



Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

Instituto de Ciencias Biomédicas

Departamento de Ciencias Veterinarias

Maestría en Ciencia Animal

“DETECCIÓN DE ECTOPARÁSITOS Y PATÓGENOS RICKETTSIALES EN *CANIS LATRANS* EN EL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA”

Tesis para obtener el grado de

Maestro en Ciencia Animal

Cesar Francisco Hernández Urbina

“Becado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología”

Bajo la Dirección de la

Ph.D. Cuauhcihuatl Vital García

Cd. Juárez, Chihuahua, México. Mayo de 2019

APROBACIÓN DE LA TESIS

Detección de ectoparásitos y patógenos rickettsiales en *Canis latrans* en el Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, Chihuahua, reporte de investigación preparado por Cesar Francisco Hernández Urbina como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIA ANIMAL

ha sido aprobado y aceptado por:

Ph.D. Cuauhcihuatl Vital García

DIRECTORA DE TESIS

Ph.D. Fernando Clemente Sánchez

ASESOR

Dra. Angélica María Escárcega Ávila

ASESOR

Ph.D. Ana Bertha Gatica Colima

ASESOR

Dra. Martha Patricia Olivas Sánchez

ASESOR

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

DETECCIÓN DE ECTOPARÁSITOS Y PATÓGENOS RICKETTSIALES EN *CANIS LATRANS* EN EL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA

Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.

Dr. José María Carrera Chávez

COORDINADOR DE MAESTRIA EN CIENCIA ANIMAL

Dr. Ramón Rivera Barreno

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS VETERINARIAS

C.D. Salvador Nava Martínez

DIRECTOR DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a la fauna silvestre en general, ya que todos los avances que ha logrado el hombre tanto científico como tecnológicos, han sido basados o desarrollados a partir de los animales en vida libre.

Los animales nacen como son, lo aceptan y eso es todo. Viven con mayor paz que las personas

(Gregory Maguire)

Si todos los animales se fuesen, el hombre moriría de una gran soledad espiritual, ya que cualquier cosa que ocurre a los animales, también ocurre al hombre. Todo está conectado

(Anónimo)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres Ignacio Hernández Flores y Rita Urbina Gandarilla, por haberme inculcado siempre la cultura del estudio y la superación personal, por siempre brindarme su amor y su apoyo, así como nunca abandonarme en los tiempos difíciles.

A mi padrastro Víctor Manuel Loya Chávez, por apoyarme y siempre recordarme cuáles valores son los más importantes en la vida, por tratarme como un hijo más y ayudarme de manera incondicional en las diferentes situaciones difíciles que tuve que enfrentar en los últimos años.

A mi hermano Iván Alejandro Hernández Urbina por aconsejarme, escucharme y ayudarme cuando más lo necesite.

A mi hermano menor Esteban Ignacio Hernández Meras, por tenerme siempre presente a pesar de vivir lejos y seguirme en mis ideas a lo largo de su vida.

A mi cuñada Erika Hinojosa por siempre tomarme en cuenta y ayudarme cuando tuve problemas.

A mis mejores amigos Jorge Daniel Rivera Sida y Ricardo Griego Vargas, por siempre estar conmigo en las buenas y en las malas, por darme consejos sobre la vida y como sobrellevar mis problemas tanto académicos como personales.

A otros grandes amigos Danha Vega Bojórquez, Sergio Fierro, Elisa Valdez, Leilani Gamboa y Víctor Flores por su compañía y ánimos, haciendo así mucho más amena mi estadía en el postgrado.

Agradezco al coordinador del programa, el doctor Mateo Itzá Ortiz por permitirme ingresar a esta maestría aun cuando por ares del destino o problemas personales tuve retrasos en la entrega de documentos y tramites, sin contar su amabilidad y atención a lo largo de dicho postgrado.

A la Dra. Cuauhcihuatl Vital García, por permitirme nuevamente trabajar a su lado como mi asesora, apoyarme y aconsejarme a lo largo del postgrado.

Al Dr. Fernando Clemente Sánchez, por recibirme en mi estancia de investigación en el colegio de postgraduados en San Luis Potosí y enseñarme los principios básicos para llevar a cabo mi experimento y darnos consejos sobre nuestro proyecto.

A la Dra. Angélica Escárcega, por su ayuda en mi experimento de una manera muy atenta y amable.

Al Dr. Andrés Quezada Casasola, por ser un gran maestro, por su amabilidad y por siempre estar atento a las dificultades de sus estudiantes ya sea en sus respectivos proyectos como también en el salón de clases.

A la Dra. Ana Gatica Colima, con quien siempre estaré agradecido infinitamente por apoyarme en mi tesis de licenciatura a pesar de no tener obligación alguna y seguir dándome consejos durante el postgrado.

A la Dra. Martha Patricia Olivas, por ser una excelente persona y siempre ser amable y maternal con sus estudiantes.

Al Ing. Fernando Rodríguez por proporcionarme parte del equipo utilizado para el proyecto sin condición alguna.

Al coordinador de la secretaria de salud de ciudad Juárez Juan José Martínez por brindarme la idea de realizar este estudio enfocándolo a enfermedades rickettsiales.

Al Dr. Jesús Manuel Martínez Calderas por sus consejos para mejorar el proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgarme el apoyo financiero que me permitió continuar mis estudios.

RESUMEN

DETECCIÓN DE ECTOPARÁSITOS Y PATÓGENOS RICKETTSIALES EN *CANIS LATRANS* EN EL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA

Elaborado por: Cesar Francisco Hernández Urbina

Palabras clave: Coyote, Ectoparásitos, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Rickettsia*.

La fragmentación de los ecosistemas, la introducción de especies invasoras y el cambio climático han facilitado en los últimos años la migración de múltiples patógenos como virus, bacterias y parásitos de los cuales sobresalen los transmitidos por artrópodos vectores como las rickettsias, dichos patógenos pueden provocar estragos en las poblaciones silvestres siendo así nocivos para la salud de un ecosistema. El presente estudio pretendió realizar un reporte sobre detección de patógenos rickettsiales y que tipos de parásitos con potencial vector pudieran encontrarse en una especie bioacumuladora como el coyote (*Canis latrans*) en un área natural protegida como lo es el Área de Protección Flora y Fauna Médanos de Samalayuca. Se capturaron un total de 21 coyotes con trampas tipo cebo modelo Víctor No. 3, para la realización del muestreo se anestesiaron con una combinación de ketamina y xilacina por vía intramuscular, posteriormente se les extrajo una muestra de sangre en tubos de EDTA y se realizó una exploración física para la colecta de pulgas las cuales fueron fijadas en alcohol al 70%, dichas muestras fueron enviadas al laboratorio donde fueron congeladas y almacenadas antes de ser procesadas mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), así como los especímenes colectados a la espera de ser identificados taxonómicamente. Las pulgas fueron identificadas mediante claves taxonómicas como la especie *Pulex irritans* y de los resultados del PCR se obtuvo que de los 21 coyotes, 19 (90.47%) resultaron positivos a *Rickettsia* spp, 19 (90.47%) a *Rickettsia rickettsii*, 2 (9.52%) a *Ehrlichia canis* y 1 (4.7%) a *Anaplasma phagocytophilum*. La ausencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* u otras especies de garrapata transmisoras de *E. canis* y *A.*

phagocytophilum en los coyotes muestreados, justifica el bajo índice de positivos a estos. La alta presencia de pulgas en los coyotes y al alto índice de presencia de positivos a *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, pudiera indicar que la pulga *P. irritans* puede estar desempeñando un importante y posible rol en la transmisión de agentes rickettsiales en la población de coyotes en el APFF Médanos de Samalayuca. Chihuahua.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	XI
GLOSARIO	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 TAXONOMÍA Y DESCRIPCIÓN FÍSICA DEL COYOTE	3
2.1 ECOLOGÍA E IMPORTANCIA DEL COYOTE EN EL HÁBITAT NATURAL	4
2.2 HÁBITAT, DISTRIBUCIÓN Y DENSIDAD DEL COYOTE	4
2.3 DIETA DEL COYOTE.....	5
2.4 TEMPORADA DE APAREAMIENTO DEL COYOTE	5
2.5 GESTACIÓN Y PRODUCTIVIDAD DEL COYOTE	6
2.6 ESPACIOS Y ÁMBITO HOGAREÑO DEL COYOTE	6
2.7 MANEJO DEL COYOTE EN MÉXICO	7
2.8 IMPORTANCIA DEL COYOTE EN LA SALUD PÚBLICA	7
2.9 IMPORTANCIA DE LAS ESPECIES CENTINELAS EN EL ECOSISTEMA Y SU IMPACTO EN LA MEDICINA DE LA CONSERVACIÓN.....	8
2.10 EL COYOTE COMO CENTINELA DEL ECOSISTEMA.....	9
2.11 ECTOPARÁSITOS COMO INDICADOR BIOLÓGICO	9
2.12 TIPOS DE VECTORES	10
2.13 CLASES DE ARTRÓPODO VECTORES.....	10
2.14 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES.....	11
2.15 TIPOS DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES.....	11
2.16 GENERALIDADES DE PULGAS	13
2.17.1 <i>Taxonomía general de las pulgas</i>	13
2.17.2 <i>Especies de pulgas descritas en México</i>	14
2.17.3 <i>Especies de pulgas en la población de coyote en América</i>	16
2.17.4 <i>Ciclo biológico de las pulgas</i>	16
2.17.5 <i>Alimentación y patogénesis de las pulgas</i>	17
2.17.6 <i>Epidemiología y hábitat de las pulgas</i>	17
2.17.7 <i>Signos clínicos y diagnóstico de infestación por pulgas</i>	18
2.17 GENERALIDADES DE BACTERIAS RICKETTSIALES	18
2.17.1 <i>Nomenclatura de los rickettsiales según su patología</i>	19
2.17.2 <i>Patogénesis general de Rickettsia spp, en la célula blanca</i>	19
2.17.3 <i>Patogénesis general de Rickettsia spp, en la célula endotelial</i>	19
2.17.4 <i>Signos clínicos de enfermedades rickettsiales en cánidos domésticos y silvestres</i>	20
2.17.5 <i>Signos clínicos de enfermedades rickettsiales en humanos</i>	20
2.17.6 <i>Coinfecciones de los rickettsiales</i>	21
2.17.7 <i>Importancia de las enfermedades rickettsiales en la salud pública y salud ambiental</i>	21
2.17.8 <i>Enfermedades rickettsiales reportadas en el coyote y otros caninos silvestres</i>	22
2.18 GENERALIDADES DE ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM	23
2.18.1 <i>Distribución geográfica de Anaplasma phagocytophilum</i>	24
2.18.2 <i>Epidemiología de Anaplasma phagocytophilum</i>	25
2.18.3 <i>Ciclo de vida y transmisión de Anaplasma phagocytophilum</i>	25
2.18.4 <i>Fisiopatología y signos clínicos de Anaplasma phagocytophilum</i>	26
2.19 GENERALIDADES DE EHRLICHIA CANIS	27
2.19.1 <i>Distribución geográfica de Ehrlichia canis</i>	27
2.19.2 <i>Epidemiología de Ehrlichia canis</i>	27

