SERNA, C., MACHADO, R., SILVA, D., GURY DOHMEN, F. E., & LENCINAS, O. (2016). " Candidatus Rickettsia andeanae" en Amblyomma tigrinum, San Luis, Argentina. *Revista FAVE. Sección Ciencias veterinarias*, *15*(1-2), 21-24.

106. CICUTTIN, G. L., DE SALVO, M. N., VENZAL, J. M., & NAVA, S. (2019). Borrelia spp. in ticks and birds from a protected urban area in Buenos Aires city, Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, *10*(6), 101282.

107. CICUTTIN, G. L., DE SALVO, M. N., VENZAL, J. M., & NAVA, S. (2022). Rickettsia spp., Ehrlichia sp. and Candidatus Midichloria sp. associated to ticks from a protected urban area in Buenos Aires City (Argentina). *Experimental and Applied Acarology*, *86*(2), 271-282.

108. CICUTTIN, G., & NAVA, S. (2013). Molecular identification of Rickettsia parkeri infecting Amblyomma triste ticks in an area of Argentina where cases of rickettsiosis were diagnosed. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *108*, 123-125.

109. CICUTTIN, G. L., TARRAGONA, E. L., DE SALVO, M. N., MANGOLD, A. J., & NAVA, S. (2015). Infection with Ehrlichia canis and Anaplasma platys (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, *6*(6), 724-729.

110. CLARK K., HENDRICKS A., BURGE D. (2005). Molecular Identification and Analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in lizards of Southeastern United States. Am. Soc. Microbiol., 71:2616-2625.

111. CLIFFORD, C.M., SONENSHINE, D.E., KEIRANS, J.E. y KOHLS, G.M. (1973). Systematics of the subfamily Ixodinae (Acarina: Ixodidae). 1. The subgenera of *Ixodes.* Ann. Entomol. Soc. Am., 66: 489-500.

112. COLLI-SILVA, M., VASCONCELOS, T. N., & PIRANI, J. R. (2019). Outstanding plant endemism levels strongly support the recognition of campo rupestre provinces in mountaintops of eastern South America. *Journal of Biogeography*, *46*(8), 1723-1733.

113. COLLINS, N. E., LIEBENBERG, J., DE VILLIERS, E. P., BRAYTON, K. A., LOUW, E., PRETORIUS, A., ... & ALLSOPP, B. A. (2005). The genome

of the heartwater agent Ehrlichia ruminantium contains multiple tandem repeats of actively variable copy number. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(3), 838-843.

114. COMSTEDT, P., JAKOBSSON, T., BERGSTRÖM, S., (2011). Global ecology and epidemiology of *Borrelia garinii* spirochetes. Infect. Ecol. Epidemiol. 1. https://doi.org/10.3402/iee.

115. COOLEY, R.A. y KOHLS, G.M. (1945). The genus *Ixodes* in North America. Nat. Inst. Health Bull., (184): 1-246

116. CORREA V, BRICENO J, ZUNIGA J, ARANDA JC, VALDES J, CONTRERAS MC, ET AL. (1982). Infección por *Trypanosoma cruzi* en animales domésticos de sectores rurales de la IV Región, Chile. Bol Chil Parasitol. 37:27–8.

117. COTES-PERDOMO, A. P., OVIEDO, Á., & 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.

118. CUERVO, P. F., FLORES, F. S., VENZAL, J. M., & NAVA, S. (2021). Niche divergence among closely related taxa provides insight on evolutionary patterns of ticks. *Journal of Biogeography*, *48*(11), 2865-2876.

119. CUTLER, S. J. (2010). Relapsing fever–a forgotten disease revealed. *Journal of applied microbiology*, *108*(4), 1115-1122.

120. CUTLER, S. J., RUZIC-SABLJIC, E., y POTKONJAK, A. (2017). Emerging borreliae–Expanding beyond Lyme borreliosis. *Molecular and cellular probes*, *31*, 22-27.

121. DALL'AGNOL, B., MICHEL, T., WECK, B., SOUZA, U. A., WEBSTER, A., LEAL, B. F., ... y FERREIRA, C. A. S. (2017). *Borrelia burgdorferi* sensulato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. *Ticks and tick-bornediseases*, *8*(6), 928-932.

122. DANIELS, T. J., FALCO, R. C., y FISH, D. (2000). Estimating population size and drag sampling efficiency for the blacklegged tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, *37*(3), 357-363.

123. DANTAS-TORRES, F., J. M. VENZAL, L. F.O. BERNARDI, R. L.

FERREIRA, V. C. ONOFRIO, A. MARCILI, S. E. BERMÚDEZ, A. F. RIBEIRO, D. M. BARROS-BATTESTI y M. B. LABRUNA. (2012). Description of a new species of bat-associated argasid tick (Acari: Argasidae) from Brazil. J. Parasitol. 98(1):36-45.

124. DARBY, A. C., CHO, N. H., FUXELIUS, H. H., WESTBERG, J., & ANDERSSON, S. G. (2007). Intracellular pathogens go extreme: genome evolution in the Rickettsiales. *TRENDS in Genetics*, *23*(10), 511-520.

125. DASZAK P, CUNNINGHAM AA, HYATT AD. (2001). Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. Acta Trópica 78: 103-16.

126. DATTWYLER RF, LUFT BL. (1989) Immunodiagnosis of Lyme Borreliosis. Rheum Dis Clin North Am 15: 727-734.

127. DAVIDSON BE, MACDOUGALL J, SAINT GIRONS I. (1992). Physical map of the linear chromosome of the bacterium *Borrelia burgdorferi* 212, a causative agent of Lyme disease, and localization of rRNA genes. J Bacteriol. 174(11):3766-74.

128. DERDÁKOVÁ M, D LENCÁKOVÁ. (2005). Association of genetic variability within the Borrelia burgdorferi sensu lato with the ecology, epidemiology of Lyme borreliosis in Europe. Ann Agric Environ Med 12, 165-172.

129. DERGOUSOFF, S. J., & CHILTON, N. B. (2011). Novel genotypes of Anaplasma bovis,“Candidatus Midichloria” sp. and Ignatzschineria sp. in the Rocky Mountain wood tick, Dermacentor andersoni. *Veterinary Microbiology*, *150*(1-2), 100-106.

130. DE SALVO, M. N., BIZZOTTO, C., PÉREZ, P. D., & CICUTTIN, G. L. (2021). Candidatus´ Rickettsia andeanae´ en Amblyomma tigrinum, La Rioja (Argentina). *Ab Intus*, (8), 8-13.

131. DI CATALDO, S., CEVIDANES, A., ULLOA-CONTRERAS, C., HIDALGO-HERMOSO, E., GARGANO, V., CABELLO, J., ... & MILLÁN, J. (2022). A serosurvey for spotted fever group Rickettsia and Coxiella burnetii antibodies in rural dogs and foxes, Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *83*, 101769.

132. DI CATALDO, S., CEVIDANES, A., ULLOA-CONTRERAS, C., HIDALGO-HERMOSO, E., GARGANO, V., SACRISTÁN, I., ... & MILLÁN, J. (2021). Mapping the distribution and risk factors of Anaplasmataceae in wild and domestic canines in Chile and their association with Rhipicephalus sanguineus species complex lineages. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*(5), 101752.

133. DI CATALDO, S., CEVIDANES, A., ULLOA-CONTRERAS, C., SACRISTÁN, I., PEÑALOZA-MADRID, D., VIANNA, J., ... & MILLÁN, J. (2021). Widespread infection with hemotropic mycoplasmas in free-ranging dogs and wild foxes across six bioclimatic regions of chile. *Microorganisms*, *9*(5), 919.

134. DÍAZ, F. E., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., LÓPEZ, J., WEITZEL, T., y ABARCA, K. (2018). Geographical distribution and phylogenetic analysis of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato in northern and central Chile. *Ticks and Tick-borne Diseases*.

135. DIOP, A., EL KARKOURI, K., RAOULT, D., & FOURNIER, P. E. (2020). Genome sequence-based criteria for demarcation and definition of species in the genus Rickettsia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *70*(3), 1738-1750.

136. DONALDSON, T. G., DE LEÓN, A. A. P., LI, A. I., CASTRO-ARELLANO, I., WOZNIAK, E., BOYLE, W. K., ... y LOPEZ, J. E. (2016). Assessment of the geographic distribution of *Ornithodoros turicata* (Argasidae): climate variation and host diversity. *PLoS Neglected Tropical Disesase 10*(2), e0004383.

137. DONOSO RB (1953) Ixodoidea de Chile. Rev Chilena Entomol 3:132–134

138. DOS SANTOS, C. A., SUZIN, A., VOGLIOTTI, A., NUNES, P. H., BARBIERI, A. R. M., LABRUNA, M. B., ... & YOKOSAWA, J. (2020). Molecular detection of a Borrelia sp. in nymphs of Amblyomma brasiliense ticks (Acari: Ixodidae) from Iguaçu National Park, Brazil, genetically related to Borrelia from Ethiopia and Côte d'Ivoire. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(6), 101519.

139. DOYLE, C. K., LABRUNA, M. B., BREITSCHWERDT, E. B., TANG, Y. W., CORSTVET, R. E., HEGARTY, B. C., ... & MCBRIDE, J. W. (2005). Detection of medically important Ehrlichia by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene. *The Journal of molecular diagnostics*, *7*(4), 504-510

140. DUMLER, J. S., BARBET, A. F., BEKKER, C. P., DASCH, G. A., PALMER, G. H., RAY, S. C., ... & RURANGIRWA, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, 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.

141. DUNAJ J, MONIUSZKO A, ZAJKOWSKA J ET AL. (2013). The role of PCR in diagnostics of Lyme borreliosis. Przegl Epidemiol 67:35–39

142. DUNN, E. H. y C. J. RALPH. (2004). Use of mist nets as a tool for bird population monitoring. Stud Avian Biol., 29:1-6.

143. DUNNING HOTOPP, J. C., LIN, M., MADUPU, R., CRABTREE, J., ANGIUOLI, S. V., EISEN, J., ... & TETTELIN, H. (2006). Comparative genomics of emerging human ehrlichiosis agents. *PLoS genetics*, *2*(2), e21.

144. DURON, O., BINETRUY, F., NOËL, V., CREMASCHI, J., MCCOY, K. D., ARNATHAU, C., ... & CHEVILLON, C. (2017). Evolutionary changes in symbiont community structure in ticks. *Molecular ecology*, *26*(11), 2905-2921.

145. DYKOVÁ, I., VEVERKOVÁ, M., FIALA, I., MACHACKOVA, B., & PECKOVÁ, H. (2003). Nuclearia pattersoni sp. n.(Filosea), a new species of amphizoic amoeba isolated from gills of roach (Rutilus rutilus), and its rickettsial endosymbiont. *Folia parasitologica*, *50*(3), 161-170.

146. EBERHARDT, A. T., FERNANDEZ, C., FARGNOLI, L., BELDOMENICO, P. M., & MONJE, L. D. (2020). A putative novel strain of Ehrlichia infecting Amblyomma tigrinum associated with Pampas fox

(Lycalopex gymnocercus) in Esteros del Iberá ecoregion, Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(2), 101318.

147. ECKER, D. J., MASSIRE, C., BLYN, L. B., HOFSTADLER, S. A., HANNIS, J. C., ESHOO, M. W., ... & SAMPATH, R. (2009). Molecular genotyping of microbes by multilocus PCR and mass spectrometry: a new tool for hospital infection control and public health surveillance. In *Molecular Epidemiology of Microorganisms* (pp. 71-87). Humana Press, Totowa, NJ.

148. ECHEVERRY, D., LLANOS-SOTO, S., PALMA, C., CASTILLO, L., CASANOVA, T., TRONCOSO, I., ... & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2021). Mycoplasmal infection in a guigna (Leopardus guigna) from central Chile. *Austral journal of veterinary sciences*, *53*(3), 169-172.

149. EL-BAHNSAWY MM, LABIB NA, ABDEL-FATTAH MA ET AL. (2012). Louse and tick borne relapsing fevers. J Egypt Soc Parasitol 42:625–638

150. ELELU, N. (2018). Tick-borne relapsing fever as a potential veterinary medical problem. *Veterinary Medicine and Science*, *4*(4), 271-279

151. ELITH J, GRAHAM CH. 2009. Do they? How do they? WHY do they differ? On finding reasons for differing performances of species distribution models. Ecography 32(1):66–77 DOI 10.1111/j.1600-0587.2008.05505.x.

152. EL KARKOURI, K., GHIGO, E., RAOULT, D., & FOURNIER, P. E. (2022). Genomic evolution and adaptation of arthropod-associated Rickettsia. *Scientific reports*, *12*(1), 1-15.

153. EL KARKOURI, K., PONTAROTTI, P., RAOULT, D., & FOURNIER, P. E. (2016). Origin and evolution of rickettsial plasmids. *PLoS One*, *11*(2), e0147492.

154. EPIS, S., SASSERA, D., BENINATI, T., LO, N., BEATI, L., PIESMAN, J., ... & BANDI, C. (2008). Midichloria mitochondrii is widespread in hard ticks (Ixodidae) and resides in the mitochondria of phylogenetically diverse species. *Parasitology*, *135*(4), 485-494

155. EREMEEVA, M. E., & DASCH, G. A. (2015). Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. *Frontiers in public health*, *3*, 55.

156. ESCUDERO-NIETO R, A GUERRERO-ESPEJO. (2005). Enfermedades producidas por Borrelia. Enferm Infecc Microbiol Clin 23, 232-240.

157. ESEMU, S. N., NDIP, L. M., & NDIP, R. N. (2011). Ehrlichia species, probable emerging human pathogens in sub-Saharan Africa: environmental exacerbation.

158. ESTRADA-PEÑA, A., BINDER, L. C., NAVA, S., SZABO, M. P., & LABRUNA, M. B. (2021). Exploring the ecological and evolutionary relationships between Rickettsia and hard ticks in the Neotropical region. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*(5), 101754.

159. ESTRADA-PEÑA, A., & CABEZAS-CRUZ, A. (2019). Phyloproteomic and functional analyses do not support a split in the genus Borrelia (phylum Spirochaetes). *BMC evolutionary biology*, *19*(1), 1-12.

160. ESTRADA-PEÑA, A., CUTLER, S., POTKONJAK, A., VASSIER-TUSSAUT, M., VAN BORTEL, W., ZELLER, H., ... & MIHALCA, A. D. (2018). An updated meta-analysis of the distribution and prevalence of Borrelia burgdorferi sl in ticks in Europe. *International journal of health geographics*, *17*(1), 1-16.

161. ESTRADA-PENA, A., D'AMICO, G., PALOMAR, A. M., DUPRAZ, M., FONVILLE, M., HEYLEN, D., ... & MIHALCA, A. D. (2017). A comparative test of ixodid tick identification by a network of European researchers. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *8*(4), 540-546.

162. ESTRADA-PEÑA, A., & DE LA FUENTE, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral research*, *108*, 104-128.

163. ESTRADA-PEÑA, A., FARKAS, R., JAENSON, T. G., KOENEN, F., MADDER, M., PASCUCCI, I., ... & JONGEJAN, F. (2013). Association of environmental traits with the geographic ranges of ticks (Acari: Ixodidae) of medical and veterinary importance in the western Palearctic. A digital data set. *Experimental and applied acarology*, *59*(3), 351-366..

164. ESTRADA-PEÑA, A., GUGLIELMONE, A. A., & NAVA, S. (2023). Worldwide host associations of the tick genus Ixodes suggest relationships based on environmental sharing rather than on co-phylogenetic

events. *Parasites & Vectors*, *16*(1), 75.

165. ESTRADA-PEÑA, A., NAVA, S., HORAK, I. G., & GUGLIELMONE, A. A. (2010). Using ground-derived data to assess the environmental niche of the spinose ear tick, Otobius megnini. *Entomologia experimentalis et applicata*, *137*(2), 132-142.

166. ESTRADA-PEÑA, A., ALEXANDER, N., & WINT, G. W. (2016). Perspectives on modelling the distribution of ticks for large areas: so far so good?. *Parasites & vectors*, *9*, 1-10.

167. ESTRADA-PEÑA, A., PFÄFFLE, M., BANETH, G., KLEINERMAN, G., y PETNEY, T. N. (2017). Ixodoidea of the western Palaearctic: a review of available literature for identification of species. *Ticks and tick-borne diseases*, *8*(4), 512-525.

168. EVANS, K.L., NEWSON, S.E., STORCH, D., GREENWOOD, J.J.D., GASTON, K.J., 2008. Spatial scale, abundance and the species-energy relationship in British birds. Journal of Animal Ecology. 77, 395–405.

169. FANTOZZI, M. C., TARRAGONA, E. L., DAYENOFF, P., CUERVO, P. F., Y SIERRA, R. M., & NAVA, S. (2018). Report of Amblyomma parvitarsum infesting goats in Midwestern Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, *14*, 99-102.

170. FANTOZZI, M. C., LINARES, M. C., CUERVO, P. F., ROMOLI, A., VITTAZ, D., & SIERRA, R. M. Y. (2018b). Ticks species (Acari: Ixodidae) parasites of dogs (Canis familiaris) in urban areas from Mendoza province, Argentina. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*.

171. FARASHI A, ALIZADEH-NOUGHANI M. 2018. Effects of models and spatial resolutions on the species distribution model performance. Modeling Earth Systems and Environment 4(1):263–268 DOI 10.1007/s40808-018-0422-4.

172. FÉLIX, M. L., MUÑOZ-LEAL, S., CARVALHO, L. A., QUEIROLO, D., ALONSO, S. R., NAVA, S., ... & VENZAL, J. M. (2021). Molecular characterization of novel Ehrlichia genotypes in Ixodes auritulus from Uruguay. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, *1*, 100022.

173. FERRÉS, M., ABARCA, K., GODOY, P., GARCÍA, P., PALAVECINO, E., MÉNDEZ, G., ... & VIAL, P. A. (2005). Presencia de Bartonella henselae en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile. *Revista médica de Chile*, *133*(12), 1465-1471.

174. FICK, S. E., & HIJMANS, R. J. (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, *37*(12), 4302-4315.

175. FINGERLE, V., PRITSCH, M., WÄCHTLER, M., MARGOS, G., RUSKE, S., JUNG, J., ... & WIESER, A. (2016). " Candidatus Borrelia kalaharica" detected from a febrile traveller returning to Germany from vacation in Southern Africa. *PLoS neglected tropical diseases*, *10*(3), e0004559.

176. FINGERLE V, SCHULTE-SPECHTEL UC, RUŽIĆ-SABLJIĆ E, ET AL. (2008). Epidemiological aspects and molecular characterization of Borrelia burgdorferi sl from southern Germany with special respect to the new species Borrelia spielmanii sp. Int J Med Microbiol 298: 279–90

177. FLORES-MENDOZA, C., FLORIN, D., FELICES, V., POZO, E. J., GRAF, P. C., BURRUS, R. G., & RICHARDS, A. L. (2013). Detection of Rickettsia parkeri from within Piura, Peru, and the first reported presence of Candidatus Rickettsia andeanae in the tick Rhipicephalus sanguineus. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *13*(7), 505-508

178. FLORES, F. S., SARACHO-BOTTERO, M. N., SEBASTIAN, P. S., VENZAL, J. M., MANGOLD, A. J., & NAVA, S. (2020). Borrelia genospecies in Ixodes sp. cf. Ixodes affinis (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(6), 101546.

179. FLYNN, J. J., WYSS, A. R., CROFT, D. A., & CHARRIER, R. (2003). The Tinguiririca fauna, Chile: Biochronology, paleoecology, biogeography, and a new earliest Oligocene South American land mammal ‘age’. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, *195*(3-4), 229-259.

180. FORLANO, M., MUJICA, F., CORONADO, A., MELÉNDEZ, R. D., LINARDI, P. M., BOTELHO, J. R., ... & BARRIOS, N. (2008). Species of

amblyomma (acari: ixodidae) parasitizing dogs (Canis lupus familiaris) from rural areas of Lara, Yaracuy, Carabobo and Falcón States, Venezuela. *Revista Científica*, *18*(6), 662-666.

181. FOURNIER, P. E., DUMLER, J. S., GREUB, G., ZHANG, J., WU, Y., & RAOULT, D. (2003). Gene sequence-based criteria for identification of new Rickettsia isolates and description of Rickettsia heilongjiangensis sp. nov. *Journal of clinical microbiology*, *41*(12), 5456-5465.

