



FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y BIOMÉDICAS

PROGRAMA MICROBIOLOGÍA

**DETECCIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Anaplasmataceae* EN ANIMALES
DE PRODUCCIÓN PECUARIA EN EL DEPARTAMENTO DEL ATLÁNTICO,
COLOMBIA**

Presentan:

Mauricio Marín Hurtado
Leidy Norelis Giraldo Soto
Nicolas José Zarate Pérez
Mayra Alejandra Martínez Valdivieso

Profesor tutor:

María Auxiliadora Badillo Viloría

Co-tutor

Steffania de la Rosa Jaramillo

Trabajo de investigación

11 noviembre 2022

BARRANQUILLA, ATLÁNTICO
REPÚBLICA DE COLOMBIA

Resumen

Las enfermedades transmitidas por vectores como las garrapatas son un problema a nivel mundial, esto debido a los costos relacionados con los tratamientos y la disminución en la producción del ganado. Actualmente en Colombia se han reportado pocos casos donde se evidencie la presencia de hemoparásitos involucrados con animales de producción, de aquí la importancia de estudiar la frecuencia de miembros de la familia Anaplasmataceae, enfocándonos en dos especies como lo son *Anaplasma sp.* y *Ehrlichia sp.* presentes en el Departamento del Atlántico. Este estudio se realizó en periodos comprendidos entre enero y septiembre del 2022 en 9 fincas de 7 municipios del Departamento del Atlántico, distribuidas en las 5 subregiones del departamento (Área Metropolitana de Barranquilla, Costera, Nordeste, Oriental, Centro y Sur). Se colectaron 81 muestras de sangre de animales de granja (bovinos N = 62, equinos N = 15 y Mulares N = 4) para detectar la presencia de bacterias de la familia Anaplasmataceae (*Anaplasma sp.* y *Ehrlichia sp.*) a partir de la técnica molecular PCR amplificando el gen ARN ribosomal 16s, el análisis de las muestras estuvo comprendido por la extracción de DNA; la cual se realizó a partir de 300 µl de sangre utilizando el Kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) seguido de la PCR, donde en cada reacción se utilizó 10 µl GoTaq® Probe qPCR Master Mix (Promega), 1.0 µl de cebadores directos e inversos, 5 µl de DNA y 3 µl agua grado molecular destilada, para un volumen final de 20 µl. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 25® y Microsoft Excel, elaborando la prueba chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% y con un $p \leq 0.05$, calculando la frecuencia bacteriana relacionada de la familia anaplasmataceae en animales de granja, se tuvieron en cuenta las variables como localización, tamaño, orientación productiva y sexo. Se encontró en bovinos con un 75.58%, seguidamente de los equinos con 53,33% y en mulares con un 25%. La frecuencia en bovinos macho se presentó en un 83% en comparación a las hembras con un 71% de la población estudiada, el análisis chi-cuadrado determinó una asociación significativa de ($p < 0,007$) con la positividad y la localización de los animales muestreados. De acuerdo con los resultados positivos y negativos distribuidos geográficamente se encontró una mayor prevalencia en el área sur con 83,33%, seguido por el área metropolitana con un 80,1%, zona centro 71%, oriental 47% y en zona costera las cuales no presentó casos positivos. Los resultados obtenidos arrojan que el 65.9% de los animales muestreados estaban infectados con las especies de la familia anaplasmataceae, lo que evidencia que las condiciones climáticas de la región permiten el desarrollo y maduración de las garrapatas como vectores microbiológicos, también se coincide con otros estudios al establecer que los bovinos son más susceptibles a la colonización que otras especies del sector pecuario. Se hace énfasis en la importancia que tiene el uso de técnicas moleculares en el diagnóstico ya que debido al difícil aislamiento no se suele aplicar el tratamiento más efectivo repercutiendo en la explotación pecuaria y en salud pública.

Palabras claves: Vectores, análisis molecular, 16s rRNA, familia Anaplasmataceae, hemoparásitos.

Introducción.

La anaplasmosis y ehrlichiosis son enfermedades zoonóticas tropicales y subtropicales que afectan principalmente animales de producción y domésticos (Kocan et al., 2015). Estas enfermedades causan graves problemas de morbi-mortalidad en la salud pública y sanidad animal, como consecuencia de la relación y el contacto frecuente entre los animales domésticos y las personas (Eraso-Cadena et al., 2018).

