



ECUADOR
UNIVERSIDAD
INTERNACIONAL
SEK
SER MEJORES

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

MAESTRÍA EN BIOMEDICINA

Trabajo de Fin de Maestría Titulado:

“PRINCIPALES MARCADORES MOLECULARES UTILIZADOS PARA LA DETECCIÓN DE *Anaplasma marginale*, A TRAVÉS DEL ENSAYO DE PCR EN TIEMPO REAL EN POBLACIONES BOVINAS Y SU ESTUDIO DE LA SITUACIÓN ACTUAL EN EL ECUADOR. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA”

Realizado por:

LUIS FERNANDO SILVA SANAGUANO

Director del proyecto:

José Rubén Ramírez Iglesias, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

MÁSTER EN BIOMEDICINA

Quito, 2023

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, LUIS FERNANDO SILVA SANAGUANO, ecuatoriana, con cédula de ciudadanía N° 0604025866, declaro bajo juramento que la tesis titulada:

Principales Marcadores Moleculares utilizados para la detección de *Anaplasma marginale*, a través del Ensayo de PCR en Tiempo Real en la población bovina y su Estudio de la Situación Actual en el Ecuador. Una Revisión Sistemática es de mi autoría, que no ha sido presentada anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.

LUIS FERNANDO SILVA SANAGUANO
C.I.: 0604025866

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.



JOSÉ RUBÉN RAMÍREZ IGLESIAS, PH.D.

C.I.: 3050666993

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

Gabriela Castillo

Lino Arisqueta Herranz

Después de revisar la tesis, la han calificado como apto para su defensa
oral
ante el tribunal examinador.



FIRMA



FIRMA

Quito, 10 de abril 2023

Artículo de tesis

Principales Marcadores Moleculares utilizados para la detección de *A. marginale*, a través del Ensayo de PCR en Tiempo Real en poblaciones bovinas y su Estudio de la Situación Actual en el Ecuador. Una Revisión Sistemática

Luis Silva¹, Rubén Ramírez²

Maestría En Biomedicina, Universidad Internacional – SEK

Correo electrónico: Silva S. Luis: lfsilva.mbme@uisek.edu.ec

Palabras clave: Marcadores Moleculares; *A. marginale*; PCR en Tiempo Real, población bovina.

Publicado: 25/02/2023

RESUMEN

El presente artículo detalla los principales marcadores moleculares usados para la identificación de *Anaplasma marginale* reportados en la literatura científica de diferentes casos reportados de Ecuador. Para ello, se elaboró una revisión sistemática cualitativa de artículos académicos originales con el objetivo de definir las secuencias nucleotídicas detectadas en los diferentes sitios geográficos y su utilidad diagnóstica. Se realizó una búsqueda empleando los términos "*Anaplasma marginale*" y "DNA" en las bases de datos ScienceDirect, SpringerLink y PubMed. Se utilizaron diferentes criterios de inclusión y exclusión como tipo de estudio, ubicación geográfica, objetivo de investigación. La investigación describe la utilidad de los marcadores moleculares más utilizados, *msp1* y *msp5*, que permiten diferenciar, caracterizar y secuenciar *A. marginale* teniendo como ventaja el nivel de conservación que se encuentra distribuido en cepas en las diferentes regiones geográficas en el Ecuador. Cada una de las regiones genéticas analizadas en la revisión literaria fue de suma importancia ayudando a determinar la problemática de las garrapatas y el mal uso que se le da frente al ganado vacuno del Ecuador. La información acerca de los marcadores moleculares brinda aporte a estudios epizootiológicos, teniendo en cuenta el desarrollo de métodos de detección con altos niveles de sensibilidad y especificidad.

Palabras clave: Marcadores Moleculares; *A. marginale*; PCR en Tiempo Real, población bovina.

ABSTRACT

This article details the main molecular markers used for the identification of *Anaplasma marginale* reported in the scientific literature from different cases reported from Ecuador. For this purpose, a qualitative systematic review of original academic articles was carried out to define the nucleotide sequences detected in the different geographical sites and their diagnostic utility. A search was performed using the terms "*Anaplasma marginale*" and "DNA" in the databases ScienceDirect, SpringerLink and PubMed. Different inclusion and exclusion criteria were used such as type of study, geographical location, and research objective. The research describes the usefulness of the most widely used molecular markers, *msp1* and *msp5*, which allow differentiation, characterization, and sequencing of *A. marginale*, having as an advantage the level of conservation that is distributed in strains in the different geographical regions in Ecuador. Each of the genetic regions analyzed in the literature review was of great importance in helping to determine the problem of ticks and their misuse in Ecuadorian cattle. The information on molecular markers provides input to epizootiological studies, considering the development of detection methods with high levels of sensitivity and specificity.

Keywords: Molecular Markers; *A. marginale*; qPCR, bovine population.

INTRODUCCIÓN

El término *Anaplasma* se deriva de la palabra griega “an” (sin) y “plasma” (moldeado) (Atif et al., 2021). *Anaplasma marginale* es una bacteria que invade a los glóbulos rojos y se replica en organismos individuales dentro de una vacuola simple unida a la membrana de la célula, posteriormente, sale de ésta en forma no lítica convirtiéndose en agente etiológico de enfermedades de animales y humanos (Bekloo et al., 2018). Este tipo de bacterias provoca anaplasmosis (Soosaraei et al., 2020). *A. marginale* pertenece al género *Anaplasma spp.*, familia *Anaplasmataceae*, pertenecientes al orden *Rickettsiales*. Estos microorganismos son coco-bacilares gramnegativos intracelulares obligados (Said et al., 2018).

A. marginale tiene forma cocoide y elipsoidales, pleomórficas y se localiza en vacuolas citoplasmáticas de la célula infectada formando mórulas o cuerpos de inclusión (Llanes & Rajeev, 2020).

De acuerdo con Piedra-Morocho, la anaplasmosis es transmitida generalmente por garrapatas ixodidae, estos parásitos externos predominan en las zonas tropicales principalmente en ganado bovino, equino, perros, conejos entre otros. Estas garrapatas tienen una peculiaridad por lo que presentan escudos, pequeños en las hembras y grandes en los machos, en todos sus estados evolutivos. La enfermedad se transmite normalmente por garrapatas vectores, pero puede producirse una transmisión mecánica por picadura de insectos o por aguja (Estrada et al., 2020).

Los síntomas de anaplasmosis son disnea o dificultad respiratoria, ictericia (coloración amarillenta en la piel), fiebre, anemia, pérdida de peso, aborto y hasta puede provocar la muerte en rumiantes si no es tratado (Soosaraei et al., 2020). La enfermedad afecta en gran medida el desarrollo social, económico y agrícola de las comunidades en áreas endémicas puesto que representa un riesgo importante de infección en humanos (Efa, 2021). Diferentes especies de *Anaplasma spp.* presentes en la sangre pueden afectar las plaquetas, eritrocitos, granulocitos, células endoteliales y células precursoras de la médula ósea llegando a

provocar varios signos clínicos leves y graves (Staji et al., 2021).

En Corea se reportaron casos de infección y seroprevalencia de la anaplasmosis estudiados en bovinos desde el 2010 al 2013, en dicha investigación se obtuvo 568 muestras de suero sanguíneo procesados a través de la técnica de ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas competitivo), también se registró un 7% de resultados seropositivos para *Anaplasma spp.*

La prevalencia de esta infección por picadura de garrapatas tiene mayor número de casos en países europeos como: Italia, Bulgaria, Francia, Alemania, Grecia y Portugal (Lacasta et al., 2021). Mientras que en América Latina la prevalencia de anaplasmosis ha sido reportada en Uruguay, México, Brasil, Argentina y Colombia. Por ejemplo, en Brasil la mayor tasa de prevalencia se observó en la región norte del país con un clima favorable para el desarrollo de esta bacteria (Ma et al., 2021).

En Ecuador actualmente existen varias investigaciones revelando la alta prevalencia de infección en varias zonas del país, por ejemplo, en las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Zamora Chinchipe y Los Ríos se obtuvo información de infección por *Anaplasma marginale* transmitida por la garrapata *R. microplus* que afecta al ganado. Para análisis de estos casos se utilizó la investigación molecular que determinó el porcentaje de prevalencia e infección de los animales en estas provincias (Delgado et al., 2020).

En la provincia del Guayas (Ecuador) se determinó que la prevalencia de *Anaplasma marginale* en el ganado bovino destinado a faenamiento en el camal municipal del cantón Pedro Carbo es alta. Para este estudio se muestrearon 50 bovinos, se realizó la extracción de sangre de la zona capilar de la oreja y sangre periférica de la vena yugular para realizar la técnica de frotis sanguíneo (Orrala Borbor & Lombeida Paredes, 2022).

Finalmente, en un estudio titulado “Plan de Finca en la Provincia de Esmeraldas” en conjunto con el Instituto

Interamericano de Cooperativa para la Agricultura se analizó a 149 bovinos para optimizar un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada para la detección molecular de *Anaplasma spp.* (Landázuri et al., 2021). Aportando así en la prevención de futuras enfermedades en el ganado vacuno del Ecuador.

El género *Anaplasma spp.* está compuesto por cinco especies, todas con una fuerte relación genética: 1) *A. platys*; 2) *A. centrale* y 3) *A. ovis* son considerados agentes etiológicos de la anaplasmosis bovina; 4) *A. phagocytophilum* que se considera el agente etiológico de la anaplasmosis granulocítica humana y animal, y 5) *A. marginale*, bacteria *rickettsia* en la cual se basa el objeto de estudio de la presente investigación.

A. platys es el agente etiológico de anaplasmosis en perros, gatos y camellos; este tipo de bacteria que es transmitida por garrapatas e infecta a los perros en varios países considerados zonas tropicales y subtropicales (Selim et al., 2021). *A. platys* por lo general causa la infección de las plaquetas acompañado de la trombocitopenia infecciosa¹ con síntomas leves, sin embargo, podría convertirse en una infección peligrosa debido a la trombocitopenia grave causando hemorragias en los perros (Lara et al., 2020).

A. centrale es considerada una bacteria menos patógena que afecta al ganado de varios países del mundo (Ashraf et al., 2021).

A. bovis es el agente etiológico de varios hospedadores animales (Koh et al., 2018). Causa anaplasmosis en distintos animales como las cabras, ovejas y rumiantes en varios países (Liu et al., 2019). Es una bacteria que afecta principalmente a los búfalos y al ganado.

A. phagocytophilum es un hemoparásito intracelular Gram negativo, que infecta a humanos, bovinos, equinos, caninos y felinos. Su diagnóstico temprano permite una mejor evolución en el tratamiento, los métodos diagnósticos para felinos son: la anamnesis, frotis sanguíneo, hemograma y bioquímica sanguínea (Lucero Carrera, 2021). En el caso de los perros llega a

provocar la anaplasmosis granulocítica canina y la infección en humanos causa la anaplasmosis granulocítica humana (Keyte et al., 2021). Esta bacteria está presente en la sangre de varios mamíferos, induce a la infección de la serie blanca específicamente los neutrófilos, provocando inflamaciones en los ganglios linfáticos y lóbulos hepáticos. Los síntomas de anaplasmosis en humanos son, entre otros: mialgias, náuseas, diarrea, tos, dolor abdominal, cefalea, linfógena y dolores musculares (Wang et al., 2020).