2.19.3 Ciclo Biológico y fisiopatología de <i>Ehrlichia canis</i>	28
2.19.4 Signos clínicos de <i>Ehrlichia canis</i>	28
2.20 GENERALIDADES DE <i>RICKETTSIA SPP</i>	29
2.20.1 Distribución geográfica de <i>Rickettsia spp</i>	29
2.20.2 Epidemiología de <i>Rickettsia spp</i>	29
2.20.3 Ciclo de vida y transmisión de <i>Rickettsia spp</i>	30
2.20.4 Fisiopatología y signos clínicos de <i>Rickettsia spp</i>	30
2.21 GENERALIDADES DE <i>RICKETTSIA RICKETTSII</i>	31
2.21.1 Distribución geográfica de <i>Rickettsia rickettsii</i>	31
2.21.2 Epidemiología de <i>Rickettsia rickettsii</i>	32
2.21.3 Ciclo de vida y transmisión de <i>Rickettsia rickettsii</i>	33
2.21.4 Fisiopatología y signos clínicos de <i>Rickettsia rickettsii</i>	33
2.22 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE PATÓGENOS RICKETTSIALES	34
2.23 TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR RICKETTSIALES.....	34
3. HIPÓTESIS	36
4. OBJETIVO GENERAL.....	36
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
5.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	37
5.2 TRABAJO DE CAMPO	40
5.10 TRABAJO DE LABORATORIO.....	43
5.10.1 Identificación de ectoparásitos.....	43
5.10.2 Extracción de ADN de muestras sanguíneas	44
5.10.3 Cuantificación de ADN obtenido.....	44
5.10.4 Reacción en cadena de la polimerasa.....	45
5.10.5 Análisis electroforético	45
5.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
6.1 RESULTADOS DE CAPTURA Y MUESTREO DE COYOTES.....	47
6.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN DE PULGAS Y AUSENCIA DE OTROS ECTOPARÁSITOS	47
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA DETECCIÓN DE ADN DE <i>ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM</i> Y <i>EHRLICHIA CANIS</i> EN LA SANGRE DE COYOTE MEDIANTE LA PRUEBA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	50
6.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA DETECCIÓN DE ADN DE <i>RICKETTSIA SPP</i> Y <i>RICKETTSIA RICKETTSII</i> EN LA SANGRE DE COYOTE MEDIANTE LA PRUEBA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	52
7. CONCLUSION	56
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXO 1	65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales clases de artrópodos vectores	11
Cuadro 2. Enfermedades parasitarias transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y animal.....	12
Cuadro 3. Enfermedades virales transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y salud animal	12
Cuadro 4. Enfermedades bacterianas transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y salud animal	13
Cuadro 5. Especies de pulgas descritas Mexico	14
Cuadro 6. Especies de pulgas descritas en Mexico (continuacion del cuadro 5)	15
Cuadro 7. Especies de pulgas en la poblacion de coyote descritas en Texas	16
Cuadro 8. Enfermedades rickettsiales y ectoparasitos reportados en coyote y otros caninos silvestres	23
Cuadro 9. Tecnicas de diagnostico mayormente empleadas según el tipo de patogeno.....	34
Cuadro 10. Tratamientos comunmente empleados durante las enfermedades causadas por rickettsiales	35
Cuadro 11. Oligonucleotidos usados para la Reaccion en Cadena de la Polimerasa (PCR)	45
Cuadro 12. Resultados totales de capturas, muestreo y procesamiento de muestras de los coyotes	55
Cuadro 13. Resultados del analisis estadistico mediante Prueba Exacta de Fisher.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Coyote hembra capturado en el área de Protección Flora y Fauna Médanos de Samalayuca.....	3
Figura 2. Distribución del coyote en el continente americano.	5
Figura 3. Distribución de <i>Anaplasma phagocytophilum</i> en los Estados Unidos.....	24
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	26
Figura 5. Distribución geográfica de <i>Ehrlichia canis</i> en Estados Unidos.	27
Figura 6. Ciclo biológico de <i>Rickettsia</i> spp.	30
Figura 7. Distribución de <i>Rickettsia rickettsi</i> en el continente americano. El color morado muestra las regiones donde está registrada su presencia	32
Figura 8. Área de protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, la cual se encuentra en la Carretera Federal 45, situado a 45 km al sur de Ciudad Juárez, Chihuahua.	40
Figura 9. Referencias usadas para el establecimiento de puntos por actividad del coyote (a) huellas de coyote, (b) excretas de coyote.	40
Figura 10. Trampa cepo modelo Victor No. 3.	41
Figura 11. Inyeccion anestésica del coyote.....	42
Figura 12. Toma de muestra sanguínea en el coyote.....	43
Figura 13. a) pulga vista en cuerpo completo, b) porción cefálica de la pulga con aumento donde se aprecia la ausencia de ctenidios y se aprecia la forma de la cabeza.....	49

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANP	Área Natural Protegida
APFF	Área de Protección Flora y Fauna
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CONANP	Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
gr	Gramo
Ha	Hectárea
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
FMRR	Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas
IFA	Inmunofluorescencia
IHC	Inmunohistoquímica
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
ml	Mililitro
Mts	Metros
μl	Microlitro
Nm	Nanometro
ng	Nanogramo
Kg	Kilogramo
Km	Kilómetro
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
UACJ	Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

GLOSARIO

Abundancia	Gran cantidad o prosperidad de una especie
Agostadero	Terreno donde se lleva a pastar el ganado en temporada de secas
Artrópodo	Invertebrados dotados de esqueleto externo
Anemia	Falta de glóbulos rojos
Amplificación	Aumento de tamaño
Bioacumulador	Organismo vivo dotado de la capacidad de absorber del ambiente determinadas sustancias y almacenarlas en el interior de sus propios tejidos sin eliminarlas mediante procesos metabólicos
Biodiversidad	Diversidad de especies
Bolsón	Depresión endorreica propia de las zonas montañosas de las regiones áridas
Cánido	Familia de mamíferos del orden Carnívora, de régimen carnívoro
Carnívoro	Que se alimenta de carne
Cefálico	Porción delantera del cuerpo
Célula diana	Célula que es objetivo específico de algo
Centinela	Vigía del ecosistema y su entorno
Centrifuga	Rotación rápida de una muestra para acelerar la sedimentación o decantación de su contenido
Ciclo biológico	Periodo de vida de alguna especie que contiene o no fases de metamorfosis
Cinegético	Que tiene un valor para el hombre
Citoquinas	Proteínas que regulan la función de las células
Ctenidios	Estructuras cefálicas de la pulga usadas para fijarse al huésped
Coinfección	Infección mixta de dos o más patógenos en un solo huésped

Conservación	Mantener intacto un hábitat o población silvestre
Controversial	Que provoca discusión a favor y en contra
Cosmopolitan	Que se encuentra en todo el mundo
Cuantificación	Acto de contar y medir
Ectoparásito	Parasito que vive en el exterior de otro organismo
Ecología	Parte de la biología que estudia las relaciones de los seres vivos entre sí y con el medio en el que viven
Excreta	Sustancia expulsada que no sirve ni se usa en el organismo
Densidad	Cantidad de población en un determinado lugar
Depredación	Alimentarse o consumir a una especie menor
Detritus	Partículas descompuestas
Dunas	Acumulación de arena en el desierto o litoral
Epidemiología	Parte de la medicina que estudia el desarrollo epidémico y la incidencia de las enfermedades infecciosas en la población
Etiología	El origen o las causas de las enfermedades
Exocitosis	Proceso en el cual una célula dirige el contenido de vesículas secretoras de la membrana celular en el espacio extracelular
Electroforesis	Técnica para la separación de moléculas en un campo eléctrico.
Emaciación	Condición corporal muy pobre o baja
Epistaxis	Sangrado nasal persistente
Fagosoma	Es una vacuola formada alrededor de una partícula asimilada por fagocitosis

Fisiopatología	Funcionamiento de un organismo o de un tejido durante el curso de una enfermedad
Garrapata dura	Especie de garrapata con exoesqueleto queratinizado
Garrapata blanda	Especie de garrapata con exoesqueleto no queratinizado
Granulocito	Célula blanca o glóbulo blanco de defensa que contiene gránulos de proteínas en su citoplasma
Hospedero	Especie capaz de albergar a otros organismos en su superficie o interior
Hipersensibilidad	Reacción inmunitaria exacerbada que produce un cuadro patológico causando trastornos e incomodidad
Inerme	Desprovisto de medios para defenderse
Juvenil	Individuo al cual no se han desarrollado aun los órganos sexuales
Lagomorfo	Grupo de mamíferos placentados formado por conejos, liebres y picas
Leucocito	Célula sanguínea o glóbulo blanco que se produce en la médula ósea y que se encuentra en la sangre y los tejidos linfáticos
Linfa	Líquido que procede de la sangre y se vuelca en las venas, y cuya función es la de servir de intermediario en los cambios nutritivos entre la sangre y los tejidos
Manejo	Acción de manipular el hábitat o una especie en físico
Mamífero	Grupo de vertebrados que poseen glándulas mamarias con las que alimentan a las crías
Médano	Montículo de arena formado por el viento en la playa y en los desiertos.
Microparásito	Parasito microscópico

Monocito	Glóbulo blanco grande y de núcleo único, con una cromatina fina y un citoplasma abundante
Mortalidad	Proporción de muertes en un periodo establecido de tiempo
Natalidad	Proporción de nacimientos en un periodo de tiempo
Nomenclatura	Conjunto de términos o palabras propias utilizadas en una ciencia, técnica, o especialidad, o por un autor
Oligonucleotido	Secuencia corta de ADN o ARN, con cincuenta pares de bases o menos
Pancitopenia	Disminución de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas en sangre
Parvifolio	Orden de plantas de tallo carnoso y hojas pequeñas
Patogénesis	Origen y evolución de una enfermedad y todos los factores involucrados en dicho origen
Patogenicidad	Capacidad de producir enfermedad de un patógeno
Patógeno	Agente que puede producir daño o enfermedad a un organismo
Polidipsia	Consumo excesivo de agua
Polimerasa	Enzima encargada de replicar el ADN
Pleomorfo	Que presenta diferentes formas
Precipitación	Cualquier forma de hidrometeoro que cae de la atmósfera y llega a la superficie terrestre
Prostaglandinas	Conjunto de sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos y tienen función de mediador celular
Prurito	Necesidad y deseo excesivo de rascarse
Reservorio	Organismo que aloja virus, bacterias u otros microorganismos y facilita su propagación

Reptil	Vertebrado que se desplaza reptando por el suelo
Rickettsial	Orden de bacterias de vida intracelular obligada
Roedor	Orden de mamíferos placentados que es conformado por ratas, ratones, ardillas y musarañas
Salud ambiental	Es la disciplina encargada de la protección de todos los factores físicos, químicos y biológicos de un ecosistema
Salud publica	Es la disciplina encargada de la protección de la salud a nivel poblacional
Taxón	Grupo de organismos genéticamente emparentados
Vasculitis	Inflamación de los vasos sanguíneos
Vector	Mecanismo transmisor de un patógeno a un organismo huésped
Vocalización	Sonidos emitidos por la cavidad faríngea
Vortex	Proceso de agitación rápida usado generalmente en laboratorio
Zoonosis	Proceso en el cual una enfermedad puede ir de un animal al hombre o viceversa

1. INTRODUCCIÓN

La fauna silvestre esta descrita por ser portadora de múltiples especies de parásitos y patógenos, y dentro de las especies silvestres, los mamíferos carnívoros suelen sobre salir ya que su naturaleza depredadora los expone a diversas especies de patógenos, virus y bacterias (Brzeski *et al.*, 2015), dentro de esta categoría de mamíferos depredadores entran los cánidos silvestres como el coyote, que debido a su naturaleza social y adaptable a diversos cambios en su ecosistema los hace aún más vulnerables a la acumulación de dichos patógenos, a este tipo de especies se les conoce como bioacumuladores o centinelas del ecosistema. Los patógenos presentes en la fauna silvestre, suelen ser parte de la biodiversidad nativa, sin embrago, estos pueden llegar a representar problemas en la conservación de especies cuando se pierde el equilibrio ecológico (Aguirre, 2009), por ejemplo, en los últimos años, han surgido diversos factores como el cambio climático, la urbanización, la introducción de especies exóticas y fauna doméstica y en si la fragmentación ecosistemica, que no solamente son factores de estrés para las poblaciones silvestres locales, si no también han facilitado la migración de ectoparásitos como mosquitos, pulgas, piojos y garrapatas los cuales suelen ser portadores de patógenos hacia otras regiones lo cual ha ocasionado la aparición de enfermedades infecciosas transmitidas por artrópodos vectores poblaciones silvestres de otras regiones (Aguirre, 2009), y debido a que existen múltiples especies silvestres que no están genéticamente ni inmunológicamente preparadas para combatir a estos patógenos, esto puede llegar a ocasionar estragos como mortalidad o disminución inmunológica en diversas especies silvestres y provocar estragos ecológicos (Brzeski *et al.*, 2015).

Debido a lo anterior, es importante conocer el estatus de salud en una especie bioacumuladora y adaptable como el coyote en el área protegida de Samalayuca y así mantener una actualización constante sobre la biodiversidad de ectoparásitos y patógenos presentes en el APFF Médanos de Samalayuca, de este modo, la información obtenida por

este tipo de investigaciones puede dar base a futuras investigaciones y planes de manejo aplicables tanto a salud pública como salud ambiental.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Taxonomía y descripción física del coyote

El coyote pertenece al reino animalia, del phylum chordata de la clase mammalia del orden carnívora de la familia canidae (Gese *et al.*, 2008). El coyote es descrito como un carnívoro de talla mediana ya que no suelen sobrepasar los 20 kg de peso, pero sobrepasan el peso de sus primos los zorros (*Vulpex* spp.). El macho pesa generalmente de 8 a 20 kg y la hembra entre 7 a 18 kg, pero esta reportado que los coyotes dentro de los desiertos mexicanos tienen un promedio de peso de 13 kg en machos y 11 kg en hembras. En Chihuahua el peso promedio del macho es de 10 kg y de 8 kg en hembras (Hernández y Laundré, 2014).

Sus orejas son grandes en proporción a su cabeza, mientras que los miembros delanteros y traseros son pequeños en comparación al resto del cuerpo, crecen hasta los 76 a 86 cm sin contar la longitud de cola que llega a medir hasta los 41 cm (Hernández y Laundré, 2014). Las subespecies del norte de América se caracterizan por presentar una coloración más oscura o grisácea y un pelaje más largo, mientras que las subespecies presentes en el sur de México o las que pertenecen a regiones áridas generalmente presentan una coloración rojiza y un pelaje más corto (Elizalde, 2014). Es característico de la especie que presenten una coloración negra en la punta de la cola con excepción de algunas subespecies en áreas tropicales (Hernández y Laundré, 2014) tal como se observa en la figura 1.



Figura 1. Coyote hembra capturado en el Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca.

2.1 Ecología e importancia del coyote en el hábitat natural

El coyote tiene una participación importante y controversial en la ecología de Norteamérica; a diferencia de otros carnívoros mayores, el coyote ha conservado y expandido su rango de distribución en los últimos años (Hernández y Laundré, 2014).

