



CIENCIAS EPIDEMIOLÓGICAS Y SALUBRISTAS
ARTÍCULO ORIGINAL

**Primera detección de Candidatus *Rickettsia colombianensi* en el departamento del
Meta, Colombia**

First detection of Candidatus *Rickettsia colombianensi* in the State of Meta, Colombia

Liliana Sánchez Lerma^{1*}, Verónica Contreras Cogollo², Salim Mattar Velilla²
Islay Rodríguez González³, Andrés David Molina Atehortua¹,
Daniel Felipe Castro Peñuela¹

¹Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina, sede Villavicencio. Meta, Colombia.

²Universidad de Córdoba, Instituto de investigaciones biológicas del trópico. Montería, Colombia.

³Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”. Laboratorio Nacional de Referencia de Espiroquetas y Brucelas. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: liliana1823@gmail.com

Cómo citar este artículo

Sánchez Lerma L, Contreras Cogollo V, Mattar Velilla S, Rodríguez González I, Molina Atehortua AD, Castro Peñuela DF. Primera detección de Candidatus *Rickettsia colombianensi* en el departamento del Meta, Colombia. Rev haban cienc méd [Internet]. 2019 [citado]; 18(3):487-499. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2637>

Recibido: 29 de enero del 2019.

Aprobado: 27 de abril del 2019.



RESUMEN

Introducción: Las *Rickettsias* son un género de bacterias Gram negativas intracelulares obligadas causantes de muchas epidemias en el mundo y son transmitidas principalmente por garrapatas, pulgas, piojos y ácaros. Las rickettsiosis son enfermedades infecciosas reemergentes sin vigilancia epidemiológica en Colombia. Hasta hace pocos años *Rickettsia rickettsi* era la única *Rickettsia* transmitida por garrapatas presente en América; sin embargo, nuevas especies están siendo descritas, y aunque su patogenicidad no ha sido confirmada pueden ser consideradas patógenos potenciales.

Objetivo: Determinar la presencia de *rickettsias* en garrapatas del departamento del Meta, Colombia.

ABSTRACT

Introduction: Rickettsia is a genus of Gram-negative obligate intracellular bacteria that cause several epidemics around the world and are transmitted mainly by ticks, fleas, lice and mites. Rickettsiosis is a re-emergent infectious disease without epidemiological surveillance in Colombia. Until few years ago, *Rickettsia rickettsi* was the only tick-borne Rickettsioses in America; however, new species are being described, and although their pathogenicity has not been confirmed, they should be considered as potential pathogens.

Objective: The aim of this study was to determine the presence of rickettsial agents in ticks in the state of Meta, Colombia.

Material y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, fueron colectadas garrapatas y después de su identificación taxonómica, los genes *gltA*, *ompA* y *ompB* fueron amplificados y secuenciados.

Resultados: Se obtuvieron un total de 169 grupos a los que se les realizó PCR de los cuales 2 grupos amplificaron para los genes *gltA*, *ompA* y *ompB*.

Conclusiones: Los resultados demuestran la presencia de *Rickettsia* spp en garrapatas del departamento del Meta.

Palabras clave: Rickettsiosis, IFI, PCR, Candidatus *Rickettsia colombianensi*, Garrapatas, Colombia.

Material and Methods: A descriptive cross-sectional study was conducted; ticks were collected and, after their taxonomic identification, *gltA*, *ompA* and *ompB* genes were amplified and sequenced.

Results: A total of 169 pools were obtained to which PCR were carried out, of which 2 PCR were amplified for the *gltA*, *ompA* and *ompB* genes.

Conclusions: These results demonstrate the presence of Rickettsia spp in ticks in the State of Meta.

Keywords: Rickettsiosis, IFI, PCR, Candidatus *Rickettsia colombianensi*, Ticks, Colombia



INTRODUCCIÓN

Las *Rickettsias* son un género de bacterias intracelulares obligadas transmitidas por artrópodos hematófagos como las garrapatas, piojos, pulgas y ácaros.⁽¹⁾ En las últimas décadas ha habido un aumento de nuevas especies de *Rickettsia* de patogenicidad desconocida, muchas de ellas aisladas de garrapatas. Algunas, previamente fueron consideradas no patógenas; pero recientemente demostraron serlo para humanos, tal es el caso de *Rickettsia slovaca*, *Rickettsia aeschlimannii*, *Rickettsia massiliae* y *Rickettsia monacensis* en Europa. Además, *R. parkeri* perteneciente al grupo de las fiebres manchadas reportado por primera vez en 1939, demostró 65 años más tarde ser patógena. Estos hechos demuestran que cualquier nueva *Rickettsia* descrita en huéspedes invertebrados, especialmente garrapatas, debería ser considerada potencialmente patógena para los humanos.^(2,3)