La familia *Anaplasmataceae* pertenece al orden *Rickettsiales* que incluye dos importantes géneros *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp. *Anaplasma* cuenta con tres especies importantes como *A. marginale*, *A. centrale* y *A. bovis* que deterioran los eritrocitos del ganado vacuno y caprino a nivel mundial (Rar et al., 2021). Dentro del género de *Ehrlichia* se incluyen *E. canis*, *E. chafeensis* y *E. ewingii* que afectan principalmente a los monocitos de los perros. Recientemente se describió una nueva especie de *E. muris eaucloirensis* que infecta a humanos (Low et al., 2020).

Las afectaciones en la producción pecuaria incluyen disminución en la producción, abortos y en el peor de los casos muerte del animal, (Chaorattanakawee et al., 2022) generando pérdidas económicas aproximadamente de 4,2 millones de dólares por año (Jaimes-Dueñez et al., 2018). Estudios en Colombia han demostrado la presencia de *Anaplasma* en animales domésticos como bovinos y humanos mediante pruebas serológicas y moleculares. Colombia al ser uno de los principales países ganaderos de Sudamérica con un estimado de 27 millones de cabezas de ganado bovino no se encuentra exento de las pérdidas económicas que representa la presencia de estos microorganismos (Jaimes-Dueñez et al., 2018).

El panorama en el uso de técnicas para el diagnóstico de *Ehrlichia* spp y *Anaplasma* spp en animales es amplio, puesto que son enfermedades similares con síntomas parecidos, hay disponible varias pruebas, serológicas, microscópicas y moleculares que resultan útiles de acuerdo con la fase de la enfermedad. La utilización de una sola herramienta diagnóstica resulta poco confiable; la baja sensibilidad en infecciones naturales (Vargas-Hernandez et al., 2016) y poca bacteriemia hacen difícil la identificación microscópica (Rotondano et al., 2012); en muchos test serológicos la demora en la respuesta de anticuerpos durante la fase aguda de la enfermedad y reacciones cruzadas con otros microorganismos relacionados dificulta la especificidad y diferenciar entre el estado subclínico de la enfermedad y una infección anterior (Máttar Salim & Parra Miguel, 2006). En contraste la técnica de PCR es de utilidad para detectar infecciones activas y confirmar las especies mediante cebadores específicos (Vargas-Hernández et al., 2012).

Los reportes de ehrlichiosis y anaplasmosis en Colombia difieren en cada región, principalmente se han limitado a técnicas serológicas y microscopía, las cuales varían en sensibilidad y especificidad (Badillo-Viloria et al., 2017; Eraso-Cadena et al., 2018; McCown M et al., 2014). Pocos estudios han confirmado la presencia de bacterias de la familia *Anaplasmataceae* a partir de técnicas moleculares (Pesapane et al., 2019).

La región caribe colombiana por su ubicación geográfica y clima de predominio tropical tiene todas las condiciones que facilitan la propagación de las garrapatas vectores. En el departamento del Atlántico son escasas las investigaciones realizadas; resulta importante, conocer la distribución y factores asociados de ehrlichiosis y anaplasmosis en animales de la región, articulando estos aspectos, bajo el enfoque integral de One Health, esto contribuirá en el adecuado control de brotes y tendencias y en garantizar una atención adecuada, selección de pruebas diagnósticas apropiadas y tomar decisiones terapéuticas oportunas. Por tanto, el objetivo general del presente estudio es detectar molecularmente especies de Anaplasmataceae en animales de producción pecuaria en el departamento del Atlántico, Colombia.

Materiales y métodos.

Área de estudio.

Estudio prospectivo de corte transversal realizado entre enero y septiembre del 2022. El departamento del Atlántico se encuentra ubicado al norte del territorio nacional y está enmarcado dentro de las siguientes coordenadas: Latitud norte 10° 15' 36 " Sur de San Pedrito: 11° 06' 37" Bocas de Ceniza Longitud oeste de Greenwich 74° 42' 47" (margen izquierda del río Magdalena) 75° 16' 34" (intersección Santa Catalina y Arroyo grande). Cuenta con una superficie de 3.386 Km², lo que representa el 0.29% del territorio nacional. (*Departamento Del Atlántico*, n.d.). Geográficamente está compuesto por 23 municipios, posee altitudes de 123 m, el clima es tropical, cálido y seco, con temperatura media anual de 27°C; con medias máximas registradas de 29°C, y mínimas de 25°C, entre octubre y noviembre.