Esta descrito que tiene una variedad de papeles en el medio ecológico los cuales van de ser un depredador y su importancia en el control de pequeños mamíferos como roedores y lagomorfos, como también siendo este una fuente de alimento para otros depredadores superiores como el puma y el lobo. El coyote posee tendencias de cazar animales o mascotas domesticas o especies de importancia cinegética para el humano como el venado, de este modo creando conflictos económicos en explotaciones ganaderas y en programas de manejo de fauna silvestre (Hernández y Laundré, 2014).

2.2 Hábitat, distribución y densidad del coyote

En la actualidad, el coyote es el canido silvestre con más distribución y abundancia en Norteamérica y México (Hernández y Pineda, 2012) como se observa en la figura 2. Posee una diversidad de hábitats que incluye desiertos, bosques templados y bosques tropicales húmedos (Hernández y Laundré, 2014). Sus poblaciones abarcan desde el sur de Canadá, todo el territorio de los Estados Unidos, México, Centroamérica hasta Panamá (Elizalde *et al.*, 2014). Sin embargo, las densidades de coyotes difieren entre los diversos hábitats, siendo el tamaño poblacional generalmente menor en áreas boscosas que en áreas desérticas y semiáridas (Hernández y Laundré, 2014). El estatus de abundancia del coyote en diferentes países de Norteamérica y América central esta descrito en diferentes proporciones. Las poblaciones en Canadá, Estados Unidos y México están descritas como una población muy abundante; en países como El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua su estatus de población se considera como común, mientras que en otros países del sur de América como Costa Rica y Panamá su estatus poblacional esta descrito como poco común (Sillerio-Zubiri *et al.*, 2004).

La densidad del coyote varía en diferentes regiones de Norteamérica; en Canadá dentro de algunos parques de las provincias de Alberta y El Yukón se han registrado densidades de poblacionales de 0.1 a 0.6 coyotes por km² y de 0.01 a 0.09 coyotes por km² respectivamente. En Estados Unidos, dentro de parques y áreas de varios estados como Colorado, se han registrado densidades poblacionales de 0.7 coyotes por km², en Montana se han registrado densidades de 0.15 a 0.39 coyotes por km², en Tennessee se han registrado densidades de 0.35 coyotes por km², y en

Texas se han registrado varias densidades poblacionales de 0.9, 1.5 y 2.3 coyotes por km². En México dentro de áreas protegidas de San Luis Potosí dentro de la región semiárida, se han realizado cálculos de densidad promedio del coyote que va de 0.27 a 0.3 coyotes por km² (Clemente-Sánchez *et al.*, 2017).



Figura 2. Distribución del coyote en el continente americano (obtenido de Gese *et al.*, 2008).

2.3 Dieta del coyote

La dieta en el coyote es muy diversa, la cual se compone de una amplia variedad de especies vertebradas, invertebradas e incluso de materia vegetal como son frutos, semillas y pastos (Hernández y Laundré, 2014).

En áreas desérticas, el alimento más frecuente se compone principalmente de roedores, lagomorfos, reptiles y artrópodos; en áreas boscosas los pequeños mamíferos y la materia vegetal es de mayor porcentaje de consumo en su dieta; y en áreas costeras, las aves y los peces suelen encontrarse en mayor proporción en su dieta. A pesar de que tienden a incluir especies domesticas dentro de su dieta y es considerado como consumidor oportunista, el coyote tiende a seleccionar grupos específicos de alimento como los pequeños mamíferos (Hernández y Laundré, 2014).

2.4 Temporada de apareamiento del coyote

Las hembras de coyote tienen un ciclo estral variable, dicho celo tiene un promedio de ocurrencia de dos meses a partir de mediados de enero y puede llegar a durar desde algunos días hasta las cuatro semanas (Hernández y Laundré, 2014), por lo que la temporada de partos suele tener lugar a inicios de marzo hasta mediados de mayo. En el norte de Estados Unidos, esta

reportado que el ciclo estral se manifiesta en la hembra con un promedio de dos semanas más tarde que en el sur, probablemente porque la primavera demora más en llegar en esas regiones (Hernández y Laundré, 2014).

2.5 Gestación y productividad del coyote

La gestación dura entre 60 a 63 días, teniendo camadas reproductivas de hasta ocho o más cachorros, pero usualmente es de cuatro a seis, los cuales llegan a pesar hasta 180 gr al nacer (Hernández y Laundré, 2014). Las hembras utilizan diversos entornos para madrigueras como son troncos huecos, agujeros en el nivel del suelo, arbustos, socavones o grietas en zonas rocosas (Elizalde *et al.*, 2014), el número de partos decrece acorde la hembra es más longeva (Sacks, 2005). Los cachorros se mantienen dentro de las madrigueras hasta las tres semanas de edad y el destete se lleva a cabo durante las cinco o siete semanas. La adultez se llega al tener los nueve meses de edad (Elizalde *et al.*, 2014). El coyote al tener un comportamiento territorial muy alto la mayoría de los coyotes juveniles se dispersan durante el otoño, lo cual provoca un aumento en la población de coyotes de modo general, por la alta cantidad de coyotes juveniles transitorios en el hábitat (Hernández y Laundré, 2014).

2.6 Espacios y ámbito hogareño del coyote

El ámbito hogareño del coyote se define como el área que ocupa cada individuo para cumplir su actividades propias del comportamiento natural dentro del hábitat como son su alimentación, reproducción y el cuidado de crías y territorio (Marín-Sánchez *et al.*, 2015).

Estos ámbitos tienden a variar de acuerdo al área geográfica del hábitat (Marín-Sánchez *et al.*, 2015), que puede ser desde 10 km - 90 km². Los machos generalmente tienen ámbitos hogareños más amplios que las hembras, especialmente en las épocas de apareamiento y de crianza de cachorros, dejando marcas con orines y vocalizando para hacer notar su presencia en su territorio (Hernández y Laundré, 2014). En la sierra madre occidental del norte de México, esta descrito que el ámbito hogareño es de 16.6 km cuadrados en machos y 6.1 km cuadrados en hembras (Servín y Huxley, 1995).

2.7 Manejo del coyote en México

Los coyotes en México están muy desprotegidos. A pesar de que es sabido que el coyote tiene una participación ecológica importante en el control de plagas de mamíferos pequeños, no se les da una protección legal adecuada, debido a que muchas unidades de manejo ambiental piden permisos a SEMARNAT para cazar coyotes sin importar la estación, edad, sexo o la cantidad de los que pueden cazarse (Hernández y Laundré, 2014).

Por lo general, el tipo de manejo que recibe el coyote en México y Estados Unidos es el de control de poblaciones, como el reducir su población o restringir su presencia en un área; otra opción es la de proveer o recuperar suficiente hábitat para la población deseada. El objetivo de las instituciones de manejo a través de estos programas de educación es la concientización y cambiar la creencia del coyote como antagonista del medio ecológico (Hernández y Laundré, 2014).

Un reto en México, es el balance entre el valioso papel ecológico que aporta y sus efectos de depredación con ganado o fauna cinegética. La depredación del coyote en el ganado puede ser significativo de acuerdo al ganado que se esté explotando, por ejemplo, el ganado ovino y caprino es más depredado por coyotes comparándolo con el bovino y equino. Sin embargo, el coyote puede tener una importancia benéfica para la agricultura y en los agostaderos ya que al depredar a distintas especies de lagomorfos y roedores disminuye la competencia por el consumo de forraje de estas especies silvestres con el ganado. Debido a esto, es necesario implementar técnicas locales para prevenir el problema como es la intensificación de la vigilancia del ganado en las áreas rurales de México. Sin embargo los factores económicos afectan la viabilidad de estas prácticas. Por lo que se cree que tanto ganaderos como encargados en el manejo de fauna y autoridades en salud pública deben trabajar de modo conjunto para desarrollar soluciones económicas y ecológicas por medio de cursos y talleres locales donde se proporcione información y concientización con respecto a la importancia del papel que podría desempeñar el coyote dentro el ecosistema (Hernández y Laundré, 2014).

2.8 Importancia del coyote en la salud pública

El conocimiento de los parásitos en el coyote complementa la identificación sobre riesgos que representa esta especie en la salud humana y de animales domésticos (Wapennar *et al.*, 2013). En Estados Unidos el coyote esta descrito como la especie de mamífero silvestre con el mayor número y prevalencia de parásitos registrados en Norteamérica (Hernández y Pineda, 2012).

El coyote es considerado como una especie exitosa en cuestiones de capacidad de adaptación a los cambios en su hábitat, lo cual le ha permitido instalarse y acercarse a zonas urbanizadas donde hace intentos por compensar la pérdida de su territorio (Niehaus *et al.*, 2011), generalmente el coyote mantiene una distancia prudente con el humano. Sin embargo, cuando su espacio está cada vez más reducido, el conflicto es inevitable y aún más cuando especies domésticas como el perro o el ganado están involucrados de por medio, de este modo, la interacción de estas especies domesticas con el coyote permite un mayor traspaso de agentes patógenos como son los parásitos y otros patógenos (Redman *et al.*, 2016). Debido a esto, la presencia del coyote y sus parásitos representan retos en áreas de estudio como lo son la salud pública, la agricultura, la ganadería, la conservación y la economía global en términos generales (Pérez-Ponce De León y García, 2011).

En diferentes áreas silvestres protegidas en América, se describen una serie de impactos ambientales importantes, debido a la perdida y fragmentación del hábitat del coyote causado principalmente al alto índice de urbanización en áreas naturales (Niehaus *et al.*, 2011). La tendencia del coyote a acercarse a zonas habitadas por el hombre se asume a que su hábitat está cada vez más comprometido por la competencia de espacio, pero también existen otros factores que parecen estar implicados como el cambio climático (Redman *et al.*, 2016). Los cambios en su terreno han forzado al coyote a competir por espacio y comida con otras especies silvestres provocando estrés en las poblaciones y así facilitando la manifestación de parásitos en sus poblaciones (Medina-Vogel, 2010; Watts, 2012).

2.9 Importancia de las especies centinelas en el ecosistema y su impacto en la medicina de la conservación

Los cambios ambientales generalmente producen un estrés fisiológico en la fauna silvestre que habita en un ecosistema, de este modo la resistencia inmunológica disminuye y aumenta la frecuencia de enfermedades parasitarias y otras infecciones (Medina-Vogel, 2010). Cuando un hábitat natural o ecosistema está comprometido, las enfermedades transmisibles comienzan a surgir, hacerse más notorias o a redistribuirse en el medio, esto sin duda es un síntoma inequívoco de un deterioro en el ambiente.

Los carnívoros silvestres suelen ser descritos como excelentes centinelas debido a sus hábitos de interacción entre diversos medios como también por poseer un amplio margen de interacción con otras especies como sus presas. En las especies centinelas suele haber un equilibrio de adaptación

entre parásito o agente infeccioso y hospedero lo que los puede llevar a una especie de coexistencia. Cuando una población de vida libre está expuesta a una infección o enfermedad emergente, el hospedero tiene una serie de respuestas ante la agresión del agente infeccioso que son: resistir al parásito y no desarrollar sintomatología clínica, desarrollar síntomas severos de la enfermedad o convertirse en un reservorio o transporte para la enfermedad. La información científica que proporcionan los centinelas proporciona mucho provecho en el sentido sobre la evaluación de la salud de un ecosistema y predecir sobre posibles problemas o alteraciones pueden estar llevando a la aparición de enfermedades emergentes en las poblaciones silvestres. De esta manera se alienta a considerar el valor de los centinelas y llevar a cabo toma de decisiones, medidas de manejo y mitigación por parte de los científicos, autoridades y la sociedad en general. Gracias a este tipo de resultados, las ciencias relacionadas a la medicina de la conservación podrán aplicar mayores esfuerzos para poder dar solución al problema dentro del ecosistema y las poblaciones silvestres en general (Aguirre, 2009).

2.10 El coyote como centinela del ecosistema

El coyote, a diferencia de otros carnívoros silvestres incluyendo a sus primos los lobos y zorros, suele adaptarse con mayor rapidez a los entornos, además de ser una especie que tiende a acercarse demasiado a las poblaciones humanas y de ganado doméstico, estas tendencias de interacción con las áreas urbanizadas, suelen tener riesgo de traspaso de agentes patógenos, parásitos y otras enfermedades desde la población humana y el medioambiente o viceversa por medio de esta especie que suele coexistir en ambos entornos, el coyote también tiende a convivir y competir con otras poblaciones silvestres, así existe la posibilidad de traspaso de agentes infecciosos como virus, bacterias, endoparásitos y ectoparásitos hacia el ecosistema y provocar daños en las distintas poblaciones silvestres (Aguirre, 2009; Quintero *et al.*, 2012; Brzeski *et al.*, 2015).

2.11 Ectoparásitos como indicador biológico

Los ectoparásitos han sido propuestos como indicadores de alteraciones en los ecosistemas o en una población silvestre (Pérez-Ponce De León, 2011) debido a que en los últimos años los problemas como el cambio climático, la introducción de especies invasoras y la fragmentación del

ecosistema, ha ocasionado el surgimiento de enfermedades nuevas gracias al traspaso de patógenos de los cuales sobresalen los que son transmitidos por vectores (Aguirre, 2009).