La ecología de las infecciones causadas por las *Rickettsias* está determinada por factores ambientales y la presencia de vectores específicos que condicionan el establecimiento y la epidemiología en diferentes regiones del mundo.⁽³⁾ Las rickettsiosis son una problemática mundial, cuyo cuadro clínico se caracteriza por un síndrome febril agudo con manifestaciones cutáneas y sistémicas. La evolución puede variar desde una enfermedad febril indiferenciada a

manifestaciones hemorrágicas con afectación sistémica de carácter grave. La sospecha clínica y el tratamiento oportuno modifican la evolución de la enfermedad.⁽⁴⁾

En Latinoamérica, a pesar de que existen muy buenas descripciones de estas afecciones desde la primera mitad del siglo pasado, se puede decir que ha existido un silencio en las agendas de salud pública posterior a su estudio y descripción. Sin embargo, con el reporte de nuevos casos de infección por *Rickettsia rickettsii* en Centroamérica y otras zonas de Sudamérica después de muchos años sin su ocurrencia, y la emergencia de casos humanos provocados por otras especies de *Rickettsia*, se ha despertado un gran interés por estas infecciones, debido a que son potencialmente letales, y no distinguirlas o sospecharlas puede conducir a la muerte.⁽⁵⁾

En la actualidad se están describiendo candidatos a nuevas especies de *Rickettsia*, que, aunque no han probado su patogenicidad, deben considerarse potencialmente como tales, por lo que resulta fundamental una alta sospecha clínica y la instauración precoz de un tratamiento adecuado, porque el diagnóstico microbiológico puede tardar días o semanas.⁽⁶⁾

El objetivo de este estudio es detectar la presencia de *Rickettsia spp* del grupo de las fiebres manchadas en garrapatas colectadas en el departamento del Meta, Colombia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, en el cual se recolectaron garrapatas

mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia entre los años 2013 y 2014, a partir



de animales domésticos (caninos, bovinos y equinos) de seis municipios del Meta (Acacias, Puerto Gaitán, Puerto López, Restrepo, Cumaral, Villavicencio). En la capital, Villavicencio, se recolectaron garrapatas en seis veredas pertenecientes al área rural (El Carmen, Servitá, Pipiral, Barcelona, Cocuy, La Cecilia) y en barrios del área urbana. La captura se realizó sobre el hospedero (fase parasítica) de forma manual y con pinzas entomológicas.

Área de estudio

El departamento del Meta está localizado en la región centro oriental de Colombia, en el pie de monte de la cordillera oriental entre 04°54'25" – 01°36'52" N, y 71°4'38" – 74°53'57" W (Figura 1). Esta región está comprendida en la zona de confluencia intertropical, la temporada de sequía va desde diciembre a marzo y la época de lluvias de abril a noviembre



Figura 1. Mapa de Colombia donde se resalta el departamento del Meta

Para la recolección de garrapatas sobre vegetación o en vida libre (fase no parasítica), se utilizaron los métodos de arrastre y bandereo en zonas de potrero y matorrales (única por cada sitio de muestreo).⁽⁷⁾

Las garrapatas capturadas se depositaron en tubos plásticos de 1,5 ml con alcohol al 70 % y rotulados individualmente, teniendo en cuenta el

hospedero animal o sitio en el cual se realizó la captura. Las garrapatas se enviaron al Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT) de la Universidad de Córdoba, donde se realizó su identificación por género y especie con el empleo de claves taxonómicas fenotípicas.⁽⁸⁾ y la detección y caracterización molecular de las rickettsias.