182. FOURNIER, P. E., EL KARKOURI, K., LEROY, Q., ROBERT, C., GIUMELLI, B., RENESTO, P., ... & RAOULT, D. (2009). Analysis of the Rickettsia africae genome reveals that virulence acquisition in Rickettsia species may be explained by genome reduction. *BMC genomics*, *10*(1), 1-15.

183. 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), 1-11.

184. FRASER CM, CASJENS S, HUANG WM, SUTTON GG, CLAYTON R, LATHIGRA R, ET AL. (1997). Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. Nature. 390:580-6.

185. FRENOT, Y., E. DE OLIVEIRA, M. GAUTHIER-CLERC, J. DENUNFF, A., BELLIDO y P. VERONA. (2001). Life cycle of the tick *Ixodesuriae* in penguin colonies: relationships with host breeding activity. Int. J. Parasitol. 31:1040-1047.

186. FUKUNAGA, M., HAMASE, A., OKADA, K., INOUE, H., TSURUTA, Y., MIYAMOTO, K., NAKAO, M., (1996a). Characterization of spirochetes isolated from ticks (Ixodes tanuki, Ixodes turdus, and Ixodes columnae) and comparison of the sequences with those of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains. Appl. Environ. Microbiol. 62, 2338–2344.

187. FUKUNAGA, M., HAMASE, A., OKADA, K., NAKAO, M., (1996b). Borrelia tanukii sp. nov. and Borrelia turdae sp. nov. found from ixodid ticks in Japan: rapid species identification by 16S rRNA gene-targeted PCR analysis. Microbiol. Immunol. 40, 877–881.

188. FUKUNAGA, M., OKADA, K., NAKAO, M., KONISHI, T., SATO, Y., (1996c). Phylogenetic analysis of Borrelia species based on flagellin gene

sequences and its application for molecular typing of Lyme disease borreliae. Int. J. Syst. Bacteriol. 46, 898–905.

189. FUKUNAGA, M., YABUKI, M., HAMASE, A., OLIVER, JR, J. H., & NAKAO, M. (2000). Molecular phylogenetic analysis of ixodid ticks based on the ribosomal DNA spacer, internal transcribed spacer 2, sequences. *Journal of Parasitology*, *86*(1), 38-43.

190. FUKUNAGA M, YANAGIHARA Y, SOHNAKA M. (1992). The 23S/5S ribosomal RNA genes (rrl/rrf) are separate from the 16S ribosomal RNA gene (rrs) in Borrelia burgdorferi , the aetiological agent of Lyme disease. J Gen Microbiol. 138(5):871-7.

191. FUNG BP, MCHUGH GL, LEONG JM, AND STEERE AC. (1994). Humoral immune response to outer surface protein C of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease: role of the immunoglobulin M response in the serodiagnosis of early infection. Infect Immun 62: 3213-3221.

192. FUTSE, J. E., UETI, M. W., KNOWLES JR, D. P., & PALMER, G. H. (2003). Transmission of Anaplasma marginale by Boophilus microplus: retention of vector competence in the absence of vector-pathogen interaction. *Journal of clinical microbiology*, *41*(8), 3829-3834

193. GARRITY, G. M. (2016). A new genomics-driven taxonomy of Bacteria and Archaea: are we there yet?. *Journal of clinical microbiology*, *54*(8), 1956-1963.

194. GASTON, K.J. (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature* 45: 220-227

195. GASTON, K.J. (2003) *The structure and dynamics of geographic ranges*. Oxford University Press, Oxford.

196. GAVIN, D.G. & FENG, S.H. (2006) Spatial variation of climatic and non-climatic controls on species distribution: the range limit of *Tsuga heterophylla*. *Journal of Biogeography*, **33**, 1384– 1396.

197. GETHMANN, J., HOFFMANN, B., KASBOHM, E., SÜSS, J., HABEDANK, B., CONRATHS, F.J., BEER, M. AND KLAUS, C. (2020) Research paper on abiotic factors and their influence on *Ixodes ricinus*

activity-observations over a two-year period at several tick collection sites in Germany. *Parasitol. Res*., 119(5): 1455–1466.

198. GILLIAM, M. E., W. T. RECHKEMMER, K. W. MCCRAVY, AND S. E. JENKINS. (2018). The influence of prescribed fire, habitat, and weather on *Amblyomma americanum* (Ixodida: Ixodidae) in West-Central Illinois, USA. Insects. 9: 36.

199. GILLESPIE, J. J., WILLIAMS, K., SHUKLA, M., SNYDER, E. E., NORDBERG, E. K., CERAUL, S. M., ... & SOBRAL, B. S. (2008). Rickettsia phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PloS one*, *3*(4), e2018

200. GILLIAM, B., GRONEMEYER, P., CHAKRABORTY, S., WINATA, F., LYONS, L. A., MILLER-HUNT, C., ... & MATEUS-PINILLA, N. (2020). Impact of unexplored data sources on the historical distribution of three vector tick species in Illinois. *Journal of medical entomology*, *57*(3), 872-883.

201. GODDARD, J., & BR, N. (1983). Notes on the geographical distribution of the Gulf Coast tick, Amblyomma maculatum (Koch)(Acari: Ixodidae).

202. GODDARD, J. (1992). Ecological studies of adult *Ixodes scapularis* in central Mississippi: questing activity in relation to time of year, vegetation type, and meteorologic conditions. J. Med. Entomol. 29: 501-506.

203. GOFTON, A. W., DOGGETT, S., RATCHFORD, A., OSKAM, C. L., PAPARINI, A., RYAN, U., & IRWIN, P. (2015a). Bacterial profiling reveals novel “Ca. Neoehrlichia”, Ehrlichia, and Anaplasma species in Australian human-biting ticks. *PloS one*, *10*(12), e0145449.

204. GOFTON, A. W., LOH, S. M., BARBOSA, A. D., PAPARINI, A., GILLETT, A., MACGREGOR, J., ... & IRWIN, P. J. (2018). A novel Ehrlichia species in blood and Ixodes ornithorhynchi ticks from platypuses (Ornithorhynchus anatinus) in Queensland and Tasmania, Australia. *Ticks and tick-borne diseases*, *9*(2), 435-442.

205. GOFTON, A. W., OSKAM, C. L., LO, N., BENINATI, T., WEI, H., MCCARL, V., ... & IRWIN, P. (2015b). Inhibition of the endosymbiont “Candidatus Midichloria mitochondrii” during 16S rRNA gene profiling reveals potential pathogens in Ixodes ticks from Australia. *Parasites & Vectors*, *8*, 1-

11

206. GOFTON, A. W., WAUDBY, H. P., PETIT, S., GREAY, T. L., RYAN, U. M., & IRWIN, P. J. (2017). Detection and phylogenetic characterisation of novel Anaplasma and Ehrlichia species in Amblyomma triguttatum subsp. from four allopatric populations in Australia. *Ticks and tick-borne diseases*, *8*(5), 749-756.

207. GOMEZ-CHAMORRO, A., HODŽIĆ, A., KING, K. C., & CABEZAS-CRUZ, A. (2021). Ecological and evolutionary perspectives on tick-borne pathogen co-infections. *Current Research in Parasitology & Vector-borne Diseases*, *1*, 100049.

208. GONZÁLEZ-ACUÑA D., VENZAL J., GUGLIELMONE A., DAUGSCIES A., RUBILAR-CONTRERAS I. AND SKEWES RAMM O. (2004b). First record of immature stages of *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) on wild birds in Chile. Exp. Appl. Acarol. 33: 153–156.

209. GONZÁLEZ-ACUÑA D., VENZAL J.M., KEIRANS J.E. AND GUGLIELMONE A.A. (2003). The genus *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) in Chile, with new records of A. argentinae Neumann, 1904 and A. tigrinum Koch, 1844. Syst. Appl. Acarol. 8: 85–88.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2008). Garrapatas (Acari: Ixodoidea) enChile. Pp. 170-171. En: P. SABALL, M. ARROLLO, J. CASTILLA, C. ESTADES, S. LARRAÍN, C. MORENO, L. SIERRALTA, J. ROVIRA, J.LADRÓN DE GUEVARA y F. RIVAS (Ed). Biodiversidad de Chile, patrimonio y desafíos. Capitulo II. Nuestra diversidad Biológica. Animales invertebrados, invertebrados terrestres. CONAMA. (2° Ed.). Ocho Libros Editores. Santiago, Chile.

210. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., y GUGLIELMONE, A. A. (2005). Ticks (Acari: Ixodoidea: Argasidae, Ixodidae) of Chile. *Experimental and Applied Acarology*, *35*(1-2), 147-163.

211. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., HERNÁNDEZ, J., MORENO, L., HERRMANN, B., PALMA, R., LATORRE, A., … y TORRES, I. (2013).Health evaluation of wild gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) in the Antarctic Peninsula. *Polar biology*, *36*(12), 1749-1760.

212. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., J. STEDT, E. JOURDAIN, J. BONNEDAHL, J. HERNANDEZ, B. HERMANN, B. OLSEN. (2010). Evidencia de *Borrelia* Sp. En Ixodes uriae (Acari: Ixodidae) asociadas a Pinguinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en isla Magdalena, Región de Magallanes. XVI Congreso Chileno de Medicina Veterinaria, 18-20 de noviembre de 2010, Concepción, Chile.

213. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MORENO, L., y GUGLIELMONE, A. A. (2008). First report of Ornithodoros spheniscus (Acari: Ixodoidea: Argasidae) from the Humboldt penguin in Chile. *Systematic and Applied Acarology*, *13*(2), 120-122.

214. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MORENO, L., y HERMOSILLA, C. (2008). Parásitos en perros de San Juan Bautista, Isla Robinson Crusoe,Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, *40*(2), 193-195.

215. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., SARACHO-BOTTERO, M. N., OSSA, G., GUGLIELMONE, A. A., & NAVA, S. (2018). Ixodes chilensis Kohls, 1956 (Acari: Ixodida: Ixodidae): re-description of the female, description of the nymph, and phylogenetic position inferred from mitochondrial DNA sequences of the 16S rRNA gene. *Systematic Parasitology*, *95*(8), 959-967.

216. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., VALENZUELA, G., MORENO, L., ARDILES, K., y GUGLIELMONE, A. (2006a). Nuevos hospedadores para las garrapatas *Amblyomma tigrinum* y *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) en Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, *38*(3), 273-275.

217. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., VENZAL, J. M., y GUGLIELMONE, A. A. (2004a). Nuevos hospedadores y localidades de *Ixodes sigelos* e *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) en Chile. *Gayana (Concepción)*, *68*(1), 108-111.GONZÁLEZ-ACUÑA, D., VENZAL, J. M., FABRY, M., y GUGLIELMONE, A. A. (2004c). *Liolaemus jamesi* (Boulanger, 1891)(Reptilia: Tropiduridae), a host for the larva of Amblyomma parvitarsum Neumann, 1901 (Acari: Ixodidae). *Systematic and Applied Acarology*, *9*(1), 33-36.

218. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., VENZAL, J. M., & GUGLIELMON, A. A. (2003). Primer registro de Rhipicephalus Sanguineus (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae) en Rattus norvegicus (Mammalia: Rodentia) en Chile. *Gayana*

(Concepción), *67*(1), 121-122

219. GONZÁLEZ-ACUÑA, D., VENZAL, J. M., KEIRANS, J. E., ROBBINS, R. G., IPPI, S., y GUGLIELMONE, A. A. (2005). New host and locality records for the *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) species group, with areview of host relationships and distribution in the NeotropicalZoogeographic Region. *Experimental and applied acarology*, *37*(1-2), 147- 156.

220. GONZÁLEZ-ASCANIO, Y. W., & SACRAMENTO, V. F. K. (2018). Ehrlichiosis monocítica humana y babesiosis en Venezuela. *Revista Médica de Risaralda*, *24*(2), 125-132.

221. GOULD EA, HIGGS S. (2009). Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygene. 103:109–21.

222. GRAHAM, A. J., ATKINSON, P. M., & DANSON, F. M. (2004). Spatial analysis for epidemiology. *Acta tropica*, *91*(3), 219-225.

223. GRANKVIST, A., SANDELIN, L. L., ANDERSSON, J., FRYLAND, L., WILHELMSSON, P., LINDGREN, P. E., ... & WENNERÅS, C. (2015). Infections with Candidatus Neoehrlichia mikurensis and cytokine responses in 2 persons bitten by ticks, Sweden. *Emerging infectious diseases*, *21*(8), 1462.

224. GRAY, J., & KAHL, O. (2022). Tick Ecology and the Eco-Epidemiology of sensu lato. In *Lyme Borreliosis* (pp. 31-45). Springer, Cham.

225. GUERRERO, A., QUEREDA, C., CORRES, J., ESCUDERO, R., BELDA, P. M., & SERRANO, M. (1991). Joint manifestations of Lyme disease in Spain. *Rheumatology*, *30*(1), 71-71

226. GUGLIELMONE, A. A. ESTRADA-PEÑA, A., KEIRANS, JE, ROBBINS, RG, (2003). Ticks (Acari: Ixodida) of the neotropical zoogeographic region. *Special Publication of the International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-2), Atlanta/Houten, The Netherlands*.

227. GUGLIELMONE, A. A., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., AUTINO, A. G., VENZAL, J. M., NAVA, S., & MANGOLD, A. J. (2005). Ixodes sigelos Keirans, Clifford & Corwin, 1976 (Acari: Ixodidae) in Argentina and southern Chile. *Systematic and Applied Acarology*, *10*(1), 37-40.

228. GUGLIELMONE, A. A., & NAVA, S. (2006). Las garrapatas argentinas del género Amblyomma (Acari: Ixodidae): distribución y hospedadores. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, *35*(3), 133-153.

229. GUGLIELMONE, A. A., NAVA, S., BAZÁN-LEÓN, E. A., VÁSQUEZ, R. A., y MANGOLD, A. J. (2010b). Redescription of the male and description of the female of *Ixodes abrocomae* Lahille, 1916 (Acari: Ixodidae). *Systematic parasitology*, *77*(2), 153-160.

230. GUGLIELMONE, A. A., NAVA, S., & ROBBINS, R. G. (2021). *Neotropical Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae)*. Springer International Publishing.

231. GUGLIELMONE, A. A., R. G. Robbins, D. A. Apanaskevich, T. N. Petney, A. Estrada-Peña y I. G. Horak. (2009). Comments on controversial tick (Acari: Ixodida) species names and species described or resurrected from 2003 to 2008. Exp. Appl. Acarol. 48:311–327.

232. GUGLIELMONE AA, ROBBINS RG, APANASKEVICH DA, PETNEY TN, ESTRADA-PEÑA A, HORAK IG. (2014). The hard ticks of the world (Acari: Ixodida: Ixodidae). London: Springer.

233. GUGLIELMONE, A.A., ROBBINS, R.G., APANASKEVICH, D.A., PETNEY, T.N., ESTRADA-PEÑA, A., HORAK, I.G., SHAO, R.F., BARKER, S.C. (2010a). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. Zootaxa 2528:1–28.

234. GUGLIELMONE, A.A., VENZAL, J.M., AMICO, G., MANGOLD, A.J., y KEIRANS, J.E. (2004). Description of the nymph and larva and redescriptions of the female of *Ixodes neuquenensis* Ringuelet, 1947 (Acari:Ixodidae), a parasite of the endangered Neotropical marsupial *Dromiciops gliroides* Thomas (Microbiotheria: Microbiotheriidae). *Systematic Parasitology 57,* 211-219

235. GUGLIELMONE, A. A., J. M. VENZAL, D. GONZÁLEZ-ACUÑA, S. NAVA, A. HINOJOSA y A. J. MANGOLD. (2006). The phylogenetic position of Ixodes stilesi Neumann, 1911 (Acari: Ixodidae): morphological and preliminary molecular evidences from 16S rDNA sequences. Syst. Parasitol.y 65:1-11

236. GUISAN, A., & ZIMMERMANN, N. E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological modelling*, *135*(2-3), 147-186.

237. GÜNER, E. S., WATANABE, M., HASHIMOTO, N., KADOSAKA, T., KAWAMURA, Y., EZAKI, T., ... & MASUZAWA, T. (2004). Borrelia turcica sp. nov., isolated from the hard tick Hyalomma aegyptium in Turkey. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *54*(5), 1649-1652.

238. GUSA, A. A., BULLER, R. S., STORCH, G. A., HUYCKE, M. M., MACHADO, L. J., SLATER, L. N., ... & MASSUNG, R. F. (2001). Identification of a p28 gene in Ehrlichia ewingii: evaluation of gene for use as a target for a species-specific PCR diagnostic assay. *Journal of clinical microbiology*, *39*(11), 3871-3876.

239. GUZMÁN L, NEIRA O. (1993). Lyme disease in Chile. J Rheumatol 20: 774-775.

240. GYLFE, A., OLSEN, B., STRAŠEVIČIUS, D., MARTI RAS, N., WEIHE, P., NOPPA, L., ... & BERGSTRÖM, S. (1999). Isolation of Lyme disease Borrelia from puffins (Fratercula arctica) and seabird ticks (Ixodes uriae) on the Faeroe Islands. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(4), 890-896.

241. HACKER, G. M., B. T. JACKSON, M. NIEMELA, E. S. ANDREWS, M. E. DANFORTH, M. J. PAKINGAN, AND M. G. NOVAK. (2021). A comparison of questing sub- strates and environmental factors that influence nymphal *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) abundance and seasonality in the sierra nevada Foothills of California. J. Med. Entomol. 58: 1880–1890.

242. HAHN, M. B., C. S. JARNEVICH, A. J. MONAGHAN, AND R. J. EISEN. (2016). Modeling the geographic distribution of *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the contiguous United States. J. Med. Entomol. 53: 1176–1191.

243. HANSFORD K, FONVILLE M, GILLINGHAM E, COIPAN E,

PIETZSCH M, KRAWCZYK A, VAUX A, CULL B, SPRONG H, MEDLOCK J. (2017). Ticks and Borrelia in urban and peri-urban green space habitats in a city in southern England. Ticks and Tick-borne Diseases.8(3):353

244. HARTEMINK, N., y TAKKEN, W. (2016). Trends in tick population dynamics and pathogen transmission in emerging tick-borne pathogens in Europe: an introduction. Experimental and Applied Acarology, 68(3), 269-278.

245. HAVEN, J., ET AL., (2011). Pervasive recombination and sympatric genome diversification driven by frequency-dependent selection in *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease bacterium. Genetics 189, 951–966.

246. HERRMANN, C., & GERN, L. (2015). Search for blood or water is influenced by Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus. *Parasites & vectors*, *8*(1), 1-8.

247. HIGA, L. D. O. S., CSORDAS, B. G., GARCIA, M. V., OSHIRO, L. M., DUARTE, P. O., BARROS, J. C., & ANDREOTTI, R. (2020). Spotted fever group Rickettsia and Borrelia sp. cooccurrence in Amblyomma sculptum in the Midwest region of Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, *81*(3), 441-455.

248. HILLIS, D. M., & BULL, J. J. (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic biology*, *42*(2), 182-192.

249. HOFFMANN, A., MÜLLER, T., FINGERLE, V., & NOLL, M. (2021). Presence of Human Pathogens of the Borrelia burgdorferi sensu lato Complex Shifts the Sequence Read Abundances of Tick Microbiomes in Two German Locations. *Microorganisms*, *9*(9), 1814.

250. HOFMEESTER, T. R., SPRONG, H., JANSEN, P. A., PRINS, H. H., & VAN WIEREN, S. E. (2017). Deer presence rather than abundance determines the population density of the sheep tick, Ixodes ricinus, in Dutch forests. *Parasites & vectors*, *10*(1), 1-8.

251. HOOGSTRAAL, H. AND AESCHLIMANN, A. (1982) Tick-host specificity. Bull. Soc. Entomol. Suisse 55:5–32.

252. HOOGSTRAAL H. (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites

and vectors. Adv Parasitol 24:135–238

253. HOLDERMAN CJ AND KAUFMAN PE (2013) Lone Star Tick Amblyomma americanum (Linnaeus) (Acari: Ixodidae).

254. HURTADO, C., TORRES, R., PÉREZ-MACCHI, S., SAGREDO, K., UBERTI, B., DE SOUZA ZANATTO, D. C., ... & MÜLLER, A. (2020). Serological and molecular detection of Anaplasma phagocytophilum in Thoroughbred horses from Chilean racecourses. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(4), 101441.