A. marginale es considerada una bacteria patógena que afecta al ganado bovino y se caracteriza por estar distribuida en distintos países del mundo (Yang et al., 2017). Provoca síntomas como anorexia, pirexia, anemia, ictericia, depresión, abortos y por último la muerte del animal (Noor et al., 2022). Los bovinos infectados con *A. marginale* presentaron más signos clínicos como: apatía, palidez de las mucosas, hematocrito y hemoglobina disminuidos, ictericia leve, letargo y muerte (Lima et al., 2019). La gravedad de la infección depende de la edad de los terneros. Por ejemplo, los terneros menores de 1 año suelen desarrollar una infección subclínica, sin embargo, en los bovinos mayores de 1 a 2 años suelen desarrollar una enfermedad leve a aguda con una probabilidad de mortalidad del 50% (Obaidat., 2019).

El ciclo de vida de la bacteria *A. marginale* en bovinos luego de la infección inicial tiene un periodo de incubación de 7 – 60 días con una media de 28 días (Zabel., 2018). Las proteínas principales de superficie (MSP) de *A. marginale* se relacionan con la interacción entre la *A. marginale* y la célula del hospedador ya sea este vertebrado o invertebrado (Bahia et al., 2021). Además, las altas variaciones genéticas de esta *rickettsia* facilitan que la mayor parte del ganado permanece infectado por mucho tiempo (Bahia et al., 2021). Los genes de *A. marginale* sufren variaciones o evolucionan por varios factores como la susceptibilidad del sistema inmune del hospedador, la variabilidad de los vectores y las zonas climáticas (Belkahia et al., 2021). Para los

¹ La trombocitopenia es una afección en la que el organismo tiene muy pocas plaquetas. Las plaquetas (trombocitos) son células sanguíneas que intervienen en la coagulación de la sangre

estudios de identificación molecular, diversos marcadores han sido utilizados. A continuación, se detalla los marcadores utilizados en diferentes regiones del Ecuador:

16S rRNA

El gen 16S rRNA es de uso habitual y se generaliza como gen diagnóstico para la identificación taxonómica. En la literatura están descritos muchos pares de cebadores que funcionan adecuadamente para las diferentes zonas conservadas del gen 16S rRNA (Vázquez González, 2020). Sin embargo, se suelen utilizar cebadores genéricos que no permiten seleccionar familias o géneros bacterianos de interés.

Gen Operón GroEL

Codifica para una proteína de 60 kDa, conocida como proteína de choque térmico en vista que el estrés que provoca el calor conduce a un estímulo de su expresión (Kupper et al., 2014). Con forma de un oligómero conformado por dos anillos constituido por siete monómeros. Cada monómero tiene tres dominios: apical, intermedio y ecuatorial (Yurkova & Fedorov, 2022). El análisis molecular en base al operón GroEL ha permitido conocer la existencia de muchas especies de *Anaplasma spp.* en garrapatas de los hospedadores vertebrados.

Gen msp1:

Está compuesto por un dominio variable y otro conservado, cada proteína está conformada por 23 a 31 aminoácidos (Variants, 2019). Se diferencian los siguientes genes *msp1a* y *msp1b* (*msp1β1* y *msp1β2*) (*msp1β1pg*, *msp1β2pg* y *msp1β3pg*). Los genes *msp1a* y *msp1b* se pueden amplificar mediante la técnica de PCR usando cebadores para el gen *msp1a* (Variants, 2019). Se plantea que *msp1* tiene una función primordial en la inmunidad del bovino infectado como en el ciclo de desarrollo en el vector (dos Santos et al., 2019). El motivo para que este gen *msp1* evolucione en poco tiempo estaría relacionada con la presión selectiva ejercida en el sistema inmune del hospedador (dos Santos et al., 2019). La proteína *msp1* se ha usado como

marcador molecular en diferentes zonas geográficas para poder caracterizar genéticamente las cepas de *A. marginale* (Nyoni-phili, 2017).

Gen msp2

Según Nieves Barreto (2018) el gen *msp2* está formado por una familia multigénica en *A. marginale*, *A. centrale* y *A. ovis* por otro lado en *A. phagocytophilum* está codificado por un solo gen, *msp2* presenta alta variabilidad principalmente en el extremo 5' y codifica para la proteína MSP2 que experimenta variación y selección antigénica en bovinos y garrapatas, contribuyendo así al mantenimiento de infecciones persistentes por genes ortólogos. La variación antigénica de MSP2 ocurre durante infecciones persistentes en el ganado y garrapatas, permitiéndole evadir la respuesta inmune y contribuir al mantenimiento de la infección (Nieves Barreto, 2018)

Gen msp4

Es una proteína inmunodominante considerado un antígeno para el control de Anaplasmosis. Por lo que se hace necesario poseer información sobre su inmunogenicidad, conservación entre las cepas de cada región y la conservación de epítomos (Watthanadirek et al., 2019). Su función es muy similar a la Función de *A. phagocytophilum* en la que tiene interacción entre el hospedador y el parásito (Watthanadirek et al., 2019). La proteína *msp4* utilizada como un marcador filogenético, tiene 31 kDa, se conserva en diferentes aislados de *A. marginale*.

Gen msp5

Es codificada por la secuencia del gen *msp5* (Watthanadirek et al., 2021). Es considerada una proteína de membrana externa inmunodominante muy conservada y su análisis se realiza con fines de diagnóstico (Futse et al., 2019). Esta proteína de 19 kDa codifica un solo gen con función aún desconocida; se ha observado en una variedad de cepas de *A. marginale*, *A. centrale* y *A. ovis*. Cabe indicar que sigue siendo de mucha importancia su estudio para conocer su inmunogenicidad, conservación de sus epítomos y la

conservación entre las cepas en diferentes zonas geográficas (Watthanadirek et al., 2021). La problemática se centra en los parásitos que infectan al ganado vacuno provocando enfermedades llegando a un problema de salud pública y de igual manera la producción del ganado bovino, generando valores elevados en la producción y pérdidas económicas en la ganadería, específicamente en las regiones tropicales y subtropicales, ya que dichas áreas tienen las condiciones ambientales para la infestación de parásitos (Paramanandham et al., 2019).

La variabilidad o diversidad genética de las distintas cepas de *A. marginale* podría estar relacionada a la morfología, antigenicidad y la capacidad de la bacteria para infectar a garrapatas (Quiroz-Castañeda et al., 2016). Las MSP incluyen los siguientes genes clasificados como: *msp1a*, *msp1b*, *msp2*, *msp3*, *msp4* y *msp5*; dichos genes son considerados marcadores de importancia en epidemiología molecular de la infección por *A. marginale* (Junsiri et al., 2020). Por lo tanto, el objetivo de esta revisión sistemática es describir los principales marcadores moleculares utilizados para la identificación de *A. marginale* en bovinos que han sido reportados en los diferentes casos de investigación en sitios geográficos de las provincias del Ecuador con el fin de definir las secuencias nucleotídicas y su utilidad diagnóstica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó una revisión sistemática cualitativa de artículos de investigación en Ecuador sobre los principales marcadores moleculares utilizados para la detección de *A. marginale*, con un máximo de 5 años de antigüedad, publicados en las plataformas de: Scopus, Pub Med, Lilacs, Scielo, Google Scholar, ILO, DeCS.

A partir de este método se buscó argumentar a la pregunta de investigación: ¿Cuáles son los principales marcadores moleculares utilizados para la identificación de *Anaplasma marginale* reportados en la literatura científica en Ecuador?

Utilizando como descriptores de búsqueda de literatura científica; amplificación de fragmentos de los

siguientes genes (*msp1*, *msp1a*, *msp4*, *msp5*, *rRNAr 16S*) para la identificación de (*A. marginale*) circulantes en zonas endémicas.

Se tomó en cuenta artículos entre enero de 2017 y enero de 2022 y se excluyeron capítulos de libros y artículos en los que se reporta la amplificación de ADN de otros parásitos. La búsqueda directa de artículos en la base de datos Pubmed, Scopus, Science Direct se llevó a cabo empleando los términos de búsqueda seleccionados con base en los sistemas Mesh (Medical subject Heading) y DecS (Descriptores de Ciencias de la Salud) donde se encuentra el vocabulario de términos biomédicos. Los términos no Mesh (*Anaplasma marginale*) fueron adoptados del sistema DecS. Estos fueron: “*Anaplasma marginale*” y “DNA”, unidos por el conector AND, con búsquedas diferentes “*Anaplasma marginale*” AND “DNA”

Tabla 1. Palabras clave y términos sobre la identificación circulantes de *Anaplasma Marginale* entre enero 2017 a enero 2022.

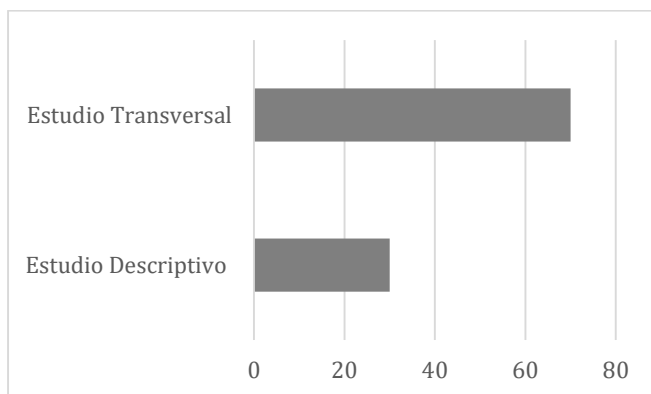
Palabras clave	Términos incluyentes	Términos excluyentes
Bacteria of the <i>Anaplasma</i> – characteristics	Agente Etimológico	Parásitos derivados del <i>Anaplasma</i>
<i>Anaplasma marginale</i> and <i>Anaplasma</i> phagocytophilum: Rickettsiales	Desarrollo social, económico y agrícola de las comunidades	Variant strain of <i>Anaplasma</i>
Pathogens of veterinary	<i>Anaplasmosis</i>	
<i>Anaplasma</i> infections	Investigación molecular	
Genetic diversity and molecular	PCR – DNA - ADN	
epidemiology of <i>Anaplasma</i>	Infección subclínica	
MSP gene		

Se utilizó únicamente el Ensayo de PCR dentro de los artículos académicos para el análisis de *A. marginale*. La PCR en tiempo real según Soto Gonzales (2020) es una técnica que permite determinar los resultados de

manera real además de tener como ventaja poder tener muestreos mínimos de ADN presentes en cada muestra. Los protocolos de la PCR en tiempo real pueden diseñarse para obtener resultados cuantitativos, así como demostrar la presencia o ausencia de un fragmento de ADN o ARN o resultados cuantitativos calculando el número de copias de ADN, que, al compararse con una curva estándar, establece la cantidad de microorganismos presentes en una muestra determinada o bien determinar el número de moléculas de un ARN para designar la expresión de este (Soto Gonzales, 2020).

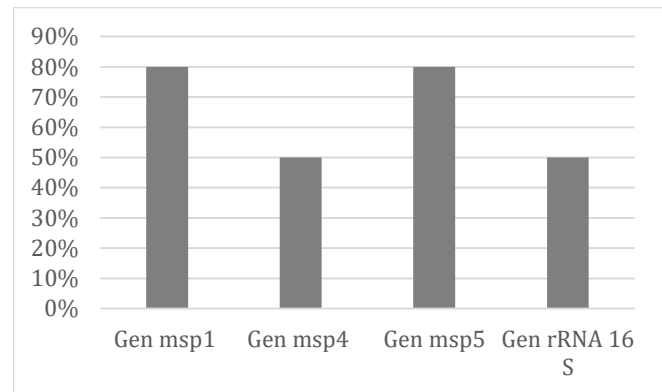
Se aprobó para a los fines del presente trabajo, artículos científicos con al menos 80% de la lista de los criterios establecidos, con especial valoración en el tipo de estudio e identificación del gen.

Gráfico 1: Tipos de estudio para identificación del *A. marginale* encontrados en los artículos académicos.