Las garrapatas se prepararon según el protocolo diseñado por el IIBT, que consiste en sacar las garrapatas del alcohol y triturarlas con ayuda de una cuchilla estéril, colocarlas nuevamente en un tubo seco, llevarlas al baño de agua a 56°C, durante 20 minutos, adicionar 250 µl de PBS al 1x a cada tubo con los macerados de garrapatas y volver a macerar hasta obtener un aspecto lechoso, sin dejar pedazos grandes de garrapatas. El macerado se utilizó para el procedimiento de extracción de ADN, para el cual se empleó el estuche comercial de Purelink DNA mini kit (Invitrogen, California) y se siguieron las recomendaciones del proveedor. El ADN purificado se conservó a -20 °C hasta su uso.

Reacción en Cadena de la Polimerasa a tiempo real para detección del gen *gltA* de *Rickettsia spp.* Las muestras obtenidas del proceso de extracción fueron analizadas por PCR en tiempo real (PCR-RT), en un termociclador LightCycler 1.5 de tres canales (530, 640 y 705) de la casa comercial Roche. Se utilizaron los iniciadores CS-5 (5'-GAG AGA AAA TTA TAT CCA AAT GTT GAT-3) y CS-6 (5'-AGG GTC TTC GTG CAT TTC TT-3), descritos por Labruna.⁽⁹⁾ Estos iniciadores son específicos para un fragmento de 147 pb del gen *gltA*, que se encuentra en todas las especies del género *Rickettsia spp.* y codifica la enzima citrato sintetasa. Adicionalmente, se empleó una sonda de hidrólisis (6-FAM-CATTGTGCCATCCAGCCTACGGT-BHQ-1), cuyo análisis de detección en la emisión de luz de la longitud de onda fue realizada en el canal de 530 del termociclador.

La mezcla de reacción de PCR se preparó a un volumen final de 20 µL. Cada reacción presentó los siguientes componentes: 4 µL de Master TaqMan (compuesta por FastStar Taq ADN polimerasa, dNTPs y MgCl₂ en concentración óptima) (Roche Diagnostic, Applied Science, Mannheim, Alemania), 0,6 µL de cada uno de los iniciadores [0,5 µM]; 1 µL de sonda [0,2 µM]; 8,8 µL de agua calidad biología molecular y 5 µL de muestra de ADN. Las condiciones de termociclado fueron las siguientes: 1 ciclo de 95°C por 10 minutos, 40 ciclos de 95°C por 10 segundos, 55°C por 15 segundos y 72°C por 15 segundos. Un ciclo final de 40°C por 30 segundos. Reacción en cadena de la polimerasa convencional para detección de genes *gltA*, *ompB* y *ompA* de *Rickettsia spp.*

Las muestras positivas por PCR-RT fueron amplificadas posteriormente por PCR convencional, se usaron los iniciadores CS-78 y CS-323 que amplifican un fragmento de 401 pb del gen *gltA*. Así mismo, se utilizaron los iniciadores 120.2788 y 120.3599 que amplifican un fragmento de 811 pb del gen *ompB* que se encuentra en la mayoría de especies de *Rickettsia*; y los iniciadores Rr190-70 y 190-701 que amplifican un fragmento de 631 pb del gen *ompA*, el cual se encuentra solo en las especies que pertenecen al grupo de las fiebres manchadas.⁽⁹⁾

Las secuencias de los oligonucleótidos utilizados para PCR convencional se describen en la (tabla 1), así como las condiciones para los programas de amplificación.



Tabla 1. Secuencias de oligonucleótidos y condiciones de amplificación para los genes *gltA*, *ompA* y *ompB*

Gen y Secuencias de oligonucleótidos (5'-3')	Condiciones de amplificación	Tamaño del fragmento (pb)	Fuente
<p><i>Gen gltA</i> CS78 5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3' CS323 5'GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT-3'</p>	95°C 3 min 1 ciclo 95°C 15 seg 48°C 30 seg 40 ciclos 72°C 30 seg 72°C 7 min 1 ciclo	401	Labruna <i>et al.</i> 2004
<p><i>Gen OmpA</i> Rr 190.70 5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3' 190-701 5'-GTTCCGTTAATGGCAGCATCT-3</p>	95°C 3 min 1 ciclo 95°C 30 seg 50°C 30 seg 40 ciclos 63°C 1 min 72°C 7 min 1 ciclo	631	Roux 1996
<p><i>Gen OmpB</i> 120.2788 AAACAATAATCAAGGTACTGT 120.3599 TACTTCCGGTTACAGCAAAGT</p>	95°C 2 min 1 ciclo 95°C 30 seg 50°C 30 seg 40 ciclos 68°C 1:30 seg 68°C 7 min 1 ciclo	811	Roux 2000