255. ILLOLDI-RANGEL, P., RIVALDI, C. L., SISSEL, B., TROUT FRYXELL, R., GORDILLO-PÉREZ, G., RODRÍGUEZ-MORENO, A., ... & SARKAR, S. (2012). Species distribution models and ecological suitability analysis for potential tick vectors of Lyme disease in Mexico. *Journal of tropical medicine*, *2012*.

256. INOKUMA, H., FUJII, K., MATSUMOTO, K., OKUDA, M., NAKAGOME, K., KOSUGI, R., ... & ONISHI, T. (2002). Demonstration of Anaplasma (Ehrlichia) platys inclusions in peripheral blood platelets of a dog in Japan. *Veterinary Parasitology*, *110*(1-2), 145-152

257. INOKUMA, H., RAOULT, D., & BROUQUI, P. (2000). Detection of Ehrlichia platys DNA in brown dog ticks (Rhipicephalus sanguineus) in Okinawa Island, Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, *38*(11), 4219-4221.

258. ISMAIL, N., BLOCH, K. C., & MCBRIDE, J. W. (2010). Human ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clinics in laboratory medicine*, *30*(1), 261-292

259. IVANCOVICH, J. C. (1980). Reclasificación de algunas especies de garrapatas del género" Amblyomma", Ixodidae, en la Argentina. *Rev Inv Agropec*, *15*.

260. IVANOVA, L. B., TOMOVA, A., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MURÚA, R., MORENO, C. X., HERNÁNDEZ, C., ... y CABELLO, F. C. (2014). Borrelia chilensis, a new member of the Borrelia burgdorferi sensu lato complex that extends the range of this genospecies in the Southern Hemisphere. Environmental microbiology, 16(4), 1069-1080.

261. JAKSIC, F. M. (1998). Vertebrate invaders and their ecological impacts in Chile. *Biodiversity & Conservation*, *7*(11), 1427-1445.

262. JAMES, A. M., C. BURDETT, M. J. MCCOOL, A. FOX, AND P. RIGGS. (2015). The geographic distribution and ecological preferences of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say), in the U.S.A. Med. Vet. Entomol. 29: 178–188.

263. JAULHAC B, CHARY-VALCKENAERE I, SIBILIA J, ET AL. (1996). Detection of Borrelia burgdorferi by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis. Arthritis Rheum. 39(5):736-45.

264. JIANG, J., SANGKASUWAN, V., LERDTHUSNEE, K., SUKWIT, S., CHUENCHITRA, T., ROZMAJZL, P. J., ... & RICHARDS, A. L. (2005). Human infection with Rickettsia honei, Thailand. *Emerging infectious diseases*, *11*(9), 1473.

265. JOHNSON, W. E., FRANKLIN, W. L., & IRIARTE, J. A. (1990). The mammalian fauna of the northern Chilean Patagonia: a biogeographical dilemma

266. JOHNSON RC, GP SCHMID, FW HYDE, AG STEIGERWALT, DJ BRENNER. (1984). *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease*. Int J Syst Bacteriol* 34, 496–497.

267. JONES, K.E., PATEL NG, LEVY MA, STOREYGARD A, BALK D, GITTLEMAN JL, DASZAK P., (2008). Global Trends in Emerging Infectious Diseases. Nature 451, 990-99.

268. JONGEJAN, F., y UILENBERG, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology, 129 Suppl*, S3-14.

269. KAKUMANU, M. L., PONNUSAMY, L., SUTTON, H. T., MESHNICK, S. R., NICHOLSON, W. L., & APPERSON, C. S. (2016). Development and validation of an improved PCR method using the 23S-5S intergenic spacer for detection of rickettsiae in Dermacentor variabilis ticks and tissue samples from humans and laboratory animals. *Journal of clinical microbiology*, *54*(4), 972-979.

270. KALMAR, Z., COZMA, V., SPRONG, H., JAHFARI, S., D'AMICO, G., MĂRCUȚAN, D. I., ... & MIHALCA, A. D. (2015). Transstadial transmission of Borrelia turcica in Hyalomma aegyptium ticks. *PLoS One*, *10*(2), e0115520.

271. KAWABATA, H., MASUZAWA, T., YANAGIHARA, Y., (1993).

Genomic analysis of Borrelia japonica sp. nov. isolated from Ixodes ovatus in Japan. Microbiol. Immunol. 37, 843–848.

272. KAWAHARA, M., RIKIHISA, Y., ISOGAI, E., TAKAHASHI, M., MISUMI, H., SUTO, C., ... & TSUJI, M. (2004). Ultrastructure and phylogenetic analysis of 'Candidatus Neoehrlichia mikurensis' in the family Anaplasmataceae, isolated from wild rats and found in Ixodes ovatus ticks. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *54*(5), 1837-1843.

273. KAZMIERCZAK, J. J., AMUNDSON, T. E., y BURGESS, E. C. (1988). Borreliosis in free-ranging black bears from Wisconsin. *J Wildl Dis, 24*(2), 366-368.

274. KEIRANS J.E. (1984). George Henry Falkner Nuttall and Nuttall Tick Catalogue. U.S.D.A., Agric. Res. Ser. Misc. Pub., 1785 pp.

275. KEIRANS J.E., CLIFFORD C.M. AND CORWIN D. (1976). Ixodes sigelos, n. sp. (Acarina: Ixodidae), a parasite of rodents in Chile, with a method for preparing ticks for examination by scanning electron microscopy. Acarologia 18: 217–225.

276. KEIRANS, J. E. (1992). Systematics of the Ixodida (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae): an overview and some problems. In *Tick Vector Biology* (pp. 1-21). Springer, Berlin, Heidelberg.

277. KEIRANS, J. E., y CLIFFORD, C. M. (1978). The genus Ixodes in the United States: a scanning electron microscope study and key to the adults. *Journal of Medical Entomology*, *15*(suppl2), 1-38.

278. KEIRANS, J. E., & DURDEN, L. A. (2005). Tick systematics and identification. *Tick-Borne Diseases of Humans*, 123-140

279. KIERANS, J.E., NEEDHAM, G.R. AND OLIVER, J.H. JR (1999) The *Ixodes* (*Ixodes*) *ricinus* complex worldwide: diagnosis of the species in the complex, hosts, and distribution. In: Needham, G.R., Mitchell, R., Horn, D.J. and Welbourn W.C. (eds) *Acarology IX: Symposia*. Ohio Biological Survey, Columbus, OH, pp. 341–347.

280. KELLY, P., LUCAS, H., BEATI, L., YOWELL, C., MAHAN, S., & DAME, J. (2010). Rickettsia africae in Amblyomma variegatum and domestic

ruminants on eight Caribbean islands. *Journal of Parasitology*, *96*(6), 1086-1088.

281. KERNIF, T., LEULMI, H., RAOULT, D., y PAROLA, P. (2016). Emerging tick-borne bacterial pathogens. *Microbiology Spectrum*, *4*(3).

282. KERSTERS, K., DE VOS, P., GILLIS, M., SWINGS, J., VANDAMME, P., & STACKEBRANDT, E. R. K. O. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria* (Vol. 5, pp. 3-37). Springer.

283. KESSLER WH, BLACKBURN JK, SAYLER KA, GLASS GE. 2019. Estimating the geographic distribution of host-seeking adult Amblyomma americanum (Acari: Ixodidae) in Florida. Journal of Medical Entomology 56(1):55–64 DOI 10.1093/jme/tjy147

284. KESSLER, W. H., GANSER, C., & GLASS, G. E. (2019). Modeling the distribution of medically important tick species in Florida. *Insects*, *10*(7), 190.

285. KHATCHIKIAN, C.E., ET AL., (2015). Recent and rapid population growth and range expansion of the Lyme disease tick vector, *Ixodes scapularis*, in North America. Evolution (N. Y). 69, 1678–1689.

286. KIEWRA, D., & SOBCZYÑSKI, M. (2006). Biometrical analysis of the common tick, Ixodes ricinus, in the Ślęża Massif (Lower Silesia, Poland). *Journal of Vector Ecology*, *31*(2), 239-244.

287. KLOMPEN, J.S.H., BLACK, W.C., IV, KEIRANS, J.E., AND NORRIS, D.E. (2000) Systematics and biogeography of hard ticks, a total evidence approach. Cladistics 16:79–102.

288. KOCH, C.L. (1844) Systematische U ̈bersicht u ̈ber die Ordnung der Zecken. Archiv für Naturgeschichte, 10, 217 239.

289. KOHLS G.M. (1969). Ixodes taglei n. sp. (Acarina: Ixodidae) a parasite of the deer, Pudu pudu (Wol.), Chile. J. Med. Entomol. 6: 280–283.

290. KOHLS GM. (1956). Eight new species from central and South America (Acarina: Ixodidae). J Parasitol 1956; 42: 636-49.

291. KOHLS, G.M. y CLIFFORD, C.M. (1966). Three new species of *Ixodes* from Mexico and description of the male of *I. auritulus*

Neumann, *I. conepati* Cooley and Kohls, and *I. lasallei* Méndezand Ortiz (Acarina: Ixodidae). J. Parasitol., 52: 810-820.

292. KONSTANTINIDIS, K. T., & TIEDJE, J. M. (2005). Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(7), 2567-2572.

293. KRAUSE, P. J., NARASIMHAN, S., WORMSER, G. P., ROLLEND, L., FIKRIG, E., LEPORE, T., ... y FISH, D. (2013). Human Borrelia miyamotoi infection in the United States. *New England Journal of Medicine*, *368*(3), 291-293

294. KREEGER, T., J. ARNEMO y J. RAATH. (2002). Handbook of wildlife chemical immobilization (international edition). Wildlife Pharmaceuticals Inc, Fort Collins, Colorado. 409 p.

295. KRUPKA M, RASKA M, BELAKOVA J, HORYNOVA M, NOVOTNY R, WEIGL E. (2007). Biological Aspects of Lyme Disease Spirochetes:Unique bacteria of the Borrelia Burgdorferi Species group. Biomed Pap MedFac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 151(2):175-86.

296. KULKARNI, M., KRYUCHKOV, R., STATCULESCU, A., THICKSTUN, C., DIBERNARDO, A., LINDSAY, L., & TALBOT, B. (2018). Climate change and Lyme disease: Ixodes scapularis tick distribution and infection rates in Ottawa, Ontario, 2017. *Canada Communicable Disease Report*, *44*(10), 237.

297. KURTTI, T. J., FELSHEIM, R. F., BURKHARDT, N. Y., OLIVER, J. D., HEU, C. C., & MUNDERLOH, U. G. (2015). Rickettsia buchneri sp. nov., a rickettsial endosymbiont of the blacklegged tick Ixodes scapularis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *65*(Pt_3), 965-970.

298. LABRUNA, M. B. (2009). Ecology of rickettsia in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1166*(1), 156-166.

299. LABRUNA, M. B., GERARDI, M., KRAWCZAK, F. S., & MORAES-FILHO, J. (2017). Comparative biology of the tropical and temperate species of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) under different laboratory conditions. *Ticks and tick-borne diseases*, *8*(1), 146-156

300. LABRUNA, M. B., JORGE, R. S., SANA, D. A., JÁCOMO, A. T. A., KASHIVAKURA, C. K., FURTADO, M. M., ... & BARROS-BATTESTI, D. M. (2005). Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. *Experimental & applied acarology*, *36*(1), 149-163.

301. LABRUNA, M. B., OGRZEWALSKA, M., MORAES-FILHO, J., LEPE, P., GALLEGOS, J. L., & LÓPEZ, J. (2007). Rickettsia felis in Chile. *Emerging Infectious Diseases*, *13*(11), 1794

302. LABRUNA, M. B. y J. M. VENZAL. (2009). Carios fonsecai sp. nov. (Acari: Argasidae), a bat tick from cental-western region of Brazil. Act. Parasitol. 54(4): 355-363.

303. LABRUNA, M. B., WHITWORTH, T., BOUYER, D. H., MCBRIDE, J., CAMARGO, L. M. A., CAMARGO, E. P., ... & WALKER, D. H. (2004). Rickettsia bellii and Rickettsia amblyommii in Amblyomma ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *Journal of medical entomology*, *41*(6), 1073-1081.

304. LADO, P., CASTRO, O., LABRUNA, M. B., & VENZAL, J. M. (2014). First molecular detection of Rickettsia parkeri in Amblyomma tigrinum and Amblyomma dubitatum ticks from Uruguay. *Ticks and tick-borne diseases*, *5*(6), 660-662.

305. LADO, P., NAVA, S., MENDOZA-URIBE, L., CACERES, A. G., DELGADO-DE LA MORA, J., LICONA-ENRIQUEZ, J. D., ... & BEATI, L. (2018). The Amblyomma maculatum Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) group of ticks: phenotypic plasticity or incipient speciation?. *Parasites & vectors*, *11*(1), 1-22.

306. LAHILLE F. (1916). Descripcio´ n de un nuevo ixo´ dido chileno. Rev. Chil. Hist. Nat. 20: 107–108.

307. LAND, M., HAUSER, L., JUN, S. R., NOOKAEW, I., LEUZE, M. R., AHN, T. H., ... & USSERY, D. W. (2015). Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Functional & integrative genomics*, *15*(2), 141-161.

308. LANE RS, BROWN RN. (1991). Wood rats and kangaroo rats: Potential reservoirs of the Lyme disease spirochete in California. J Med

Entomol. 28:299-302.

309. LE FLECHE, A., POSTIC, D., GIRARDET, K., PETER, O., BARANTON, G., (1997). Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 921–925.

310. LEE, S.H.; KIM, B.J.; KIM, J.H. ET AL. (2000). Differentiation of*Borrelia burgdorferi* sensu lato on the basis of RNA polymerase gene (rpoB) sequences. Journal of Clinical Microbiology, 38: 2557-2562

311. LEFCORT, H., & DURDEN, L. A. (1996). The effect of infection with Lyme disease spirochetes (Borrelia burgdorferi) on the phototaxis, activity, and questing height of the tick vector Ixodes scapularis. *Parasitology*, *113*(2), 97-103.

312. LEWIS, D. (1979). The detection of rickettsia-like microorganisms within the ovaries of female Ixodes ricinus ticks. *Zeitschrift fur Parasitenkunde (Berlin, Germany)*, *59*(3), 295-298.

313. LI, H., JIANG, J. F., LIU, W., ZHENG, Y. C., HUO, Q. B., TANG, K., ... & CAO, W. C. (2012). Human infection with Candidatus neoehrlichia mikurensis, China. *Emerging infectious diseases*, *18*(10), 1636.

314. LINDSAY, L. R., I. K. BARKER, G. A. SURGEONER, S. A. MCEWEN, T. J. GILLESPIE, AND E. M. ADDISON. (1998). Survival and development of the different life stages of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) held within four habitats on Long Point, Ontario, Canada. J. Med. Entomol. 35: 189–199.

315. LLANOS-SOTO, S., MUÑOZ-LEAL, S., GATICA, J. L., MISAD, C., & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2020). Human toxicosis caused by the tick Ornithodoros spheniscus in a Chilean national park. *Travel medicine and infectious disease*, *37*, 101811.

316. LLANOS-SOTO, S., MUÑOZ, B., MORENO, L., LANDAETA-AQUEVEQUE, C., KINSELLA, J. M., MIRONOV, S., ... & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2017). External and gastrointestinal parasites of the rufous-collared sparrow Zonotrichia capensis (Passeriformes, Emberizidae) in Chile. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *26*, 314-322.

317. LO, N., BENINATI, T., SASSERA, D., BOUMAN, E. A., SANTAGATI, S., GERN, L., ... & BANDI, C. (2006). Widespread distribution and high

prevalence of an alpha-proteobacterial symbiont in the tick Ixodes ricinus. *Environmental Microbiology*, *8*(7), 1280-1287.

318. LOFTIS, A. D., REEVES, W. K., SPURLOCK, J. P., MAHAN, S. M., TROUGHTON, D. R., DASCH, G. A., & LEVIN, M. L. (2006). Infection of a goat with a tick-transmitted Ehrlichia from Georgia, USA, that is closely related to Ehrlichia ruminantium. *Journal of Vector Ecology*, *31*(2), 213-223.

319. LOFTIS, A. D., REEVES, W. K., SZUMLAS, D. E., ABBASSY, M. M., HELMY, I. M., MORIARITY, J. R., & DASCH, G. A. (2006). Rickettsial agents in Egyptian ticks collected from domestic animals. *Experimental & applied acarology*, *40*(1), 67-81.

320. LOHR, B., FINGERLE, V., NORRIS, D. E., & HUNFELD, K. P. (2018). Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Current state of the art and future perspectives. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, *55*(4), 219-245.

321. LOHR, B., FINGERLE, V., & HUNFELD, K. P. (2022). Laboratory Diagnosis of Lyme borreliosis. In *Lyme Borreliosis* (pp. 131-160). Springer, Cham

322. LÓPEZ, R. C., & ARTURO, R. R. (2023). *Hábitat. Descripción y análisis ecológico*. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

323. LÓPEZ DEL, J., ABARCA, K., & AZÓCAR, T. (2007). Evidencia clínica y serológica de rickettsiosis canina en Chile. *Revista chilena de infectología*, *24*(3), 189-193.

324. LÓPEZ, J., ABARCA, K., MUNDACA, M. I., CABALLERO, C., y VALIENTE-ECHEVERRÍA, F. (2012). Identificación molecular de *Ehrlichia canis* en un canino de la ciudad de Arica, Chile. Revista chilena de infectología, 29(5), 527-530.

325. LÓPEZ, J., CASTILLO, A., MUÑOZ, M., & HILDEBRANDT, S. (1999). Hallazgo de Ehrlichia canis en Chile, informe preliminar. *Archivos de medicina veterinaria*, *31*(2), 211-214.

326. LÓPEZ, B., JARAMILLO, J., ARMSTRONG, P. A., LOPEZ, M. R., GLEATON, A. N., CHUNG, I. H., ... & ESPINOSA-BODE, A. (2022). First human case of Rickettsia felis reported in Guatemala. Alerta 2022; 5(2):159-160

327. LÓPEZ J, PINTO V, ROJAS J ET AL (2015) Detección y posterior diseminación de *Rhipicephalus sanguineus* en Chile. Rev Biomédica 26:151–152

328. LÓPEZ, J., RIVERA, M., CONCHA, J. C., GATICA, S., LOEFFEHOLZ, M., & BARRIGA, O. (2003). Serologic evidence for human ehrlichiosis in Chile. *Revista Médica de Chile*, *131*(1), 67-70.

329. LÓPEZ J, VALIENTE-ECHEVERRIA F, CARRASCO M, MERCADO R, ABARCA K. (2012b). Identificación morfológica y molecular de filarias caninas en una comuna semi-rural de la Región Metropolitana, Chile. Rev Chilena Infectol. 29:284–9.

330. LÓPEZ-VÉLEZ, R., & MOLINA MORENO, R. (2005). Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Revista Española de Salud Pública*, *79*, 177-190.

331. LLOYD-SMITH, J. O., GEORGE, D., PEPIN, K. M., PITZER, V. E., PULLIAM, J. R., DOBSON, A. P., ... Y GRENFELL, B. T. (2009). Epidemic DYNAMICS AT THE HUMAN-ANIMAL INTERFACE. *SCIENCE*, *326*(5958), 1362-1367.

332. LU, M., LI, F., LIAO, Y., SHEN, J.J., XU, J.M., CHEN, Y.Z., LI, J.H., HOLMES, E.C., ZHANG, Y.Z., 2019. Epidemiology and diversity of rickettsiales bacteria in humans and animals in Jiangsu and Jiangxi provinces. China. Sci Rep. 9 (1), 13176. https://doi.org/ 10.1038/s41598-019-49059-3.

333. LUCE-FEDROW, A., WRIGHT, C., GAFF, H. D., SONENSHINE, D. E., HYNES, W. L., & RICHARDS, A. L. (2012). In vitro propagation of Candidatus Rickettsia andeanae isolated from Amblyomma maculatum. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, *64*(1), 74-81.

334. LUEBERT, F., & PLISCOFF, P. (2012). Variabilidad climática y bioclimas de la Región de Valparaíso, Chile. *Investigaciones geográficas*, (44), ág-41.