2.12 Tipos de vectores

Un vector por concepto, es aquel transmisor animado de agentes infecciosos que en base a diferentes ramas de la ciencia pueden llevar diversos nombres como hospedador intermediario en helmintología, así como también ser llamado vector biológico en entomología. Por lo general, los vectores se definen como animales invertebrados más comúnmente pertenecientes a la familia de los artrópodos como los mosquitos, piojos, chinches, pulgas y garrapatas que transmiten agentes infecciosos a animales vertebrados (Thrusfield, 2005).

Los vectores pueden dividirse en dos categorías: los vectores mecánicos y los vectores biológicos. Un vector mecánico es aquel animal (generalmente artrópodo) que transporta e inocula involuntariamente al agente infeccioso sobre otro animal hospedador ya sea primario o secundario sin que el agente etiológico se multiplique o se desarrolle dentro del vector mecánico (Thrusfield, 2005). Los vectores biológicos son aquellos (generalmente artrópodos) en los cuales el agente infeccioso realiza una parte de su desarrollo dentro del vector antes de ser transmitido al animal hospedador ya sea natural o secundario (Thrusfield, 2005).

2.13 Clases de artrópodo vectores

Las principales especies que actúan como vehículo de distintas especies de patógenos son miembros del filo Arthropoda, de la cual se derivan dos clases la arácnida y la insecta, de las cuales las especies de importancia en la transmisión de patógenos nocivos para los animales como para el hombre serían especies como los ácaros, garrapatas, moscas, mosquitos, piojos, pulgas y algunas especies de chinches como se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Principales clases de artrópodos vectores

Filo	Clase	Orden
Arthropoda	Aracnida	Acarina (Ácaros, Garrapatas)
	Insecta	Diptera (moscas)
		Phthiraptera (Piojos)
		Siphonaptera (Pulgas)
		Hemiptera (Chinches)
(Urquhart <i>et al.</i> , 2001; Taylor <i>et al.</i> , 2007)		

2.14 Enfermedades transmitidas por vectores

Son aquellas enfermedades cuyo agente causal es transmitido de manera indirecta mediante un tipo de vehículo intermediario ya sea vivo o inanimado que transmite la infección entre un hospedador infectado a otro susceptible, a este intermediario se le conoce generalmente como vector, aunque este término suele reservarse habitualmente a un portador vivo perteneciente generalmente a otra especie distinta al hospedador infectado. Por lo tanto, el ciclo biológico de muchos agentes infecciosos suele ser de simple a complejo ya que a veces no suelen intervenir únicamente un solo vector (Thrusfield, 2005).

2.15 Tipos de enfermedades transmitidas por vectores

Las enfermedades transmitidas por vectores suelen dividirse en varios grupos de acuerdo al tipo de agente etiológico que este de por medio por ejemplo si el vector en cuestión es un parásito como tal, un virus o una bacteria. Las enfermedades más comunes e importantes en salud humana y salud animal, así como su respectivo vector y hospedero se pueden ver en los cuadros 2, 3 y 4 (Quiroz, 1999; Brown y Bolin, 2000; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

Cuadro 2. Enfermedades parasitarias transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y salud animal.

Agente	Enfermedad	vector	Patógeno	Hospedero
Parásitos	Paludismo	Mosquitos del género Anopheles: <i>A. pseudopunctipennis</i> , <i>A. albimanus</i> y <i>A. vestitipennis</i> .	<i>Plasmodium vivax</i> <i>P. falciparum</i>	Humano
	Oncocercosis	Mosca negra del género Simulium: <i>S. callidum</i> , <i>S. metallicum</i> y <i>S. ochraceum</i> .	<i>Onchocerca volvulus</i>	Humano
	Chagas	Chinche besucona de los Géneros <i>Triatoma</i> , <i>Panstrongylus</i> y <i>Rhodnius</i> .	<i>Trypanozoma cruzi</i>	Humano
	Leishmaniosis	Mosca de arena o chiclera de la Subfamilia Phlebotominae.	<i>Leishmania braziliensis</i> , <i>L. donovani</i> , <i>L. mexicana</i> .	Humano

(Quiroz, 1999; Brown y Bolin, 2000; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007)

Cuadro 3. Enfermedades virales transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y salud animal.

Agente	Enfermedad	Vector	Patógeno	Hospedero
Virus	Dengue	<i>Aedes aegypti</i> y <i>A. albopictus</i>	Virus dengue	Humano
	Encefalitis equina venezolana	<i>Culex</i> spp	Virus EEV	Humano, caballos y especies silvestres
	Encefalitis equina del oeste	<i>Culex</i> spp	Virus EEO	Humano, caballos y especies silvestres
	Encefalitis equina del este	<i>Culex</i> spp	Virus EEE	Humano, caballos y especies silvestres
	Encefalitis del oeste del Nilo	<i>Culex</i> spp	Virus VON	Humano y caballos
	Fiebre Amarilla	<i>A. aegypti</i>	Virus FA	Humanos
	Mixomatosis	Pulgas y mosquitos	Myxomavirus	Conejos

(Quiroz, 1999; Brown y Bolin, 2000; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007)

Cuadro 4. Enfermedades bacterianas transmitidas por vectores de mayor importancia en salud humana y salud animal.

Agente	Enfermedad	Vector	Patógeno	Hospedero
Bacterias	Fiebre manchada de las montañas rocosas	Garrapatas de las especies de la familia Ixodidae	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Humanos Perros
	Tifus murino	Pulgas de la familia	<i>R. thypi</i>	Humanos Perros
	Tifus exantemático	Piojos de la familia pediculidae	<i>R. prowazekii</i>	Humanos
	La peste	Pulgas del género <i>Pulex irritans</i>	<i>Yersinia pestis</i>	Humanos

(Quiroz, 1999; Brown y Bolin, 2000; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007)

2.16 Generalidades de pulgas

Son artrópodos hematófagos de color marrón oscuro, aplanados lateralmente y no poseen alas, su cuerpo es brillante y se mueven con agilidad entre las plumas o pelos del hospedador. Presentan un par de ojos negros pequeños y antenas cortas, tienen tres pares de patas de las cuales el último par es de un tamaño considerablemente mayor al de los primeros pares, adaptadas para dar grandes saltos hacia otros hospedadores o hacia diferentes regiones del hospedador previo (Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

En las partes posteriores y vientre de la cabeza se pueden observar estructuras que constan de espinas las cuales suelen ser llamadas peines o ctenidios que cuya forma, longitud y localización varía entre especies y son de utilidad al momento de identificación y diferenciación entre las especies de pulgas (Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

2.17.1 Taxonomía general de las pulgas

Las pulgas pertenecen a la clase insecta de la subclase Pterygota de la infraclass Neoptera del superorden Endopterygota del orden Siphonaptera (Torina *et al.*, 2013), están identificadas 2574 especies alrededor del mundo de las cuales se derivan dieciséis familias que son: Tungidae,

Pulicidae , Coptosyllidae, Vermipsyllidae, hopalopsyllidae, Hypsophthalmidae, Stephanocircidae, Pygiopsyllidae, Hystrichopsyllidae, Leptopsyllidae, Ischnopsyllidae, Ceratophyllidae, Amphipsyllidae, Malacopsyllidae, Dolichopsyllidae y Ctenopsyllidae (Urquhart *et al.*, 2001 Taylor *et al.*, 2007).

2.17.2 Especies de pulgas descritas en México

En México están descritas 8 familias de las cuales 172 especies corresponden al total de 7% de las pulgas encontradas a nivel mundial. Dentro de estas familias, las dos principales encontradas en México son la Ceratophyllidae con 74 especies y la Ctenophthalmidae con 45 especies. Las 8 familias encontradas en México corresponden a: Ceratophyllidae, Ctenophthalmidae, Hystrichopsyllidae, Rhopalopsyllidae, Leptopsyllidae, Ischnopsyllidae, Pulicidae y Tunginae (Acosta-Gutiérrez, 2018). Las familias, subfamilias y géneros se muestran en el cuadro 5 y 6.

Cuadro 5. Especies de pulgas descritas en México

Familia	Subfamilias	Géneros	Especies
Ceratophyllidae	Ceratophyllinae	<i>Amaradrix</i>	1
		<i>Baculomeris</i>	2
		<i>Ceratophyllus</i>	4
		<i>Dasypsyllus</i>	2
		<i>Eumolpianus</i>	2
		<i>Jellisonia</i>	12
		<i>Kohlsia</i>	11
		<i>Malaraeus</i>	1
		<i>Nosopsyllus</i>	1
		<i>Opisodasys</i>	4
		<i>Orchopeas</i>	7
		<i>Oropsylla</i>	2
		<i>Pleochaetis</i>	2
		<i>Plusaetis</i>	11
		<i>Psittopsylla</i>	1
		<i>Thrassis</i>	6
	Dactylopsyllinae	<i>Dactylopsylla</i>	1
		<i>Foxella</i>	6

(Acosta-Gutiérrez, 2014)

Cuadro 6. Especies de pulgas descritas en México (continuación del cuadro 5)

Familia	Subfamilias	Géneros	Especies
Ctenophthalmidae	Anomiopsyllinae	<i>Anomiopsyllus</i>	10
		<i>Stenistomera</i>	1
	Ctenophthalminae	<i>Ctenophthalmus</i>	8
	Doratopsyllinae	<i>Corrodopsylla</i>	2
		<i>Adoratopsylla</i>	1
	Neopsyllinae	<i>Catallagia</i>	-
		<i>Epitedia</i>	1
		<i>Meringis</i>	4
		<i>Phalacropsylla</i>	2
		<i>Strepsylla</i>	12
	Rhadinopsyllinae	<i>Rhadinopsylla</i>	2
	Stenoponiinae	<i>Stenoponia</i>	2
Hystrichopsyllidae	Hystrichopsyllinae	<i>Atyploceras</i>	3
		<i>Hystrichopsylla</i>	5
Rhopalopsyllidae	Rhopalopsyllinae	<i>Polygenis</i>	6
		<i>Rhopalopsyllus</i>	2
Leptopsyllidae	Leptopsyllinae	<i>Leptosylla</i>	1
		<i>Peromyscopsylla</i>	2
Ischnopsyllidae	Ischnopsyllinae	<i>Myodopsylla</i>	5
		<i>Hormopsylla</i>	2
		<i>Ptilopsylla</i>	1
		<i>Rothschildopsylla</i>	1
		<i>sternopsylla</i>	1
Pulicidae	Pulicinae	<i>Ctenocephalides</i>	2
		<i>Echidnopaga</i>	1
		<i>Pulex</i>	6
		<i>Actenopsylla</i>	1
		<i>Cediopsylla</i>	4
		<i>Euhoplopsyllus</i>	3
		<i>Hoplopsyllus</i>	2
		<i>Xenopsylla</i>	1
	Tunginae	<i>Hectopsylla</i>	2
		<i>Tunga</i>	2

(Acosta-Gutiérrez, 2014)

2.17.3 Especies de pulgas en la población de coyote en América

La información disponible sobre la presencia de pulgas en la población de coyote es muy reducida, sin embargo, en diferentes sitios de Texas se realizó un estudio de prevalencia de artrópodos parásitos en lobos y coyotes. Las especies encontradas en el coyote fueron: *Pulex irritans*, *Echidnopaga gallinacea* y *Orchopeas sexdentatus*. Mientras que en el lobo se encontraron: *P. irritans*, *E. gallinacea* y *Ctenocephalides felis* tal como se observa en el cuadro 7.

Cuadro 7. Especies de pulgas en la población de coyote descritas en Texas	
Especies descritas	Ciudad de Texas
<i>P. irritans</i> <i>E. gallionacea</i> <i>O. sexdentatus</i>	Floydada
<i>P. irritans</i> <i>E. gallionacea</i>	Childress
<i>P. irritans</i>	Vernon
<i>P. irritans</i> <i>E. gallionacea</i>	Dickens
<i>P. irritans</i>	San Antonio
<i>P. irritans</i> <i>E. gallionacea</i>	Jayton
<i>P. irritans</i> <i>E. gallionacea</i>	Lubbock
<i>P. irritans</i> <i>P. irritans</i>	Crowell Sierra

(Eads, 1948)

2.17.4 Ciclo biológico de las pulgas

Los huevos son de forma ovoide y de superficie lisa de color claro, que suelen ser depositados en el pelo y luego caer al suelo o directo en el suelo, la eclosión tiene lugar dentro de dos días a dos semanas dependiendo del clima. Las larvas se alimentan de detritus o de heces fecales de pulgas adultas. Hay que resaltar que la pulga pasa la mayor parte de su vida fuera del

hospedador incluyendo el tiempo dentro del huevo, durante la vida de larva, pupa y adulto, que suele alimentarse de sangre del hospedero por algunos minutos y pasarse a otra región del hospedero o brincar directamente a otro hospedero para buscar más alimento o para aparearse. Su tiempo de vida puede llegar hasta los dos años (Urquhart *et al.*, 2001).