Las reacciones de PCR para la amplificación de los diferentes genes se prepararon de acuerdo con los protocolos de identificación de *Rickettsia* del IIBT. Las mezclas de reacción se prepararon a volúmenes finales de 50 µL. Para la amplificación, se utilizó la enzima Taq ADN polimerasa recombinante (GenTaq, Colombia). La PCR se desarrolló en un termociclador PTC-100TM (MJ Research, Inc, Watertown, USA). Para cada reacción se incluyeron un control negativo (agua grado biología molecular) y un control positivo (ADN de *R. amblyommii* proporcionada por el IIBT).

Visualización de los productos amplificados

Para la visualización de los productos

amplificados se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %. Posteriormente, los geles se examinaron en un transiluminador (BioRad, CA, EUA). El tamaño de los amplicones se determinó por comparación con el marcador de peso molecular de escalera de 100 pb (Invitrogen, CA, EUA).

Secuenciación de los productos amplificados

Los productos de las PCR se purificaron mediante el empleo del estuche de extracción PureLink™ Quick Gel (Invitrogen) y se siguieron las instrucciones de la casa manufacturera. Las secuenciaciones se llevaron a cabo en la compañía de biotecnología MacroGen Inc en Corea del Sur y los análisis filogenéticos se



realizaron con MEGA (molecular evolutionary genetics analysis) versión 6; las secuencias resultantes se compararon con las depositadas en el GenBank (GenBank/EMBL/DDBJ) mediante

la herramienta BLAST (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, USA).^(10,11)

RESULTADOS

Las garrapatas incluidas en este estudio fueron clasificadas en tres géneros: *Rhipicephalus*, *Dermacentor* y *Amblyomma*.

Detección molecular de Rickettsia spp. por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

De 657 garrapatas incluidas en este estudio, se conformaron 169 grupos que fueron analizados por PCR-RT; en dos de ellos (grupos 18 y 19) se detectó ADN de *Rickettsia spp.* (1,18 %). El grupo 18 estaba conformado por 16 larvas y una ninfa de garrapata del género *Amblyomma*

recolectadas en una pradera de la vereda Barcelona del municipio de Villavicencio. El grupo 19 por seis larvas y una ninfa de garrapata del género *Amblyomma*, recolectada en una pradera del municipio de Puerto López.

Detección de los genes gltA, ompB y ompA de Rickettsia spp. por Reacción en cadena de la polimerasa convencional.

La PCR convencional para detectar el fragmento del gen *gltA* mostró amplificación en los dos grupos de garrapatas de interés. (Figura 2).

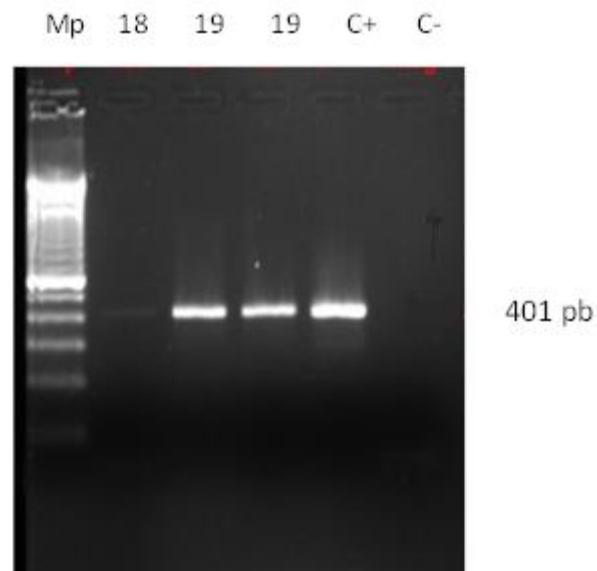


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % para la detección del gen *gltA* en los grupos de garrapatas. La línea Mp corresponde al marcador de peso molecular (escalera de 100 pb). Las líneas 18 y 19 corresponden a los grupos de garrapatas donde se observa amplificación, la línea marcada con C- corresponde al control negativo y la C+ al control positivo.

Amplificación del gen ompB con los iniciadores 120.2278 y 120.3599.