Se encontró mayor número de estudios transversales que descriptivos en el estudio para la identificación del *A. Marginale* en los artículos académicos para la presente investigación. Estos estudios se llevan a cabo en un momento específico y responden preguntas de investigación específicas, como determinar la prevalencia de una enfermedad, factores de riesgo o tratamiento en una población específica.

Gráfico 2: Porcentaje de los tipos de Gen detallados en las investigaciones entre 2017 a 2022 en Ecuador



Aplicando los criterios de evaluación se determinaron y seleccionaron diferentes trabajos para este estudio. Se tomó en cuenta el título, resumen, introducción, metodología, resultados, discusión, aspectos y forma de análisis en los casos de estudio, técnicas de detección, uso de la metodología molecular, PCR.

Tabla 2. Resultados de la búsqueda de artículos de revista indexados a las diferentes plataformas.

Tipo de publicación	Total
Artículo de revista indexada SCOPUS	10
Artículo de revista indexada PUB MED	10
Artículo de revista indexada LILACS	10
Artículo de revista indexada SCIELO	20
Artículo de revista indexada GOOGLE SCHOLAR	20
Artículo de revista indexada ILO	10
Artículo de revista indexada DECS	10
TOTAL	90

En la revisión sistemática, se evaluaron los criterios de inclusión y exclusión, utilidad de los marcadores moleculares, niveles de importancia, región geográfica, grado de conservación genética y utilidad diagnóstica.



La ilustración 1 muestra los genes analizados para la identificación de la bacteria *A. marginale* utilizando los Genes *msp1* con un estudio transversal tanto en la región Sierra y Costa; el Gen *rRNA 16S* en la región Insular y Sierra; el Gen *msp5* en la región Oriente y Sierra; el Gen *msp4* en la región Oriente. Siendo los marcadores moleculares utilizados los que se describen en la siguiente tabla:

Tabla 3. Marcador y referencia *A. marginale*.

Marcador	Referencia
<i>msp1</i>	Alicia Maya Delgado et al. 9-22
<i>msp1</i>	Leandro Tana Hernández et al. 15-12-2017
<i>msp4</i>	Viviana Medina Naranjo et al. 2017
<i>msp5</i>	Tomas Humberto Landázuri Rafael et al. 10-8-2020
<i>16S rRNA</i>	G. V. Gioia et al. 22-3-2018

La tabla señala los marcadores encontrados en las diferentes regiones del Ecuador que se cifran los marcadores moleculares y las proteínas de la superficie

que desempeñan un papel crucial en la interacción de *Anaplasma* con las células del hospedero.

RESULTADOS

De los 90 artículos seleccionados para la realización del presente trabajo 80 artículos originales cumplieron con los criterios de inclusión siendo las mismas la bacteria *A. marginale*, género *Anaplasma*, marcadores, técnica como la PCR en tiempo real, ganado bovino en relación con la ubicación geográfica de los estudios en los cuales se incluyeron los marcadores moleculares entre los cuales encontramos Scopus, Pub Med, Lilacs, Scielo, Google Scholar.

En primer lugar, se verificaron los artículos que contenían información sobre amplificación de fragmentos de los genes para *Anaplasma* (*A. marginale*). Luego de la revisión de los artículos en base a los criterios planteados se encontró artículos científicos duplicados en varias bases de datos de forma simultánea, los cuales fueron excluidos. Finalmente, se realizó la síntesis de información recopilada de los genes para anaplasma (*A. marginale*). Se reportó únicamente el ensayo de PCR dentro de los artículos académicos para el análisis bibliográfico de *A. marginale*, de acuerdo con los objetivos del presente estudio.

Tabla 4. Resultados de la búsqueda y análisis sobre los genes para *A. marginale*.

Términos utilizados	Encontrados	Aprobados	Incluidos
Análisis hematológico	240	20	3
<i>A. marginale</i>	236	10	8
Resultados de pruebas	72	50	8
Diagnósticos	159	50	2
Gen <i>msp</i>	254	60	6
ALT – AST – ELISA	180	50	5
Anaplasmosis	80	10 0	1
TOTAL	1221	43 0	3 3

De los 90 artículos incluidos, 50 son de fuentes primarias y 30 de fuentes secundarias de información. Como marco muestral, 10 estudios determinaron las

especies de *Anaplasma spp.* que infectan al ganado y estimaron su prevalencia en los animales infectados.

Entre los tipos de estudio de los artículos se encontró de tipo transversal y descriptivo, esto ayudó a determinar qué tipo de gen *msp* infecta a los animales en las diferentes regiones.

Es importante mencionar, que las investigaciones revisadas indican no haber diferencias significativas entre machos y hembras al considerar resultados de las PCR. Entre las regiones genéticas utilizadas para la identificación molecular en el Ecuador están: Gen *msp1*, *rRNA16S*, Gen *msp4*, Gen *msp5*.

En relación con los marcadores, las técnicas de detección que se destacaron fueron secuenciación de fragmentos ribosomales, la técnica de ELISA indirecta y PCR, a partir de la sangre hemolizada y coagulada.

En la investigación de Leandro Tana y colaboradores, se determina el tamaño de la muestra con un alcance del 49,5% de todos los animales presentes en las granjas y su prevalencia con el 100% a nivel de rebaño, con el 86,1% a nivel individual (130 animales positivos) a través de la PCR basada en la detección del fragmento de ADN de 605 pb de *msp5*.

Así mismo, el diagnóstico de Viviana Medina a través de los Hemotrópicos *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma spp.* y *Babesia spp.* estableció la prevalencia y las repercusiones en valores de proteínas totales (PT) y hematocrito (Hto) en bovinos de la Parroquia Santa Clara mediante las técnicas de Elisa indirecta y PCR en tres fincas ganaderas, también le permitió generar porcentajes del contacto de los bovinos con la bacteria. En cuanto a la técnica de la extracción de ADN a partir de la sangre bovina con sangre hemolizada y coagulada para la detección molecular, los datos se obtuvieron a través de los tres métodos de extracción que dio como resultados equivalentes para la presencia de *Anaplasma spp.* todas las muestras extraídas presentando un pellet final de color rojo y de tamaño mediano.

Los 90 artículos analizados en esta revisión se trataron de lineamientos acerca de las diferentes formas de detección de casos de infección de animales dentro de las regiones de Ecuador. Con ello se pudo describir los principales marcadores moleculares utilizados para la identificación del *A. marginale* en bovinos que han sido reportados en los estudios en Santo Domingo de los Tsáchilas, Zamora Chinchipe, Galápagos y áreas protegidas del Ecuador.

Tabla 5. Resumen de Resultados de los Principales Marcadores Moleculares utilizados para la detección de *A. marginale*.

AUTOR	TITULO	Gen	TIPO DE ESTUDIO	REVISTA	OBJETIVO	RESULTADOS
Alicia Maya Delgado et al. 9-22	Cribado molecular de garrapatas bovinas, patógenos transmitidos por garrapatas y resistencia a amitraz en garrapatas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas en Ecuador	Gen <i>msp1</i>	Estudio Descriptivo	Elsevier	Generar información precisa sobre las especies de garrapatas y determinar las enfermedades transmitidas por garrapatas más importantes que afectan al ganado en esta región.	De 84 fincas ganaderas, 10 fincas no presentaron garrapatas bovinas. Las 74 fincas restantes que presentaron especímenes de garrapatas se subdividieron por especies en cada finca, dando un total de 69 pools de <i>R. microplus</i> y 18 pools de <i>A. cajennense</i> -sl. De esas fincas, 52 fincas tenían solo <i>R. microplus</i> y cuatro fincas tenían <i>A. cajennense</i> -sl, en exclusiva. Catorce fincas tenían ambas especies de garrapatas.
C. V. Gioia et al. 22-3-2018	Anaplasmosis bovina y patógenos transmitidos por garrapatas en bovinos de las Islas Galápagos	Gen <i>rRNA 16S</i>	Estudio Transversal	Wiley Online Library	Determinar las especies de <i>Anaplasma spp.</i> que infectan al ganado y estimar su prevalencia, luego identificar las garrapatas que infectan al ganado y finalmente establecer la presencia de patógenos transmitidos por garrapatas en las garrapatas extraídas del ganado en las Islas Galápagos.	Prevalencia a nivel animal de la infección por <i>A. marginale</i> fue alta en Santa Cruz e Isabela (93%), mientras que ligeramente menor en San Cristóbal (80%). Todos los rebaños analizados tenían al menos un bovino con <i>A. marginale</i> positivo. La mediana de la prevalencia dentro del rebaño también fue alta en las tres islas muestreadas (>70%). Sin embargo, dos rebaños de ganado en San Cristóbal, dos rebaños en Santa Cruz y un rebaño en Isabela tuvieron valores de prevalencia por debajo del 70%. Los valores de prevalencia fueron ligeramente superiores en bovinos adultos en las tres islas.
Leandro Tana Hernández et al. 15-12-2017	PCR-diagnóstico de <i>Anaplasma marginale</i> en poblaciones bovinas del Ecuador y su identificación molecular mediante secuenciación de fragmentos ribosomales 16S.	Gen <i>msp1</i>	Estudio Transversal	BMC Veterinary Research	Recolectar una mejor información sobre la presencia de anaplasmosis bovina, se estandarizó y probó una PCR basada en la detección del fragmento de ADN de 605 pb de Mayor Surface Protein 5 (<i>msp5</i>) en animales ubicados en un área donde se encuentran vectores presentes. Posteriormente, se realizó una secuenciación del <i>rRNA 16S</i> previamente clonado obtenido de dos muestras recolectadas al azar para su confirmación.	Nuestro estudio transversal se realizó en diciembre de 2014; Se recolectaron 151 muestras de sangre bovina en 15 tambos ubicados en la comuna Luz de América, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en la región costera de Ecuador. El tamaño de la muestra alcanzó el 49,5% de todos los animales presentes en las granjas. La prevalencia alcanzó el 100% a nivel de rebaño y el 86,1% a nivel individual (130 animales positivos). No se observaron diferencias significativas entre machos y hembras al considerar los resultados de la PCR de <i>msp5</i> ; De todas las muestras positivas por <i>msp5</i> PCR (N = 130), se seleccionaron dos muestras (An-SD-1 y An-SD-18) para identificar la rickettsia con 16S rRNA PCR y posterior clonación y secuenciación. Una vez que se obtuvieron las secuencias consenso para cada clon, se compararon: las secuencias tenían 1383 pb y mostraban una identidad del 100%. Después de consultar Blast Database (NCBI Blastn), se identificó una similitud del 100% con GenBank.
Viviana Medina Naranjo et al. 2017	Diagnóstico de los Hemotrópicos <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Trypanosoma spp.</i> y <i>Babesia spp.</i> mediante las técnicas de Elisa indirecta y PCR en tres fincas ganaderas de la	Gen <i>msp4</i>		Revista científica Universidad de Zulia Maracaibo.	Diagnosticar estas enfermedades, determinar su prevalencia y sus repercusiones en valores de proteínas totales (PT) y hematocrito (Hto) en bovinos de la Parroquia Santa Clara, Provincia de Pastaza, en Ecuador.	Para la elaboración de este estudio, se evaluaron 58 bovinos pertenecientes a tres fincas, muy cercanas una de otra, ubicadas en la provincia de Pastaza, Ecuador. El total de la población de las tres fincas era de 181 animales y se tomaron al azar el 41,3% (19/46) en la Unidad de Producción Agrícola UPA-1; 56% (14/25) en la UPA-2 y 22,7% (25/110) en la UPA-3 de su rebaño. Dando resultados positivos para la presencia de anticuerpos anti <i>msp5</i> de los cuales el 57,89% (11/19) corresponde a UPA-1; el 71,43% (10/14) para la UPA-2 y el 88% para la UPA-3, lo que significa que

provincia de Pastaza, Ecuador.