Diseño del estudio.

Fueron seleccionados 7 municipios de cada subregión del área de estudio, con mayor población de ganado bovino y equino de acuerdo con el Censo Pecuario nacional (ICA 2020). Se realizó muestreo por conveniencia en 9 granjas teniendo en cuenta la facilidad de transporte y las condiciones ambientales.

Método de muestreo y toma de muestras.

Previo consentimiento del propietario, los animales fueron examinados individualmente en toda la superficie corporal para observar la presencia de garrapatas de todos los estadios en la mitad del cuerpo en lados alternativos del animal. De los animales infestados fueron seleccionados al azar un total de 81 animales (62 bovinos, 15 equinos, y 4 mulares).

Las muestras de sangre fueron tomadas por un médico veterinario, directamente de la vena caudal con la debida precaución preservando la seguridad y bienestar animal. Las muestras de sangre obtenidas se depositaron en tubos con EDTA, se codificaron respectivamente para su posterior procesamiento, se conservaron a -20°C. Se registró además los datos generales de los animales como sexo y edad e información de la granja como tamaño de la granja, coordenadas, orientación productiva, entre otros.

Análisis molecular.

La extracción de ADN se realizó a partir de 300 µl de sangre utilizando el Kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN obtenido se conservó a -20°C y se cuantificó en el equipo Nanodrop one (Thermo Scientific). Se empleó una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional utilizando cebadores dirigidos al gen 16Sr RNA ribosomal que amplificaron un fragmento esperado de 345 pb para especies de la familia Anaplasmataceae, como se describió previamente (**Tabla 1**) (Inokuma et al., 2000; Parola et al., 2000).

En cada reacción de PCR se utilizó 10 µl GoTaq® Probe qPCR Master Mix (Promega), 1.0 µl de cebadores directos e inversos, 5 µl de DNA y 3 µl agua grado molecular destilada, para un volumen final de 20 µl. La PCR se llevó a cabo utilizando un termociclador T100 Thermal Cycler (BIO-RAD), las etapas de la PCR incluyeron una desnaturalización inicial a 95°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de 94°C durante 30 segundos, hibridación o anillamiento de 60°C durante 30 segundos, la etapa de extensión de 72 °C durante 45 segundos y un paso de extensión final de 72°C durante 5 minutos.

En todas las reacciones se incluyeron controles negativos, reemplazando el ADN molde con 5 µl de agua grado molecular y como control positivo, se utilizó un ADN de *Anaplasma marginale* de una muestra de garrapata. Los productos amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1% y se visualizaron en bajo luz UV (**Figura 3**).

Cebador	Secuencia (5' - 3')	Producto amplificado	Concentración final (µM)
Ehr-16S-F	GGTACCYACAGAAGAAGTCC	345 pb	0.4
Ehr-16S-R	TAGCACTCATCGTTTACAGC		

Tabla 1. Primers utilizados para amplificar el gen ARNr 16s de especies bacterianas de la familia *Anaplasmataceae*.

Análisis estadísticos

Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS 25® y GraphPad Prism versión 8.0 (USA), se empleó un análisis estadístico descriptivo. Para medir la asociación entre las variables epidemiológicas con la probabilidad de positividad de la infección por especies de *Anaplasmataceae*, se evaluaron mediante el test de Chi-cuadrado de Pearson o test de Fisher con un nivel de confianza del 95% y un valor de $p \leq 0.05$.

Para el análisis de la distribución espacial de *Anaplasmataceae* se determinó las coordenadas geográficas en grados decimales, de los sitios de procedencia de los animales. Los datos fueron exportados a Quantum Geographic Information Systems (QGIS; versión 3.4.15), se realizó una capa de puntos con los casos positivos y negativos de *D. immitis*, seguido de una matriz de distancia para determinar la distancia entre los puntos.

Resultados.

El ADN de especies de Anaplasmataceae fue detectado en 54/81 (65.9%; IC: 95%; 56 - 77%) de los animales analizados. La distribución geográfica de animales positivos y negativos para la familia *Anaplasmataceae* muestreados en el área de estudio se presenta en la (Figura 1).