2.17.5 Alimentación y patogénesis de las pulgas

Las pulgas son artrópodos que se alimentan meramente de sangre una vez llegada a su fase adulta, la mordida de la garrapata está acompañada por saliva de la pulga la cual contiene compuestos que retardan las reacciones de alergia e hipersensibilidad para dar mayor margen de alimentación para la pulga. En si la mordida de la pulga puede provocar inflamación en el sitio de la lesión, algunas veces suele haber infecciones dermatológicas secundarias a la picadura por bacterias oportunistas (Urquhart *et al.*, 2001).

Dentro de la familia de las pulgas existen algunas especies que son de importancia médica ya que pueden transmitir diferentes especies de patógenos que provocan enfermedades de importancia en salud pública como *Rickettsia typhi*, *R. felis*, *Yersinia pestis* y *Bartonella*, (Taylor *et al.*, 2007; González *et al.*, 2018) como se ha comprobado recientemente, algunas especies de pulgas se han asociado con presencia de *E. canis* y *A. phagocytophilum* (Torina *et al.*, 2015), que representan un riesgo de importancia en la salud humana y de los animales domésticos (Eads, 1948).

2.17.6 Epidemiología y hábitat de las pulgas

Las pulgas por lo general no presentan predilección por hospedero ya que atacan a cualquier especie doméstica, silvestre e incluso al hombre, al ser obligadamente hematófagos no pueden sobrevivir fuera del hospedero por mucho tiempo. Generalmente las pulgas tienen predilección por zonas húmedas, templadas y tropicales (Taylor *et al.*, 2007) sin embargo se han reportado casos de presencia de pulgas en zonas áridas o desérticas (González *et al.*, 2018).

2.17.7 Signos clínicos y diagnóstico de infestación por pulgas

El principal signo de infestación por pulgas es el prurito persistente, las pulgas al morder o depositar sus heces en la piel, suelen ocasionar alergia e inflamación que conlleva a un constante malestar para el animal que se observa al morderse y rascarse con frecuencia. Las mordidas de la pulga suelen verse a simple vista en la piel del animal (Taylor *et al.*, 2007).

Debido a la velocidad y al pequeño tamaño de las pulgas, el diagnóstico en sí puede ser complicado, se pueden realizar cepillados en el pelo del hospedador para así capturar algunos ejemplares, pueden identificarse a simple vista al mover los pelos así como también poder identificar huevecillos entre el pelo algunas veces. Algunas especies de pulgas suelen enterrarse en la piel y provocar nódulos que suelen estar rodeados de huevecillos, no tienen sitios de predilección pero suelen encontrarse entre los dedos y en las bases de las orejas (Taylor *et al.*, 2007).

2.17 Generalidades de bacterias rickettsiales

Los rickettsiales son microorganismos bacterianos que incluyen a las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae*, son de forma cocoidal o pleomorfa que llegan a tener un tamaño de 0.3 a 2.0 μm , su envoltura es típica de una bacteria Gram-negativa compuesta por una membrana de peptidoglicanos. Son parásitos intracelulares obligados que se alojan en el citoplasma y vacuolas de las células eucarióticas donde una vez dentro se dividen por fisión binaria y por su apariencia se han denominado como mórulas (Pusterla *et al.*, 2000, Kocan *et al.*, 2000, Quintero *et al.*, 2012 y Cartagena *et al.*, 2015).

Este microorganismo se caracteriza por necesitar un hospedero vertebrado como reservorio y de un artrópodo como vector, principalmente la garrapata, dentro de esta se replica en epitelio intestinal y glándulas salivales. El microorganismo como patógeno presenta tropismo por células sanguíneas de animales y humanos principalmente células blancas como los leucocitos, monocitos y granulocitos (Kocan *et al.*, 2000 y Cartagena *et al.*, 2015), pero en diversas ocasiones pueden atacar o encontrarse en células de otros tejidos adyacentes a parte de las células sanguíneas (Kocan *et al.*, 2000).

2.17.1 Nomenclatura de los rickettsiales según su patología

Las especies de *Ehrlichia* spp, y *Anaplasma* spp., están clasificados de acuerdo a las células blancas que suelen invadir, por ejemplo, *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia canis* invaden principalmente a los monocitos, por esto se le asigna el nombre de la enfermedad como Ehrliquia monocitica, por otro lado esta *Anaplasma phagocitophilum* y *Ehrlichia ewingii* que atacan principalmente a los granulocitos lo cual la enfermedad se llama ehrliquia granulocitica (Kocan *et al.*, 2000). Las enfermedades transmitidas por garrapatas son clínicamente y sintomáticamente similares, pero epidemiológica y etiológicamente son diferentes (Chapman *et al.*, 2006).

2.17.2 Patogénesis general de *Rickettsia* spp, en la célula blanca

La transmisión del microorganismo hacia el interior de los animales o el humano se da mediante la saliva de la garrapata donde se encuentra presente la fase infectiva de la rickettsia, esta comienza a desplazarse a través de vasos linfáticos y vasos sanguíneos donde empezaran a invadir células endoteliales y luego a las células blancas del torrente sanguíneo que son sus principales células huésped. Una vez que la rickettsia encuentra a la célula diana, esta se une a la célula mediante receptores y proteínas de membrana externa cuya unión induce un reajuste del citoesqueleto celular que favorece la entrada de la bacteria por medio de un fagosoma. Una vez dentro del citoplasma de la célula, la bacteria se multiplica por fisión binaria destruyendo el fagosoma y liberándose al citoplasma donde comienza a dividirse y alimentarse de compuestos y nutrientes de la célula huésped hasta ser expulsadas mediante exocitosis o lisis celular y continuar el ciclo reproductivo (Quintero *et al.*, 2012).

2.17.3 Patogénesis general de *Rickettsia* spp, en la célula endotelial

Cuando las bacterias rickettsiales invaden las células endoteliales de los vasos sanguíneos, comienzan a producir diversos tipos de citoquinas y prostaglandinas. Una vez que este proceso se lleva a cabo comienza una respuesta inmune tipo Th1 de patógenos intracelulares, los linfocitos T comienzan a producir interferones del tipo Factor de necrosis tumoral e interferón gamma y el resultado es una respuesta citotóxica para estimular la apoptosis de células infectadas. Todo el proceso de invasión en las células endoteliales provoca desbalances y aumento en la permeabilidad vascular causando así un edema a nivel de tejidos afectados y se asocia con fallas en el drenaje

linfático produciendo baja perfusión sanguínea que puede generar daños renales, isquemia de extremidades y órganos, provocando así una falla a nivel sistémico, lo cual provoca una amplia variedad de signos clínicos inespecíficos durante la patogénesis (Taylor *et al.*, 2007; Quintero *et al.*, 2012).

2.17.4 Signos clínicos de enfermedades rickettsiales en cánidos domésticos y silvestres

Después de la picadura de garrapata y la inoculación de la bacteria en el animal, el periodo de incubación varía entre las tres a cuatro semanas. Los signos clínicos de la ehrlichiosis se manifiestan dependiendo en qué fase de la enfermedad se encuentra el canido, la enfermedad se divide en tres fases, en la primera fase los signos clínicos en canidos tanto domésticos como silvestres suelen ser muy inespecíficos, estos van desde letargia, inapetencia, dolor articular, tos, polidipsia, epistaxis, vómito, diarrea, signología neurológica, pérdida de peso, edema, entre otras. En la fase crónica, los canidos pueden o no presentar sintomatología subclínica o grave, y en la fase severa se puede observar emaciación, trombocitopenia, linfopenia, pirexia, pancitopenia, anemia no regenerativa e infecciones secundarias (McQuiston *et al.*, 2003). En lobos y otros perros salvajes positivos a *Ehrlichia* se ha observado presencia de fiebre, anorexia, letargia, trombocitopenia, linfopenia y anemia, sin embargo, en coyotes, zorros y chacales positivos a la enfermedad no se han mostrado signos clínicos aparentes, pero en sus respectivos análisis de laboratorio si se han presentado alteraciones sanguíneas como trombocitopenia, leucopenia, anemia y bacteriemia. Los animales positivos a *Ehrlichia* poseen una susceptibilidad de contraer otras enfermedades secundarias por virus o bacterias que pueden provocar severas complicaciones en su salud o incluso la muerte (Miller y Fowler, 2012).

2.17.5 Signos clínicos de enfermedades rickettsiales en humanos

Después de la picadura de la garrapata y la inoculación de la bacteria dentro del humano el periodo de incubación varía desde 1 hasta los 21 días. Los signos clínicos entre las diferentes enfermedades rickettsiales suelen ser muy similares, estos van desde fiebre, nausea, dolor de cabeza, dolor muscular, vómito, diarrea, tos y dolor articular. Algunos individuos positivos a la enfermedad pueden no presentar ninguna sintomatología clínica como a otros se les puede manifestar de una forma muy severa como fiebre prolongada, falla renal, coagulación

extravascular diseminada, meningoencefalitis, distres respiratorio, coma e incluso la muerte (McQuiston *et al.*, 2003).

2.17.6 Coinfecciones de los rickettsiales

Una coinfección de patógenos rickettsiales se define cuando dos o más patógenos de distinta especie o género están presentes al mismo tiempo en un mismo hospedero. (Swanson *et al.*, 2006). Tanto los animales como el humano pueden ser coinfectados con una amplia variedad de enfermedades y microorganismos entre los que destacan: *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Borrelia*, *Bartonella*, *Rickettsia* y *Babesia* (Taylor *et al.*, 2007). En otros estudios, se ha revelado que las coinfecciones no solo suelen ser entre distintas enfermedades, sino también suelen suceder entre variantes genéticas de una sola enfermedad dentro de una misma garrapata vector (Massung *et al.*, 2002).

2.17.7 Importancia de las enfermedades rickettsiales en la salud pública y salud ambiental

Existen varias especies que afectan a diversas clases de mamíferos domésticos, mamíferos silvestres e incluido el humano. La ehrliquia monocítica causada por *E. canis* y *E. chaffeensis* se ha detectado en poblaciones de perros domésticos, humanos, coyotes y venados silvestres. La ehrliquia granulocítica causada por *A. phagocytophilum* y *E. ewingii* han sido detectadas en poblaciones de perros y humanos (Cartagena *et al.*, 2015) y finalmente se han registrado otras enfermedades causadas por la *R. rickettsii* que es la más virulenta para el hombre e igualmente identificada en otras especies domésticas y silvestres (Quintero *et al.*, 2012).

Las enfermedades infecciosas como la ehrliquiosis, se han convertido en un tema muy importante en cuanto a la conservación y amenaza de especies silvestres. Estas enfermedades han contribuido en la destrucción y extinción de poblaciones silvestres de manera directa o indirecta causando mayor mortalidad que natalidad en los individuos dentro de dichas poblaciones. Las infecciones combinadas con factores de estrés disminuyen la supervivencia juvenil de las especies lo cual provoca una baja en la aptitud de estas. Los patógenos encontrados en vida libre representan un problema ya que pueden mantener una prevalencia muy amplia en numerosas especies de hospederos y reservorios que facilitan la transmisión entre poblaciones y especies, causando mayor daño cuando estas poblaciones son reducidas o pequeñas. El monitoreo de las

enfermedades es un componente necesario para los programas de conservación. Dentro de los mamíferos, los carnívoros silvestres son particularmente más susceptibles a las enfermedades, reflejándose de manera más marcada en la familia de los canidos. El comportamiento social de los canidos silvestres tiende a hacerlos más vulnerables a la contracción de enfermedades en el medio ecológico debido a sus ámbitos hogareños, tendencias a ingerir y oler excretas y orines de otros miembros o especies. Un factor importante y discutido es el parentesco genético que tiene con el perro domestico que representan un factor de riesgo ya que las enfermedades del perro son fácilmente transmisibles a los canidos silvestres y si dicha enfermedad es virulenta, puede contribuir a un decline en la población o inclusive extinciones locales o totales de las poblaciones silvestres (Brzeski *et al.*, 2015).

Los mamíferos depredadores son hospederos de diversas enfermedades que pueden tener un gran impacto de las poblaciones silvestres (Bischof y Rogers, 2005). Un ejemplo claro seria la presencia de otras especies silvestres como es el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y el ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*) dentro del hábitat de los cánidos silvestres en especial del coyote, pueden provocar la introducción de Rickettsias accidentales dentro de las poblaciones del coyote como es la *E. chaffeensis* mediante la garrapata *Amblyoma americanum* y otros vectores como piojos o pulgas transfiriendo así la enfermedad de Lyme (Kocan *et al.*, 2000; Aguirre, 2009), convirtiendo al coyote en un reservorio de dicha enfermedad y gracias al ámbito hogareño del coyote que puede sobrepasar los 31 km² esta enfermedad puede dispersarse aún más dentro del ecosistema siendo una amenaza para los miembros de la población silvestre, humanos y animales domésticos (Kocan *et al.*, 2000).

2.17.8 Enfermedades rickettsiales reportadas en el coyote y otros caninos silvestres

En investigaciones previas sobre prevalencia de patógenos rickettsiales en coyotes y otros caninos silvestres, se ha observado una alta prevalencia de distintas especies de patógenos rickettsiales descritos en estas especies silvestres en diversas regiones de países como Estados Unidos y Europa, concuerdan con especies de garrapatas y pulgas descritas en otras investigaciones previas como se observa en el cuadro 8.