más de la mitad de la población muestreada está o ha estado en contacto con la bacteria

<p>Tito Ramiro Muñoz Guarnizo et al. Mayo 2020</p>	<p>Epidemiología y diversidad genética de <i>Anaplasma marginale</i> en Zamora Chinchipe, Ecuador</p>	<p>Estudio Transversal</p>	<p>Elsevier.</p>	<p>Determinar en varias fincas de la provincia de Zamora Chinchipe, Ecuador la prevalencia molecular de <i>A. marginale</i> que infecta a los bovinos, y la caracterización y evaluación de diversidad genética de <i>A. marginale</i> circulante.</p> <p>La infección por <i>A. marginale</i> se detectó mediante n PCR en 118 de 185 bovinos muestreados, lo que representó una prevalencia general del 63.8%. La infección fue generalizada en todas las fincas incluidas en este estudio y los valores de prevalencia fueron superiores al 50% en todos los cantones a excepción de Pangui que fue del 20% y la prevalencia más alta fue 89.3% fue en Chinchipe. Ninguno de los animales infectados mostró síntomas clínicos de enfermedades hemolíticas. Se encontró alta prevalencia de infección en todos los grupos de edad evaluados, y las diferencias entre grupos no fueron significativas. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas en la prevalencia de <i>A. marginale</i> entre grupos según el sexo.</p>
<p>Tomas Humberto Landázarí Rafael et al. 10-8-2020</p>	<p>Optimización de un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada y coagulada para la detección molecular de <i>Anaplasma spp.</i></p>	<p>Gen <i>msp5</i></p>	<p>Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias</p>	<p>Optimizar una técnica para su uso con sangre hemolizada y coagulada para la detección molecular de <i>Anaplasma spp.</i> De esta forma se quería obtener un protocolo que permita la correcta extracción de ADN, a partir de muestras de sangre hemolizada y coagulada, que permita la detección molecular confiable de <i>Anaplasma spp.</i></p> <p>Las concentraciones de ADN se midieron para las muestras obtenidas de cada tratamiento de volumen de sangre. La concentración de ADN obtenida es diferente entre los volúmenes de sangre usada. Todas las muestras extraídas presentaban un pellet final de color rojo y de tamaño mediano. No se observó inhibición de la reacción de PCR en las muestras de ADN obtenidas con los tres métodos de extracción. Se obtuvo resultados equivalentes para la presencia de <i>Anaplasma spp.</i> entre los métodos de extracción</p>

DISCUSIÓN

La aplicabilidad de la evidencia sintetizada de forma objetiva y científica mediante una revisión sistemática de los principales marcadores moleculares en Ecuador encontrados en la literatura con las especies de *Anaplasma marginale* ayudan a conocer el índice de anaplasmosis en varias regiones ecuatorianas que incluyen provincias como Pichincha, Galápagos, Santo Domingo, Pastaza y Zamora Chinchipe conociendo el porcentaje de contagio y las enfermedades que producen, en mayor o menor magnitud, las garrapatas que son transmitidas a través de vectores mecánicos y biológicos, así como también de forma iatrogénica.

La importancia del estudio de las garrapatas en la epidemiología de la anaplasmosis en Ecuador surgió porque las muestras recolectadas de organismos en animales mostraron una mayor prevalencia de anaplasma. El contacto entre garrapatas y animales puede aumentar la probabilidad de ocurrencia de anaplasma en vectores, como se observa en esta investigación. Por lo tanto, la transmisión mecánica y transmisión biológica son pro-

-bablemente las rutas principales de diseminación de *A. marginale* en ciertas áreas de Santo Domingo, Galápagos, Oriente. Es muy importante tomar en consideración los reservorios de *A. marginale* en vista que pueden ser utilizados como fuente de sangre

predominando la conservación del marcador ribosomal; en este caso, de acuerdo con los objetivos planteados en estudios de amplificación de *A. marginale*, se deben definir los criterios antes señalados

infectante para la propagación y transmisión biológica por garrapatas.

Hasta ahora se podría indicar que las especies de *Rhipicephalus microplus* pueden ser vectores importantes de *Anaplasma* en áreas de inestabilidad enzoótica principalmente en granjas lecheras, corrales de engorde y diversos sistemas de producción intensiva, en donde los animales se encuentran muy cercanos entre sí. La alta densidad de los ganados bovinos favorece la transmisión de *A. marginale* por las garrapatas debido a su comportamiento sensible a la reacción del huésped y agresivo por la necesidad de ingerir cantidades considerables de sangre para la maduración de sus ovocitos. En cada muestra PCR hubo presencia del del gen *msp2* y *16S rRNA* de *Anaplasma spp.* para *A. multipunctum* y las secuencias de *rRNA 16S* (regiones EHR y GEP) para *R. microplus*.

En cada una de las regiones se utilizó diferentes marcadores importantes como *msp1* y *msp5* para detectar *A. marginale* y para realizar las pruebas debidas al ganado teniendo en cuenta las muestras dentro de la revisión de la edad del ganado, región, fincas, clima, entre otros, cada uno se lo realizó mediante pruebas PCR a partir de muestras de sangre. El gen *msp1* fue comparado con la subunidad pequeña del *RNAr*, y aunque presentó mayor número de copias, sigue

de selección para el marcador molecular, de acuerdo con los resultados esperados en la investigación, referidos al grado de conservación de la secuencia.

Cada uno de los genes analizados en la revisión literaria fue de suma importancia en cada región del Ecuador ayudando a determinar la problemática de las garrapatas y el mal manejo zoonótico del ganado. El análisis molecular de los genes *msp1*, Gen *msp4*, el *rRNAr 16S* y el gen *msp5* arrojó resultados alarmantes ya que más de un 75% de la muestra estuvo infestada con garrapatas; es importante que en el país se lleve a cabo estudios para frenar estas enfermedades hemotrópicas. Estos estudios se realizan a través de pruebas PCR, ELISA; la mayoría de los diagnósticos que se sacó dentro de toda la revisión literaria son la anaplasmosis, y babesiosis entre otras enfermedades encontradas en cada región del Ecuador.

CONCLUSIONES

El presente artículo de revisión muestra que los marcadores moleculares utilizados para la detección de la bacteria *A. marginale* varían ya que dependen de la región geográfica de la muestra, grado de conservación y resultados de estudios previos. Los datos obtenidos por la revisión de la literatura sobre los marcadores moleculares señalan que los más utilizados son *msp1* y *msp5* para la detección de especies en regiones genómicas muy conservadas.

Las diferentes técnicas de detección permitieron en estos casos de investigación diferenciar, caracterizar y secuenciar a *A. marginale*. Así mismo, la ventaja depende del nivel de conservación en el que se encuentra distribuido en las cepas de diferentes regiones geográficas, aisladas entre sí, por lo tanto, se presenta como un marcador molecular ideal para la amplificación del material genético con baja probabilidad de modificación.

Los estudios de los diferentes casos analizados con este gen en otras cepas detallan la factibilidad de explorar su uso como marcador molecular específico de cepas circulantes en unas regiones específicas.

Los genes *msp1* y *msp5* muestran ser muy conservados en la especie *A. marginale* siendo un marcador específico para el estudio de esta problemática.

Es importante recalcar que los datos de las diferentes investigaciones acerca de los marcadores moleculares son de interés para estudios epizootiológicos en

relación con el desarrollo de métodos de detección con niveles de sensibilidad y especificidad adecuados.

REFERENCIAS CITADAS:

Alkishe, A. A., Peterson, A. T., & Samy, A. M. (2017). *Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick Ixodes ricinus*. 1–14.

Amaro Estrada, I., Bustamante García, D., & Quiroz Castañeda, R. E. (2020). *Explorando el genoma de Anaplasma marginale para el mejoramiento de la salud animal*. *Inventio*, 16(39). <https://doi.org/10.30973/inventio/2020.16.39/3>

Ashraf, S., Parveen, A., Asif, M., Alanazi, A. D., Alouffi, A., Muhammad, M., Khan, A., Aktas, M., Ozubek, S., & Iqbal, F. (2021). *Saudi Journal of Biological Sciences First report regarding molecular epidemiology and novel variant identification of Anaplasma centrale in cattle from Pakistan*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(11), 6488–6494. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.026>

Atif, F. A., Mehnaz, S., Qamar, M. F., Roheen, T., Sajid, M. S., Ehtisham-Ul-haque, S., Kashif, M., & Said, M. Ben. (2021). *Epidemiology, diagnosis, and control of canine infectious cyclic thrombocytopenia and granulocytic anaplasmosis: Emerging diseases of veterinary and public health significance*. *Veterinary Sciences*, 8(12), 1–20. <https://doi.org/10.3390/vetsci8120312>

Bahia, M., Silva, L. T. da, Silva, B. M. da, Cordeiro, M. dias, Guterres, A., Silva, C. B. da, Silva, J. B. da, & Fonseca, A. H. (2021). *Genetic diversity of Anaplasma marginale in calves with anaplasmosis on farms in Minas Gerais, Brazil*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1), 101552. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101552>

Bekloo, A. J., Ramzgouyan, M. R., Shirian, S., Faghihi, F., Bakhshi, H., Naseri, F., Sedaghat, M., & Telmadarrayi, Z. (2018). *Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of Anaplasma spp. and Ehrlichia spp. Isolated from Various Ticks in Southeastern and Northwestern Regions of Iran*. *Vector-Borne and Zoonotic*

Diseases,18(5),252–257.

<https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2219>

Belkahia, H., Ben Abdallah, M., Andolsi, R., Selmi, R., Zamiti, S., Kratou, M., Mhadhbi, M., Darghouth, M. A., Messadi, L., & Ben Said, M. (2021). *Screening and Analysis of Anaplasma marginale Tunisian Isolates Reveal the Diversity of lipA Phylogeographic Marker and the Conservation of OmpA Protein Vaccine Candidate*. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(October), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.731200>

Berthelsson, J., Ramabu, S. S., Lysholm, S., Aspán, A., & Wensman, J. J. (2020). *Anaplasma ovis* infection in goat flocks around Gaborone , Botswana. 167–172.