335. LUO, L., SUN, J., YAN, J., WANG, C., ZHANG, Z., ZHAO, L., ... & YU, X. J. (2016). Detection of a novel Ehrlichia species in Haemaphysalis longicornis tick from China. *Vector-borne and zoonotic diseases*, *16*(6), 363-367.

336. MAGGI, R. G., BIRKENHEUER, A. J., HEGARTY, B. C., BRADLEY, J. M., LEVY, M. G., & BREITSCHWERDT, E. B. (2014). Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasites & vectors*, *7*(1), 1-9.

337. MAGGI, R. G., & BREITSCHWERDT, E. B. (2005). Potential limitations of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of Bartonella species. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(3), 1171-1176.

338. MAGGI, R. G., & KRÄMER, F. (2019). A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. *Parasites & vectors*, *12*(1), 1-37.

339. MAGNARELLI LA, ANDERSON JF, SCHREIER AB ET AL. (1987). Clinical and serologic studies of canine borreliosis. J Am Vet Med Assoc 191:1089–1094

340. MAJOR, L., LINN, M. L., SLADE, R. W., SCHRODER, W. A., HYATT, A. D., GARDNER, J., ... & SUHRBIER, A. (2009). Ticks associated with Macquarie Island penguins carry arboviruses from four genera. *PLoS One*, *4*(2), e4375.

341. 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.

342. MANN, G. (1960). Regiones biogeográficas de Chile. *Investigaciones Zoológicas Chilenas*, *6*, 15-49.

343. MANS, B.J., DE KLERK, D., PIENAAR, R., AND LATIF, A.A. (2011) *Nuttalliella namaqua*: a living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: implications for the evolution of blood-feeding in ticks. PLOS One 6(8):1–11.

344. MARCONI, R.T., LIVERIS, D., SCHWARTZ, I., (1995). Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in Borrelia japonica sp. nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp.nov.)

isolates. J. Clin. Microbiol. 33, 2427–2434.

345. MARCOS-MARCOS, J., OLRY DE LABRY-LIMA, A., TORO-CARDENAS, S., LACASAÑA, M., DEGROOTE, S., RIDDE, V., & BERMUDEZ-TAMAYO, C. (2018). Impact, economic evaluation, and sustainability of integrated vector management in urban settings to prevent vector-borne diseases: a scoping review. *Infectious diseases of poverty*, *7*(1), 1-14.

346. MARGOS, G., FEDOROVA, N., BECKER, N. S., KLEINJAN, J. E., MAROSEVIC, D., KREBS, S., ... & LANE, R. S. (2020b). Borrelia maritima sp. nov., a novel species of the Borrelia burgdorferi sensu lato complex, occupying a basal position to North American species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *70*(2), 849-856.

347. MARGOS, G., FEDOROVA, N., KLEINJAN, J. E., HARTBERGER, C., SCHWAN, T. G., SING, A., & FINGERLE, V. (2017b). Borrelia lanei sp. nov. extends the diversity of Borrelia species in California. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *67*(10), 3872.

348. MARGOS, G., FINGERLE, V., CUTLER, S., GOFTON, A., STEVENSON, B., & ESTRADA-PEÑA, A. (2020a). Controversies in bacterial taxonomy: The example of the genus Borrelia. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *11*(2), 101335.

349. MARGOS, G., GOFTON, A., WIBBERG, D., DANGEL, A., MAROSEVIC, D., LOH, S. M., ... & FINGERLE, V. (2018). The genus Borrelia reloaded. *PloS one*, *13*(12), e0208432.

350. MARGOS, G., HENNINGSSON, A.J., HEPNER, S., MARKOWICZ, M., SING, A., FINGERLE, V. (2023). *Borrelia* Ecology, Evolution, and Human Disease: A Mosaic of Life. In: Sing, A. (eds) Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_49-1

351. MARGOS, G., HENNINGSSON, A. J., MARKOWICZ, M., & FINGERLE, V. (2022). Borrelia Ecology and Evolution: Ticks and Hosts and the Environment. *Microorganisms*, *10*(8), 1513.

352. MARGOS, G., MAROSEVIC, D., CUTLER, S., DERDAKOVA, M., DIUK-

WASSER, M., EMLER, S., ... & FINGERLE, V. (2017). There is inadequate evidence to support the division of the genus Borrelia. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *67*(4), 1081-1084.

353. MARGOS G, VOLLMER SA, OGDEN NH, FISH D (2011) Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of Borrelia burgdorferi sensu lato. Infect Genet Evol 11(7):1545–1563.

354. MARGOS, G., PIESMAN, J., LANE, R. S., OGDEN, N. H., SING, A., STRAUBINGER, R. K., y FINGERLE, V. (2014). *Borrelia kurtenbachii* sp.nov., a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferisensu* lato species complex in North America. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 64(1), 128-130.

355. MARGOS, G., VOLLMER, S.A., CORNET, M., GARNIER, M., FINGERLE, V., WILSKE, B., BORMANE, A., VITORINO, L., COLLARES-PEREIRA, M., DRANCOURT, M., KURTENBACH, K., (2009). A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. Appl. Environ. Microbiol. 75, 5410–5416.

356. MARGOS, G., WORMSER, G. P., SCHWARTZ, I., MARKOWICZ, M., HENNINGSSON, A. J., LIENHARD, R., ... & GÖKER, M. (2022). Evidence of taxonomic bias in public databases: The example of the genus Borrelia. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *13*(5), 101994.

357. MARÍN-VIAL, P., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., CELIS-DIEZ, J. L., CATTAN, P. E., y GUGLIELMONE, A. A. (2007). Presence of *Ixodes neuquenensis* Ringuelet, 1947 (Acari: Ixodidae) on the endangered Neotropical marsupial Monito del monte (*Dromiciops gliroides* Thomas, 1894, Microbiotheria: Microbiotheriidae) at Chiloé Island, Chile. *European Journal of Wildlife Research*, *53*(1), 73-75.

358. MÁRQUEZ-JIMÉNEZ FJ, A HIDALGO-PONTIVEROS, F CONTRERAS-CHOVA, JJ RODRÍGUEZ-LIÉBANA, MA MUNIAIN-EZCURRA. (2005). Las garrapatas (*Acarina: Ixodida*) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 23, 94-102.

359. MARRELLI, M.T., SOUZA, L.F., MARQUES, R.C., LABRUNA, M.B., MATIOLI, S.R., TONON, A.P., RIBOLLA, P.E., MARINOTTI, O., AND SCHUMAKER, T.T. (2007) Taxonomic and phylogenetic relationships between neotropical species of ticks from genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) inferred from second inter- nal transcribed spacer sequences of rDNA. J. Med. Entomol. 44:222–228.

360. MARTÍNEZ, G. A., ARANA, M. D., OGGERO, A. J., & NATALE, E. S. (2017). Biogeographical relationships and new regionalisation of high-altitude grasslands and woodlands of the central Pampean Ranges (Argentina), based on vascular plants and vertebrates. *Australian Systematic Botany*, *29*(6), 473-488.

361. MARTÍNEZ-CABALLERO, A., MORENO, B., GONZÁLEZ, C., MARTÍNEZ, G., ADAMES, M., PACHAR, J. V., ... & BERMÚDEZ, S. (2018). Descriptions of two new cases of Rocky Mountain spotted fever in Panama, and coincident infection with Rickettsia rickettsii in Rhipicephalus sanguineus sl in an urban locality of Panama City, Panama. *Epidemiology & Infection*, *146*(7), 875-878.

362. MARTINS, J. R., R. L. DOYLE, D. M. BARROS-BATTESTI, V.C. ONOFRIO y A. A. GUGLIELMONE. (2011). Ocurrence of *Ornithodoros brasiliensis* Aragao (Acari: Argasidae) in Sao Francisco de Paula, RS, Southern Brazil. Neo. Entomol. 40: 143-144.

363. MASSUNG RF, LEE K, MAUEL M, GUSA A. Characterization of the rRNA genes of Ehrlichia chaffeensis and Anaplasma phagocytophila. DNA Cell Biol. 2002; 21(8):587–96.

364. MASTROPAOLO, M., ORCELLET, V. M., GUGLIELMONE, A. A., & MANGOLD, A. J. (2008). *Ixodes parariciпus* Keirans & Clifford 1985 y *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844 [Acari: Ixodidae]. nuevos registros para Argentina y Chile. *Revista FAVE. Sección Ciencias Veterinarias*, *7*(1-2).

365. MASUZAWA, T., TAKADA, N., KUDEKEN, M., FUKUI, T., YANO, Y., ISHIGURO, F., KAWAMURA, Y., IMAI, Y., EZAKI, T., (2001). *Borrelia sinica* sp. nov., a Lyme disease-related Borrelia species isolated in China. Int J Syst Evol Microbiol 51 (Pt5), 1817–1824.

366. MATTEUCCI, S. D., SILVA, M. E., & RODRÍGUEZ, A. F. (2016).

Clasificaciones de la tierra:¿ provincias fitogeográficas, ecorregiones o paisajes?.

367. MATHER, T. N. y MATHER, M. E. (1990). Intrinsic competence of three ixodid ticks (Acari) as vectors of the Lyme disease spirochete. *J. Med. Entomol.* **27**, 646–650 (1990).

368. MATHERS, A., SMITH, R. P., CAHILL, B., LUBELCZYK, C., ELIAS, S. P., LACOMBE, E., ET AL. (2011). Strain diversity of *Borrelia burgdorferi* in ticks dispersed in North America by migratory birds. *J Vecto Ecol, 36*(1), 24-29.

369. MAVROMATIS, K., DOYLE, C. K., LYKIDIS, A., IVANOVA, N., FRANCINO, M. P., CHAIN, P., ... & KYRPIDES, N. C. (2006). The genome of the obligately intracellular bacterium Ehrlichia canis reveals themes of complex membrane structure and immune evasion strategies. *Journal of bacteriology*, *188*(11), 4015-4023.

370. MCBRIDE, J. W., CORSTVET, R. E., GAUNT, S. D., CHINSANGARAM, J., AKITA, G. Y., & OSBURN, B. I. (1996). PCR detection of acute Ehrlichia canis infection in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *8*(4), 441-447.

371. MCLAIN, D.K., WESSON, D.M., COLLINS, F.H., AND OLIVER, J.H., JR. (1995) Evolution of the rDNA spacer, *ITS* 2, in the ticks *Ixodes scapularis* and *I. pacificus* (Acari: Ixodidae). Heredity 75:303–319.

372. MEDLOCK, J. M., & LEACH, S. A. (2015). Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *The Lancet Infectious Diseases*, *15*(6), 721-730.

373. MELO, A. L., ALVES, A. S., NIERI-BASTOS, F. A., MARTINS, T. F., WITTER, R., PACHECO, T. A., ... & AGUIAR, D. M. (2015). Rickettsia parkeri infecting free-living Amblyomma triste ticks in the Brazilian Pantanal. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *6*(3), 237-241

374. MERHEJ, V., ANGELAKIS, E., SOCOLOVSCHI, C., & RAOULT, D. (2014). Genotyping, evolution and epidemiological findings of Rickettsia species. *Infection, Genetics and Evolution*, *25*, 122-137.

375. MERHEJ, V., & RAOULT, D. (2011). Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biological reviews*, *86*(2), 379-405.

376. MESERVE, P. L., & KELT, D. A. (1990). The role of aridity and isolation on central Chilean small mammals: a reply to Caviedes & Iriarte (1989). *Journal of Biogeography*, 681-68

377. MILLÁN, J., CEVIDANES, A., SACRISTÁN, I., ALVARADO-RYBAK, M., SEPÚLVEDA, G., RAMOS-MELLA, C. A., & LISÓN, F. (2019). Detection and characterization of hemotropic mycoplasmas in bats in Chile. *Journal of wildlife diseases*, *55*(4), 977-981.

378. MILLÁN, J., SEPÚLVEDA, P., DI CATALDO, S., CANALES, N., SALLABERRY-PINCHEIRA, N., PAINEAN, J., ... & MÜLLER, A. (2023). Molecular identification of Bartonella spp. and Rickettsia felis in fox fleas, Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 101983.

379. MILLAR B.C., XU J. MOORE J.E. (2003). Molecular Diagnostics of Medically Important Bacterial Infections. Curr. Issues Mol. Biol., 9:21-40.

380. MILLS, J. N., T. L. YATES, J. E. CHILDS, R. R. PARMENTER, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN y C. J. PETERS. (1995). Guidelines for working with rodents potentially infected with Hantavirus. J. Mammal. 76(3):716-722

381. MIXON, T.R., LYDY, S.L., DASCH, G.A., AND REAL, L.A. (2006) Inferring the population structure and demographic history of the tick, *Amblyomma americanum* Linnaeus. J. Vector Ecol. 31:181–192.

382. MIXSON, T. R., CAMPBELL, S. R., GILL, J. S., GINSBERG, H. S., REICHARD, M. V., SCHULZE, T. L., & DASCH, G. A. (2006). Prevalence of Ehrlichia, Borrelia, and Rickettsial agents in Amblyomma americanum (Acari: Ixodidae) collected from nine states. *Journal of medical entomology*, *43*(6), 1261-1268.

383. MONGE-NÁJERA, J. (2008). BIOGEOGRAFIA ECOLOGICA: REVISION CON ENFASIS EN CONSERVACION Y EL MODELO NATURAL". *Gayana (Concepción)*, *72*(1), 102-112.

384. MONJE, L. D., FERNANDEZ, C., & PERCARA, A. (2019). Detection of Ehrlichia sp. strain San Luis and Candidatus Rickettsia andeanae in Amblyomma parvum ticks. *Ticks and tick-borne diseases*, *10*(1), 111-114

385. MONTAGNA M, SASSERA D, EPIS S, BAZZOCCHI C, VANNINI C, LO N, SACCHI L, FUKATSU T, PETRONI G, BANDI C. 2013. “Candidatus Midichloriaceae” fam. nov. (Rickettsiales), an ecologically widespread clade of intracellular alphaproteobacteria. Appl Environ Microbiol 79:3241–3248. https://doi .org/10.1128/AEM.03971-12.

386. MONTES, F. O., DORADO, J. S., ESPINAR, C. P., y EZCURRA, M. M. (2014). Infecciones producidas por Borrelias: enfermedad de Lyme y fiebre recurrente. Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 11(51), 3009-3017

387. MORAES FILHO J, KRAWCZAK FS, COSTA FB, SOARES JF, LABRUNA MB. (2015). Comparative evaluation of the vector competence of four South American populations of the Rhipicephalus sanguineus Group for the bacterium Ehrlichia canis, the agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. Plos One 10: e0139386.

388. MORENO, O. S. (2018). Una propuesta pedagógica para el aprendizaje de la transformación climática de Chile en el contexto del cambio global. *Revista de Historia y Geografía*, (39), 121-141.

389. MORENO, L.; D. GONZÁLEZ-ACUÑA. (2015). *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato en Chile. Revista Parasitología Latinoamericana 64: 68-75

390. MORENO-SALAS, L., ESPINOZA-CARNIGLIA, M., LIZAMA-SCHMEISSER, N., TORRES-FUENTES, L. G., SILVA-DE LA FUENTE, M. C., LARESCHI, M., & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2020). Molecular detection of Rickettsia in fleas from micromammals in Chile. *Parasites & Vectors*, *13*(1), 1-21.

391. MORI, E., PISANU, B., ZOZZOLI, R., SOLANO, E., OLIVIERI, E., SASSERA, D., & MONTAGNA, M. (2018). Arthropods and associated pathogens from native and introduced rodents in Northeastern Italy. *Parasitology research*, *117*(10), 3237-3243.

392. MORRISON T.B., MA Y., WEIS J.H., WEIS J.J. (1999). Rapid and sensitive quantification of Borrelia burgdorferi-infected mouse tissues by continuous fluorescent monitoring of PCR. J. Clin. Microbiol., 37:987-992.

393. MORRONE, J. J. (2006). Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annu. Rev. Entomol.*, *51*, 467-494.

394. MORRONE, J. J. (2014). Cladistic biogeography of the N eotropical region: identifying the main events in the diversification of the terrestrial biota. *Cladistics*, *30*(2), 202-214.

395. MORRONE, J. J. (2018). *Evolutionary biogeography of the Andean region*. CRC Press.

396. MORRONE, J. J. (2020). What Is a Biogeographic Transition Zone?. In *The Mexican Transition Zone* (pp. 1-20). Springer, Cham.

397. MORSHED, M. G., SCOTT, J. D., FERNANDO, K., BEATI, L., MAZEROLLE, D. F., GEDDES, G., & DURDEN, L. A. (2005). Migratory songbirds disperse ticks across Canada, and first isolation of the Lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi, from the avian tick, Ixodes auritulus. *Journal of Parasitology*, *91*(4), 780-790.

398. MÜLLER, A., GUTIÉRREZ, R., SEGUEL, M., MONTI, G., OTTH, C., BITTENCOURT, P., ... & HARRUS, S. (2020). Molecular survey of Bartonella spp. in rodents and fleas from Chile. *Acta Tropica*, *212*, 105672.

399. MÜLLER, A., MONTI, G., OTTH, C., SEPÚLVEDA, P., BITTENCOURT, P., NACHUM-BIALA, Y., GUTIÉRREZ, R., HARRUS, S., (2018b). "*Candidatus* Neoehrlichia chilensis" sp. nov.: molecular detection and characterization of a novel Anaplasmataceae in wild rodents from Valdivia, southern Chile. Transbound. Emerg. Dis. 65, 357–362. https://doi.org/10.1111/tbed. 12815.

400. MÜLLER, A., RODRÍGUEZ, E., WALKER, R., BITTENCOURT, P., PÉREZ-MACCHI, S., GONÇALVES, L. R., ... & ANDRÉ, M. R. (2018a). Occurrence and genetic diversity of Bartonella spp.(Rhizobiales: Bartonellaceae) and Rickettsia spp.(Rickettsiales: Rickettsiaceae) in cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) from Chile. *Journal of medical entomology*, *55*(6), 1627-1632.

401. MÜLLER, A., WALKER, R., BITTENCOURT, P., MACHADO, R. Z., BENEVENUTE, J. L., DO AMARAL, R. B., ... & ANDRÉ, M. R. (2017).

Prevalence, hematological findings and genetic diversity of Bartonella spp. in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Parasitology*, *144*(6), 773-782.

402. MUNRO, H.J., ET AL., 2019. Genetic diversity of *Borrelia garinii* from *Ixodes uriae* collected in seabird colonies of the northwestern Atlantic Ocean. Ticks Tick. Borne. Dis. 10, 101255.

403. MUÑOZ-LEAL, S., CLEMES, Y. S., LOPES, M. G., ACOSTA, I. C., SERPA, M. C. A., MAYORGA, L. F. S., ... & LABRUNA, M. B. (2019b). Novel Ehrlichia sp. detected in Magellanic penguins (Sphenicus magellanicus) and in the seabird tick Ixodes uriae from Magdalena Island, southern Chile. *Ticks and tick-borne diseases*, *10*(6), 101256.

404. MUÑOZ-LEAL, S., FACCINI-MARTÍNEZ, Á. A., COSTA, F. B., MARCILI, A., MESQUITA, E. T., MARQUES JR, E. P., & LABRUNA, M. B. (2018). Isolation and molecular characterization of a relapsing fever Borrelia recovered from Ornithodoros rudis in Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, *9*(4), 864-871.

405. MUÑOZ-LEAL, S., y GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2015). The tick Ixodes uriae (Acari: Ixodidae): Hosts, geographical distribution, and vector roles. *Ticks and tick-borne diseases*, *6*(6), 843-868.

406. MUÑOZ-LEAL, S., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., BELTRÁN-SAAVEDRA, L. F., LIMACHI, J. M., y GUGLIELMONE, A. A. (2014). *Amblyomma parvitarsum* (Acari: Ixodidae): localities, hosts and host-parasite ecology. *Experimental and applied acarology*, *62*(1), 91-104

407. MUÑOZ-LEAL, S., LOPES, M. G., MARCILI, A., MARTINS, T. F., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., & LABRUNA, M. B. (2019a). Anaplasmataceae, *Borrelia* and *Hepatozoon* agents in ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from Chile. *Acta Tropica*, *192*, 91-103.