Cuadro 8. Enfermedades rickettsiales y ectoparásitos reportados en coyote y otros caninos silvestres de acuerdo al sitio de estudio

huésped	Ectoparásitos descritos	Patógenos descritos	Región	Referencia
Coyote (<i>Canis latrans</i>)	<i>Amblyoma americanum</i>	<i>Ehrlichia chaffensis</i>	Estados Unidos (Oklahoma)	Kocan <i>et al.</i> , 2000; Starkey <i>et al.</i> , 2013
		<i>E. ewingi</i>	(Oklahoma y Texas)	Strakey <i>et al.</i> , 2013
	<i>Amblyoma maculatum</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	(Oklahoma y Texas)	Strakey <i>et al.</i> , 2013
	<i>Dermacentor variabilis</i>	<i>R. rickettsii</i>	(Oklahoma y Texas)	Strakey <i>et al.</i> , 2013
	<i>Ixodes pacificus</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	(California)	Pusterla <i>et al.</i> , 2000; Foley <i>et al.</i> , 2005
		<i>E. equi</i>	(California)	Pusterla <i>et al.</i> , 2000
	<i>Ixodes spp</i>	<i>Ehrlichia spp</i>	(Sureste de E. U.)	Brzezki <i>et al.</i> , 2015
		<i>R. rickettsii</i>	(Nebraska)	Bischof y Rogers, 2005

Lobo (<i>Canis rufus</i>)	<i>Ixodes spp</i>	<i>Ehrlichia spp</i>	(Sureste de E. U.)	Brzezki <i>et al.</i> , 2015
Zorro rojo (<i>Vulpes vulpes</i>)	<i>I. ricinus</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	Suiza (Switzerland)	Pusterla <i>et al.</i> , 1999
	<i>I. ricinus</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	Italia (Centro)	Ebani <i>et al.</i> , 2011
	<i>Xenopsylla cheopis</i>	<i>A. ovis</i> y <i>E. canis</i>	Italia (Sicilia)	Torina <i>et al.</i> , 2013
	<i>Ctenocephalides felis</i>	<i>Rickettsia felis</i>	Italia (Sicilia)	Torina <i>et al.</i> , 2013
	<i>Cediopsylla inaequalis</i>	<i>E. canis</i>	Italia (Sicilia)	Torina <i>et al.</i> , 2013

2.18 Generalidades de *Anaplasma phagocytophilum*

Es un microorganismo intracelular obligado gram negativo cuyas mórulas llegan a medir entre 1.5 a 5 micras de diámetro, son de forma cocoidal, cocobacilar y pleomórfica y pertenece al orden de los Rickettsiales y a la familia *Anaplasmataceae*, suele mantenerse dentro del citoplasma de los neutrófilos. Antes solía tener diferentes sinonimias como *Ehrlichia phagocytophilum*, *Cytoecetes phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia platys* y la enfermedad que provoca

suele tener varios nombres como: Fiebre por mordida de garrapata, fiebre de los pastos, ehrliquiosis granulocítica canina, ehrliquiosis granulocítica humana, trombocitopenia infecciosa canina (Taylor *et al.*, 2007).

El *A. phagocytophilum*, es el tercer microorganismo transmitido por vectores más común en los Estados Unidos y Europa y está reconocida como una enfermedad importante en Asia, especialmente en China. En estudios hechos en Estados Unidos, Europa y Asia sobre seroprevalencias de *Anaplasma* spp. Se ha reportado que la población ha presentado un 3.7% de seroprevalencia a anticuerpos de este microorganismo, y la proporción de prevalencia va en aumento debido a las actividades que predispongan a las poblaciones humanas a mordidas y picaduras de garrapatas (Dumler, 2005). Los animales domésticos de producción como de compañía, así como diversas especies silvestres tienen una importancia muy grande en la latencia de dicha enfermedad, lo que predispone a la exposición y traspaso del microorganismo a las poblaciones humanas así como a otras especies (Quintero *et al.*, 2012).

2.18.1 Distribución geográfica de *Anaplasma phagocytophilum*

A. phagocytophilum se ha registrado en diferentes países del mundo como son Europa, Finlandia, Austria, Estados Unidos, Australia, Noruega, Reino Unido y Suramérica. Por lo cual se piensa que es un agente del tipo Cosmopolitan, en la figura 3 se observa su distribución en los Estados Unidos (Taylor *et al.*, 2007).

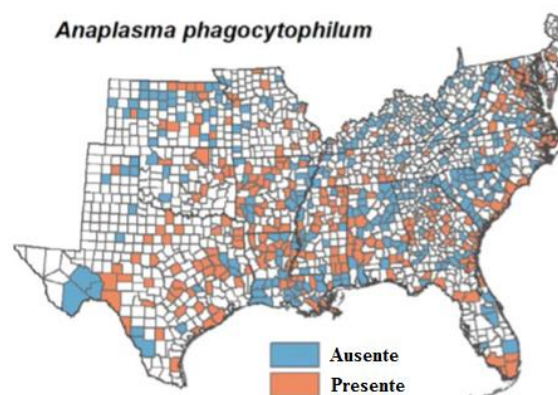


Figura 3. Distribución de *A. phagocytophilum* en los Estados Unidos. Las áreas rojas muestran presencia de prevalencia, mientras las azules muestran ausencia del microorganismo (obtenido de Wimberly *et al.*, 2008).

2.18.2 Epidemiología de *Anaplasma phagocytophilum*

El microorganismo *A. phagocytophilum* tiene una distribución muy amplia que abarca varios países del mundo, pero está ampliamente identificado y estudiado en el continente europeo, donde el principal artrópodo vector es la garrapata común de la oveja (*Ixodes ricinus*). Los roedores así como especies de rumiantes silvestres, son considerados como reservorios naturales de este microorganismo cuya distribución depende de la presencia de hospederos, vegetación, áreas agrícolas y tipo de ecosistema. Este microorganismo pasa la mayor parte de su ciclo normal de vida dentro de la garrapata, ya su desarrollo se lleva a cabo transstadialmente, es decir, mientras el vector se alimenta de vertebrados, la infección se puede llevar a cabo en múltiples especies de hospederos (Taylor *et al.*, 2007).

Esta enfermedad es mantenida a través del ciclo de transmisión de la garrapata *Ixodes spp.*, en el este de los Estados Unidos la garrapata *I. escapularis* es el principal vector del microorganismo, mientras que en el occidente de E.U. es la garrapata *I. pacificus*, en Europa el principal vector identificado es la garrapata *I. ricinus* y en Asia el vector identificado es la garrapata *I. persiculatus* (Dumler *et al.*, 2005).

2.18.3 Ciclo de vida y transmisión de *Anaplasma phagocytophilum*

La transmisión se da por medio de la picadura de la garrapata *Ixodes spp.*, el microorganismo es transmitido transtadialmente y no transovaricamente (Taylor *et al.*, 2007). La garrapata se vuelve portadora del microorganismo al alimentarse de sangre infectada como se observa en la figura 4, el *A. phagocytophilum* invade y comienza a replicarse dentro de las células del intestino de la garrapata como parte de su ciclo de vida, luego migra hacia las glándulas salivales de la garrapata donde completa su maduración. Una vez que la garrapata cambia de huésped en el transcurso de su muda y al alimentarse de él, transmite al microorganismo en su etapa infectiva. Una vez el microorganismo se encuentra dentro del huésped, esta comienza a atacar a los granulocitos, especialmente a los neutrófilos, donde una vez dentro de estos, comienza a replicarse por fisión binaria hasta formar mórulas las cuales al reventarse liberan réplicas del *Anaplasma spp.* que infectan nuevos neutrófilos (Taylor *et al.*, 2007; Galindo *et al.*, 2012).

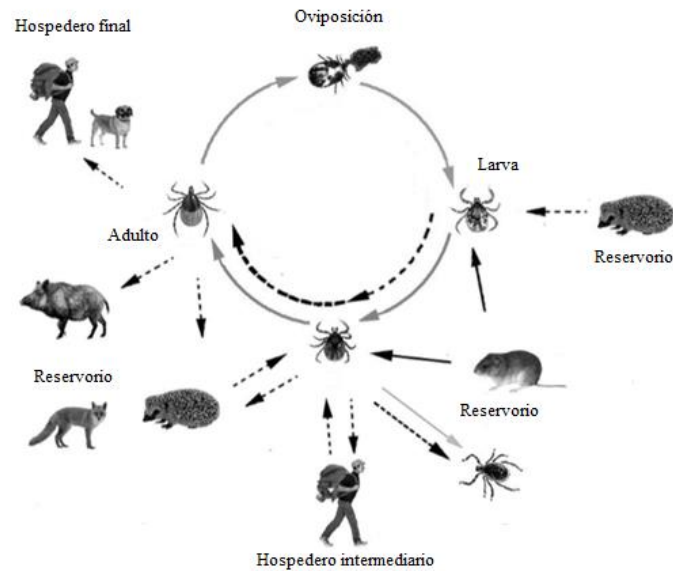


Figura 4. Ciclo biológico de *A. phagocytophilum* (obtenido de Karbowski *et al.*, 2016).

2.18.4 Fisiopatología y signos clínicos de *Anaplasma phagocytophilum*

Una vez que el microorganismo entra a la dermis gracias a la mordedura de garrapata, tienen un periodo de incubación de aproximadamente 4 a 14 días, esta bacteria comienza a migrar por vía sistémica por sangre o linfa y así buscar granulocitos maduros y comenzar su ciclo, a medida que el ciclo del microorganismo avanza, comienza a desarrollarse una serie de acontecimientos inmunopatológicos como la liberación de citoquinas y estimular la actividad de fagocitos mononucleares no específica que conlleva a una secuencia de inflamaciones y síndromes de shock sépticos que conllevan a procesos de alveolitis e inflamación pulmonar. La disfunción de los neutrófilos infectados ocasiona una depresión del sistema inmunológico del huésped y ocasiona infecciones secundarias (Taylor *et al.*, 2007).

Los signos clínicos en caninos comienzan con un síndrome de fiebre, se pueden presentar otros signos inespecíficos como letargia, anorexia, artritis, esplenomegalia, diarrea, dificultad locomotora, daños neurológicos, hemorragias frecuentes y falla de órganos por shock bacteriémico (Foley *et al.*, 2005; Taylor *et al.*, 2007).

En humanos los signos clínicos más comunes son la fiebre, dolor de cabeza, mialgia, leucopenia, trombocitopenia, miocarditis, daños en sistema nervioso, distres respiratorio, daños severos en hígado que conllevan a ictericia, shock bacteriémico y muerte (Dumler *et al.*, 2005; Dumler *et al.*, 2007).

muy grande, por lo cual su margen de infección entre distintas especies de hospederos está documentada (Kocan *et al.*, 2000). La garrapata *Rhipicephalus* spp, al no tener demasiada especificidad entre hospederos y como se ha reportado con anterioridad, la fauna silvestre y las especies domesticas tienen una participación muy grande en la diseminación de esta enfermedad hacia la población humana y hacia los ecosistemas (Quintero *et al.*, 2012).

2.19.3 Ciclo Biológico y fisiopatología de *Ehrlichia canis*

La infección ocurre a través de la mordida de la garrapata café del perro (*R. sanguinus*) infectada. La transmisión en la garrapata ocurre transestadialmente y no transovaricamente, es decir, las larvas se infectan del microorganismo cuando se alimentan de sangre de un canido infectado de la enfermedad, debido a que el microorganismo al igual otras bacterias transmitidas por vectores, maduran en las glándulas salivales de la garrapata, mientras la garrapata transmite la infección a través de sus cambios de hospedero desde que se encuentra en la fase de ninfa, hasta que llega a la fase adulta respectivamente (Taylor *et al.*, 2007).

No se conoce con exactitud la fisiopatología de la Ehrlichiosis. Pero al igual que otras enfermedades transmitidas por garrapatas, las bacterias llegan a la sangre gracias a la mordedura de garrapata, una vez en torrente sanguíneo atacan a los leucocitos circulantes y a las células del sistema retículo endotelial, penetran dentro de la célula por fagocitosis y una vez dentro del citoplasma se cree que mediante reacciones de inhibición la función de fagosomas y lisosomas sea neutralizada y se retrase la apoptosis celular facilitando así la replicación del microorganismo y atacar otras células del torrente sanguíneo, esto conlleva a una disminución del sistema inmunológico del huésped y lo deja a merced de infecciones o enfermedades oportunistas. Las ehrliquis son infecciones sistémicas, por lo que provocan daños en diferentes órganos y sistemas del organismo huésped lo cual se manifiesta en los diferentes signos clínicos inespecíficos (Oteo y Brouqui, 2005).

2.19.4 Signos clínicos de *Ehrlichia canis*

La enfermedad causada por *E. canis* se manifiesta en tres fases, la fase aguda, subaguda y crónica. En las tres fases se pueden observar signos clínicos inespecíficos como fiebre, postración, esplenomegalia, anemia y trombocitopenia. Las fases aguda y subaguda no son muy específicas, dado que se observa depresión, anorexia, fiebre, pérdida de peso, descargas oculares y nasales, disnea, tos y edema de miembros, en la fase crónica se observa una pérdida progresiva de peso,

mucosas pálidas, petequias en mucosas y hemorragias nasales frecuentes, en casos más extremos se puede observar infertilidad, abortos, baja de la tasa de natalidad, neumonía y falla renal (Taylor *et al.*, 2007; Rojas-Triviño *et al.*, 2013).