Bisen, S., Aftab, A., Jeeva, K., Silamparasan, M., Yadav, S., Chandra, D., Sankar, M., Garg, R., & Raina, O. K. (2021). *Molecular and serological detection of Anaplasma infection in carrier cattle in north India*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24(June 2020), 100550. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100550>

Cabezas-Cruz, A., & de la Fuente, J. (2015). *Anaplasma marginale* major surface protein 1a: A marker of strain diversity with implications for control of bovine anaplasmosis. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(3), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.03.007>

Calchi, A. C., Vultão, J. G., Alves, M. H., Yogui, D. R., Desbiez, A. L. J., De Santi, M., Santana, M. de S., da Silva, T. M. V., Werther, K., Teixeira, M. M. G., Machado, R. Z., & André, M. R. (2020). *Ehrlichia spp. and Anaplasma spp. in Xenarthra mammals from Brazil, with evidence of novel 'Candidatus Anaplasma spp.'* *Scientific Reports*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69263-w>

Carvajal-de la Fuente, V., Merino-Charrez, O., Tovar-Carman, E., Rodríguez-Camarillo, S. D., Lagunes-Quintanilla, R. E., Muñoz-Tenería, F. A., Contreras, M., & de la Fuente, J. (2018). *Differential expression analysis for subolesin in Rhipicephalus microplus infected with Anaplasma marginale*. *Experimental and Applied Acarology*, 76(2), 229–241. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0302-7>

Chisu, V., Zobba, R., Lecis, R., Sotgiu, F., Masala, G., Foxi, C., Pisu, D., & Alberti, A. (2018). *GroEL typing and phylogeny of Anaplasma species in ticks from domestic and wild vertebrates*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.012>

Clarridge, J. E. (2004). *Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases*. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 840–862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>

Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Estrada-Peña, A., Potkonjak, A., Mihalca, A. D., & Zeller, H. (2021). *Tick-borne diseases and co-infection: Current considerations*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101607>

De la Fuente, J., Lew, A., Lutz, H., Meli, M. L., Hofmann-Lehmann, R., Shkap, V., Molad, T., Mangold, A. J., Almazán, C., Naranjo, V., Gortázar, C., Torina, A., Caracappa, S., García-Pérez, A. L., Barral, M., Oporto, B., Ceci, L., Carelli, G., Blouin, E. F., & Kocan, K. M. (2005). *Genetic diversity of Anaplasma species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development*. *Animal Health Research Reviews*, 6(1), 75–89. <https://doi.org/10.1079/ahr2005104>

Dos Santos, P. N., de Almeida Valim, J. R., Matos, P. C. M., da Silva, J. B., & da Fonseca, A. H. (2019). *Molecular characterization of the msp1 α AmRio1 strain of Anaplasma marginale in calves and experimentally infected ticks*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 16(February),100268. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100268>

Dumler, J. S., Lichay, M., Chen, W., Rennoll-bankert, K. E., & Park, J. (2020). *Activates NF- κ B Signaling via Redundant Pathways*. 8(October), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.558283>

Eleizalde, M. C., & Reyna-Bello, A. (2014). *MecanisMos de Variación antigénica en Anaplasma marginale*

Mechanisms of Antigenic Variation in Anaplasma marginale. 55(2).

Estrada, I. A., García-Ortiz, M. A., Preciado de la Torre, J. F., Rojas-Ramírez, E. E., Hernández-Ortiz, R., Alpírez-Mendoza, F., & Rodríguez Camarillo, S. D. (2020). *Transmission of Anaplasma marginale by unfed Rhipicephalus microplus tick larvae under experimental conditions*. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11(1), 116–131. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11I1.5018>

Futse, J. E., Buami, G., Kayang, B. B., Koku, R., Palmer, G. H., Graça, T., & Noh, S. M. (2019). *Sequence and immunologic conservation of Anaplasma marginale OmpA within strains from Ghana as compared to the predominant OmpA variant*. *PLoS ONE*, 14(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217661>

Ganguly, A., Maharana, B. R., Ganguly, I., Kumar, A., Potliya, S., Arora, D., & Bisla, R. S. (2018). *Molecular diagnosis and haemato-biochemical changes in Anaplasma marginale infected dairy cattle*. *Indian Journal of Animal Sciences*, 88(9), 989–993.

Gioia, G. V., Vinueza, R. L., Marsot, M., Devillers, E., Cruz, M., Petit, E., Boulouis, H. J., Moutailler, S., Monroy, F., Coello, M. A., Gondard, M., Bournez, L., Haddad, N., & Zanella, G. (2018). *Bovine anaplasmosis and tick-borne pathogens in cattle of the Galapagos Islands*. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(5), 1262–1271. <https://doi.org/10.1111/tbed.12866>

Graça, T., Ku, P. S., Silva, M. G., Turse, J. E., Kenitra Hammac, G., Brown, W. C., Palmer, G. H., & Brayton, K. A. (2019). *Segmental variation in a duplicated msp2 pseudogene generates anaplasma marginale antigenic variants*. *Infection and Immunity*, 87(2). <https://doi.org/10.1128/IAI.00727-18>

Guamán-Quinche, F. S., Sarango-Guamán, D. E., & Guerrero-Pincay, Á. E. (2020). *Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador*. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 5(2), 131. <https://doi.org/10.35381/r.k.v5i2.987>

Guarnizo, T. R. M., Alvarez, D. O., Díaz-Sánchez, A. A., Cabezas-Cruz, A., Gutiérrez, L. Z., Marrero, S. M., & Corona-González, B. (2020). *Epidemiology and genetic diversity of Anaplasma marginale in Zamora-Chinchipec, Ecuador*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(3), 101380. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101380>

Hakimi, H., Sarani, A., Takeda, M., Kaneko, O., & Id, M. A. (2019). *Epidemiology, risk factors, and co-infection of vector-borne pathogens in goats from Sistan and Baluchestan province, Iran*. 1–10.

Hamilton, R., Pandora, T. R., Parsonnet, J., & Martin, W. (n.d.). *Clinical Decision Support Trees Can Help Optimize Utilization of Anaplasma phagocytophilum Nucleic Acid Amplification Testing*.

Hove, P., Madesh, S., Nair, A., Jaworski, D., Liu, H., Ferm, J., Kleinhenz, M. D., Highland, M. A., Curtis, A. K., Coetzee, J. F., Noh, S. M., Wang, Y., Genda, D., & Ganta, R. R. (2022). *Targeted mutagenesis in Anaplasma marginale to define virulence and vaccine development against bovine anaplasmosis*. *PLOS Pathogens*, 18(5), e1010540. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010540>

Jaarsma, R. I., Sprong, H., Takumi, K., Kazimirova, M., Silaghi, C., Mysterud, A., Rudolf, I., Beck, R., Földvári, G., Tomassone, L., Groenevelt, M., & Everts, R. R. (2019). *Anaplasma phagocytophilum evolves in geographical and biotic niches of vertebrates and ticks*. *Parasites & Vectors*, 1–17. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3583-8>

James, C. A., Pearl, D. L., Lindsay, L. R., Peregrine, A. S., & Jardine, C. M. (2019). *Ticks and Tick-borne Diseases Risk factors associated with the carriage of Ixodes scapularis relative to other tick species in a population of pet dogs from southeastern Ontario, Canada*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(2), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.10.004>

Junsiri, W., Watthanadirek, A., Poolsawat, N., Kaewmongkol, S., Jittapalapong, S., Chawengkirttikul, R., & Anuracpreeda, P. (2020). *Molecular detection and*

- genetic diversity of *Anaplasma marginale* based on the major surface protein genes in Thailand. *Acta Tropica*, 205(January), 105338. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105338>
- Keyte, S., Helps, C., James, K., Abdullah, S., Tasker, S., Wall, R., & Newbury, H. (2021). *Prevalence and distribution of Anaplasma phagocytophilum in ticks collected from dogs in the United Kingdom*. November 2020, 17–19. <https://doi.org/10.1002/vetr.12>
- Koh, F. X., Panchadcharam, C., Sitam, F. T., & Tay, S. T. (2018). *Molecular investigation of Anaplasma spp. in domestic and wildlife animals in Peninsular Malaysia*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 13(March), 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.05.006>
- Kumar, N., Solanki, J. B., Varghese, A., Jadav, M. M., Das, B., Patel, M. D., & Patel, D. C. (2019). *Molecular Assessment of Anaplasma marginale in Bovine and Rhipicephalus (Boophilus) microplus Tick of Endemic Tribal Belt of Coastal South Gujarat, India*. *Acta Parasitologica*, 64(4), 700–709. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00041-z>
- Kupper, M., Gupta, S. K., Feldhaar, H., & Gross, R. (2014). *Versatile roles of the chaperonin GroEL in microorganism-insect interactions*. *FEMS Microbiology Letters*, 353(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12390>
- Lacasta, D., Lorenzo, M., Arcaute, M. R. De, Benito, A. Á., Baselga, C., Lorenzo, N., Jim, C., Villanueva-saz, S., & Ferrer, L. M. (2021). *Epidemiological Study Related to the First Outbreak of Ovine Anaplasmosis in Spain*. 1–11.
- Lara, B., Conan, A., Thrall, M. A., Ketzis, J. K., & Branford, G. C. (2020). *Serologic and Molecular Diagnosis of Anaplasma platys and Ehrlichia canis Infection in Dogs in an Endemic Region*.
- Lima, D. H. S., Vinhote, W. M. S., Ubiali, D. G., Soares, P. C., Cordeiro, M. D., Silva, J. B., Fonseca, A. H., & Barbosa, J. D. (2019). *Experimental infection by Anaplasma marginale in buffaloes and cattle: Clinical, hematological, molecular and pathological aspects*. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 39(9), 700–709. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6273>
- Liu, Z., Peasley, A. M., Yang, J., Li, Y., Guan, G., Luo, J., Yin, H., & Brayton, K. A. (2019). *The Anaplasma ovis genome reveals a high proportion of pseudogenes*. 1–14.
- Llanes, A., & Rajeev, S. (2020). *First whole genome sequence of Anaplasma platys, an obligate intracellular rickettsial pathogen of dogs*. *Pathogens*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/pathogens9040277>
- Luns, D. A. R., Martins, R., Pombal, S., Rodilla, J. M. L., Githaka, N. W., Vaz, I. da S., & Logullo, C. (2021). *Effect of essential oils against acaricide-susceptible and acaricide-resistant Rhipicephalus ticks*. *Experimental and Applied Acarology*, 83(4), 597–608. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00601-x>
- Ma, X., Mandausch, F. J., Sahoo, V., Popovic, L., Hostiuc, M., Wintgens, J. P., Qiu, J., Kannaiyan, N., Rossner, M. J., Wehr, M. C., Ndikubwimana, B., & Ngendahimana, F. (2021). *Preprint not peer review Preprint n er ed*. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (JETIR)*, 24(9), 5–7.
- Martins, K. R., Garcia, M. V., Bonatte-Junior, P., Duarte, P. O., de Higa, L. O. S., Csordas, B. G., Barros, J. C., & Andreotti, R. (2020). *Correlation between Rhipicephalus microplus ticks and Anaplasma marginale infection in various cattle breeds in Brazil*. *Experimental and Applied Acarology*, 81(4), 585–598. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00514-1>
- Matei, I. A., Estrada-Peña, A., Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Varela-Castro, L., Potkonjak, A., Zeller, H., & Mihalca, A. D. (2019). *A review on the eco-epidemiology and clinical management of human granulocytic anaplasmosis and its agent in Europe*. *Parasites and Vectors*, 12(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3852-6>