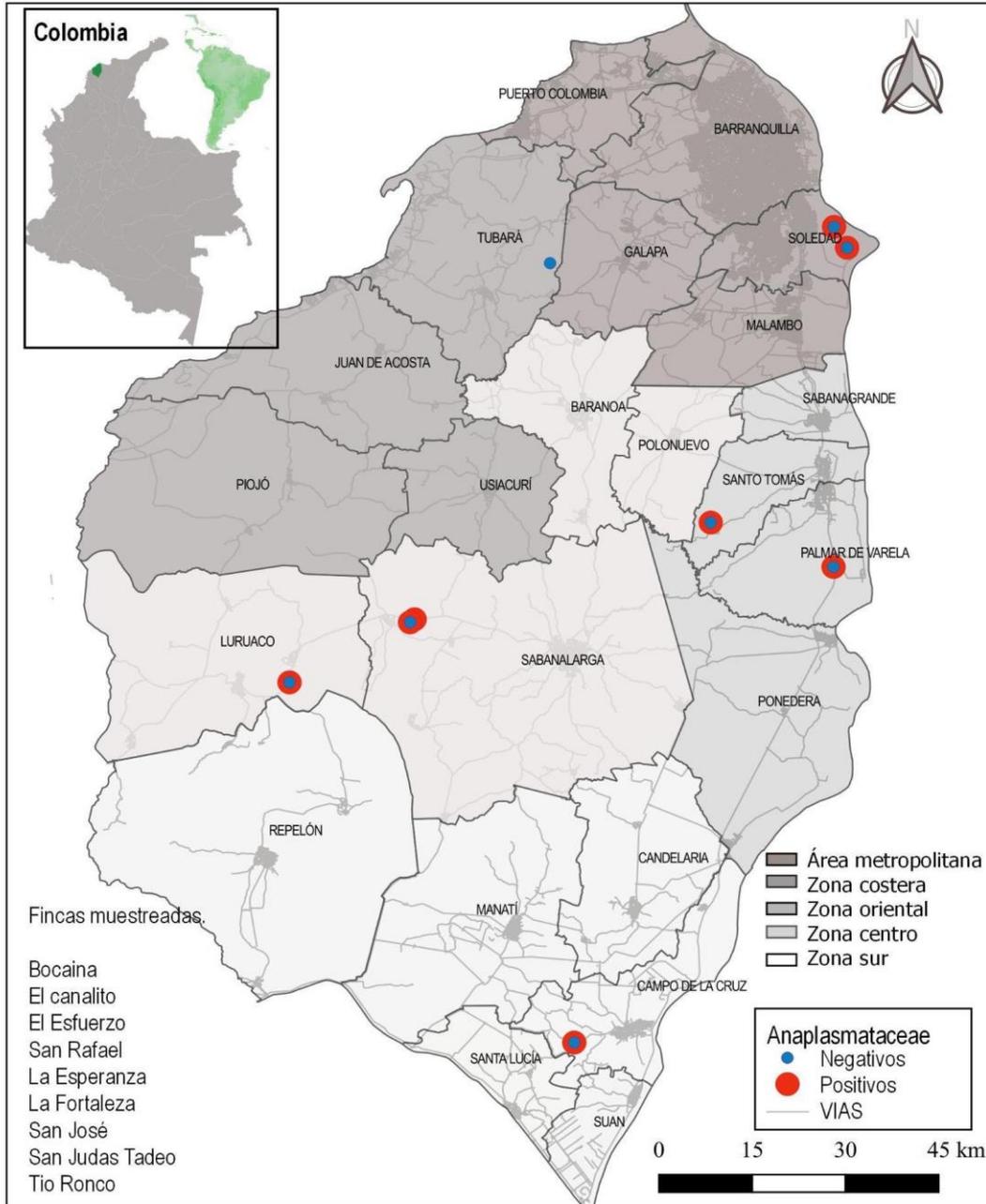


Figura 1. Mapa de distribución geoespacial de casos positivos y negativos para *Anaplasmataceae* en el departamento del Atlántico del Caribe colombiano.

La frecuencia más alta de acuerdo al hospedero fue en bovinos 45/62 (72.6%), seguido de equinos 8/15 (53,3) y mulares 1/4 (25%) ($p=0,071$) (Figura 2a). En cuanto al sitio de ubicación la mayor prevalencia se mostró en el área Sur 17/21 (83.33%), seguido del área Metropolitana

17/21 (81%), Zona Centro 24/33 (71%), Oriental 8/17 (47%) y la Zona Costera que no presentó casos positivos (Figura 2b).