La PCR para la detección de un fragmento del gen ompB solo mostró amplificación en el grupo 19, que se corresponde a garrapatas *Amblyomma* recolectadas en una de las praderas del municipio

de Puerto López.

Amplificación del gen ompA con los iniciadores Rr190.70 y 190-701.

La PCR convencional para el gen ompA, de igual manera a la anterior, solo amplificó a partir del extracto obtenido del grupo 19. (Figura 3).

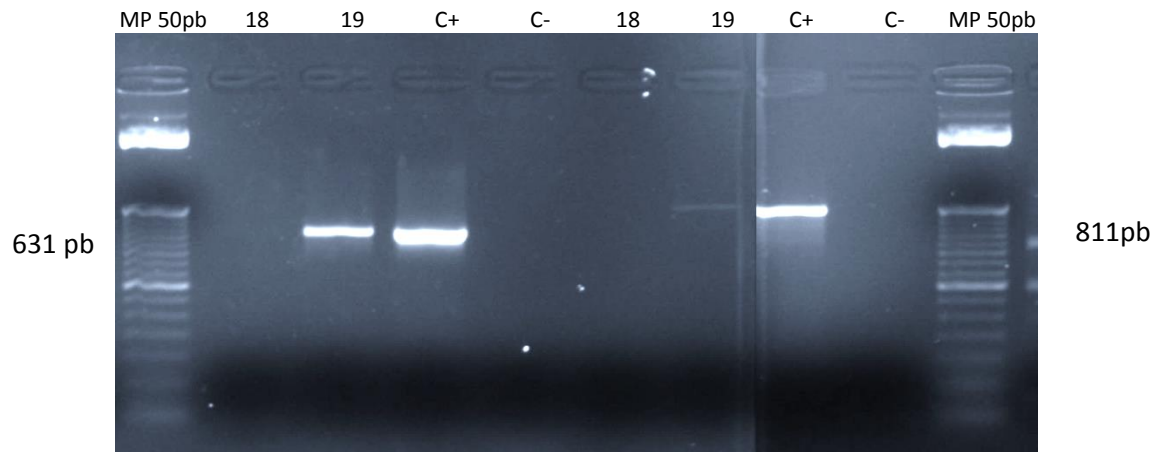


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% para la detección del gen ompA y ompB en el grupo 19 de garrapatas. Las líneas MP50 corresponden al marcador de peso molecular (escalera de 50 pb). La amplificación de 631 pb corresponde al gen ompA y la de 811 pb al gen ompB.

Identificación de las especies de Rickettsia en las garrapatas recolectadas

La secuenciación de los productos de PCR positivos para el gen *gltA* indican que la secuencia

obtenida para el grupo 18 presento 99% de identidad con *Rickettsia* cepa *Colombianensi* y con *Rickettsia sp* clon *NecoClí*. (Figura 4).