2.20 Generalidades de *Rickettsia spp*

Es un microorganismo intracelular obligado gram negativo de aproximadamente 0.2 y 2.0 micras (Dantas-Torres, 2006), es de forma pleomórfica cocoidal que pertenece al orden de los rickettsiales y a la familia *Rickettsiaceae*, es el agente etiológico de la enfermedad llamada Fiebre manchada de las montañas rocallosas (Taylor *et al.*, 2007). Es considerada como la especie de rickettsia más patógena entre el orden de los rickettsiales (Dantas-Torres *et al.*, 2007; McVey *et al.*, 2013).

2.20.1 Distribución geográfica de *Rickettsia spp*

La distribución geográfica de este microorganismo se restringe a los países del hemisferio occidental. La prevalencia de este microorganismo se ha reportado prácticamente en todo Estados Unidos, el occidente y sur de Canadá, en todo México, Panamá, Costa Rica, noreste de Argentina, Rio de Janeiro, Espirito Santo, Bahía, Santa Catarina y Colombia (Dantas-Torres, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

2.20.2 Epidemiología de *Rickettsia spp*

La distribución de esta y otras enfermedades transmitidas por vectores, varían según la densidad y distribución de las garrapatas portadoras según el clima, cantidad y tipo de vegetación, así como la presencia de mamíferos silvestres que funcionen como portadores (Taylor *et al.*, 2007).

Como se mencionó con anterioridad, existe una importante evidencia serológica y molecular que demuestran la relevancia del papel que juegan los cánidos domésticos, y silvestres, así como otros mamíferos silvestres en el mantenimiento y dispersión de estas infecciones en diversas regiones de América (Quintero *et al.*, 2012).

2.20.3 Ciclo de vida y transmisión de *Rickettsia* spp

Los reservorios naturales de *Rickettsia* spp son las garrapatas duras de la familia *Ixodidae* de varios géneros y especies, el microorganismo es mantenido en la naturaleza a través de las distintas generaciones de garrapatas ya que este microorganismo es capaz de replicarse transovaricamente desde una garrapata hembra cargada con huevos, es decir, las larvas eclosionan del huevo ya infectadas. Otra manera de reproducción del microorganismo es mediante el clásico medio de alimentarse de sangre de roedores y otros mamíferos silvestres que sirven de reservorios para que este microorganismo siga latente entre las poblaciones de animales en medio natural y pueda amplificarse aún más (Dantas-Torres, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

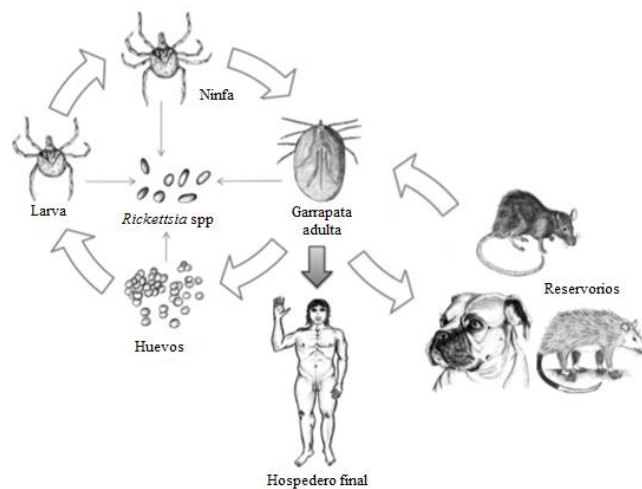


Figura 6. Ciclo biológico de *Rickettsia* spp (obtenido de Quintero *et al.*, 2012).

2.20.4 Fisiopatología y signos clínicos de *Rickettsia* spp

Una vez que el microorganismo entra al torrente sanguíneo mediante la saliva de la garrapata, comienza a invadir a las células endoteliales causando una vasculitis y activando rutas de coagulación y fibrinolíticas, lo cual provoca una trombocitopenia inmunomediada, la trombosis y todas los daños ocasionados en los endotelios de los vasos sanguíneos producen un colapso de irrigación en diferentes órganos y tejidos del organismo lo cual produce una hipoxia y una necrosis subsecuente, gracias a esto, se desarrollan múltiples signos sistémicos inespecíficos (Taylor *et al.*, 2007). Sin embargo la manifestación y severidad de los signos clínicos van a variar dependiendo del estado inmunológico del hospedero (Walker *et al.*, 2001).

Los signos clínicos en canidos durante los primeros días post infección son fiebre. Al transcurso de los días se pueden observar signos inespecíficos como letargia, inapetencia, mialgia, dificultad al andar y al levantarse, se pueden observar crecimiento de los nódulos linfáticos, edema subcutáneo y necrosis en la dermis, en la fase crónica se pueden observar petequias en mucosas oral y ocular y signos neurológicos por daño cerebral (Taylor *et al.*, 2007).

En humanos, después de tres días de la picadura, las personas afectadas suelen describir un fuerte dolor de cabeza que luego de algunos días comienzan a desarrollar otros signos inespecíficos como mialgia, anorexia, náusea, dolor abdominal, fotofobia. Después de las dos semanas después de la picadura de garrapata, comienzan a manifestarse maculas eritematosas en toda la piel de aproximadamente 1 a 5 milímetros de diámetro, las cuales a lo largo de los días comienzan a necrosarse y expandirse a través del tejido, en casos severos se ha visto la necesidad de amputar miembros (Dantas-Torres, 2006).

2.21 Generalidades de *Rickettsia rickettsii*

Es un microorganismo intracelular obligado gram negativo de aproximadamente 0·2 y 2·0 micras (Dantas-Torres, 2006), es de forma pleomórfica cocoidal que pertenece al orden de los rickettsiales y a la familia *Rickettsiaceae*, es el agente etiológico de la enfermedad llamada Fiebre manchada de las montañas rocallosas (Taylor *et al.*, 2007). Es considerada como la especie de rickettsia más patógena entre el orden de los rickettsiales (Dantas-Torres *et al.*, 2007; McVey *et al.*, 2013).

2.21.1 Distribución geográfica de *Rickettsia rickettsii*

La distribución geográfica de este microorganismo se restringe a los países del hemisferio occidental. La prevalencia de este microorganismo se ha reportado prácticamente en todo Estados Unidos, el occidente y sur de Canadá, en todo México, Panamá, Costa Rica, noreste de Argentina, Rio de Janeiro, Espirito Santo, Bahía, Santa Catarina y Colombia (Dantas-Torres, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

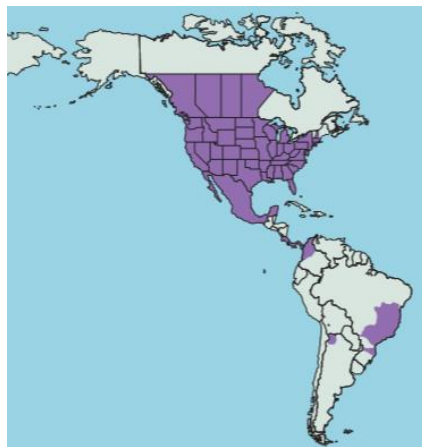


Figura 7. Distribución de *Rickettsia rickettsii* en el continente americano. El color morado muestra las regiones donde está registrada su presencia (obtenido de Dantas-Torres, 2007).

2.21.2 Epidemiología de *Rickettsia rickettsii*

El microorganismo *R. rickettsii*, está limitado únicamente al continente americano donde tienen una distribución que va desde el sur de Canadá, todo Estados Unidos, México y varios países de Centroamérica como Costa Rica y Panamá (Dantas-Torres *et al.*, 2006). La distribución de esta y otras enfermedades transmitidas por vectores, varían según la densidad y distribución de las garrapatas portadoras según el clima, cantidad y tipo de vegetación, así como la presencia de mamíferos silvestres que funcionen como portadores (Taylor *et al.*, 2007).

La garrapata americana del perro (*D. variabilis*) es el principal vector de *R. rickettsii* en casi todo Estados Unidos, mientras que la garrapata de la madera (*D. andersini*) es el principal vector del microorganismo en la región de Canadá, y la garrapata café del perro (*R. sanguineus*) es el principal vector en México (Dantas-Torres *et al.*, 2006) y la garrapata *Amblyomma cajennense* está identificada como la principal portadora de la enfermedad en Brasil (Quintero *et al.*, 2012).

En Argentina se hizo un estudio de recolección de garrapatas silvestres y de animales domésticos como caballos, perros y gatos, dichas garrapatas fueron identificadas como *Amblyomma spp.* y resultaron positivas a *R. rickettsii* mediante pruebas de detección de anticuerpos. Además de las especies de garrapatas mencionadas anteriormente, se ha registrado la presencia de bacterias de *R. rickettsii* en garrapatas de las especies *Haemaphysalis juxtakochi*, *H. leporispalustris*, *Amblyomma parvum*, *A. neumanni*, *A. aureolatum*, *A. longirostre*, *A. ovale*, *A. cooperi* e *Ixodes loricatus*, además de otras especies de artrópodos vectores como pulgas de las especies *Polygenis spp* y *Anomiopsyllus nudata* (Quintero *et al.*, 2012).

2.21.3 Ciclo de vida y transmisión de *Rickettsia rickettsii*

Los reservorios naturales de *R. rickettsii* son las garrapatas duras de la familia *Ixodidae* de varios géneros y especies, el microorganismo es mantenido en la naturaleza a través de las distintas generaciones de garrapatas ya que este microorganismo es capaz de replicarse transovaricamente desde una garrapata hembra cargada con huevos, es decir, las larvas eclosionan del huevo ya infectadas. Otra manera de reproducción del microorganismo es mediante el clásico medio de alimentarse de sangre de roedores y otros mamíferos silvestres que sirven de reservorios para que este microorganismo siga latente entre las poblaciones de animales en medio natural y pueda amplificarse aún más (Dantas-Torres, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

2.21.4 Fisiopatología y signos clínicos de *Rickettsia rickettsii*

Una vez que el microorganismo entra al torrente sanguíneo mediante la saliva de la garrapata, comienza a invadir a las células endoteliales causando una vasculitis y activando rutas de coagulación y fibrinolíticas, lo cual provoca una trombocitopenia inmunomediada, la trombosis y todos los daños ocasionados en los endotelios de los vasos sanguíneos producen un colapso de irrigación en diferentes órganos y tejidos del organismo lo cual produce una hipoxia y una necrosis subsecuente, gracias a esto, se desarrollan múltiples signos sistémicos inespecíficos (Taylor *et al.*, 2007). Sin embargo la manifestación y severidad de los signos clínicos van a variar dependiendo del estado inmunológico del hospedero (Walker *et al.*, 2001).

Los signos clínicos en caninos durante los primeros días postinfección son fiebre. Al transcurso de los días se pueden observar signos inespecíficos como letargia, inapetencia, mialgia, dificultad al andar y al levantarse, se pueden observar crecimiento de los nódulos linfáticos, edema subcutáneo y necrosis en la dermis, en la fase crónica se pueden observar petequias en mucosas oral y ocular y signos neurológicos por daño cerebral (Taylor *et al.*, 2007).

En humanos, después de tres días de la picadura, las personas afectadas suelen describir un fuerte dolor de cabeza que luego de algunos días comienzan a desarrollar otros signos inespecíficos como mialgia, anorexia, náusea, dolor abdominal, fotofobia. Después de las dos semanas después de la picadura de garrapata, comienzan a manifestarse maculas eritematosas en toda la piel de aproximadamente 1 a 5 milímetros de diámetro, las cuales a lo largo de los días comienzan a

necrosarse y expandirse a través del tejido, en casos severos se ha visto la necesidad de amputar miembros (Dantas-Torres, 2006).

2.22 Métodos de diagnóstico de Patógenos rickettsiales

Existen pruebas inmunológicas directas e indirectas para el diagnóstico y detección de rickettsiales. Por lo regular las pruebas más usadas son las de detección molecular con mayor precisión como PCR, IFA, y ELISA, sin embargo también existen otras técnicas de diagnóstico rápido como el frotis sanguíneo en conjunto a diferentes tipos de tinciones. Estos tipos de técnicas pueden variar de acuerdo al patógeno rickettsial en cuestión tal como se observa en el cuadro 9.