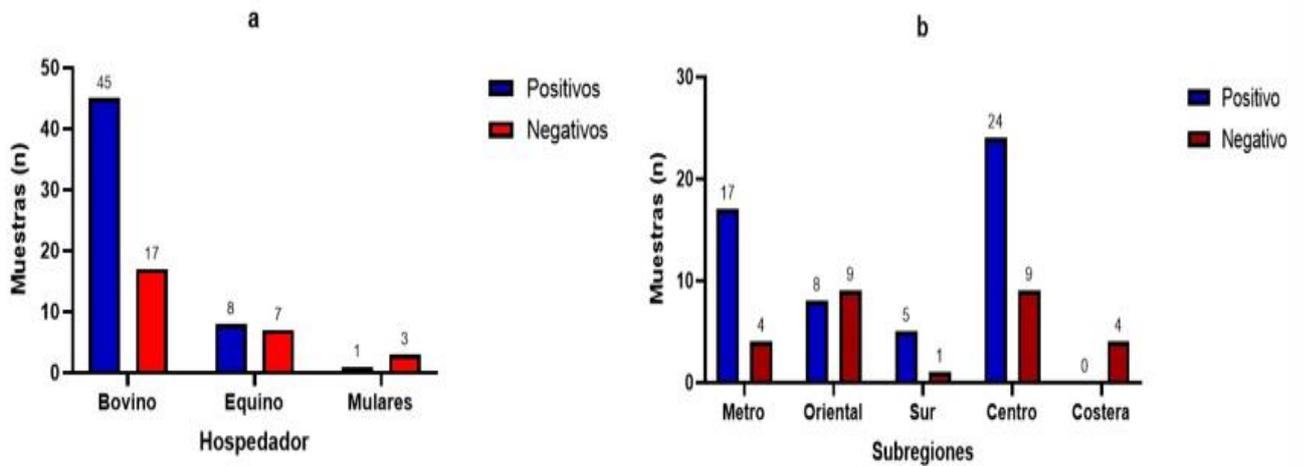


Figura 2. Número de positivos y negativos según el hospedador y las subregiones

En bovinos la frecuencia fue mayor en machos 5/6 (83%) frente a las hembras 40/56 (71%) de la población muestreada. El análisis de Chi-cuadrado mostró diferencias significativas ($p < 0,0007$) de la infección por especies de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* con respecto a la región muestreada (Tabla 2).

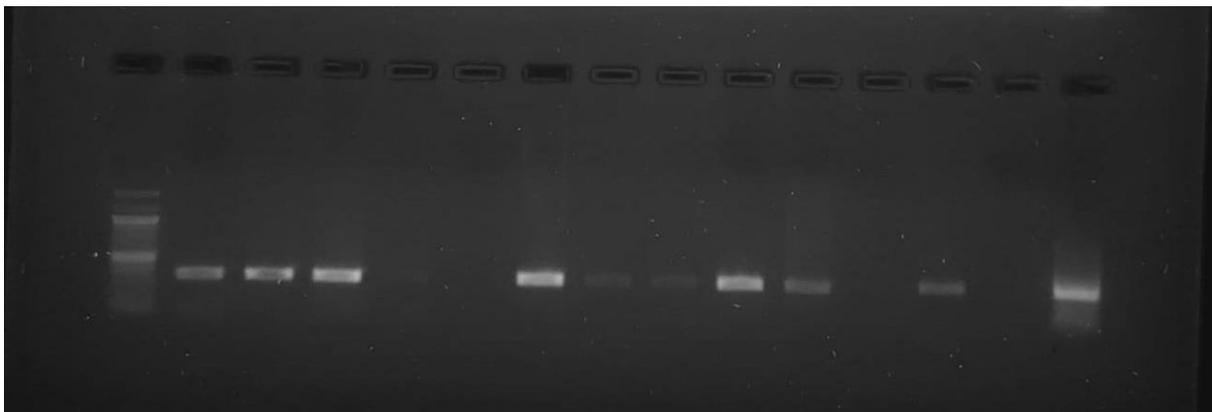


Figura 3. Electroforesis del gen 16s ARNr. Banda 345 pb corresponde a la amplificación del gen 16s ARNr: C- = control negativo, C+ = control positivo.