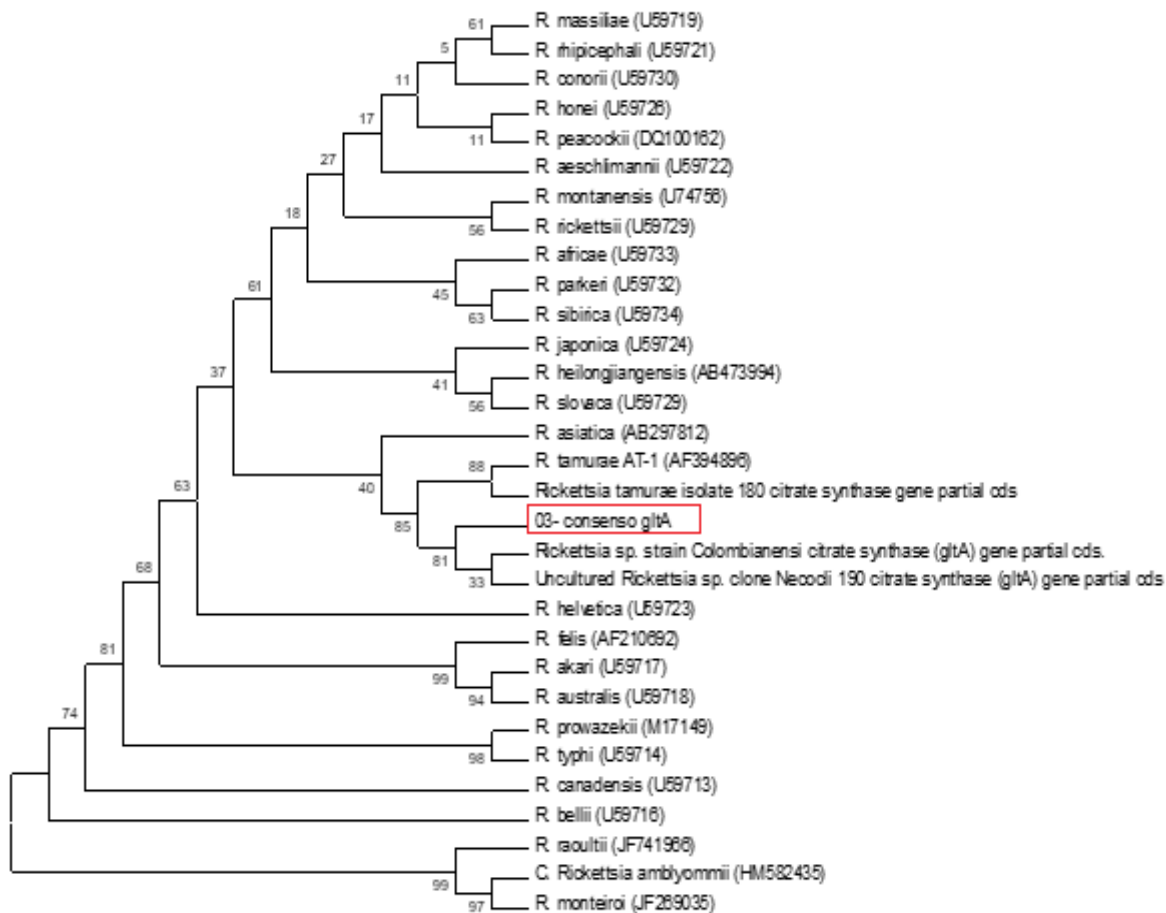


Figura 4. Relaciones filogenéticas del gen *gltA* de la muestra 18 (consenso 03 *gltA*). La historia evolutiva fue inferida por el método de máxima verosimilitud basado en el modelo del 3 parámetro de Tamura. (10,11) Se calcularon los valores bootstrap para 1000 réplicas. Los Análisis evolutivos se realizaron en MEGA6. (9) La secuencia incluida se muestra en el recuadro rojo.

Las secuencias nucleotídicas del gen *gltA* de los grupos 18 y 19 fueron idénticas entre sí. La secuencia nucleotídica del gen *ompB* del grupo 19

fue 100% idéntica con *Rickettsia sp. cepa Colombianensi* reportada en Córdoba (acceso Genbank JF905456 y JF905457).

DISCUSIÓN

Los miembros más conocidos del género *Rickettsia* son patógenos humanos que se encuentran asociados a artrópodos que se alimentan de sangre y dentro de estos artrópodos tal vez las más importantes sean las

garrapatas ya que ellas son huéspedes ancestrales para las *rickettsias*.⁽¹²⁾

En el presente estudio se detectó infección por *rickettsias*, solamente en el género *Amblyomma*, lo cual se corresponde con los resultados



reportados por Kelly en 2006.⁽¹³⁾ La especie *A. cajennense* es reportada como vector de *R. rickettsii* especialmente en América del Sur.⁽¹⁴⁾ Las garrapatas del perro *Rh. sanguineus* y *D. nitens*, que son encontradas frecuentemente en équidos, también han sido reportadas como vectores de *R. rickettsii*.⁽¹⁵⁾ En Argentina se reportó la presencia de *R. massiliae* en *Rh. sanguineus*.⁽¹⁶⁾ y en un estudio realizado en Brasil se aisló *R. bellii* en garrapatas *A. ovale*.⁽¹⁷⁾ En las últimas décadas las técnicas moleculares han permitido caracterizar genéticamente nuevas especies de rickettsia, que de acuerdo con los expertos pueden ser consideradas con el estatus de “Candidatus” y son contempladas como potenciales nuevas especies de *Rickettsia*.⁽¹⁸⁾ El número de microorganismos con el criterio de “Candidatus” está en aumento en todos los continentes, la asociación de una bacteria con la patogenicidad en humanos puede ser encontrada, incluso 65 años después como ocurrió con *R. parkeri*, por lo tanto, todos los Candidatus de *Rickettsia* deben ser considerados como potenciales patógenos para el hombre.⁽¹⁹⁾ En Centroamérica fue aislada *Candidatus R. nicoyana* a partir de garrapatas colectadas de murciélagos al igual que *Candidatus Rickettsia wissemannii* y *Rickettsia peacockii*. Pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas.⁽²⁰⁾ De igual forma en 2012 Miranda et al reportaron la presencia de una nueva especie de rickettsia del GFM, la nueva especie se denominó *Candidatus Rickettsia sp. cepa colombianensi* y fue detectada en *Amblyomma dissimile*, una garrapata comúnmente encontrada en reptiles.⁽²¹⁾ Aunque faltan estudios para caracterizar mejor a