408. MUÑOZ-LEAL, S., MARCILI, A., FUENTES-CASTILLO, D., AYALA, M., & LABRUNA, M. B. (2019c). A relapsing fever *Borrelia* and spotted fever *Rickettsia* in ticks from an Andean valley, central Chile. *Experimental and Applied Acarology*, *78*(3), 403-420.

409. MUÑOZ-LEAL, S., MARTINS, T. F., LUNA, L. R., RODRIGUEZ, A., & LABRUNA, M. B. (2018). A new collection of Amblyomma parvitarsum (Acari:

Ixodidae) in Peru, with description of a Gynandromorph and report of Rickettsia detection. *Journal of medical entomology*, *55*(2), 464-467

410. MUÑOZ-LEAL, S., RAMIREZ, D. G., LUZ, H. R., FACCINI, J. L., & LABRUNA, M. B. (2020). “Candidatus Borrelia ibitipoquensis,” a Borrelia valaisiana–related genospecies characterized from Ixodes paranaensis in Brazil. *Microbial ecology*, *80*(3), 682-689.

411. MUÑOZ-LEAL, S., TOLEDO, L. F., VENZAL, J. M., MARCILI, A., MARTINS, T. F., ACOSTA, I. C., ... & LABRUNA, M. B. (2017). Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: Ornithodoros) associated with stream-breeding frogs (Anura: Cycloramphidae: Cycloramphus) in Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, *8*(5), 682-692.

412. MUÑOZ-LEAL, S., VENZAL, J. M., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., NAVA, S., LOPES, M. G., MARTINS, T. F., y LABRUNA, M. B. (2016). A new species of *Ornithodoros* (Acari: Argasidae) from desert areas of northern Chile. *Ticks and tick-borne diseases 7*, 901-910.

413. MUÑOZ-LEAL, S., VENZAL, J. M., NAVA, S., MARCILI, A., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MARTINS, T. F., & LABRUNA, M. B. (2020b). Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: Ornithodoros) parasite of Octodon degus (Rodentia: Octodontidae) in northern Chile. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(3), 101385

414. MUÑOZ, L., y CASANUEVA, M. E. (2002). Garrapatas (Acari: Ixodidae) en perros de la ciudad de Concepción, Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, *34*(1), 131-134

415. MURRAY, G. G., WEINERT, L. A., RHULE, E. L., & WELCH, J. J. (2016). The phylogeny of Rickettsia using different evolutionary signatures: how tree-like is bacterial evolution?. *Systematic Biology*, *65*(2), 265-279

416. NAIMI, B., HAMM, N. A., GROEN, T. A., SKIDMORE, A. K., & TOXOPEUS, A. G. (2014). Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling?. *Ecography*, *37*(2), 191-203.

417. NAVA S, MASTROPAOLO M, VENZAL JM, MANGOLD AJ, GUGLIELMONE AA. (2012). Mitochondrial DNA analysis of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South

America. Vet. Parasitol. 190: 547-555.

418. NAVA, S., A. A. GUGLIELMONE y A. J. MANGOLD. (2009). An overview of systematics and evolution of ticks. Front. Biosci. 14:2857–2877.

419. NAVA, S., BARBIERI, A. M., MAYA, L., COLINA, R., MANGOLD, A. J., LABRUNA, M. B., y VENZAL, J. M. (2014). Borrelia infection in Ixodes parariciņus ticks (Acari: Ixodidae) from northwestern Argentina. Acta tropica, 139, 1-4.

420. NAVA, S., LARESCHI, M., REBOLLO, C., BENÍTEZ USHER, C., BEATI, L., ROBBINS, R. G., ... & GUGLIELMONE, A. A. (2007). The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Paraguay. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, *101*(3), 255-270.

421. NAVA, S., SZABÓ, M.P., MANGOLD, A.J., AND GUGLIELMONE, A.A. (2008) Distribution, hosts, 16S rDNA sequences, and phylogenetic position of the Neotropical tick *Amblyomma parvum*. Ann. Trop. Med. Parasitol. 102:409–425.

422. NAVA, S., VENZAL, J. M., ACUŊA, D. G., MARTINS, T. F., y GUGLIELMONE, A. A. (2017). *Ticks of the Southern Cone of America: Diagnosis, Distribution, and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance*. Academic Press.

423. NDIP L M, LABRUNA M, NDIP R N, WALKER D H, MCBRIDE J W. (2010). Molecular and clinical evidence of *Ehrlichia chaffeensis* infection in cameroonian patients with undifferentiated febrile illness. Ann Trop Med Parasitol; 103 (8): 719-25. doi: 10.1179/000349809X12554106963753

424. NEEDHAM, G. R., & TEEL, P. D. (1991). Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annual review of entomology*, *36*(1), 659-681.

425. NEIRA QUIROGA, O., CERDA AGUILAR, C., ALVARADO G, M. A., PALMA C, S., ABUMOHOR GIDI, P., WAINSTEIN GUROVICH, E., ... & FREDES M, F. (1996). Enfermedad de Lyme en Chile: estudio de prevalencia en grupos seleccionados. *Rev. Méd. Chile*, 537-44.

426. NEUMANN L.G. (1911). Ixodidae. Das Tierreich (26). pp. 169.

427. NEUMANN, L.G. (1899). Révision de la famille des ixodidés(3^{e} mémoire). Mém. Soc. Zool. Fr., 12: 107-294

428. NEUMANN, L.G. (1904). Notes sur les ixodidés. III. Arch. Parasitol., 9: 225-241

429. NIERI-BASTOS, F. A., LOPES, M. G., CANÇADO, P. H. D., ROSSA, G. A. R., FACCINI, J. L. H., GENNARI, S. M., & LABRUNA, M. B. (2014). Candidatus Rickettsia andeanae, a spotted fever group agent infecting Amblyomma parvum ticks in two Brazilian biomes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *109*, 259-261.

430. NORRIS, D.E., KLOMPEN, J.S.H., KEIRANS, J.E., AND BLACK, W.C., IV (1996) Population genetics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes. J. Med. Entomol. 33:78–89.

431. NORTE, A.C., ET AL., (2020). Host dispersal shapes the population structure of a tick-borne bacterial pathogen. Mol. Ecol. 29, 485–501.

432. NOVAKOVA, M., COSTA, F. B., KRAUSE, F., LITERAK, I., & LABRUNA, M. B. (2016). Rickettsia vini n. sp.(Rickettsiaceae) infecting the tick Ixodes arboricola (Acari: Ixodidae). *Parasites & Vectors*, *9*(1), 1-8.

433. NOVÁKOVÁ, M., & ŠMAJS, D. (2018). Rickettsial endosymbionts of ticks. *Ticks Tick Borne Pathog*.

434. NÚÑEZ, M. A., CONTRERAS, K., DEPIX, M. S., GEOFFROY, E., VILLAGRA, N., MELLADO, S., & SALINAS, A. M. (2017). Prevalencia de Bartonella henselae en donantes de sangre y riesgo de transmisión sanguínea en Chile. *Revista chilena de infectología*, *34*(6), 539-543.

435. NUTTALL, G.H.F. (1916). Notes on ticks. IV. Relating to the genus *Ixodes* and including description of three new species and two varieties. Parasitology, 8: 294-337.

436. OGATA, H., AUDIC, S., RENESTO-AUDIFFREN, P., FOURNIER, P. E., BARBE, V., SAMSON, D., ... & RAOULT, D. (2001). Mechanisms of evolution in Rickettsia conorii and R. prowazekii. *Science*, *293*(5537), 2093-2098

437. OGDEN, N. H., LINDSAY, L. R., BEAUCHAMP, G., CHARRON, D., MAAROUF, A. O'CALLAGHAN, C. J., ... & BARKER, I. K. (2004). Investigation of relationships between temperature and developmental rates

of tick Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *Journal of medical entomology*, *41*(4), 622-633.

438. OGDEN, N. H., LINDSAY, L. R., MORSHED, M., SOCKETT, P. N., y ARTSOB, H. (2009). The emergence of Lyme disease in Canada. *Canadian Medical Association Journal*, *180*(12), 1221-1224.

439. OGRZEWALSKA, M., NIERI-BASTOS, F. A., MARCILI, A., NAVA, S., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MUÑOZ-LEAL, S., ... & LABRUNA, M. B. (2016). A novel spotted fever group Rickettsia infecting *Amblyomma parvitarsum* (Acari: Ixodidae) in highlands of Argentina and Chile. *Ticks and tick-borne diseases*, *7*(3), 439-442.

440. OHNISHI J, PIESMAN J, DE SILVA AM. PIESMAN J, DE SILVA AM. (2001). Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks. Proc Natl Acad Sci USA 98: 670-675.

441. OLALQUIAGA FAURE G. (1951). Tres garrapatas de Chile. Agric. Técn. 10: 55.

442. OLANO, J. P., HOGREFE, W., SEATON, B., & WALKER, D. H. (2003). Clinical manifestations, epidemiology, and laboratory diagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis in a commercial laboratory setting. *Clinical and Vaccine Immunology*, *10*(5), 891-896.

443. OLMEDA-GARCÍA AS, RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ JA, ROJO-VÁZQUEZ FA. (1993) Experimental transmission of *Dipetalonema dracunculoides* (Cobbold 1870) by *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806). Vet Parasitol. 47:339-422.

444. OLSÉN, B., JAENSON, T. G., NOPPA, L., BUNIKIS, J., & BERGSTRÖM, S. (1993). A Lyme borreliosis cycle in seabirds and Ixodes uriae ticks. *Nature*, *362*(6418), 340-342.

445. OMAZIC, A., BYLUND, H., BOQVIST, S., HÖGBERG, A., BJÖRKMAN, C., TRYLAND, M., ... & ALBIHN, A. (2019). Identifying climate-sensitive infectious diseases in animals and humans in Northern regions. *Acta veterinaria scandinavica*, *61*(1), 1-12

446. ONOFRIO, V. C., VENZAL, J. M., PINTER, A. y SZABÓ, M. P. J. (2006) Familia Ixodidae: Caracteristicas gerais, comentários e chave para

gêneros. En M. A. Barros-Batesti DM, Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. . *São Paulo: ICTTD-3/Butantan.*, 155-162

447. 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 Argentine. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol*, *70*(1), 42-48.

448. OSORIO G. (2001). Búsqueda de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* sensu lato mediante PCR en garrapatas ixoideas (sic) chilenas silvestres. Rev. Méd. Chil. 129: 270–276.

449. OSTFELD RS, CD CANHAM, K OGGENFUSS, RJ WINCHCOMBE, F KEESING. (2006). Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in Lyme-disease risk. *PLoS Biol* 4, 1058- 1068.

450. OYARZÚN-RUIZ, P., ESPINOZA-CARNIGLIA, M., REIDEMBACH, S., MUÑOZ, P., & MORENO, L. (2021). Expansion in the latitudinal distribution of Rhipicephalus sanguineus sensu stricto (Acari: Ixodidae) to southern Chile. *Experimental and Applied Acarology*, *83*(1), 107-114.

451. PACHECO, A., CORDEIRO, M. D., CEPEDA, M. B., LUZ, H. R., CARDOZO, S. V., BERTO, B. P., ... & FONSECA, A. H. D. (2019). Hemoparasites in ticks of wild birds of Serra dos Órgãos National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *28*, 238-244.

452. 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*(1), 63-71.

453. PADDOCK, C. D., FOLK, S. M., SHORE, G. M., MACHADO, L. J., HUYCKE, M. M., SLATER, L. N., ... & CHILDS, J. E. (2001). Infections with Ehrlichia chaffeensis and Ehrlichia ewingii in persons coinfected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases*, *33*(9), 1586-1594.

454. PARIJA, S. C. (2023). Rickettsia, Orientia, Ehrlichia and Coxiella. In *Textbook of Microbiology and Immunology* (pp. 641-652). Singapore:

Springer Nature Singapore.

455. PAROLA P, DAVOUST B, RAOULT D. (2005). Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet Res*.36:469–92. 10.1051/vetres:2005004

456. PAROLA, P., DIATTA, G., SOCOLOVSCHI, C., MEDIANNIKOV, O., TALL, A., BASSENE, H., ... & RAOULT, D. (2011). Tick-borne relapsing fever borreliosis, rural Senegal. *Emerging infectious diseases*, *17*(5), 883.

457. PAROLA P, PADDOCK CD, SOCOLOVSCHI C, LABRUNA MB, MEDIANNIKOV O, KERNIF T, ABDAD MY, STENOS J, BITAM I, FOURNIER PE, RAOULT D. (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic ap- proach. Clin Microbiol Rev 26:657–702.

458. PAROLA, P., y RAOULT, D. (2001a). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, *32*(6), 897-928.

459. PAROLA, P., & RAOULT, D. (2001b). Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clinical microbiology and infection*, *7*(2), 80-83.

460. PASCOE, E. L., NAVA, S., LABRUNA, M. B., PADDOCK, C. D., LEVIN, M. L., MARCANTONIO, M., & FOLEY, J. E. (2022). Predicting the northward expansion of tropical lineage Rhipicephalus sanguineus sensu lato ticks in the United States and its implications for medical and veterinary health. *PloS one*, *17*(8), e0271683.

461. PEARSON RG, DAWSON TP, BERRY PM, HARRISON PA. (2002) SPECIES: a spatial evaluation of climate impact on the envelope of species. Ecol Model. 154:289–300.

462. PÉREZ-MARTÍNEZ, L., VENZAL, J. M., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., PORTILLO, A., BLANCO, J. R., & OTEO, J. A. (2009). Bartonella rochalimae and other Bartonella spp. in fleas, Chile. *Emerging Infectious Diseases*, *15*(7), 1150.

463. PERLMAN, S. J., HUNTER, M. S., & ZCHORI-FEIN, E. (2006). The emerging diversity of Rickettsia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *273*(1598), 2097-2106.

464. PÉREZ, L. C., & ARCE, J. D. (2007). Nódulos parasitarios cutáneos: estudio ultrasonográfico de tres casos poco frecuentes en la edad

pediátrica. *Revista chilena de radiología*, *13*(3), 163-168.

465. PEROTTI, B. M. A., CLARKE, H. K., TURNER, B. D., BRAIG, H. R., PEROTTI, B. M. A., CLARKE, H. K., ... & BRAIG, H. R. (2006). Rickettsia as obligate and mycetomic. *The FASEB journal*, *20*(13), 2372-2374

466. PETERSON AT, SOBERÓN J, SÁNCHEZ-CORDERO V. (1999) Conservatism of ecological niches in evolutionary time. Science. 285:1265–7.

467. PILGRIM, J., SIOZIOS, S., BAYLIS, M., & HURST, G. D. (2020). Tissue tropisms and transstadial transmission of a rickettsia endosymbiont in the highland midge, culicoides impunctatus (Diptera: Ceratopogonidae). *Applied and environmental microbiology*, *86*(20), e01492-20.

468. POO-MUÑOZ, D. A., ELIZONDO-PATRONE, C., ESCOBAR, L. E., ASTORGA, F., BERMÚDEZ, S. E., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., ... & MEDINA-VOGEL, G. (2016). Fleas and ticks in carnivores from a domestic–wildlife interface: implications for public health and wildlife. *Journal of medical entomology*, *53*(6), 1433-1443.

469. PORCELLA SF, TG SCHWAN. (2001). Borrelia burgdorferi and Treponema pallidum: a comparison of functional genomics, environmental adaptations, and pathogenic mechanisms. J Clin Invest 107, 651–656.

470. POSTIC, D., GARNIER, M., BARANTON, G., (2007). Multilocus sequence analysis of atypical Borrelia burgdorferi sensu lato isolates–description of Borrelia californiensis sp. nov., and genomospecies 1 and 2 *International journal of medical microbiology*, *297*(4), 263-271.

471. POULIN, R. (2014). Parasite biodiversity revisited: Frontiers and constraints. *International Journal for Parasitology* 44:581-589.

472. POULIN, R., KRASNOV, B.R., MOUILLOT, D., THIELTGES, D.W. (2011). The compara- tive ecology and biogeography of parasites. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 366(1576):2379-2390

473. PRITT, B. S., ALLERDICE, M. E., SLOAN, L. M., PADDOCK, C. D., MUNDERLOH, U. G., RIKIHISA, Y., ... & KARPATHY, S. E. (2017). Proposal to reclassify Ehrlichia muris as Ehrlichia muris subsp. muris subsp. nov. and

description of Ehrlichia muris subsp. eauclairensis subsp. nov., a newly recognized tick-borne pathogen of humans. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *67*(7), 2121-2126.

474. PRITT, B. S., RESPICIO-KINGRY, L. B., SLOAN, L. M., SCHRIEFER, M. E., REPLOGLE, A. J., BJORK, J., ... y SCHIFFMAN, E. (2016). Borrelia mayonii sp. nov., a member of the Borrelia burgdorferisensu lato complex, detected in patients and ticks in the upper midwestern United States. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *66*(11), 4878-4880.

475. QIN Q-L, XIE B-B, ZHANG X-Y, CHEN X-L, ZHOU B-C, ZHOU J, OREN A, ZHANG Y-Z. A proposed genus boundary for the prokaryotes based on genomic insights. J Bacteriol. 2014;196:2210–5.

476. QUINN, G. P., & KEOUGH, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge university press.

477. RAGHAVAN RK, PETERSON AT, COBOS ME, GANTA R, FOLEY D. 2019. Current and future distribution of the lone star tick, Amblyomma americanum (L.) (Acari: Ixodidae) in North America. PLOS ONE 14(1):e0209082 DOI 10.1371/journal.pone.0209082.

478. RAINEY, T., OCCI, J. L., ROBBINS, R. G., & EGIZI, A. (2018). Discovery of Haemaphysalis longicornis (Ixodida: Ixodidae) parasitizing a sheep in New Jersey, United States. *Journal of medical entomology*, *55*(3), 757-759.

479. RALPH, C. J., E. H. DUNN, W. J. PEACH y C. M. HANDEL. (2004). Recommendations for the use of mist nets for inventory and monitoring of bird populations. Stud. Avian Biol. 29:187-196.

480. RAMÍREZ., A. (2014). Identificación Molecular y Análisis de la Relación Filogenética de Especies de Rickettsias Presentes en Garrapatas Provenientes de Tres Regiones de Colombia. Tesis Magister. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina. Bogotá D.C., Colombia.

481. RANDOLPH, S. E. (1997). Abiotic and biotic determinants of the seasonal dynamics of the tick Rhipicephalus appendiculatus in South Africa. *Medical and Veterinary Entomology*, *11*(1), 25-37

482. RANDOLPH, S. E. (2004). Evidence that climate change has caused 'emergence'of tick-borne diseases in Europe?. *International Journal of Medical Microbiology Supplements*, *293*, 5-15.

483. RAOULT, D., & ROUX, V. (1997). Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical microbiology reviews*, *10*(4), 694-719.

484. RAR, V., & GOLOVLJOVA, I. (2011). Anaplasma, Ehrlichia, and "Candidatus Neoehrlichia" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution*, *11*(8), 1842-1861.

485. RAR, V., TKACHEV, S., & TIKUNOVA, N. (2021). Genetic diversity of Anaplasma bacteria: twenty years later. *Infection, Genetics and Evolution*, *91*, 104833.

486. REICZIGEL, J., MAROZZI, M., FÁBIÁN, I., & RÓZSA, L. (2019). Biostatistics for parasitologists–a primer to quantitative parasitology. *Trends in parasitology*, *35*(4), 277-281.

487. RENESTO, P.; LORVELLEC-GUILLON, K.; DRANCOURT, M y RAOULT, D. (2000). rpoB gene analysis as a novel strategy for identification of spirochetes from the genera Borrelia, Treponema and Leptospira. Journal of Clinical Microbiology, 38: 2200-2203

488. RENVOISÉ, A., JOLIOT, A. Y., & RAOULT, D. (2009). Rickettsia felis infection in man, France. *Emerging infectious diseases*, *15*(7), 1126.

Richter, D., Postic, D., Sertour, N., Livey, I., Matuschka, F. R., & Baranton, G. (2006). Delineation of Borrelia burgdorferi sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of Borrelia spielmanii sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *56*(4), 873-881.

489. RICKETTS, H. T. (1907). THE ROLE OF THE WOOD-TICK (DERMACENTOR OCCIDENTALIS) IN ROCKY MOUNTAIN SPOTTED FEVER, AND THE SUSCEPTIBILITY OF LOCAL ANIMALS TO THIS DISEASE—A PRELIMINARY REPORT. *Journal of the American Medical Association*, *49*(1), 24-27.