- Maya-Delgado, A., Madder, M., Benítez-Ortíz, W., Saegerman, C., Berkvens, D., & Ron-Garrido, L. (2020). *Molecular screening of cattle ticks, tick-borne pathogens and amitraz resistance in ticks of Santo Domingo de los Tsáchilas province in Ecuador*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(5). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101492>
- Meeus, P. F. M., Brayton, K. A., Palmer, G. H., & Barbet, A. F. (2003). *Conservation of a gene conversion mechanism in two distantly related paralogues of Anaplasma marginale*. *Molecular Microbiology*, 47(3), 633–643. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03331.x>
- Mitchell, J. (2014). *Genome Jigsaw: Implications of 16S ribosomal RNA gene fragment position for bacterial species identification*. 65. <http://scholars.wlu.ca/etd/1672/>
- Naranjo, M., Lisette, V., Bello, R., María, A., Román, R., Washington, J., Carlos, J., Carolina, E., Morejón, S., Dayan, E., Larrea, C., La, G. D. E., Pastaza, P. D. E., Medina-naranjo, V. L., Reyna-bello, A., Tavares-marques, L. M., Campos, M., Ron-román, J. W., Moyano, J. C., ... María, S. (2017). *LAS TECNICAS DE ELISAI by elisai and pcr techniques in three livestock farms of Pastaza Province , Ecuador*.
- Narváez, J. J. M. (2020). *Determinación Del Estado Epidemiológico De Piroplasmosis Y Anaplasmosis Bovina En El Canton El Pangui, Provincia De Zamora ´ Chinchipe*. Universidad Nacional De Loja, 1, 56. [https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23463/1/Jenny Margarita Narváez Jima.pdf](https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23463/1/Jenny%20Margarita%20Narv%C3%A1ez%20Jima.pdf)
- Nguyen, A. H. L., Tiawsirisup, S., & Kaewthamasorn, M. (2020). *Molecular detection and genetic characterization of Anaplasma marginale and Anaplasma platys-like (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in water buffalo from eight provinces of Thailand*. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02585-z>
- Noor, S., Ain, U., Khan, A., Niaz, S., Aktas, M., Ozubek, S., Iqbal, F., Alhimaidi, A. R., Farooq, M., Moeen, M., & Zaja, Z. (2022). *Saudi Journal of Biological Sciences Prevalence of Anaplasma marginale in cattle blood samples collected from two important livestock regions in Punjab (Pakistan) with a note on epidemiology and phylogeny of parasite*. 29, 1515–1520. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.020>
- Nyoni-phili, S. L. (2017). *Occurrence and genetic diversity of Anaplasma marginale in cattle from two diptanks in Zambezia*. By. April. [file:///C:/Users/PC/Downloads/anaplasma marginale in cattle from two diptanks in Zambezia.pdf](file:///C:/Users/PC/Downloads/anaplasma%20marginale%20in%20cattle%20from%20two%20diptanks%20in%20Zambezia.pdf)
- Obaidat, M. M., & Salman, A. E. B. (2019). *Anaplasma spp. in dairy ruminants in Jordan: high individual and herd-level seroprevalence and association with abortions*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31(3), 481–484. <https://doi.org/10.1177/1040638719843171>
- Paramanandham, K., Mohankumar, A., Puttahonnappa Suresh, K., Susan Jacob, S., & Roy, P. (2019). *Prevalence of Anaplasma species in India and the World in dairy animals: A systematic review and meta-analysis*. *Research in Veterinary Science*, 123(March 2018), 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.01.013>
- Park, J., Han, D. G., Ryu, J. H., Chae, J. B., Chae, J. S., & Yu, D. H. (2018). *Molecular detection of Anaplasma bovis in Holstein cattle in the Republic of Korea*. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0370-z>
- Parvizi, O., Akinyemi, K. O., Roesler, U., & Neubauer, H. (2020). *Retrospective study of anaplasmosis in countries of North Africa and the Middle East*. 39(3), 1053–1068.
- Pesquera, C., Portillo, A., Palomar, A. M., & Oteo, J. A. (2015). *Investigation of tick-borne bacteria (Rickettsia spp., Anaplasma spp., Ehrlichia spp. and Borrelia spp.) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador*. *Parasites and Vectors*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0662-3>
- Quiroz-Castañeda, R. E., Amaro-Estrada, I., & Rodríguez-Camarillo, S. D. (2016). *Anaplasma marginale: Diversity, Virulence, and Vaccine Landscape through a*

- Genomics Approach*. BioMed Research International, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9032085>
- Rafael, T. H. L., Carrazco, A., León, R., Vinueza, L., & Barragán, V. (2021). *Optimization of a DNA extraction protocol for hemolyzed and coagulated bovine blood for use in molecular detection of Anaplasma spp.* *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 12(2), 653–664. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V12I2.5635>
- Rahbari, S., Shayan, P., Sadeghi-dehkordi, Z., & Bahonar, A. (2017). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(5), 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.017>
- Railey, A. F., & Marsh, T. L. (2021). *Economic Benefits of Diagnostic Testing in Livestock: Anaplasmosis in Cattle*. 8(August), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626420>
- Rjeibi, M. R. (2017). *Molecular survey and genetic characterization of Anaplasma centrale, A. marginale and A. bovis in cattle from Algeria*. February, 1–9. <https://doi.org/10.1111/tbed.12725>
- Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., De León, A. A. P., Villela, H. S., De Jesús Torres-Acostaa, J. F., Sánchez, H. F., Salas, D. R., Cruz, R. R., Saldierna, F., & Carrasco, D. G. (2017). *Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review*. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61–74. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>
- Rodríguez, S. D., García Ortiz, M. Á., Jiménez Ocampo, R., & Vega y Murguía, C. A. (2009). *Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6), 1092–1101. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.09.007>
- Said, M. Ben, Belkahia, H., & Messadi, L. (2018). *Ticks and Tick-borne Diseases Anaplasma spp. in North Africa: A review on molecular epidemiology, associated risk factors and genetic characteristics*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(3), 543–555. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.01.003>
- Selim, A., Almohammed, H., Abdelhady, A., & Alouffi, A. (2021). *Molecular detection and risk factors for Anaplasma platys infection in dogs from Egypt*. *Parasites & Vectors*, 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04943-8>
- Seo, M., Ouh, I., Lee, S., Son, U., Geraldino, P. J. L., Rhee, M. H., Kwon, O., Kim, T., & Kwak, D. (2018). *Serological Detection of Antibodies against Anaplasma spp. in Cattle Reared in the Gyeongsangbuk-do, Korea*. 56(3), 287–290.
- Shahbazi, P., Nouri, S., Kolsoum, G., Jafar, M., Hosein, T., & Farhang, H. (2020). *First Survey on the Presence and Distribution of Oxytetracycline - Resistance Genes in Anaplasma Species*. *Acta Parasitologica*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00306-y>
- Silaghi, C., Matei, I. A., Santos, A. S., Walder, G., Domingos, A., Bell-sakyi, L., Sprong, H., Loewenich, F. D. Von, & Oteo, A. (2017). *Guidelines for the Direct Detection of Anaplasma spp.* 17(1). <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1960>
- Soosaraei, M., Motavalli, M., Etemadifar, F., & Fakhar, M. (2020). *Status of Anaplasma spp. infection in domestic ruminants from Iran: A systematic review with meta-analysis*. *Parasite Epidemiology and Control*, 11, e00173. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00173>
- Staji, H., Yousefi, M., Hamedani, M. A., Tamai, I. A., & Khaligh, S. G. (2021). *Genetic characterization and phylogenetic of Anaplasma capra in Persian onagers (Equus hemionus onager)*. *Veterinary Microbiology*, 261, 109199. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109199>
- Tana-Hernández, L., Navarrete-Arroyo, K., Ron-Román, J., Reyna-Bello, A., & Chávez-Larrea, M. A. (2017). *PCR-diagnosis of Anaplasma marginale in cattle populations of Ecuador and its molecular identification through sequencing of ribosomal 16S fragments*. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1311-1>

- TOMÁS HUMBERTO LANDÁZURI RAFAEL. (2020). *Optimización de un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada y coagulada para la detección molecular de Anaplasma spp.* PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR, 4(1), 1-9.
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/mdl-20203177951%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0887-9%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0884-z%0Ahttps://doi.org/10.1080/13669877.2020.1758193%0Ahttp://sersec.org/journals/index.php/IJAST/article>
- Uminski, K., Kadkhoda, K., Houston, B. L., Lopez, A., Mackenzie, L. J., Lindsay, R., Walkty, A., Embil, J., & Zarychanski, R. (2018). *IDCases Anaplasmosis: An emerging tick-borne disease of importance in Canada.* IDCases, 14, e00472.
<https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.e00472>
- Urán, J., Antonio, J., & Arias, C. (2019). *Prevalencia de Anaplasma spp . en el ámbito mundial : Revisión sistemática 1978-2018.* 10, 30-38.
<https://doi.org/10.17533/udea.hm.v10n1a04>
- Variants, A. (2019). *Crossm Generates Anaplasma marginale Antigenic Variants.* 87(2), 1-9.
- Wang, F., Yan, M., Liu, A., Chen, T., Luo, L., Li, L., Teng, Z., Li, B., Ji, Z., Jian, M., Ding, Z., Wen, S., Zhang, Y., Yue, P., Cao, W., Xu, X., Zhou, G., & Bao, F. (2020). *The seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum in global human populations : A systematic review and meta-analysis.* March, 1-15. <https://doi.org/10.1111/tbed.13548>
- Wathanadirek, A., Chawengkirttikul, R., Poolsawat, N., Junsiri, W., Boonmekam, D., Reamtong, O., & Anuracpreeda, P. (2019). *Recombinant expression and characterization of major surface protein 4 from Anaplasma marginale.* Acta Tropica, 197(May), 105047.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105047>
- Wathanadirek, A., Junsiri, W., Minsakorn, S., Poolsawat, N., Srionrod, N., Khumpim, P., Chawengkirttikul, R., & Anuracpreeda, P. (2021). *Molecular and recombinant characterization of major surface protein 5 from Anaplasma marginale.* Acta Tropica, 220(September 2020), 105933.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105933>
- Yang, J., Han, R., Liu, Z., Niu, Q., Guan, G., Liu, G., Luo, J., & Yin, H. (2017). *Insight into the genetic diversity of Anaplasma marginale in cattle from ten provinces of China.* 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2485-x>
- Yurkova, M. S., & Fedorov, A. N. (2022). *GroEL—A Versatile Chaperone for Engineering and a Plethora of Applications.* Biomolecules, 12(5).
<https://doi.org/10.3390/biom12050607>
- Zabel, T. A., & Agosto, F. B. (2018). *Transmission Dynamics of Bovine Anaplasmosis in a Cattle Herd.* Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4373981>
- Zeb, J., Shams, S., Din, I. U., Ayaz, S., Khan, A., Nasreen, N., Khan, H., Khan, M. A., & Senbill, H. (2020). *Molecular epidemiology and associated risk factors of Anaplasma marginale and Theileria annulata in cattle from North-western Pakistan.* Veterinary Parasitology, 279(January), 109044.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109044>

REFERENCIAS CITADAS:

Alkishe, A. A., Peterson, A. T., & Samy, A. M. (2017). *Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick Ixodes ricinus.* 1-14.

Amaro Estrada, I., Bustamante García, D., & Quiroz Castañeda, R. E. (2020). *Explorando el genoma de Anaplasma marginale para el mejoramiento de la salud*

animal. *Inventio*, 16(39). <https://doi.org/10.30973/inventio/2020.16.39/3>

Ashraf, S., Parveen, A., Asif, M., Alanazi, A. D., Alouffi, A., Muhammad, M., Khan, A., Aktas, M., Ozubek, S., & Iqbal, F. (2021). *Saudi Journal of Biological Sciences First report regarding molecular epidemiology and novel variant identification of Anaplasma centrale in cattle from Pakistan*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(11), 6488–6494. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.026>

Atif, F. A., Mehnaz, S., Qamar, M. F., Roheen, T., Sajid, M. S., Ehtisham-Ul-haque, S., Kashif, M., & Said, M. Ben. (2021). *Epidemiology, diagnosis, and control of canine infectious cyclic thrombocytopenia and granulocytic anaplasmosis: Emerging diseases of veterinary and public health significance*. *Veterinary Sciences*, 8(12), 1–20. <https://doi.org/10.3390/vetsci8120312>

Bahia, M., Silva, L. T. da, Silva, B. M. da, Cordeiro, M. dias, Guterres, A., Silva, C. B. da, Silva, J. B. da, & Fonseca, A. H. (2021). *Genetic diversity of Anaplasma marginale in calves with anaplasmosis on farms in Minas Gerais, Brazil*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1), 101552. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101552>

Bekloo, A. J., Ramzgouyan, M. R., Shirian, S., Faghihi, F., Bakhshi, H., Naseri, F., Sedaghat, M., & Telmadarraiy, Z. (2018). *Molecular Characterization and Phylogenetic Analysis of Anaplasma spp. and Ehrlichia spp. Isolated from Various Ticks in Southeastern and Northwestern Regions of Iran*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 18(5), 252–257. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2219>

Belkahia, H., Ben Abdallah, M., Andolsi, R., Selmi, R., Zamiti, S., Kratou, M., Mhadhbi, M., Darghouth, M. A., Messadi, L., & Ben Said, M. (2021). *Screening and Analysis of Anaplasma marginale Tunisian Isolates Reveal the Diversity of lipA Phylogeographic Marker and the Conservation of OmpA Protein Vaccine Candidate*. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(October), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.731200>

Berthelsson, J., Ramabu, S. S., Lysholm, S., Aspán, A., & Wensman, J. J. (2020). *Anaplasma ovis infection in goat flocks around Gaborone, Botswana*. 167–172.