Tabla 2. Datos epidemiológicos en bovinos, equinos y mulares con infección por anaplasmatáceas

Variables epidemiológicas	Frecuencia positiva (%)	Frecuencia negativa (%)	Frecuencia total (%)	P value
Sexo				
M	10 (55.55)	8 (44.44)	18 (100)	0.257
H	44 (70.31)	19 (29.68)	63 (100)	
Localización				
Zona Metropolitana	17 (80.96)	4 (19.04)	21 (100)	0.007
Zona Oriental	8 (47.05)	9 (52.94)	17 (100)	
Zona Sur	5 (83.33)	1 (16.16)	6 (100)	
Zona Centro	24 (72.72)	9 (27.27)	33(100)	
Zona Costera	0	4 (100)	4 (100)	
Tamaño de la granja				
1-50 animales	5 (50)	5 (50)	10(100)	0.44
51-100 animales	23 (71.87)	9 (28.12)	32(100)	
101-500 animales	26 (66.66)	13 (33.33)	39(100)	
Orientación productiva				
Doble propósito	49 (64.47)	27 (35.52)	76 (100)	0.103
Lechera	0	0	0	
Cria-Ceba	5 (100)	0	5 (100)	
Sistema de pastoreo				
Estabulado/semiabulado	0	0	0	0.087
Extensivo	17 (80.95)	4 (19.04)	21 (100)	
Intensivo	29 (67.44)	14 (32.55)	43 (100)	
Mixto	8 (47.05)	9 (52.94)	17 (100)	
Rotación de potreros				
NO	13 (92.85)	1 (7.14)	14	0.022
SI	41 (61.19)	26 (38.8)	67	
Control de garrapatas				
Fumigación	4 (57.14)	3 (42.85)	7	0.576

Discusión.

Los resultados obtenidos evidencian una frecuencia alta (65,9 %) de infección por especies de la familia Anaplasmatáceas en los animales muestreados. La región caribe por su clima tropical y condiciones climáticas (temperatura y humedad) pueden influir en la incidencia y presentación de estos patógenos en la región; son factores importantes para el desarrollo y ciclo de vida de garrapatas portadoras (Muñoz-Leal et al., 2019).

En general, el diagnóstico de ehrlichiosis y anaplasmosis en animales presenta dificultades, la variedad de pruebas microscópicas y serológicas permiten detectar diferentes etapas de la

enfermedad, pero tienen baja sensibilidad y en otros casos reacciones cruzadas con otros microorganismos (Vargas-Hernandez et al., 2016, Rotondano et al., 2012). En Colombia, el diagnóstico molecular de bacterias de la familia *Anaplasmataceae* es poco frecuente. Por lo tanto se recurre al uso de técnicas tradicionales de laboratorio, lo que termina en diagnóstico incorrecto y tratamientos inexactos (Blanco Martínez et al., 2016). El uso de la PCR tal cual como se realizó en este estudio es de utilidad en infecciones activas que en muchas veces no pueden ser detectadas a través de la microscopía.

La frecuencia reportada en este estudio es similar a lo reportado en Egipto, donde la mayor tasa de infección de *Anaplasma spp* se informó en vacas frente a búfalos y ovejas (Tumwebaze et al., 2020). Esto se puede atribuir a la variedad y cantidad de garrapatas que infestan a vacas frente a otros grupos de animales (Cardona-Álvarez et al., 2012), según se ha informado las tasas de infección relativamente bajas que hay en búfalos van de la mano con la ausencia de síntomas clínicos. donde se puede inferir que las condiciones climatológicas y la variabilidad son importantes en cuanto a susceptibilidad de los animales dependiendo de las zonas geográficas.

Estudios previos correlacionan qué animales jóvenes son más susceptibles a las infecciones que los adultos. (Ríos Leonardo et al., 2010). Los animales mayores pueden presentar algún tipo de inmunidad por exposiciones previas a lo largo de su vida, pero al alcanzar edades avanzadas baja su inmunidad, causando mortalidad por reinfecciones del animal (Jaimes-Dueñez et al., 2018).

Estudios en Colombia han demostrado la presencia de *Anaplasma spp.* en menor proporción frente a *Ehrlichia spp.* en animales domésticos (perros, caballos, bovinos) y humanos mediante pruebas serológicas y moleculares (Vargas-Hernandez et al., 2016; Bonilla-Aldana et al., 2020; Arroyave et al., 2020). Sin embargo, pese a la baja prevalencia de *Anaplasma* el potencial zoonótico de *A. phagocytophilum* frente a la anaplasmosis granulocítica humana en Colombia es necesaria la vigilancia epidemiológica y estudios sobre este patógeno, debido al contacto entre los humanos y sus mascotas.