490. RIKIHISA, Y. (2006). New findings on members of the family Anaplasmataceae of veterinary importance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1078*(1), 438-445.

491. RINGUELET, R. A. (1947). La supuesta presencia de IxodesBrunneus koch en la Argentina y descripción de una nueva garrapata, Ixodes Neuquenensis nov. sp. Coní.

492. ROBBINS, R.G., SORKIN, L.N. y VUILLEUMIER, F. (2001). First report of *Ixodes auritulus* Neumann (Acari: Ixodida: Ixodidae) from the blacklish cinclodes, *Cinclodes antarcticus* (Garnot) (Aves: Passeriformes: Furnariidae), with additional reords of parasitism of *Cinclodes* spp. By this tick species. Proc. Entomol. Soc. Wash., 103: 265-268.

493. ROHDE, K. (1992). Latitudinal gradients in species the search for the diversity: primary cause. *Oikos* 65:514-527

494. ROMER, Y., BORRÁS, P., GOVEDIC, F., NAVA, S., CARRANZA, J. I., SANTINI, S., ... & LLOVERAS, S. (2020). Clinical and epidemiological comparison of Rickettsia parkeri rickettsiosis, related to Amblyomma triste and Amblyomma tigrinum, in Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(4), 101436.

495. ROUX V, RAOULT D. 2000. Phylogenetic analysis of mem- bers of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). *Int J Syst Evol Microbiol* 50:1449–1455.

496. RUDENKO, N., GOLOVCHENKO, M., GRUBHOFFER, L., OLIVER JR., J.H., (2009b). Borrelia carolinensis sp. nov. – A new (14th) member of *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex from the southeastern United States. J. Clin. Microbiol. 47, 134–141.

497. RUDENKO, N., GOLOVCHENKO, M., GRUBHOFFER, L., OLIVER, J.H., (2011a). Updates on Borrelia burgdorferi sensu lato complex with respect to public health. Ticks Tick. Borne. Dis. 2, 123– 128. doi:10.1016/j.ttbdis.2011.04.002

498. RUDENKO N, GOLOVCHENKO M, GRUBHOFFER L, OLIVER JH JR (2011b) Borrelia carolinensis sp. nov., a novel species of the Borrelia

burgdorferi sensu lato complex isolated from rodents and a tick from the south-eastern USA. Int J Syst Evol Microbiol 61:381–383

499. RUDENKO, N., GOLOVCHENKO, M., LIN, T., GAO, L., GRUBHOFFER, L., OLIVER JR., J.H., (2009c). Delineation of a new species of the Borrelia burgdorferi sensu lato complex, *Borrelia americana* sp.nov.. J. Clin. Microbiol. 47, 3875–3880.

500. RUDENKO, N., GOLOVCHENKO, M., RUZEK, D., PISKUNOVA, N., MALLATOVA, N. AND GRUBHOFFER, L. (2009a) Molecular detection of *Borrelia bissettii* DNA in serum samples from patients in the Czech Republic with suspected borreliosis. *FEMS Microbiology Letters* 292, 274–281.

501. SAGE, K. M., JOHNSON, T. L., TEGLAS, M. B., NIETO, N. C., & SCHWAN, T. G. (2017). Ecological niche modeling and distribution of Ornithodoros hermsi associated with tick-borne relapsing fever in western North America. *PLoS neglected tropical diseases*, *11*(10), e0006047.

502. SAIF YM (ed). (2013). Diseases of poultry, 13th edn. Wiley, New York

503. SAMPAIO, I., CARBALLO, M., & PARIETTI, S. (1992). Comprobación de la presencia de Amblyomma triste (Acari, Ixodidae) en Uruguay. *Bol Soc Zool Uruguay*, *7*, 75-76.

504. SANCHES, G. S., COUTO, J., SILVA-PEDROSA, R., FERROLHO, J., SANTOS, A. S., SANTOS-SILVA, M. M., ... & DOMINGOS, A. (2018). Molecular heterogeneity of Rhipicephalus sanguineus sensu lato and screening for Ehrlichia canis in mainland Portugal. *Ticks and tick-borne diseases*, *9*(6), 1383-1390.

505. SANDERS, D. M., SCHUSTER, A. L., MCCARDLE, P. W., STREY, O. F., BLANKENSHIP, T. L., & TEEL, P. D. (2013). Ixodid ticks associated with feral swine in Texas. *Journal of Vector Ecology*, *38*(2), 361-373.

506. SANGIONI, L. A., HORTA, M. C., VIANNA, M. C., GENNARI, S. M., SOARES, R. M., GALVÃO, M. A., ... y LABRUNA, M. B. (2005). Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(2), 265.

507. SANTODOMINGO, A., THOMAS, R., ROBBIANO, S., URIBE, J. E., PARRAGUÉ-MIGONE, C., CABELLO-STOM, J., ... & MUÑOZ-LEAL, S.

(2023). Wild deer (Pudu puda) from Chile harbor a novel ecotype of Anaplasma phagocytophilum. *Parasites & Vectors*, *16*(1), 1-12.

508. SANTOS, A. S., DE BRUIN, A., VELOSO, A. R., MARQUES, C., DA FONSECA, I. P., DE SOUSA, R., ... & SANTOS-SILVA, M. M. (2018). Detection of Anaplasma phagocytophilum, Candidatus Neoehrlichia sp., Coxiella burnetii and Rickettsia spp. in questing ticks from a recreational park, Portugal. *Ticks and tick-borne diseases*, *9*(6), 1555-1564.

509. SARACHO BOTTERO, M. N., LARESCHI, M., VENZAL, J. M., CARVALHO, L., & NAVA, S. (2016). Borrelia burgdorferi sensu lato in Ixodes cf. neuquenensis and Ixodes sigelos ticks from the Patagonian region Argentina.

510. SARRICOLEA, P., HERRERA-OSSANDON, M., & MESEGUER-RUIZ, Ó. (2017). Climatic regionalisation of continental Chile. *Journal of Maps*, *13*(2), 66-73.

511. SASSERA, D., BENINATI, T., BANDI, C., BOUMAN, E. A., SACCHI, L., FABBI, M., & LO, N. (2006). 'Candidatus Midichloria mitochondrii', an endosymbiont of the tick Ixodes ricinus with a unique intramitochondrial lifestyle. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *56*(11), 2535-2540.

512. SASSERA, D., LO, N., BOUMAN, E. A., EPIS, S., MORTARINO, M., & BANDI, C. (2008). "Candidatus Midichloria" endosymbionts bloom after the blood meal of the host, the hard tick Ixodes ricinus. *Applied and environmental microbiology*, *74*(19), 6138-6140.

513. SCHENONE H, CONTRERAS MC, BORGONO JM, MATURANA R, SALINAS P, SAND- OVAL L, ET AL. (1991). Panorama general de la epidemiologia de la enfermedad de Chagas en Chile. Bol Chil Parasitol. 46:19–30.

514. SCHENONE, H., VILLARROEL, F., CONTRERA, M., BORGONO, J. M., SANDOVA, L., & ROJAS, A. (1986). Enfermedad de Chagas en Chile. Sectores rurales y periurbanos. Tasas de positividad de la reacción de hemaglutinación indirecta (RHAI) para el diagnóstico de la parasitosis según el número de personas examinadas por vivienda. *Boletin Chileno de*

Parasitologia, *41*(1-2), 27-30.

515. SEIFERT, S.N., KHATCHIKIAN, C.E., ZHOU, W., BRISSON, D., (2015). Evolution and population genomics of the Lyme borreliosis pathogen, *Borrelia burgdorferi*. Trends Genet. 31, 201–207.

516. SEMENZA, J.C. AND PAZ, S. (2021) Climate change and infectious disease in Europe: Impact, projection and adaptation. *Lancet Reg. Health Eur*., 9: 100230.

517. SHIBATA, S. I., KAWAHARA, M., RIKIHISA, Y., FUJITA, H., WATANABE, Y., SUTO, C., & ITO, T. (2000). New Ehrlichia species closely related to Ehrlichia chaffeensis isolated from Ixodes ovatus ticks in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, *38*(4), 1331-1338.

518. SCHEMSKE, D.W., MITTELBACH, G.G., CORNELL, H.V, SOBEL, J.M., SCHEMSKE, D.W., MITTELBACH, G.G., ET AL. (2009). Is there a latitudinal gradient in the importance of biotic interactions? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:245-269.

519. SCHIMDT, B.L. (1997). PCR in laboratory diagnosis of human *Borrelia burgdorferi* infections. Clinical Microbiology Reviews, 10: 185-201

520. SCOTT, J. D., & FOLEY, J. E. (2016). Detection of Borrelia americana in the avian coastal tick, Ixodes auritulus (Acari: Ixodidae), collected from a bird captured in Canada. *Open Journal of Animal Sciences*, *6*(3), 207-216.

521. SEBASTIAN, P. S., BOTTERO, M. N. S., CARVALHO, L., MACKENSTEDT, U., LARESCHI, M., VENZAL, J. M., y NAVA, S. (2016). *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes* cf. *neuquenensis* and *Ixodes sigelos* ticks from the Patagonian region of Argentina. *Acta Tropica*, *162*, 218-221.

522. SEBASTIAN, P. S., WINTER, M., ABATE, S. D., TARRAGONA, E. L., & NAVA, S. (2022). Molecular Detection of Candidatus Rickettsia andeanae and Ehrlichia sp. in Amblyomma pseudoconcolor Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) from the Argentinian Patagonia. *Animals*, *12*(23), 330

523. SEPÚLVEDA-GARCÍA, P., ALABI, A., ÁLVAREZ, K., ROJAS, L., MELLA, A., GONÇALVES, L. R., ... & MONTI, G. (2023). Bartonella spp. in households with cats: Risk factors for infection in cats and human exposure. *One Health*, 100545

524. SHPYNOV, S. N., FOURNIER, P. E., POZDNICHENKO, N. N., GUMENUK, A. S., & SKIBA, A. A. (2018). New approaches in the systematics of rickettsiae. *New Microbes and New Infections*, *23*, 93-102.

525. SIKES, R. S., W. L. GANNON. (2011). The Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. Guidelines of the American society of mammalogists for the use of wild mammals in research. J. Mammal. 92(1): 253-253.

526. SILVA DE LA FUENTE, M. C., PÉREZ, C., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., PÉREZ, R., VIAL, C., STEKOLNIKOV, A., ... & ACOSTA-JAMETT, G. (2023). Eco-epidemiology of rodent-associated trombiculid mites and infection with Orientia spp. in Southern Chile. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *17*(1), e0011051.

527. SKERMAN, V.B.D., MCGOWAN, V., SNEATH, P.H.A., 1989. Approved List of Bacterial Names (amended). ASM Press, Washington (DC).

528. ŠLAPETA, J., CHANDRA, S., & HALLIDAY, B. (2021). The “tropical lineage” of the brown dog tick Rhipicephalus sanguineus sensu lato identified as Rhipicephalus linnaei (). *International journal for parasitology*, *51*(6), 431-436.

529. SMITH RD, BRENER J, OSORNO M, RISTIC M. (1978). Pathobiology of *Borrelia theileri* in the tropical cattle tick, *Boophilus microplus*. J Invertebr Pathol 32:182–190

530. SOARES CO, ISHIKAWA MM, FONSECA AH, YOSHINARI HH (2000) Borrelioses, agentes e vetores. Pesq Vet Brasil 20:1-19.

531. SOBERÓN J, NAKAMURA M. (2009). Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. Proc Natl Acad Sci U S A. 106:19644–50.

532. SOCOLOVSCHI C, MEDIANNIKOV O, RAOULT D, PAROLA P. (2009). Update on tick-born bacterial diseases in Europe. Parasite. 16:259-73.

533. SONENSHINE, D. E. (2018). Range expansion of tick disease vectors in North America: implications for spread of tick-borne disease. *International*

journal of environmental research and public health, *15*(3), 478.

534. SONENSHINE D.E, ROE M. (2014). Biology of Ticks. 2nd ed. Vol. 2. New York: Oxford University Press.

535. SONENSHINE, D. E. (1993). Biology of the ticks. Volumen 2. Oxford University Press. 465 pp.

536. SONENSHINE, D.E., HYNES, W.L. (2008). Molecularcharacterization and related aspects of the innate immune response in ticks.Front. Biosci. 13:7046–7063.

537. SONENSHINE, D. E., & ROE, R. M. (Eds.). (2013). *Biology of ticks volume 2* (Vol. 2). Oxford University Press.

538. SOTO, F., WALKER, R., SEPULVEDA, M., BITTENCOURT, P., ACOSTA-JAMETT, G., & MÜLLER, A. (2017). Occurrence of canine hemotropic mycoplasmas in domestic dogs from urban and rural areas of the Valdivia Province, southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *50*, 70-77.

539. SOUCY, J. P. R., A. M. SLATCULESCU, C. NYIRANEZA, N. H. OGDEN, P. A. LEIGHTON, J. T. KERR, AND M. A. KULKARNI. (2018). High-resolution ecological niche modeling of *Ixodes scapularis* ticks based on passive surveillance data at the Northern frontier of lyme disease emergence in North America. Vector-Borne Zoonotic Dis. 18: 235–242.

540. SPARAGANO, O.A.E.; ALLSOPP, M.T.E.P.; MANK, R.A. ET AL. (1999). Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review. Experimental and Applied Acarology, 23: 929-960

541. STACKEBRANDT E, FREDERIKSEN W, GARRITY GM, GRIMONT PA, KAMPFER P, MAIDEN MC, NESME X, ROSSELLO-MORA R, SWINGS J, TRUPER HG, VAUTERIN L, WARD AC, WHITMAN WB (2002) Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. Int J Syst Evol Microbiol 52:1043–1047

542. STANEK G, REITER M. (2011). The expanding Lyme Borrelia complex-clinical significance of genomic species? Clin Microbiol Infect. 17:487-93

543. STANEK G, WORMSER G, GRAY J, STRLE F. (2012). Lyme borreliosis. Lancet. 379(9814):461-73.

544. STEERE AC. (2004). The emergence of Lyme disease. J Clin Invest. 113: 1093-101.

545. STERNBERG, E. D., & THOMAS, M. B. (2014). Local adaptation to temperature and the implications for vector-borne diseases. *Trends in Parasitology*, *30*(3), 115-122.

546. STREY, O. F., TEEL, P. D., LONGNECKER, M. T., & NEEDHAM, G. R. (1996). Survival and water-balance characteristics of unfed adult Amblyomma cajennense (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*, *33*(1), 63-73.

547. STICH, R. W., RIKIHISA, Y., EWING, S. A., NEEDHAM, G. R., GROVER, D. L., & JITTAPALAPONG, S. (2002). Detection of Ehrlichia canis in canine carrier blood and in individual experimentally infected ticks with a p30-based PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(2), 540-546.

548. STROMDAL EY, WILLIAMSON PC, KOLLARS TM, EVANS SR, BARRY RK, ET AL. (2003). Evidence of Borrelia lostenari DNA in Amblyomma americanum removed from humans. J Clin Microbiol. 41:557-62.

549. SU, H., ONODA, E., TAI, H., FUJITA, H., SAKABE, S., AZUMA, K., ... & OHASHI, N. (2021). Diversity unearthed by the estimated molecular phylogeny and ecologically quantitative characteristics of uncultured Ehrlichia bacteria in Haemaphysalis ticks, Japan. *Scientific reports*, *11*(1), 1-11.

550. SUMNER, J. W., CHILDS, J. E., & PADDOCK, C. D. (1999). Molecular cloning and characterization of the Ehrlichia chaffeensis variable-length PCR target: an antigen-expressing gene that exhibits interstrain variation. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(5), 1447-1453.

551. SÜSS, J., KLAUS, C., GERSTENGARBE, F. W., & WERNER, P. C. (2008). What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases. *Journal of travel medicine*, *15*(1), 39-4

552. SZABÓ, M. P., LABRUNA, M. B., PEREIRA, M. C., y DUARTE, J. M. B. (2003). Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (Blastocerus

dichotomus) from Southeast Brazil: infestations before and after habitatloss. *Journal of Medical Entomology*, *40*(3), 268-274

553. SZABÓ, M.P.J., MANGOLD, A.J., JOÃO, C.F., BECHARA, G.H., AND GUGLIELMONE, A.A. (2005) Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America.Vet. Parasitol. 130:131–140.

554. SZMIDT, E., & KACPRZYK, J. (2010). The Spearman rank correlation coefficient between intuitionistic fuzzy sets. In *2010 5th IEEE international conference intelligent systems* (pp. 276-280). IEEE.

555. TAGLE I, V ALVAREZ. (1957). Existencia de *Amblyomma maculatum* Koch 1844 en zorros de Chile. *Bol Chil Parasitol* 12, 66.

556. TAGLE I. (1971). Ixodoidea en Chile. Bol. Chil. Parasitol. 26: 46–49.

557. TAGLE, I. (1976). Presencia accidental de Rhipicephalus sanguineus en un perro de Santiago de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)*, *36*, 137.

558. TAKANO, A., GOKA, K., UNE, Y., SHIMADA, Y., FUJITA, H., SHIINO, T., *ET AL*. (2010) Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne Borreliae from imported reptiles and their associated ticks. *Environ Microbiol* **12:** 134– 146.

559. TAKANO, A., FUJITA, H., KADOSAKA, T., KONNAI, S., TAJIMA, T., WATANABE, H., ... & KAWABATA, H. (2011). Characterization of reptile-associated Borrelia sp. in the vector tick, Amblyomma geoemydae, and its association with Lyme disease and relapsing fever Borrelia spp. *Environmental microbiology reports*, *3*(5), 632-637.

560. TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FILIPSKI A, KUMAR S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30: 2725-2729.

561. TARRAGONA, E. L., FLORES, F. S., LAMATTINA, D., TORRENTS, J., SEBASTIAN, P. S., & NAVA, S. (2022). Two novel Ehrlichia (Rickettsiales: Anaplasmataceae) strains detected in ticks (Ixodida, Ixodidae) and opossums (Didelphimorphia: Didelphidae) in Argentina. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *13*(6), 102043.

562. THUILLER, W., LAVOREL, S., & ARAÚJO, M. B. (2005). Niche properties and geographical extent as predictors of species sensitivity to climate change. *Global ecology and biogeography*, *14*(4), 347-357.

563. TEGLAS MB, MAPES S, HODZIC E ET AL. (2011). Co-infection of *Ornithodoros coriaceus* with the relapsing fever spirochete, *Borrelia coriaceae*, and the agent of epizo- otic bovine abortion. Med Vet Entomol 25:337–343

564. TEGLAS, M.B., MAY, B., CROSBIE, P.R., STEPHENS, M.R., AND BOYCE, W.M. (2005) Genetic structure of the tick *Ornithodoros coriaceus* (Acari: Argasidae) in California, Nevada, and Oregon. J. Med. Entomol. 42:247–253.

565. THIRUMALAPURA NR, QIN X, KURIAKOSE JA, WALKER DH. Complete Genome Sequence of Ehrlichia muris Strain AS145 , a Model Monocytotropic Ehrlichia Strain. Genome Announc. 2014;2(1):e01234–13.

566. THOMPSON, M., MUÑOZ-LEAL, S., TRONCOSO, I., THOMAS, R. S., SANTODOMINGO, A. M., MORENO-SALAS, L., & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2021). A Borrelia sp. in Ornithodoros octodontus (Argasidae). *Systematic and Applied Acarology*, *26*(11), 1997-2001.

567. TIJSSE-KLASEN, E., FONVILLE, M., REIMERINK, J. H., SPITZEN-VAN DER SLUIJS, A., & SPRONG, H. (2010). Role of sand lizards in the ecology of Lyme and other tick-borne diseases in the Netherlands. *Parasites & vectors*, *3*(1), 1-11.

568. TILLY K, ROSA PA, STEWART PE. (2008). Biology of infection with Borrelia burgdorferi. Infect Dis Clin N Am. 22(2):217-34.

569. TINDALL, B. J., ROSSELLÓ-MÓRA, R., BUSSE, H. J., LUDWIG, W., & KÄMPFER, P. (2010). Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *60*(1), 249-266.