Bisen, S., Aftab, A., Jeeva, K., Silamparasan, M., Yadav, S., Chandra, D., Sankar, M., Garg, R., & Raina, O. K. (2021). *Molecular and serological detection of Anaplasma infection in carrier cattle in north India*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24(June 2020), 100550. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100550>

Cabezas-Cruz, A., & de la Fuente, J. (2015). *Anaplasma marginale major surface protein 1a: A marker of strain diversity with implications for control of bovine anaplasmosis*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(3), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.03.007>

Calchi, A. C., Vultão, J. G., Alves, M. H., Yogui, D. R., Desbiez, A. L. J., De Santi, M., Santana, M. de S., da Silva, T. M. V., Werther, K., Teixeira, M. M. G., Machado, R. Z., & André, M. R. (2020). *Ehrlichia spp. and Anaplasma spp. in Xenarthra mammals from Brazil, with evidence of novel 'Candidatus Anaplasma spp.'* *Scientific Reports*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69263-w>

Carvajal-de la Fuente, V., Merino-Charrez, O., Tovar-Carman, E., Rodríguez-Camarillo, S. D., Lagunes-Quintanilla, R. E., Muñoz-Tenería, F. A., Contreras, M., & de la Fuente, J. (2018). *Differential expression analysis for subolesin in Rhipicephalus microplus infected with Anaplasma marginale*. *Experimental and Applied Acarology*, 76(2), 229–241. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0302-7>

Chisu, V., Zobba, R., Lecis, R., Sotgiu, F., Masala, G., Foxi, C., Pisu, D., & Alberti, A. (2018). *GroEL typing and phylogeny of Anaplasma species in ticks from domestic and wild vertebrates*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(1), 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.012>

Clarridge, J. E. (2004). *Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases*. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 840–862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>

- Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Estrada-Peña, A., Potkonjak, A., Mihalca, A. D., & Zeller, H. (2021). Tick-borne diseases and co-infection: Current considerations. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101607>
- De la Fuente, J., Lew, A., Lutz, H., Meli, M. L., Hofmann-Lehmann, R., Shkap, V., Molad, T., Mangold, A. J., Almazán, C., Naranjo, V., Gortázar, C., Torina, A., Caracappa, S., García-Pérez, A. L., Barral, M., Oporto, B., Ceci, L., Carelli, G., Blouin, E. F., & Kocan, K. M. (2005). Genetic diversity of *Anaplasma* species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Animal Health Research Reviews*, 6(1), 75–89. <https://doi.org/10.1079/ahr2005104>
- Dos Santos, P. N., de Almeida Valim, J. R., Matos, P. C. M., da Silva, J. B., & da Fonseca, A. H. (2019). Molecular characterization of the *msp1* α *AmRio1* strain of *Anaplasma marginale* in calves and experimentally infected ticks. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 16(February), 100268. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100268>
- Dumler, J. S., Lichay, M., Chen, W., Rennoll-bankert, K. E., & Park, J. (2020). Activates NF- κ B Signaling via Redundant Pathways. 8(October), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.558283>
- Eleizalde, M. C., & Reyna-Bello, A. (2014). *Mecanismos de Variación antigénica en Anaplasma marginale* Mechanisms of Antigenic Variation in *Anaplasma marginale*. 55(2).
- Estrada, I. A., García-Ortiz, M. A., Preciado de la Torre, J. F., Rojas-Ramírez, E. E., Hernández-Ortiz, R., Alpírez-Mendoza, F., & Rodríguez Camarillo, S. D. (2020). Transmission of *Anaplasma marginale* by unfed *Rhipicephalus microplus* tick larvae under experimental conditions. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11(1), 116–131. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11I1.5018>
- Futse, J. E., Buami, G., Kayang, B. B., Koku, R., Palmer, G. H., Graça, T., & Noh, S. M. (2019). Sequence and immunologic conservation of *Anaplasma marginale* *OmpA* within strains from Ghana as compared to the predominant *OmpA* variant. *PLoS ONE*, 14(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217661>
- Ganguly, A., Maharana, B. R., Ganguly, I., Kumar, A., Potliya, S., Arora, D., & Bisla, R. S. (2018). Molecular diagnosis and haemato-biochemical changes in *Anaplasma marginale* infected dairy cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*, 88(9), 989–993.
- Gioia, G. V., Vinueza, R. L., Marsot, M., Devillers, E., Cruz, M., Petit, E., Boulouis, H. J., Moutailler, S., Monroy, F., Coello, M. A., Gondard, M., Bournez, L., Haddad, N., & Zanella, G. (2018). Bovine anaplasmosis and tick-borne pathogens in cattle of the Galapagos Islands. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(5), 1262–1271. <https://doi.org/10.1111/tbed.12866>
- Graça, T., Ku, P. S., Silva, M. G., Turse, J. E., Kenitra Hammac, G., Brown, W. C., Palmer, G. H., & Brayton, K. A. (2019). Segmental variation in a duplicated *msp2* pseudogene generates *anaplasma marginale* antigenic variants. *Infection and Immunity*, 87(2). <https://doi.org/10.1128/IAI.00727-18>
- Guamán-Quinche, F. S., Sarango-Guamán, D. E., & Guerrero-Pincay, Á. E. (2020). Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 5(2), 131. <https://doi.org/10.35381/r.k.v5i2.987>
- Guarnizo, T. R. M., Alvarez, D. O., Díaz-Sánchez, A. A., Cabezas-Cruz, A., Gutiérrez, L. Z., Marrero, S. M., & Corona-González, B. (2020). Epidemiology and genetic diversity of *Anaplasma marginale* in Zamora-Chinchipec, Ecuador. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(3), 101380. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101380>
- Hakimi, H., Sarani, A., Takeda, M., Kaneko, O., & Id, M. A. (2019). *Epidemiology, risk factors, and co-infection*

of vector-borne pathogens in goats from Sistan and Baluchestan province, Iran. 1–10.

Hamilton, R., Pandora, T. R., Parsonnet, J., & Martin, W. (n.d.). *Clinical Decision Support Trees Can Help Optimize Utilization of Anaplasma phagocytophilum Nucleic Acid Amplification Testing*.

Hove, P., Madesh, S., Nair, A., Jaworski, D., Liu, H., Ferm, J., Kleinhenz, M. D., Highland, M. A., Curtis, A. K., Coetzee, J. F., Noh, S. M., Wang, Y., Genda, D., & Ganta, R. R. (2022). *Targeted mutagenesis in Anaplasma marginale to define virulence and vaccine development against bovine anaplasmosis*. PLOS Pathogens, 18(5), e1010540. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010540>

Jaarsma, R. I., Sprong, H., Takumi, K., Kazimirova, M., Silaghi, C., Mysterud, A., Rudolf, I., Beck, R., Földvári, G., Tomassone, L., Groenevelt, M., & Everts, R. R. (2019). *Anaplasma phagocytophilum evolves in geographical and biotic niches of vertebrates and ticks*. Parasites & Vectors, 1–17. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3583-8>

James, C. A., Pearl, D. L., Lindsay, L. R., Peregrine, A. S., & Jardine, C. M. (2019). *Ticks and Tick-borne Diseases Risk factors associated with the carriage of Ixodes scapularis relative to other tick species in a population of pet dogs from southeastern Ontario, Canada*. Ticks and Tick-Borne Diseases, 10(2), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.10.004>

Junsiri, W., Watthanadirek, A., Poolsawat, N., Kaewmongkol, S., Jittapalapong, S., Chawengkirttikul, R., & Anuracpreeda, P. (2020). *Molecular detection and genetic diversity of Anaplasma marginale based on the major surface protein genes in Thailand*. Acta Tropica, 205(January), 105338. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105338>

Keyte, S., Helps, C., James, K., Abdullah, S., Tasker, S., Wall, R., & Newbury, H. (2021). *Prevalence and distribution of Anaplasma phagocytophilum in ticks collected from dogs in the United Kingdom*. November 2020, 17–19. <https://doi.org/10.1002/vetr.12>

Koh, F. X., Panchadcharam, C., Sitam, F. T., & Tay, S. T. (2018). *Molecular investigation of Anaplasma spp. in domestic and wildlife animals in Peninsular Malaysia*. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 13(March), 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.05.006>

Kumar, N., Solanki, J. B., Varghese, A., Jadav, M. M., Das, B., Patel, M. D., & Patel, D. C. (2019). *Molecular Assessment of Anaplasma marginale in Bovine and Rhipicephalus (Boophilus) microplus Tick of Endemic Tribal Belt of Coastal South Gujarat, India*. Acta Parasitologica, 64(4), 700–709. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00041-z>

Kupper, M., Gupta, S. K., Feldhaar, H., & Gross, R. (2014). *Versatile roles of the chaperonin GroEL in microorganism-insect interactions*. FEMS Microbiology Letters, 353(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12390>

Lacasta, D., Lorenzo, M., Arcaute, M. R. De, Benito, A. Á., Baselga, C., Lorenzo, N., Jim, C., Villanueva-saz, S., & Ferrer, L. M. (2021). *Epidemiological Study Related to the First Outbreak of Ovine Anaplasmosis in Spain*. 1–11.

Lara, B., Conan, A., Thrall, M. A., Ketzis, J. K., & Branford, G. C. (2020). *Serologic and Molecular Diagnosis of Anaplasma platys and Ehrlichia canis Infection in Dogs in an Endemic Region*.

Lima, D. H. S., Vinhote, W. M. S., Ubiali, D. G., Soares, P. C., Cordeiro, M. D., Silva, J. B., Fonseca, A. H., & Barbosa, J. D. (2019). *Experimental infection by Anaplasma marginale in buffaloes and cattle: Clinical, hematological, molecular and pathological aspects*. Pesquisa Veterinaria Brasileira, 39(9), 700–709. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6273>

Liu, Z., Peasley, A. M., Yang, J., Li, Y., Guan, G., Luo, J., Yin, H., & Brayton, K. A. (2019). *The Anaplasma ovis genome reveals a high proportion of pseudogenes*. 1–14.