Los animales de producción al poseer diferentes características en el manejo de la orientación productiva están expuestos a la presencia de ectoparásitos y enfermedades transmitidas por ellos (Pérez de León et al., 2020). En el ganado bovino destinado a producción lechera ubicado en zonas de hacinamiento frente a los que se encuentran en pastoreo, al estar expuestos al aire libre son más propensos a ser infectados por vectores como moscas y garrapatas que hacen más fácil la transmisión de enfermedades (Simon et al., 2016).

Conclusión.



Este estudio mostró una alta frecuencia de bacterias de la familia *Anaplasmataceae* en animales domésticos del departamento del Atlántico. Evidenciando la importancia de técnicas moleculares (PCR) en el diagnóstico de hemoparásitos en el ganado.

La detección de estos microorganismos permite implementar planes de concientización y acción que permitan mitigar la prevalencia de enfermedades zoonóticas que repercuten principalmente en la explotación pecuaria de la región del caribe colombiano y en salud pública. Es necesario realizar más estudios en animales de producción que están estrechamente relacionados con trabajadores para esclarecer el riesgo de esta infección.

Referencias

- Badillo-Viloria, M., Díaz-Perez, A., Orozco-Sánchez, C., & de Lavelle-Galvis, R. (2017). Infección por Ehrlichia canis y Anaplasma sp. en caninos atendidos en clínicas veterinarias en Barranquilla, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 22(supl), 6023–6033. <https://doi.org/10.21897/RMVZ.1072>
- Benavides Ortiz, E., Polanco Palencia, N., Vizcaíno Gerdts, O., & Betancur Hurtado, Ó. (n.d.). *CRITERIOS Y PROTOCOLOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE HEMOPARÁSITOS EN BOVINOS*. Retrieved October 28, 2022, from www.produccion-animal.com.ar
- Blanco Martínez, R., Cardona Álvarez, J., & Vargas Viloria, M. (2016). Prevalencia de parásitos hematópicos endoglobulares en bovinos gyr puros en Córdoba, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 31, 67–74. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542016000100007&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Cardona-Álvarez, J., Ensuncho-Hoyos, C., & Vergara-Garay, O. (2012). *Frequency of Hematropics in Three Farms of Buffaloes (Bubalus bubalis) from Department of Córdoba, Colombia*. XXII, 530–536.
- Chorattanakawee, S., Wofford, R. N., Takhampunya, R., Katherine Poole-Smith, B., Boldbaatar, B., Lkhagvatseren, S., Altantogtokh, D., Musih, E., Nymadawa, P., Davidson, S., Hertz, J., Fiorenzano, J., Gray, G. C., & von Fricken, M. E. (2022). Tracking tick-borne diseases in Mongolian livestock using next generation sequencing (NGS). *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 13(1), 101845. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2021.101845>
- Departamento del Atlántico. (n.d.). Retrieved May 24, 2022, from <https://www.atlantico.gov.co/index.php/departamento/presentaciondepartamento-45237>
- Eraso-Cadena, M. P., Molina-Guzmán, L. P., Cardona, X., Cardona-Arias, J. A., Ríos-Osorio, L. A., & Gutierrez-Builes, L. A. (2018). Serological evidence of exposure to some zoonotic microorganisms in cattle and humans with occupational exposure to livestock in Antioquia, Colombia. *Cadernos de Saúde Pública*, 34(10), e00193617. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00193617>
- 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. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.11.4219-4221.2000>
- Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., & Mejía-Jaramillo, A. M. (2018). Genetic, host and environmental factors associated with a high prevalence of Anaplasma marginale. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(5), 1286–1295. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2018.05.009>
- Kocan, K., Fuente, J., & Cabezas, A. (2015). *The genus Anaplasma: new challenges after reorganization* / DIGITAL.CSIC. <https://digital.csic.es/handle/10261/142274>
- Low, V. L., Tan, T. K., Khoo, J. J., Lim, F. S., & AbuBakar, S. (2020). An overview of rickettsiae in Southeast Asia: Vector-animal-human interface. *Acta Tropica*, 202, 105282. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2019.105282>
- Máttar Salim, & Parra Miguel. (2006). *DETECTION OF ANTIBODIES TO ANAPLASMA, BARTONELLA AND COXIELLA IN RURAL INHABITANTS OF THE CARIBBEAN AREA OF COLOMBIA*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000200002