Candidatus R. colombianensi, se considera un potencial patógeno, por el hecho de pertenecer al Grupo de las fiebres manchadas, grupo caracterizado

porque la mayoría de sus especies son patógenas para el hombre. Otra razón para considerar potencialmente patógena a *Candidatus Rickettsia sp.*, cepa *colombianensi* es que tiene una alta identidad genética 99% con *Rickettsia tamurae*, cuyo ADN fue aislado del área de inflamación en el sitio de mordedura de garrapata en un paciente japonés.⁽²²⁾

Quintero et al. en 2017 encontraron a *Candidatus R. colombianensi* en garrapatas que estaban infestando humanos, hallazgo importante porque en estudios anteriores solo se había reportado su hallazgo en garrapatas que infestan iguanas (Iguana iguana) y una ninfa *Amblyomma* colectada en la rata espinosa (*Proechimys semiespinosus*).⁽²³⁾

A diferencia de los países donde hay estaciones y el ciclo de las garrapatas depende de esto, en Colombia, la ausencia de estaciones hace que la actividad de las garrapatas sea constante y mayor en la época de sequía que va de diciembre a febrero aumentando la oportunidad de encuentro entre el artrópodo y el hombre.⁽¹⁴⁾

La principal limitación de nuestra investigación fue el bajo número de garrapatas colectadas, debido al cambio climático que se presentó en la etapa de estudio en que hubo un periodo prolongado de lluvias, meses en los cuales no se pudieron coleccionar garrapatas. Además, no se pudo hacer colecta de los artrópodos de otros municipios del departamento debido a las grandes distancias entre uno y otro.



CONCLUSIONES

En conclusión, se demostró la circulación de *Rickettsia* durante el periodo de estudio en los municipios de Villavicencio y Puerto López y gracias a los análisis moleculares basados en los genes parciales *gltA*, *ompA* y *ompB* se logró identificar por primera vez en el departamento del Meta a *Candidatus Rickettsia colombianensi* a

partir de garrapatas del género *Amblyomma* capturadas de pradera. Los resultados encontrados deben servir de alerta a las autoridades de salud acerca de un grupo de enfermedades que están olvidadas en nuestro medio.

RECOMENDACIONES

Es importante y necesario continuar con la investigación en estos municipios del departamento donde deben realizarse estudios ecoepidemiológicos que contribuyan con

información sobre la distribución, epidemiología y posible papel patógeno de esta cepa de *Rickettsia*.

REREFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hardstone M, Billeter S. Rickettsiosis. Suspected and Confirmed Vector-Borne Rickettsioses of North America Associated with Human Diseases. *Tropical medicine and infectious disease* [Internet]. 2018 [cited 5 feb 2019]; 3(2): 2-17 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6136625/>
2. Labruna M, Mattar S, Nava S, Bermudez S, Venzal J, Dolz G, et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. 2011. *Rev. MVZ Córdoba* 16(2):2435-2457.
3. Palacios R, Caceres O, Vasquez A, Mosquera P, Anaya E. Especies rickettsiales en casos humanos con síndrome febril agudo inespecífico en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018; 35(4):630-35
4. Hidalgo M, Faccini A, Valbuena G. Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomédica* [Internet] 2013 [citado 5 feb 2019];33 (sup 1):161-78. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1466>
5. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. Guía de diagnóstico y tratamiento de la Fiebre Manchada por *Rickettsia parkeri*. 2016. Buenos Aires, Argentina.
6. Abarca K, Oteo J. Aproximación clínica y principales rickettsiosis transmitidas por garrapatas presentes en Latinoamérica. *Rev Chilena Infectol*. 2014;31(5):569-576.
7. Terassini F, Barbieri FS, Albuquerque S, Szabó MPJ, Camargo LMA, Labruna MB. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazon forest. *Ticks and Tick Borne Diseases* 2010; 1:194-6.
8. Barros-Battesti D, Arzua M, Bechara G. Carrapatos de Importancia Medico-Veterinaria da Região Neotropical: Um Guia Ilustrado para Identificação de Especies. *International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases*, Sao Paulo, 2006 pp. 223
9. Labruna M, Whitworth T, Horta M, Bouyer D, McBride J, Pinter A et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol* [Internet] 2004 [cited 12 dic 2018]; 42:90–98. Available from:



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321730/>

10. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, and Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* [Internet] 2013 [cited 1 dic 2016];30: 2725-2729 Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3840312/>

11. Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. *Molecular Biology and Evolution* [Internet] 1992 [cited 1 dic 2016]; 9:678-687 Available from:

<https://academic.oup.com/mbe/article/9/4/678/1254082>

12. Hardstone M, Billeter S. Suspected and Confirmed Vector-Borne Rickettsioses of North America Associated with Human Diseases. *Trop Med Infect Dis* [Internet] 2018 [cited 4 marzo 2019];3:3-17 Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6136625/>

13. Kelly DJ, Carmichael JR, Booton GC, Poetter KF, Fuerst PA. Novel spotted fever group rickettsiae (SFGR) infecting *Amblyomma americanum* ticks in Ohio, USA. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1063:352-5.

14. Miranda J, Mattar S, González M. Rickettsiosis. *Rev MVZ Córdoba* [Internet] 2017 [citado 11 diciembre 2018]; 22(Supl):6118-6133 Disponible en: https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revista_mvz/article/view/1080/pdf

15. Benavides J, Jaramillo C, Mesa N. Garrapatas ixodidae (acarí) en el valle del Cauca, Colombia. *bol. cient. mus. hist. nat.* 2018; 22(1):131-150

16. Cicuttin G RVM, Jado I, Anda P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires.

Resultados preliminares. *Rev Argentina Zoonosis* 2004;1:8-10.

17. Pacheco R, Rosa S, Richtzenhain L, Szabó M, Labruna M. Isolation of *Rickettsia bellii* from *Amblyomma ovale* and *Amblyomma incisum* ticks from southern Brazil. *Rev. MVZ Córdoba* 2008;13(2):1273-1279.

18. Tomassone L, Portillo A, Nováková M, De Sousa R, Oteo J. Neglected aspects of tick-borne rickettsioses. *Parasites&Vectors* [Internet] 2018 [cited 4 marzo 2019]; 11:263 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5937841/>

19. Paddock CD, Sumner JW, Comer JA, Zaki SR, Goldsmith CS, Goddard J. *Rickettsia parkeri* a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clin Infect Dis.* 2004; 38:805–11.

20. Bermúdez S, Troyo A. A review of the genus *Rickettsia* in Central América. *Research and Reports in Tropical Medicine* [Internet] 2018 [cited 4 marzo 2019]; 9:103-11 Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6047601/>

21. Miranda J, Mattar S, Puerta A, Muskus C, Oteo J. Genome Sequence of “*Candidatus Rickettsia colombianensi*,” A Novel Tick-Associated Bacterium Distributed in Colombia. *Microbiology Announcements Resourcement* [Internet] 2019 [cited 12 diciembre 2018]; 8(14):01433-18 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6449560/>

22. Imaoka K, Kaneko S, Tabara K, Kusatake K, Morita E. The First human case of *Rickettsia tamurae* infection in Japan. *Case Rep. Dermatol* 2011; 3:68-73.

23. Quintero J, Paternina L, Uribe A, Muskus C, Hidalgo M, Gil J. Eco-epidemiological analysis of rickettsial seropositivity in rural areas of Colombia: A



multilevel approach. Neglected Tropical Diseases
[Internet] 2017 [cited 12 diciembre 2018]; 18:1-19
Available from:

<https://pdfs.semanticscholar.org/47f1/2885d96a57aa32f9e991ce35b80437830e53.pdf>

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONADI por el financiamiento del proyecto “Estudio Eco-epidemiológico de Rickettsia sp en el municipio de Puerto López, Meta”.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.