- Llanes, A., & Rajeev, S. (2020). *First whole genome sequence of Anaplasma platys, an obligate intracellular rickettsial pathogen of dogs*. *Pathogens*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/pathogens9040277>
- Luns, D. A. R., Martins, R., Pombal, S., Rodilla, J. M. L., Githaka, N. W., Vaz, I. da S., & Logullo, C. (2021). *Effect of essential oils against acaricide-susceptible and acaricide-resistant Rhipicephalus ticks*. *Experimental and Applied Acarology*, 83(4), 597–608. <https://doi.org/10.1007/s10493-021-00601-x>
- Ma, X., Mandausch, F. J., Sahoo, V., Popovic, L., Hostiuc, M., Wintgens, J. P., Qiu, J., Kannaiyan, N., Rossner, M. J., Wehr, M. C., Ndikubwimana, B., & Ngendahimana, F. (2021). *Preprint not peer review Preprint n er ed*. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (JETIR)*, 24(9), 5–7.
- Martins, K. R., Garcia, M. V., Bonatte-Junior, P., Duarte, P. O., de Higa, L. O. S., Csordas, B. G., Barros, J. C., & Andreotti, R. (2020). *Correlation between Rhipicephalus microplus ticks and Anaplasma marginale infection in various cattle breeds in Brazil*. *Experimental and Applied Acarology*, 81(4), 585–598. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00514-1>
- Matei, I. A., Estrada-Peña, A., Cutler, S. J., Vayssier-Taussat, M., Varela-Castro, L., Potkonjak, A., Zeller, H., & Mihalca, A. D. (2019). *A review on the eco-epidemiology and clinical management of human granulocytic anaplasmosis and its agent in Europe*. *Parasites and Vectors*, 12(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3852-6>
- Maya-Delgado, A., Madder, M., Benítez-Ortíz, W., Saegerman, C., Berkvens, D., & Ron-Garrido, L. (2020). *Molecular screening of cattle ticks, tick-borne pathogens and amitraz resistance in ticks of Santo Domingo de los Tsáchilas province in Ecuador*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(5). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101492>
- Meeus, P. F. M., Brayton, K. A., Palmer, G. H., & Barbet, A. F. (2003). *Conservation of a gene conversion mechanism in two distantly related paralogues of Anaplasma marginale*. *Molecular Microbiology*, 47(3), 633–643. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03331.x>
- Mitchell, J. (2014). *Genome Jigsaw: Implications of 16S ribosomal RNA gene fragment position for bacterial species identification*. 65. <http://scholars.wlu.ca/etd/1672/>
- Naranjo, M., Lisette, V., Bello, R., María, A., Román, R., Washington, J., Carlos, J., Carolina, E., Morejón, S., Dayan, E., Larrea, C., La, G. D. E., Pastaza, P. D. E., Medina-naranjo, V. L., Reyna-bello, A., Tavares-marques, L. M., Campos, M., Ron-román, J. W., Moyano, J. C., ... María, S. (2017). *LAS TECNICAS DE ELISAI by elisai and pcr techniques in three livestock farms of Pastaza Province , Ecuador*.
- Narváez, J. J. M. (2020). *Determinación Del Estado Epidemiológico De Piroplasmosis Y Anaplasmosis Bovina En El Canton El Pangui, Provincia De Zamora ´ Chinchipe*. *Universidad Nacional De Loja*, 1, 56. [https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23463/1/Jenny Margarita Narváez Jima.pdf](https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23463/1/Jenny%20Margarita%20Narv%C3%A1ez%20Jima.pdf)
- Nguyen, A. H. L., Tiawsirisup, S., & Kaewthamasorn, M. (2020). *Molecular detection and genetic characterization of Anaplasma marginale and Anaplasma platys-like (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in water buffalo from eight provinces of Thailand*. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02585-z>
- Noor, S., Ain, U., Khan, A., Niaz, S., Aktas, M., Ozubek, S., Iqbal, F., Alhimaiddi, A. R., Farooq, M., Moeen, M., & Zaja, Z. (2022). *Saudi Journal of Biological Sciences Prevalence of Anaplasma marginale in cattle blood samples collected from two important livestock regions in Punjab (Pakistan) with a note on epidemiology and phylogeny of parasite*. 29, 1515–1520. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.020>
- Nyoni-phili, S. L. (2017). *Occurrence and genetic diversity of Anaplasma marginale in cattle from two diptanks in Zambezia* By. April. [file:///C:/Users/PC/Downloads/anaplasma marginale in cattle from two diptanks in Zambezia.pdf](file:///C:/Users/PC/Downloads/anaplasma%20marginale%20in%20cattle%20from%20two%20diptanks%20in%20Zambezia.pdf)

- Obaidat, M. M., & Salman, A. E. B. (2019). *Anaplasma spp. in dairy ruminants in Jordan: high individual and herd-level seroprevalence and association with abortions*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31(3), 481–484. <https://doi.org/10.1177/1040638719843171>
- Paramanandham, K., Mohankumar, A., Puttahonnappa Suresh, K., Susan Jacob, S., & Roy, P. (2019). *Prevalence of Anaplasma species in India and the World in dairy animals: A systematic review and meta-analysis*. *Research in Veterinary Science*, 123(March 2018), 159–170. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.01.013>
- Park, J., Han, D. G., Ryu, J. H., Chae, J. B., Chae, J. S., & Yu, D. H. (2018). *Molecular detection of Anaplasma bovis in Holstein cattle in the Republic of Korea*. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0370-z>
- Parvizi, O., Akinyemi, K. O., Roesler, U., & Neubauer, H. (2020). *Retrospective study of anaplasmosis in countries of North Africa and the Middle East*. 39(3), 1053–1068.
- Pesquera, C., Portillo, A., Palomar, A. M., & Oteo, J. A. (2015). *Investigation of tick-borne bacteria (Rickettsia spp., Anaplasma spp., Ehrlichia spp. and Borrelia spp.) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador*. *Parasites and Vectors*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0662-3>
- Quiroz-Castañeda, R. E., Amaro-Estrada, I., & Rodríguez-Camarillo, S. D. (2016). *Anaplasma marginale: Diversity, Virulence, and Vaccine Landscape through a Genomics Approach*. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9032085>
- Rafael, T. H. L., Carrasco, A., León, R., Vinueza, L., & Barragán, V. (2021). *Optimization of a DNA extraction protocol for hemolyzed and coagulated bovine blood for use in molecular detection of Anaplasma spp.* *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 12(2), 653–664. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V12I2.5635>
- Rahbari, S., Shayan, P., Sadeghi-dehkordi, Z., & Bahonar, A. (2017). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(5), 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.017>
- Railey, A. F., & Marsh, T. L. (2021). *Economic Benefits of Diagnostic Testing in Livestock: Anaplasmosis in Cattle*. 8(August), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626420>
- Rjeibi, M. R. (2017). *Molecular survey and genetic characterization of Anaplasma centrale, A. marginale and A. bovis in cattle from Algeria*. February, 1–9. <https://doi.org/10.1111/tbed.12725>
- Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., De León, A. A. P., Villela, H. S., De Jesús Torres-Acostaa, J. F., Sánchez, H. F., Salas, D. R., Cruz, R. R., Saldierna, F., & Carrasco, D. G. (2017). *Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review*. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61–74. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>
- Rodríguez, S. D., García Ortiz, M. Á., Jiménez Ocampo, R., & Vega y Murguía, C. A. (2009). *Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6), 1092–1101. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.09.007>
- Said, M. Ben, Belkahia, H., & Messadi, L. (2018). *Ticks and Tick-borne Diseases Anaplasma spp. in North Africa: A review on molecular epidemiology, associated risk factors and genetic characteristics*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(3), 543–555. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.01.003>
- Selim, A., Almohammed, H., Abdelhady, A., & Alouffi, A. (2021). *Molecular detection and risk factors for Anaplasma platys infection in dogs from Egypt*. *Parasites & Vectors*, 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04943-8>
- Seo, M., Ouh, I., Lee, S., Son, U., Geraldino, P. J. L., Rhee, M. H., Kwon, O., Kim, T., & Kwak, D. (2018). *Serological Detection of Antibodies against Anaplasma spp.*

- in Cattle Reared in the Gyeongsangbuk-do , Korea. 56(3), 287–290.
- Shahbazi, P., Nouri, S., Kolsoum, G., Jafar, M., Hosein, T., & Farhang, H. (2020). *First Survey on the Presence and Distribution of Oxytetracycline - Resistance Genes in Anaplasma Species*. *Acta Parasitologica*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00306-y>
- Silaghi, C., Matei, I. A., Santos, A. S., Walder, G., Domingos, A., Bell-sakyi, L., Sprong, H., Loewenich, F. D. Von, & Oteo, A. (2017). *Guidelines for the Direct Detection of Anaplasma spp* . 17(1). <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1960>
- Soosaraei, M., Motavalli, M., Etemadifar, F., & Fakhar, M. (2020). *Status of Anaplasma spp . infection in domestic ruminants from Iran: A systematic review with meta-analysis*. *Parasite Epidemiology and Control*, 11, e00173. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00173>
- Staji, H., Yousefi, M., Hamedani, M. A., Tamai, I. A., & Khaligh, S. G. (2021). *Genetic characterization and phylogenetic of Anaplasma capra in Persian onagers (Equus hemionus onager)*. *Veterinary Microbiology*, 261, 109199. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109199>
- Tana-Hernández, L., Navarrete-Arroyo, K., Ron-Román, J., Reyna-Bello, A., & Chávez-Larrea, M. A. (2017). *PCR-diagnosis of Anaplasma marginale in cattle populations of Ecuador and its molecular identification through sequencing of ribosomal 16S fragments*. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1311-1>
- TOMÁS HUMBERTO LANDÁZURI RAFAEL. (2020). *Optimización de un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada y coagulada para la detección molecular de Anaplasma spp*. *PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR*, 4(1), 1–9. [z%0Ahttps://doi.org/10.1080/13669877.2020.1758193%0Ahttp://sersec.org/journals/index.php/IJAST/article](https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/mdl-20203177951%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0887-9%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0884-z%0Ahttps://doi.org/10.1080/13669877.2020.1758193%0Ahttp://sersec.org/journals/index.php/IJAST/article)
- Uminski, K., Kadkhoda, K., Houston, B. L., Lopez, A., Mackenzie, L. J., Lindsay, R., Walkty, A., Embil, J., & Zarychanski, R. (2018). *IDCases Anaplasmosis: An emerging tick-borne disease of importance in Canada*. *IDCases*, 14, e00472. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.e00472>
- Urán, J., Antonio, J., & Arias, C. (2019). *Prevalencia de Anaplasma spp . en el ámbito mundial : Revisión sistemática 1978-2018*. 10, 30–38. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.v10n1a04>
- Variants, A. (2019). *Crossm Generates Anaplasma marginale Antigenic Variants*. 87(2), 1–9.
- Wang, F., Yan, M., Liu, A., Chen, T., Luo, L., Li, L., Teng, Z., Li, B., Ji, Z., Jian, M., Ding, Z., Wen, S., Zhang, Y., Yue, P., Cao, W., Xu, X., Zhou, G., & Bao, F. (2020). *The seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum in global human populations : A systematic review and meta-analysis*. *March*, 1–15. <https://doi.org/10.1111/tbed.13548>
- Wathanadirek, A., Chawengkirttikul, R., Poolsawat, N., Junsiri, W., Boonmekam, D., Reamtong, O., & Anuracpreeda, P. (2019). *Recombinant expression and characterization of major surface protein 4 from Anaplasma marginale*. *Acta Tropica*, 197(May), 105047. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105047>
- Wathanadirek, A., Junsiri, W., Minsakorn, S., Poolsawat, N., Srionrod, N., Khumpim, P., Chawengkirttikul, R., & Anuracpreeda, P. (2021). *Molecular and recombinant characterization of major surface protein 5 from Anaplasma marginale*. *Acta Tropica*, 220(September 2020), 105933. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105933>
- Yang, J., Han, R., Liu, Z., Niu, Q., Guan, G., Liu, G., Luo, J., & Yin, H. (2017). *Insight into the genetic diversity of Anaplasma marginale in cattle from ten provinces of China*. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2485-x>
- Yurkova, M. S., & Fedorov, A. N. (2022). *GroEL—A Versatile Chaperone for Engineering and a Plethora of*

Applications. Biomolecules, 12(5).
<https://doi.org/10.3390/biom12050607>

Zabel, T. A., & Agosto, F. B. (2018). *Transmission Dynamics of Bovine Anaplasmosis in a Cattle Herd*. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4373981>

Zeb, J., Shams, S., Din, I. U., Ayaz, S., Khan, A., Nasreen, N., Khan, H., Khan, M. A., & Senbill, H. (2020). *Molecular epidemiology and associated risk factors of Anaplasma marginale and Theileria annulata in cattle from North-western Pakistan*. *Veterinary Parasitology*, 279(January), 109044. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109044>