570. TOKAREVICH, N. K., TRONIN, A. A., BLINOVA, O. V., BUZINOV, R. V., BOLTENKOV, V. P., YURASOVA, E. D., & NURSE, J. (2011). The impact of climate change on the expansion of Ixodes persulcatus habitat and the incidence of tick-borne encephalitis in the north of European Russia. *Global*

Health Action, *4*(1), 8448.

571. TOMASSONE, L., NUÑEZ, P., CEBALLOS, L. A., GÜRTLER, R. E., 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.

572. TREVISAN, G., CINCO, M., TREVISINI, S., DI MEO, N., CHERSI, K., RUSCIO, M., ... & BONIN, S. (2021). Borreliae part 1: borrelia lyme group and echidna-reptile group. *Biology*, *10*(10), 1036.

573. TRONCOSO, I., FISCHER, C., ARTEAGA, F., ESPINOZA, C., AZÓCAR, T., & ABARCA, K. (2016). Seroprevalencia de Bartonella henselae en personas con riesgo ocupacional. *Revista chilena de infectología*, *33*(3), 355-357.

574. TRONCOSO-TORO, I., MUÑOZ-LEAL, S., THOMPSON, M., SALINAS, J., VARAS, E., & GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2021). Detección de "Candidatus Rickettsia andeanae" en Rhipicephalus sanguineus sensu stricto (Acari: Ixodidae) en Rapa Nui-Isla de Pascua. *Revista chilena de infectología*, *38*(4), 548-554.

575. TROUT FRYXELL R T, HENDRICKS B M, POMPO K, MAYS S E, PAULSEN D J, OPERARIO D J, ET AL. (2017). Investigating the adult Ixodid tick populations and their associated *Anaplasma, Ehrlichia*, and *Rickettsia* bacteria at a Rocky Mountain Spotted Fever hotspot in Western Tennessee. Vector-Borne Zoonotic Dis 17 (8): 527-38.

576. TSAO, J.I., (2009). Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles. Vet. Res. 40.

577. TUFTS, D.M., ET AL., (2019). Outer surface protein polymorphisms linked to host-spirochete association in Lyme borreliae. Mol. Microbiol. 111, 868–882.

578. TZIANABOS T, ANDERSON BE, MCDADE JE. 1989. Detection of *Rickettsia rickettsii* DNA in clinical specimens by using polymerase chain reaction technology. *J Clin Microbiol* 27:2866–2868.

579. VAIL, S. G., AND G. SMITH. 1998. Air temperature and relative humidity effects on behavioral activity of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) Nymphs in New Jersey. J. Med. Entomol. 35: 1025–1028.

580. VANACKER, M., & DIUK-WASSER, M. (2019). Integrating host movement to predict urban tick-borne disease risk. In *2019 ESA Annual Meeting (August 11--16)*. ESA.

581. VANSTREELS, R. E. T., YABSLEY, M. J., PARSONS, N. J., SWANEPOEL, L., & PISTORIUS, P. A. (2018). A novel candidate species of Anaplasma that infects avian erythrocytes. *Parasites & vectors*, *11*(1), 1-7.

582. VARGHESE, N. J., MUKHERJEE, S., IVANOVA, N., KONSTANTINIDIS, K. T., MAVROMMATIS, K., KYRPIDES, N. C., & PATI, A. (2015). Microbial species delineation using whole genome sequences. *Nucleic acids research*, *43*(14), 6761-6771.

583. VARGAS-HERNANDEZ, G., ANDRÉ, M. R., CENDALES, D. M., SOUSA, K. C. M. D., GONÇALVES, L. R., RONDELLI, M. C. H., ... & TINUCCI-COSTA, M. (2016). Molecular detection of Anaplasma species in dogs in Colombia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, *25*, 459-464.

584. VASSALLO, M. B. PICHON, J. CABARET, C. FIGUERAU y C. PÉREZ-EID. (2000). Methodology for Sampling Questing Nymphs of Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae), the Principal Vector of Lyme Disease in Europe. J. Med. Entomol. 37:335-339.

585. VENZAL J., CASTRO O., CABRERA P. AND ARMÚA M. (2001). Garrapatas de perros del Uruguay. Especies y distribución. 7th Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, 3 pp.

586. VENZAL, J. M., A. ESTRADA-PEÑA, A. PORTILLO, A. MANGOLD, O. CASTRO, C. G. DE SOUZA, M. L. FELIX, L. PÉREZ-MATRÍNEZ, S. SANTIBAÑES y J. A. OTEO. (2012a). Rickettsia parkeri: A rickettsial pathogen transmitted by ticks in endemic áreas for spotted fever rickettsiosis in southern Uruguay. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 54: 131- 134.

587. VENZAL, J. M., ESTRADA-PEÑA, A., MANGOLD, A. J., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., y GUGLIELMONE, A. A. (2008a). The Ornithodoros

(Alectorobius) talaje species group (Acari: Ixodida: Argasidae): description of *Ornithodoros* (*Alectorobius*) *rioplatensis* n. sp. from southern South America. *Journal of Medical Entomology*, *45*(5), 832-840.

588. VENZAL, J. M., ESTRADA-PEÑA, A., PORTILLO, A., MANGOLD, A. J., CASTRO, O., DE SOUZA, C. G., ... & OTEO, J. A. (2008b). Detection of alpha and gamma-proteobacteria in Amblyomma triste (Acari: Ixodidae) from Uruguay. *Experimental and applied acarology*, *44*, 49-56.

589. VENZAL, J. M., GONZÁLEZ-ACUÑA, D., MUÑOZ-LEAL, S., MANGOLD, A. J., y NAVA, S. (2015). Two new species of Ornithodoros (Ixodida; Argasidae) from the Southern Cone of SouthAmerica. *Experimental and Applied Acarology*, *66*(1), 127-139.

590. VENZAL, J. M., NAVA, S., y GUGLIELMONE, A. A. (2007). Garrapatas exóticas: hallazgo de Amblyomma latum Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) parasitando Python regius (Serpentes: Boidae) en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, *42*, 15-17.

591. VENZAL, J., D. GONZÁLEZ-ACUÑA, A. MANGOLD y A. GUGLIELMONE. (2012a). Ornithodoros peruvianus Kohls, Clifford y Jones (Ixodoidea: Argasidae) in Chile, a tentative diagnois. Ent. Neotrop. 41:74-78

592. VENZAL, J.M.; NAVA, S.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; MANGOLD, A.J.; MUÑOZ-LEAL, S.; LADO, P.; GUGLIELMONE, A.A. (2013). A new species of *Ornithodoros* (Acari: Argasidae), parasite of *Microlophus* spp. (Reptilia: Tropiduridae) from northern Chile. *Ticks and Tick Borne Diseases*, *4,* 128-132.

593. VENZAL, J. M., PORTILLO, A., ESTRADA-PEÑA, A., CASTRO, O., CABRERA, P. A., & OTEO, J. A. (2004). Rickettsia parkeri in Amblyomma triste from Uruguay. *Emerging Infectious Diseases*, *10*(8), 1493.

594. VERDUGO, C., JIMÉNEZ, O., HERNÁNDEZ, C., ÁLVAREZ, P., ESPINOZA, A., y GONZÁLEZ-ACUÑA, D. (2017). Infection with Borrelia chilensis in Ixodes stilesi ticks collected from Pudu puda deer. *Ticks and tick-borne diseases*, *8*(5), 733-740.

595. VERGARA, R. W., GALLEGUILLOS, F. M., JARAMILLO, M. G., ALMOSNY, N. R. P., MARTÍNEZ, P. A., BEHNE, P. G., ... & MÜLLER, A.

(2016). Prevalence, risk factor analysis, and hematological findings of hemoplasma infection in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *46*, 20-26.

596. VIAL, L. (2009). Biological and ecological characteristics of soft ticks (Ixodida: Argasidae) and their impact for predicting tick and associated disease distribution. *Parasite*, *16*(3), 191-202.

597. VILLLANUEVA C., M.P. (2009). *Borrelia burgdorferi***:** UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA SOBRE EL AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DE LYME. Memoria de tesis. Valdivia, Univ. Austral de Chile, Fac. Cien. Vet. 68 p

598. VOLLMER, S.A., ET AL., (2011). Host migration impacts on the phylogeography of Lyme Borreliosis spirochaete species in Europe. Environ. Microbiol. 13, 184–192.

599. VOLLMER, S.A., ET AL., (2013). Spatial spread and demographic expansion of Lyme borreliosis spirochaetes in Eurasia. Infect. Genet. Evol. 14, 147–155.

600. WALKER, D. H. (2007). Rickettsiae and rickettsial infections: the current state of knowledge. *Clinical infectious diseases*, *45*(Supplement_1), S39-S44.

601. WANG G, SCHWARTZ I (2011) Genus II. Borrelia Swellengrebel 1907, 582AL. In: Brenner DJ, Krieg NR, Garrity GM, Staley JT (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 3, 2nd edn. Springer, New York, pp 484–498

602. WANG G., LIVERIS D., BREI B., WU H., FALCO R.C., FISH D., SCHWARTZ I. (2003). Real-Time PCR for simultaneous detection and quantification of Borrelia burgdorferi in field-collected Ixodes scapularis ticks from the Northeastern United States. Appl. Environ. Microbiol., 12:4561-4565.

603. WANG, G., LIVERIS, D., MUKHERJEE, P., JUNGNICK, S., MARGOS, G., & SCHWARTZ, I. (2014). Molecular typing of Borrelia burgdorferi. *Current protocols in microbiology*, *34*(1), 12C-5.

604. WANG, G., VAN DAM, A.P., LE FLECHE, A., POSTIC, D., PETER, O., BARANTON, G., DE BOER, R., SPANJAARD, L., DANKERT, J., (1997). Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (Borrelia genomic groups VS116 and M19). Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 926–932.

605. WANG, G.; VAN DAM, A.P.; SCHWARTZ, I. y DANKERT, J. (1999). Molecular typing of Borrelia burgdorferi sensu lato: taxonomic, epidemiological and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews, 12: 633-653

606. WEAVER SC, REISEN WK. (2010). Present and future arboviral threats. Antiviral Res 85:328–45.

607. WEBER, M.M., STEVENS, R.D., DINIZ-FILHO, J.A.F., GRELLE, C.E. V., 2017. Is there a correlation between abundance and environmental suitability derived from ecological niche modelling? A meta- analysis. Ecography. 40, 817–828.

608. WEINBORN-ASTUDILLO, R. M., PAU, N., TOBAR, B. Z., JAFFE, D. A., BOULOUIS, H. J., SEPÚLVEDA, P., ... & CHOMEL, B. B. (2020). Bartonella infection in stray dogs from Central and Southern Chile (Linares and Puerto Montt). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *20*(3), 187-192.

609. WEINBORN, A., ZANELLI, M., LÓPEZ, Ó., PAU, N., & VALDÉS, F. (2018). Anticuerpos anti-Anaplasma spp en población de riesgo ocupacional de un hospital veterinario. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *29*(2), 594-601.

610. WEINERT, L. A., MORAND, S., KRASNOV, B. R., & LITTLEWOOD, D. T. J. (2015). The diversity and phylogeny of Rickettsia. *Parasite diversity and diversification: evolutionary ecology meets phylogenetics*, 150-181.

611. WEINERT, L. A., WERREN, J. H., AEBI, A., STONE, G. N., & JIGGINS, F. M. (2009). Evolution and diversity of Rickettsiabacteria. *BMC biology*, *7*(1), 1-15.

612. WEITZEL, T., ACOSTA-JAMETT, G., JIANG, J., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., FARRIS, C. M., RICHARDS, A. L., & ABARCA, K. (2020). Human seroepidemiology of Rickettsia and Orientia species in Chile–A cross-sectional study in five regions. *Ticks and tick-borne diseases*, *11*(6),

101503.

613. WEITZEL, T., JIANG, J., ACOSTA-JAMETT, G., MARTÍNEZ-VALDEBENITO, C., LÓPEZ, J., RICHARDS, A. L., & ABARCA, K. (2018). Canine seroprevalence to Orientia species in southern Chile: A cross-sectional survey on the Chiloe Island. *PloS one*, *13*(7), e0200362.

614. WIKEL, S. K. (2018). Ticks and tick-borne infections: complex ecology, agents, and host interactions. *Veterinary Sciences*, *5*(2), 60.

615. WILLIAMSON, P. C., BILLINGSLEY, P. M., TELTOW, G. J., SEALS, J. P., TURNBOUGH, M. A., & ATKINSON, S. F. (2010). Borrelia, Ehrlichia, and Rickettsia spp. in ticks removed from persons, Texas, USA. *Emerging infectious diseases*, *16*(3), 441.

616. WILLIG, M.R., KAUFMAN, D.M., STEVENS, R.D. (2003). Latitudinal gradients of biodiversity: Pattern, process, scale, and synthesis. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34:273-309.

617. WILLIG, M.R., PRESLEY, S.J. (2018). Latitudinal gradients of biodiversity: Theory and empirical patterns. Della Sala, D.A., Goldstein, M.I. (eds.) *Ency- clopedia of the Anthropocene*, *vol. 3*, p. 13-19. Elsevier Inc. Oxford, Reino Unido.

618. WILSON, N. (1967). Mesostigmata: Rhinonyssidae, Halarachnidae (nasal mites); Metastigmata: Ixodidae (ticks). *Antarctic Research Series*, *10*, 41-49.

619. WOJAN, C., T. THRASHER, E. LACEY, AND K. CLAY. (2021). Distribution, dynamics, and diversity of questing ticks in the lower Midwest. J. Med. Entomol. tjab155.

620. WOLCOTT, K. A., MARGOS, G., FINGERLE, V., & BECKER, N. S. (2021). Host association of Borrelia burgdorferi sensu lato: A review. *Ticks and tick-borne diseases*, *12*(5), 101766.

621. WOLF, R. W., ARAGONA, M., MUÑOZ-LEAL, S., PINTO, L. B., MELO, A. L. T., BRAGA, I. A., ... & AGUIAR, D. M. (2016). Novel Babesia and Hepatozoon agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick Ornithodoros guaporensis in Brazil. *Ticks and tick-borne Diseases*, *7*(3), 449-456

622. XIN, Z. H. O. U., HOU, X. X., ZHEN, G. E. N. G., RUI, Z. H. A. O., WAN, K. L., & QIN, H. A. O. (2014). Establishment of multiple locus variable-number tandem repeat analysis assay for genotyping of Borrelia burgdorferi sensu lato detected in China. *Biomedical and Environmental Sciences*, *27*(9), 665-675.

623. YAO, Q.; ZHOU, S.; ZHAN, Y.; WU, S.; XUE, J. (2020). Research Progress on the Correlations of Tick-Borne Diseases with Meteorological Factors and Their Prevention Measures in China. *Chin. J. Parasitol. Parasit. Dis.*, *38*, 123–127.

624. YODER, J.A.; CHRIS, B.S.; CROXALL, T.J.; LAURA, K.S.; TANK, J.L. (2009a) Moisture requirements for activity/survival of the gulf coast tick *Amblyomma maculatum* Koch (Acari: Ixodidae), based on a water balance study of all life cycle stages. *Int. J. Acarol.*, *34*, 285–292. [CrossRef]

625. YODER, J. A., HEDGES, B. Z., TANK, J. L., & BENOIT, J. B. (2009b). Dermal gland secretion improves the heat tolerance of the brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus, allowing for their prolonged exposure to host body temperature. *Journal of Thermal Biology*, *34*(5), 256-265.

626. YUNIK, M. E., GALLOWAY, T. D., & LINDSAY, L. R. (2016). Active surveillance of Anaplasma marginale in populations of arthropod vectors (Acari: Ixodidae; Diptera: Tabanidae) during and after an outbreak of bovine anaplasmosis in southern Manitoba, Canada. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *80*(2), 171-174.

627. ZAJĄC, Z., KULISZ, J., BARTOSIK, K., WOŹNIAK, A., DZIERŻAK, M., & KHAN, A. (2021). Environmental determinants of the occurrence and activity of Ixodes ricinus ticks and the prevalence of tick-borne diseases in eastern Poland. *Scientific Reports*, *11*(1), 1-9.

628. ZHANG, Y. Y., SUN, Y. Q., CHEN, J. J., TENG, A. Y., WANG, T., LI, H., ... & LIU, W. (2022). Mapping the global distribution of spotted fever group rickettsiae: a systematic review with modelling analysis. *The Lancet Digital Health*.

629. ZAROR, L., ERNST, S., NAVARRETE, M., BALLESTEROS, A., BOROSCHECK, D., FERRES, M., & THIBAUT, J. (2002). Detección serológica de Bartonella henselae en gatos en la ciudad de Valdivia,

Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, *34*(1), 103-110.

630. ZEMTSOVA, G. E., APANASKEVICH, D. A., REEVES, W. K., HAHN, M., SNELLGROVE, A., & LEVIN, M. L. (2016). Phylogeography of Rhipicephalus sanguineus sensu lato and its relationships with climatic factors. *Experimental and Applied Acarology*, *69*(2), 191-203.

631. ZIEGLER A, ESHEL G, MCALLISTER REES P, ROTHFUS T, ROWLEY DB, SUNDERLIN D. (2003). Tracing the tropics across land and sea: Permian to present. *Lethaia* 36:227–54

10. ANEXOS

Tabla 1. Primers empleados para detección molecular de garrapatas.

Gen	Función	Primer	Secuencia	Fragmento esperado
ARNr 16S	Mitochondrial minor ribosomal subunit	16S+ 1F	CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT	460 pb
		16S- 1R	GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT	

Tabla 2. Primers empleados para detección molecular de *Borrelia.*

Gen	Función	Primer	Secuencia	Fragmento esperado
flaB	Flagellin protein	FLA-LL FLA-RL FLA-LS FLA -RS	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT AACAGCTGAAGAGCTTGGAATG CTTTGATCACTTATCATTCTAATAC	665 pb 354 pb
ospC	Outer surface protein C	ospC-F ospC-R ospC-Fn ospC-Rn	ATGAAAAAGAATACATTAAGTGC ATTAATCTTATAATATTGATTTTAATTAAGG TATTAATGACTTTATTTTTATTTATATCT TTGATTTTAATTAAGGTTTTTTTGG	657 pb 617 pb
p66	outer membrane protein 66	P66-F P66-R P66-Fn P66-Rn	GATTTTTCTATATTTGGACACAT TGTAAATCTTATTAGTTTTTCAAG CAAAAAAGAAACACCCTCAGACC CCTGTTTTTAAATAAATTTTTGTAGCATC	744pb 683 pb
IGS	Intergenic spacer	IGS-F IGS-R IGS-Fn IGS-Rn	GTATGTTTAGTGAGGGGGGTG GGATCATAGCTCAGGTGGTTAG AGGGGGGTGAAGTCGTAACAAG GTCTGATAAACCTGAGGTCGGA	987 pb 945 pb

Tabla 3. Primers empleados para detección molecular de *Rickettsia.*

Gen	Función	Primer	Secuencia	Fragmento esperado
gltA	Citrate Synthase protein	CS78F CS323R	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCA GGAT	401 pb
ompA	Outer membrane protein A	190.70F1 190.701R2 190.602R1	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA GTTCCGTTAATGGCAGCATCT AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT	617 pb 512 pb
ompB	Outer membrane protein B	190.59F 190.807R	CCGCAGGGTTGGTAACTGC CCTTTTAGATTACCGCCTAA	862 pb
htrA	17 kDa protein	17K3F 17K4R 17K1F 17K2R	GCTCTTGCAACTTCTATGTT CATTGTTCGTCAGGTTGGCG GCTTTACAAAATTCTAAAAACCAT ATA TGTCTATCAATTCACAACTTGCC	549 pb 439 pb

Tabla 4. Primers empleados para detección molecular de *Ehrlichia*

Gen	Función	Primer	Secuencia	Fragmento esperado
rrs	Bacterial small ribosomal subunit	EHR16SD EHR16SR	GGTACCYACAGAAGAAGTCC TAGCACTCATCGTTTACAGC	345 pb
dsb	Disulfide oxidoreductase protein	Dsb-330 Dsb-720 Dsb-380	GATGATGTTTGAAGATATSAAACAAAT CTATTTTACTTCTTAAAGTTGATAWATCAT TTTTAGRGATTTTCCAATACTTGG	401 pb 349 pb
gltA	Citrate Synthase protein	F4b R1b CS136F CS778R	CCAGGCTTTATGTCAACTGC CGATGACCAAAACCCAT TTYATGTCYACTGCTGCKTG GCNCCMCCATGMGCTGG	800 pb 650 pb

Tabla 5. Pairwise distance gen *flaB* en aislados de *Borrelia* en Chile.