- McCown M, Alleman A, Saylor K, C. R., Thatcher B, Tyrrell P, Stillman B, Beall M, & Barbet A. (2014). *Point prevalence survey for tick-borne pathogens in military working dogs, shelter animals, and pet populations in northern Colombia* | Ramaswamy Chandrashekar - Academia.edu.
https://www.academia.edu/20545612/Point_prevalence_survey_for_tick_borne_pathogens_in_military_working_dogs_shelter_animals_and_pet_populations_in_northern_Colombia?auto=citations&from=cover_page
- Muñoz-Leal, S., Lopes, M. G., Marcili, A., Martins, T. F., González-Acuña, D., & Labruna, M. B. (2019). Anaplasmataceae, Borrelia and Hepatozoon agents in ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from Chile. *Acta Tropica*, 192, 91–103.
<https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2019.02.002>
- Parola, P., Roux, V., Camicas, J. L., Baradji, I., Brouqui, P., & Raoult, D. (2000). Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(6), 707–708. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(00\)90243-8](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90243-8)
- Pérez de León, A. A., Mitchell, R. D., & Watson, D. W. (2020). Ectoparasites of Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 173–185.
<https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2019.12.004>
- Pesapane, R., Foley, J., Thomas, R., & Castro, L. R. (2019). Molecular detection and characterization of Anaplasma platys and Ehrlichia canis in dogs from northern Colombia. *Veterinary Microbiology*, 233, 184–189. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2019.05.002>
- Rar, V., Tkachev, S., & Tikunova, N. (2021). Genetic diversity of Anaplasma bacteria: Twenty years later. *Infection, Genetics and Evolution*, 91, 104833.
<https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2021.104833>
- Ríos Leonardo, Zapata Richard, Reyes Julián, Mejía Jaime, & Baena Armando. (2010). *Vista de Estabilidad enzoótica de babesiosis bovina en la región de Puerto Berrío, Colombia*.
<https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15590/15564>
- Ríos, R., Franco, S., Mattar, S., Urrea, M., & Tique, V. (2008). Seroprevalencia de Leptospira sp., Rickettsia sp. Ehrlichia sp. en trabajadores rurales del departamento de Sucre, Colombia. *Infectio*, 12(2), 90–95. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000200002&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Rotondano, T. E. D. F., de Almeida, A. M. P., Lustosa, E. M. C., Cordeiro, A. A., Camboim, E. K. A., de Azevedo, S. S., de Andrade, P. P., & de Melo, M. A. (2012). An assessment of whole blood and fractions by nested PCR as a DNA source for diagnosing canine ehrlichiosis and anaplasmosis. *The Scientific World Journal*, 2012. <https://doi.org/10.1100/2012/605743>
- Simon, G. E., Hoar, B. R., & Tucker, C. B. (2016). Assessing cow–calf welfare. Part 1: Benchmarking beef cow health and behavior, handling; and management, facilities, and producer perspectives. *Journal of Animal Science*, 94(8), 3476–3487.
<https://doi.org/10.2527/JAS.2016-0308>
- Tumwebaze, M. A., Lee, S. H., Adjou Moumouni, P. F., Mohammed-Geba, K., Sheir, S. K., Galal-Khallaf, A., Abd El Latif, H. M., Morsi, D. S., Bishr, N. M., Galon, E. M., Byamukama, B., Liu, M., Li, J., Li, Y., Ji, S., Ringo, A. E., Rizk, M. A., Suzuki, H., Ibrahim, H. M., & Xuan, X. (2020). First detection of Anaplasma ovis in sheep and Anaplasma platys-



like variants from cattle in Menoufia governorate, Egypt. *Parasitology International*, 78, 102150. <https://doi.org/10.1016/J.PARINT.2020.102150>

Vargas-Hernandez, G., André, M. R., Cendales, D. M., de Sousa, K. C. M., Gonçalves, L. R., Rondelli, M. C. H., Machado, R. Z., & Tinucci-Costa, M. (2016). Molecular detection of *Anaplasma* species in dogs in Colombia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25(4), 459–464. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016066>

Vargas-Hernández, G., André, M. R., Faria, J. L. M., Munhoz, T. D., Hernandez-Rodriguez, M., Machado, R. Z., & Tinucci-Costa, M. (2012). Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*, 186(3–4), 254–260. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2011.11.011>