Haplotipo	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
*Ixodes_abrocomae*_118								
KY412446.1_*Borreliella_chilensis*_isolate_14061	0,03							
KY412447.1_*Borreliella_chilensis*_isolate_16093	0,03	0,00						
JX669131.1_*Borrelia_chilensis*_strain_VA1	3,03	2,99	2,99					
DQ320016.1_Uncultured_*Borrelia*_sp._clone_IDBCHX44	0,69	0,00	0,00	3,86				
MH178397.1_*Borrelia*_sp._isolate_Ixo276	3,71	3,41	3,41	2,86	1,95			
MH178398.1_Borrelia_sp._isolate_Ixaur4	3,84	1,93	1,93	3,37	1,89	0,08		
MH187987.1_Uncultured_*Borrelia*_sp._clone_Ixo45	3,71	3,41	3,41	2,86	1,95	0,00	0,08	
***Ixodes_abrocomae*_125**	3,72	3,43	3,43	2,73	2,03	0,02	0,09	0,02

Tabla 6. Pairwise distance gen *flaB* en aislados de roedores en Sudamérica

Haplotipo	**País**	**Garrapata**	**Roedor**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Borrelia sp- 118	Chile	*Ixodes abrocomae*			0,0062	0,02171	0,007	0,0218
Borrelia sp 125	Chile	*Ixodes abrocomae*		0,00545		0,02289	0,0076	0,02289
KY657353.1 Borrelia sp. Pampa	Brasil	*Ixodes longiscutatus*	*Oxymycterus nasutus - Oligoryzomys nigripes*	0,02869	0,03032		0,0235	0,00307
MN596014.1 Borrelia sp. BoA53	Chile		*Oligoryzomys longicaudatus*	0,00684	0,00678	0,03131		0,02357
OL631182.1 *Ca*_Borrelia paulista_	Brasil		*Oligoryzomys mattogrossae*	0,02927	0,03084	0,00126	0,03201	

Tabla 7. Pairwise distance en aislados de gen *gltA* de *Candidatus* Rickettsia andaenae en América.

Haplotipo	País	Garrapata	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
MZ398137.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_Rapa_Nui	Chile	*Rhipicephalus sanguineus s.s*																						
AY590797.1_Rickettsia_andeanae	Perú	*Ixodes boliviensis*	0,93																					
JN180849.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_Arica	Chile	*Amblyomma tigrinum*	0,00	0,93																				
KF179353.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_Agripino_Enciso	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,93	0,00																			
KT878724.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_strain_NS39	Argentina	*Amblyomma tigrinum*	1,15	0,00	1,15	1,15																		
KM262199.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_O	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,99	0,00	0,00	1,20																	
KX772757.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_APT13-070	Estados Unidos	*Amblyomma maculatum*	1,07	0,00	1,07	1,07	0,00	1,07																
MF428454.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_AOV35-2	Colombia	*Amblyomma ovale*	0,00	0,95	0,00	0,00	1,00	0,00	0,84															
MF428462.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_AMAC35-1	Colombia	*Amblyomma maculatum*	0,00	0,93	0,00	0,00	0,99	0,00	0,85	0,00														
MF428463.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_RSAN10-1	Colombia	*Rhipicephalus sanguineus*	0,00	0,93	0,00	0,00	0,99	0,00	0,85	0,00	0,00													
MG887826.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_BA_PARV_Ran	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00												
MK660496.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_clone_D6_C1	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00											
KT722802.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_clone_Mato_Grosso_2	Brasil	*Amblyomma sculptum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00										
GU169050.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_strain_T124	Perú	*Amblyomma maculatum*	0,00	1,06	0,00	0,00	1,57	0,00	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00									
GU169051.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_strain_T163	Perú	*Ixodes boliviensis*	0,00	1,06	0,00	0,00	1,57	0,00	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00								
KX576677.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_G614	Argentina	*Amblyomma tigrinum*	1,15	0,00	1,15	1,15	0,00	1,20	0,00	1,00	0,99	0,99	1,15	1,15	1,15	1,70	1,70							
KT153033.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_LIC4328	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	1,06	0,00	0,00	1,35	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,48						
KY628369.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00					
MT968425.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_At1	Brasil	*Amblyomma tigrinum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00				
KF030931.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_isolate_Ap	Brasil	*Amblyomma parvum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00	0,00			
KX434742.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_haplotype_BQ-RS_At	Brasil	*Amblyomma tigrinum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00		
Candidatus_Rickettsia_andaenae_Quilmo	Chile	*Amblyomma tigrinum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
KX434743.1_Candidatus_Rickettsia_andeanae_haplotype_BQ-RS_Aa	Brasil	*Amblyomma aureolatum*	0,00	0,93	0,00	0,00	1,15	0,00	1,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabla 8. Pairwise distance de gen *EHR16S* en aislados de *Ehrlichia* spp en Sudamérica.

Haplotipo	**País**	**Garrapata**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
MZ733618.1_Candidatus_Ehrlichia pampeana	Uruguay	*Haemaphysalis juxtakochi*														
KT970784.1_Ehrlichia_endosymbiont	Brasil	*Rhipicephalus microplus*	0,01													
MH177930.1_Uncultured_Ehrlichia_sp	Chile	*Ornithodoros atacamensis*	0,02	0,03												
MF477856.1_Rhipicephalus_sanguineus	Brasil	*Rhipicephalus sanguineus*	3,73	3,14	3,01											
16S_Ehrlichia_sp._152	Chile	*Ixodes uriae*	0,01	0,01	0,02	2,92										
MW599398.1_Uncultured_Ehrlichia_sp	Argentina	*Ixodes auritulus sensu lato*	0,01	0,01	0,02	2,95	0,00									
KY644147.1_Ehrlichia_chaffeensis	Argentina	*Rhipicephalus microplus*	1,96	1,78	1,78	2,24	1,70	1,72								
MF805004.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,17	3,30	3,05	0,01	2,97	3,00	2,16							
KR909459.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,05	3,39	2,99	0,07	2,90	2,94	2,03	0,05						
KR909458.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,04	3,39	2,98	0,07	2,89	2,92	2,05	0,06	0,00					
KR909457.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,13	3,30	3,06	0,01	2,97	3,00	2,13	0,00	0,05	0,05				
KR909456.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,17	3,30	3,05	0,01	2,97	3,00	2,15	0,00	0,05	0,06	0,00			
KR909455.1_Rhipicephalus_sanguineus	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,17	3,30	3,05	0,01	2,97	3,00	2,15	0,00	0,05	0,06	0,00	0,00		
KR909454.1_Rhipicephalus_sanguineus_	Argentina	*Rhipicephalus sanguineus*	3,17	3,30	3,05	0,01	2,97	3,00	2,15	0,00	0,05	0,06	0,00	0,00	0,00	
MW599399.1_Uncultured_Rickettsiales	Argentina	*Amblyomma aureolatum*	0,19	0,22	0,21	2,79	0,19	0,19	1,87	2,90	2,85	2,84	2,90	2,90	2,90	2,90

Tabla 9. Pairwise distance en aislados de gen ARNr 16s de *Midichloria* en América.

Haplotipo	País	Garrapata	1	2	3	4	5	6	7	8
16S_Midichloria_sp_292	Chile	*Ixodes uriae*								
KY674392.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii_	Brasil	*Amblyomma ovale*	0,02							
MT965821.1_Candidatus_Midichloria_sp._isolate_Hap2	Brasil	*Amblyomma tigrinum*	0,00	0,02						
JQ678693.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii_AamerA	Estados Unidos	*Amblyomma americanum*	0,04	0,03	0,04					
JQ678692.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii AamerC	Estados Unidos	*Amblyomma americanum*	0,01	0,02	0,01	0,04				
JQ678691.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii_AamerB	Estados Unidos	*Amblyomma americanum*	0,03	0,03	0,02	0,03	0,04			
KJ130500.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii_clone	Estados Unidos	*Amblyomma americanum*	0,01	0,01	0,01	0,03	0,00	0,04		
KJ130497.1_Candidatus_Midichloria_mitochondrii_clone	Estados Unidos	*Amblyomma americanum*	0,02	0,03	0,01	0,03	0,04	0,00	0,04	
MT965820.1_Candidatus_Midichloria_sp._isolate_Hap1	Brasil	*Amblyomma tigrinum*	0,02	0,02	0,01	0,03	0,03	0,01	0,02	0,01

Tabla 10. Localidades de recolección de garrapatas duras positivas para *Ehrlichia, Borrelia* y *Rickettsia* spp. Se indica la identidad de la primera coincidencia de BLAST.

Especie	**Estadio**	**Ecorregión**	***Ehlichia***	***Borrelia***	***Rickettsia***
Ixodes uriae	ninfa	Patagonia	EHR16s 100% (306/306) MK049840.1 *dsb* 94% (209/307) MK049838.1 *gltA* 86% (526/611) CP006917	No se obtuvo secuencia	No se obtuvo secuencia
	hembra		EHR16s 99%(331/335)		

			KU559921.1		
Ixodes abrocomae	macho (1) hembra (1)	Coquimbo	No se obtuvo secuencia	*Flab* 99% (304/307 MH187987 *p66* 93% (611/657) IGS 84% (486/577) *ospC* 78,4% (259/329) CP009910.1	No se obtuvo secuencia
Rh. sanguineus	macho (1) y hembra (1)	Santiago	No se obtuvo secuencia	No se obtuvo secuencia	*gltA* 100% (350/350) KY402176
Amblyomma tigrinum	pool: 2 ninfas y un macho	Coquimbo	No se obtuvo secuencia	No se obtuvo secuencia	*gltA* 100% (350/350) JN180849.1

Tabla 11. Distribución geográfica de lugares de recolección de estudios anteriores ordenados por año de publicación.

Localidad	Latitud	Longitud	Especie	Autor
Isla Duoumer	-64.87	-63.6	*Ixodes uriae*	Casanueva y Moyano, 2000
Concepción	-36.82	-73.05	*Rhipichephalus sanguineus – Amblyomma tigrinum*	Muñoz et al., 2002
Chillán	-36.61	-72.0	*Rhipichephalus sanguineus*	González-Acuña et al 2003
Museo San Antonio	-33.58	-71.61	*Amblyomma argentinae*	González-Acuña et al 2003b
Chillán	-36.56	-72.1	*Amblyomma tigrinum*	González-Acuña et al 2004
Salar de Surire	-18.83	-69.1	*Amblyomma parvitarsum*	González-Acuña et al 2004b
Chillán	-36.6	-72.09	*Ixodes sigelos, Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2004b
Ñuble	-36.85	-72.03	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Fuerte Bulnes	-53.6	-70.91	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Isla Gonzalo	-56.5	-68.73	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Isla Navarino	-55.08	-67.66	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Puerto Williams	-54.93	-67.6	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Punta Arenas	-53.13	-70.93	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2005
Puerto Aysén	-45.0	-72.01	*Ixodes sigelos*	Guglielmone et al 2005
Lago General Carrera	-46.0	-72	*Ixodes sigelos*	Guglielmone et al 2005
Puerto Ibáñez	-46.0	-71.01	*Ixodes sigelos*	Guglielmone et al 2005
San Ignacio	-37.0	-72.0	*Rhipichephalus sanguineus*	González-Acuña et al 2006
Quirihue	-36.0	-72.0	*Amblyomma tigrinum*	González-Acuña et al 2006
San Martin, Valdivia	-39.63	-74.25	*Ixodes stilesi*	Guglielmone et al 2007
Chusmiza	-19.66	-69.16	*Ixodes auritulus*	González-Acuña et al 2009
Arica	-18.46	-70.3	*Amblyomma triste*	Abarca et al., 2012
Visviri	-17.59	-69.48	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Parinacota	-18.16	-69.30	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Salar de Surire	-18.83	-69.1	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Salar de Surire	-18.85	-69.14	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Salar de Surire	-18.85	-69.14	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Enquelga	-19.22	-68.81	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Enquelga	-19.23	-67.66	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Ollague	-21.16	-68.33	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014

Volcán de Llullaihuaco	-24.71	-68.66	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Volcán de Llullaihuaco	-24.71	-68.66	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Volcán de Llullaihuaco	-24.71	-68.66	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Salar de pedernales	-26.32	-69.26	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Vallenar	-28.21	-70.64	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2014
Isla Magdalena	-52.55	-70.35	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal y González-Acuña 2015
Southern Shetland Islands	-62.21	-58.78	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal y González-Acuña 2015
Livingstone Island	-62.45	-60.78	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal y González-Acuña 2015
King George Island	-62.15	-58.46	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal y González-Acuña 2015
Isla Magdalena	-52.91	-70.58	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal y González-Acuña 2015
Parinacota	-18.16	-67.66	*Amblyomma parvitarsum*	Muñoz-Leal et al 2016
Parque Nacional Bosques Fray Jorge	-30.65	-71.68	*Amblyomma tigrinum*	Llano-Soto et al, 2017
Termas del Flaco	-34.95	-70.41	*Ixodes auritulus*	Llano-Soto et al, 2017
Cerefas, Valdivia	-39.80	-73.2	*Ixodes stilesi*	Verdugo et al., 2017
Arica	-18.48	-70.30	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Cuya	-19.16	-70.17	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Huara	-19.99	-69.77	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Iquique	-20.23	-70.14	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Alto Hospicio	-20.26	-70.10	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Chanavayita	-20.70	-70.18	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
San Marcos	-21.11	-70.12	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Tocopilla	-22.08	-70.19	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
María Elena	-22.34	-69.66	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Baquedano	-23.33	-69.84	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Mejillones	-23.09	-70.46	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Antofagasta	-23.65	-70.40	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Coquimbo	-29.96	-71.33	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Santiago	-33.60	-70.57	*Rhipichephalus sanguineus*	Diaz et al., 2018
Oncol	-39.67	-73.32	*Ixodes chilensis*	González-Acuña et al 2018
Camping Ranchillo	-34.44	-70.44	*Ixodes* sp.	Muñoz-Leal et al 2019b
Camping Maitenes	-34.44	-70.44	*Ixodes* sp.	Muñoz-Leal et al 2019b

Bahía Eugenia	-54.93	-67.3	*Ixodes auritulus*	Muñoz-Leal et al 2019a
Cascadas	-41.06	-72.63	*Ixodes neuquenensis*	Muñoz-Leal et al 2019a
Los Ángeles	-37.45	-72.35	*Ixodes taglei*	Muñoz-Leal et al 2019a
Base Gabriel González Videla GGV	-64.81	-62.85	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal et al 2019a
Santa Juana	-37.16	-72.93	*Ixodes taglei*	Muñoz-Leal et al 2019a
Isla Magdalena	-55.91	-70.57	*Ixodes uriae*	Muñoz-Leal et al 2019c
Valdivia	-39.81	-73.24	*Rhipichephalus sanguineus*	Oyarzún-Ruiz et al 2021
Osorno	-40.57	-73.13	*Rhipichephalus sanguineus*	Oyarzún-Ruiz et al 2020

Tabla 12. Regresión logística binaria género *Ixodes* con variables de PCA

VAR	**Beta**	**Error Estándar**	**Valor p**
Latitud (#1)	1,69046	0,79337	**0,03311***
Longitud (#2)	-8,46057	4,09041	**0,03860***
Bio1 (#3)	-7,65007	3,51566	**0,02956***
Bio2 (#4)	4,68897	2,25075	**0,03722***
Bio6 (#5)	9,54134	4,25001	**0,02477***
Bio8 (#6)	-2,89487	1,58672	0,06809
Bio12 (#7)	0,01008	0,01195	0,39917
Bio15 (#8)	0,29380	0,12199	**0,01602***
Bio16 (#9)	-0,02090	0,02190	0,33989
Bio18 (#10)	0,05640	0,03774	0,13508
Land (#11)	0,00475	0,00374	0,20387
Bio4 (#12)	-0,01036	0,01624	0,52350
Bio5 (#13)	0,02112	0,26203	0,93575
Bio14 (#14)	-0,06293	0,05524	0,25459
Intercepto	556,91321		

***** diferencia estadística significativa ($p < 0,05$)

Tabla 13. Regresión logística binaria género *Amblyomma* con variables de PCA

VAR	Beta	Error Estándar	Valor p
Latitud (#1)	-0,43904	0,27447	0,10968
Longitud (#2)	2,47891	1,89814	0,19156
Bio1 (#3)	0,13888	1,04212	0,89398
Bio2 (#4)	0,14354	0,73690	0,84556
Bio6 (#5)	-0,33016	1,19807	0,78287
Bio8 (#6)	-0,07766	0,26389	0,76853
Bio12 (#7)	-0,01843	0,02269	0,41668
Bio15 (#8)	-0,00597	0,02314	0,79642
Bio16 (#9)	0,03260	0,04037	0,41930
Bio18 (#10)	-0,01717	0,03013	0,56868
Land (#11)	0,00051	0,00152	0,73996
Bio4 (#12)	0,00744	0,00936	0,42704
Bio5 (#13)	-0,19911	0,11894	0,09411
Bio14 (#14)	-0,06009	0,05852	0,30456
Intercepto	-161,57353		

Tabla 14. Regresión logística binaria género *Rhipicephalus* con variables de PCA

VAR	Beta	Error Estándar	Valor p
Latitud (#1)	0,16709	0,18247	0,35983
Longitud (#2)	0,52374	0,71165	0,46176
Bio1 (#3)	-0,23293	0,87393	0,78983
Bio2 (#4)	0,31714	0,67491	0,63842
Bio6 (#5)	0,38287	0,93215	0,68126
Bio8 (#6)	0,19530	0,27515	0,47783
Bio12 (#7)	0,01803	0,02100	0,39060
Bio15 (#8)	-0,01465	0,02357	0,53417
Bio16 (#9)	-0,02724	0,03338	0,41441
Bio18 (#10)	-0,07721	0,06347	0,22377
Land (#11)	0,00262	0,00163	0,10750
Bio4 (#12)	-0,00838	0,00878	0,33965
Bio5 (#13)	0,21102	0,17676	0,23255
Bio14 (#14)	0,05846	0,05444	0,28291
Intercepto	-49,53582		

Tabla 15. Regresión logística binaria del género *Rickettsia* con variables de PCA

VAR	Beta	Error Estándar	Valor p
Latitud (#1)	-0,13113	0,54913	0,81127
Longitud (#2)	-0,06010	3,11754	0,98462
Bio1 (#3)	-1,80577	2,40313	0,45240
Bio2 (#4)	1,02062	1,58721	0,52021
Bio6 (#5)	1,76960	2,62922	0,50092
Bio8 (#6)	0,24784	0,65350	0,70451
Bio12 (#7)	0,02155	0,04624	0,64114
Bio15 (#8)	0,05361	0,06371	0,40011
Bio16 (#9)	-0,02950	0,06535	0,65164
Bio18 (#10)	-0,06920	0,14010	0,62135
Land (#11)	-0,00066	0,00314	0,83265
Bio4 (#12)	0,01569	0,01957	0,42271
Bio5 (#13)	-0,37142	0,24485	0,12929
Bio14 (#14)	-0,08585	0,09862	0,38402
Intercepto	7,57984		

Tabla 16. Regresión logística binaria del género *Ehrlichia* con variables de PCA

VAR	Beta	Error Estándar	Valor p
Latitud (#1)	-0,44442	0,59508	0,45518
Longitud (#2)	0,83918	2,96947	0,77748
Bio1 (#3)	2,30251	3,11162	0,45932
Bio2 (#4)	-0,29694	2,09621	0,88735
Bio6 (#5)	-0,62860	2,77315	0,82068
Bio8 (#6)	-0,69047	0,98042	0,48128
Bio12 (#7)	0,01703	0,02838	0,54841
Bio15 (#8)	0,04597	0,07770	0,55409
Bio16 (#9)	-0,01868	0,04290	0,66317
Bio18 (#10)	-0,06151	0,08550	0,47189
Land (#11)	-0,01018	0,00724	0,15945
Bio4 (#12)	0,00658	0,01760	0,70846
Bio5 (#13)	-0,14904	0,26093	0,56788
Bio14 (#14)	0,09299	0,10522	0,37682
Intercepto	-68,42271		