Cuadro 9. Técnicas de diagnóstico mayormente empleadas según el tipo de patógeno	
Patógeno	Técnicas de diagnóstico
<i>A. phagocytophilum</i>	Frotis sanguíneo con tinción de wright Elisa PCR IFA
<i>E. canis</i>	Frotis sanguíneo con tinción de Romanovsky, Machiavello o Plata Elisa PCR IFA
<i>Rickettsia spp</i>	Inmunohistoquímica (IHQ) IFA PCR Ensayo inmunoenzimático (EIA)
(Courtney <i>et al.</i> , 2004; Taylor <i>et al.</i> , 2007; Quintero <i>et al.</i> , 2012; Rojas-Triviño <i>et al.</i> , 2013)	

2.23 Tratamiento de enfermedades causadas por rickettsiales

El tratamiento tanto para humanos como para animales de elección en las enfermedades rickettsiales son los antibióticos de la familia de las tetraciclinas como son la tetraciclina, oxitetraciclina, la doxiciclina entre otros tipos de antibióticos de menor o dudosa eficacia. Sin embargo, el tratamiento para este tipo de infecciones tiene que ser temprano, es decir, cuando apenas se sospeche de la enfermedad en base a la historia, síntomas y signos clínicos ya que si ya se presentan daños crónicos en órganos y tejidos además de necrosis, la antibioterapia no dará resultado y la persona o animal morirá. La recuperación de la enfermedad en base al tratamiento se ha descubierto que está estrechamente asociada al estado inmunológico del hospedero. Los diferentes tratamientos y sus dosis pueden verse en la cuadro 10.

Cuadro 10. Tratamientos comúnmente empleados durante las enfermedades causada por rickettsiales

Patógeno	Tratamiento de elección
<i>A. phagocytophilum</i>	Doxiciclina 5-10 mg/kg en cánidos 2.2 mg/kg en humanos
<i>E. canis</i>	Doxiciclina 5-10 mg/kg en cánidos 2.2 mg/kg en humanos Tetraciclinas 2.2 mg/kg en cánidos Oxitetraciclinas 25 mg/kg en cánidos Cloranfenicol 50 mg/kg en cánidos
<i>Rickettsia</i> spp	Doxiciclina 5-10 mg/kg en cánidos 2.2 mg/kg en humanos Tetraciclinas 2.2 mg/kg en humanos 10 mg/kg en cánidos

(Taylor *et al.*, 2007; Quintero *et al.*, 2012; CDC, 2016)

3. HIPÓTESIS

Debido a que en la región de estudio ya están registradas la presencia ectoparásitos vectores de patógenos rickettsiales como *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Rickettsia*, y por su cercanía al Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, la población de coyotes (*Canis latrans*) será positiva a la presencia de dichos parásitos y patógenos.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia y de ectoparásitos vectores y patógenos rickettsiales en la población de *Canis latrans* dentro del Área de Protección Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, Chihuahua.

4.1 Objetivos específicos

1. Identificar ectoparásitos vectores colectados de los coyotes capturados.
2. Detectar la presencia de *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en sangre de coyote del área protegida de Samalayuca.
3. Determinar mediante análisis estadístico si existe relación de la presencia o ausencia de los patógenos rickettsiales con el sexo del coyote, presencia de ectoparásitos y temporada de muestreo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del área de estudio

El Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca se encuentra dentro de la región conocida como el desierto Chihuahuense, en la provincia biótica denominada llanuras y Médanos del Norte de México. Tiene una latitud N: 31°21' 55" y una longitud W: 106°31'57" (Rodríguez, 2011). En esta región convergen ecosistemas desérticos complejos con características similares, determinadas por el comportamiento climático y tipos de suelos, mismos que determinan aptitudes típicas de manejo y explotación. Está situada a 50 kilómetros al sur de Ciudad Juárez. Es parte de los municipios Juárez y Guadalupe, cuya superficie total es de 63, 182, 330,7.035 hectáreas, que incluye parte de los ejidos Ojo de la Casa, Villa Luz, Samalayuca y El Vergel (CONANP, 2013).

El clima es típico de la porción norte centro del desierto de Chihuahua del tipo semidesértico con lluvia en verano con temperatura media anual de 16 a 18 °C. La temperatura máxima registrada durante los meses más calientes es de 41.2 grados centígrados y la mínima de -16.0 °C (CONANP, 2013).

En el área de estudio son distinguidas tres unidades geomórficas que son sierras, pie de monte y bolsones (CONANP, 2013). La unidad de las sierras está representada por la sierra de Presidio y la sierra de Samalayuca. La sierra de Samalayuca tiene una elevación máxima de mil 760 metros sobre el nivel del mar (CONANP, 2013).

En cuanto a la descripción de flora nativa, se tiene registrada una lista florística de aproximadamente 248 especies de plantas distribuidas en 36 familias botánicas, dentro de las más representativas de la región son las *familias Poaceae, Asteraceae, Cactaceae y Fabaceae*. Dentro de estas familias se determinan cinco tipos de vegetación diferentes dentro del área natural protegida (CONANP, 2013).

El matorral inerme parvifolio está constituido por especies arbustivas de talla mediana de uno o dos metros de altura. Se encuentra distribuido en las faldas de la sierra de Samalayuca. También se localiza en lomeríos al este, sur y sureste del poblado de Samalayuca, en el predio de La Pedrera y en las faldas de la sierra Presidio. Ocupa en total una superficie de 1,816.88 hectáreas, lo que equivale al 2.87% del área total. Las especies arbustivas que caracterizan este tipo de vegetación son: la gobernadora (*Larrea tridentata*), hojansen (*Parthenium incanum*), mezquite

(*Prosopis juliflora*), largoncillo (*Acacia constricta*), junco (*Koeberlinia spinosa*) y agrillo (*Rhus microphylla*), entre otras de menor abundancia. El estrato herbáceo está representado por una variedad de pastos forrajeros y hierbas anuales y perennes. Este tipo de matorrales son refugios ideales para diversas especies de fauna silvestre, así como zonas de reproducción de las mismas (CONANP, 2013).

El matorral de médanos subinermes está constituido por especies arbustivas de una talla aproximada de uno a dos metros de altura que forman casi el 50% de la vegetación total del área. Se distribuye dentro del área circundando la sierra Presidio. Ocupa una superficie de 5,617.60 hectáreas que equivalen al 8.86% del área. Las especies arbustivas que lo caracterizan son: la gobernadora (*Larrea tridentata*), mezquite (*Prosopis juliflora*), hojaseñ (*Flourensia cernua*) y largoncillo (*Acacia constricta*). Estas especies de arbustos se encuentran ejerciendo la transición entre el matorral de médanos y el pastizal amacollado abierto de la Sierra Presidio, por lo que se considera una zona de gran importancia como refugio para la fauna silvestre (CONANP, 2013).

El pastizal amacollado está compuesto por especies de gramíneas grandes, blandas, perennes y fasciculadas. Se distribuye en las sierras de Samalayuca, donde ocupa una superficie de 2,744.06 hectáreas, lo que equivale al 4.33% del área total. La vegetación dominante está caracterizada por especies de gramíneas, pero en el estrato herbáceo y arbustivo encontramos una amplia diversidad de especies carnosas y rosetófilas, de las cuales las más importantes son: nopales (*Opuntia spp.*) y una gran cantidad de cactáceas y agaváceas como palma (*Nolina texana*), palmilla (*Nolina texana*), sotol (*Dasyllirion acrotiche*), entre otras (CONANP, 2013).

Las áreas de pastizal inducido se forman debido al desarrollo de zonas forrajeras o de cultivo agrícola que fueron descontinuadas y abandonadas, pero las semillas caídas se desarrollaron y siguen continuando el ciclo de la planta en el área. Esto conlleva al establecimiento de praderas de gramíneas de talla mediana de 0.5 a un metro de altura. Generalmente se localizan en pequeñas áreas cercanas a los poblados de Samalayuca y el ejido Villa Luz. Ocupa una extensión de 393.71 hectáreas, que corresponden al 0.62% del total del área. Las especies que lo caracterizan son: zacatón alcalino (*Sporobolus airoides*, *S. flexuosus* y *S. contractus*), navajita anual (*Bouteloua barbat*). Por su dimensión y condición temporal no se considera muy relevante su presencia en el área protegida (CONANP, 2013).

El matorral de médanos está conformado por agrupaciones de plantas dispersas y efímeras con alta resistencia a la sequía y gran poder de adaptación a medios desfavorables, tanto de climas como el suelo. La zona se caracteriza por montículos de arena en forma de fajas y dunas móviles

por acción del viento, formando el típico desierto arenoso. Por sus características los matorrales de médanos están clasificados en tres grupos que son el matorral de dunas altas, el matorral de dunas bajas y el matorral de médanos semi móviles. El matorral de médanos semi móviles en dunas altas se encuentra en la porción central, sur y suroeste del área protegida, ocupando una superficie de 15,416.36 hectáreas, equivalentes al 24.31% del total. Se caracteriza por la inestabilidad del suelo, ocasionada por la acción del viento, por lo que la vegetación es escasa y efímera. Las especies de plantas que se encuentran son el mezquite (*Prosopis juliflora*), el chamizo (*Atriplex canescens*) y estafiate (*Artemisia filifolia*). El matorral de médanos semi móviles de dunas bajas forma una especie de corredor con vegetación, localizado alrededor de las dunas sin vegetación. Ocupa una superficie de 2,368.4 hectáreas, que equivale al 3.74% del total. El matorral de médanos estabilizados está rodeado de matorrales y pastizales de diferentes tipos. Abarca una superficie de 22,104.6 hectáreas, equivalentes al 34.86% del área total. Las especies caracterizadas son el chamizo (*Atriplex canescens*) y el mezquite (*Prosopis juliflora*), estos arbustos además de ser alimento para ganado, son retenedores de humedad. Existen además otras plantas herbáceas y arbustivas tanto anuales como perennes (CONANP, 2013).

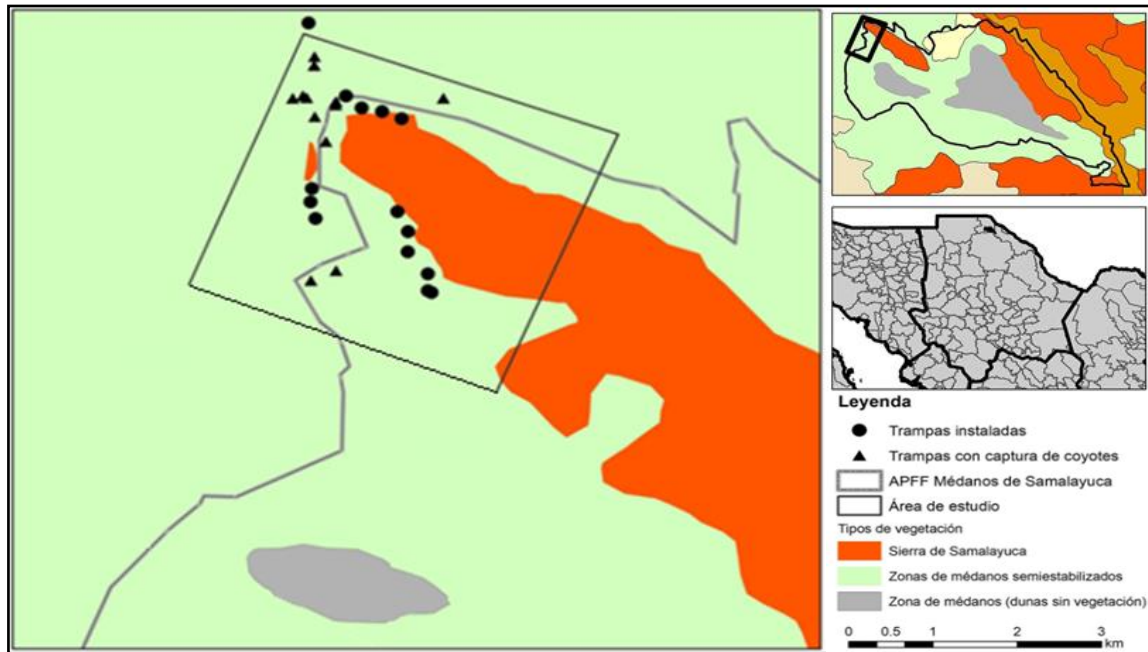


Figura 8. Área de protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, la cual se encuentra en la Carretera Federal 45, situado a 45 km al sur de Ciudad Juárez, Chihuahua (ArcGis: Cortesía de Jesús Martínez Calderas).

5.2 Trabajo de campo

Se realizaron un par de salidas preliminares en enero y febrero de 2018 para determinar y corroborar los puntos de colecta, mediante la localización de zonas de actividad del coyote como son la identificación de huellas y excretas, como se observa en la figura 9.



Figura 9. Referencias usadas para el establecimiento de puntos por actividad del coyote (a) huellas de coyote, (b) excretas de coyote.

En el área de estudio, se colocaron 15 trampas tipo cepo de acero y goma modelo Víctor del número 3 tal como la figura 8, al lado de los caminos y veredas donde previamente se haya registrado la actividad (Arias-Del Razo *et al.*, 2012; Clemente-Sánchez *et al.*, 2017). Una vez seleccionado el punto, se procedió a instalar, camuflar y asegurar cada trampa para así disminuir la posibilidad de huida del animal, antes de retirarse del lugar se procedió finalmente a colocar cebos que consistieron en hígado de res fresco, sardinas y orines de coyote comerciales y eliminar huellas u otro rastro humano (Arias-Del Razo *et al.*, 2012; Clemente-Sánchez *et al.*, 2017). Los puntos de captura y muestreo estuvieron separados a un mínimo de 100 metros el entre trampas a criterio de los puntos de actividad del coyote (Álvarez-Castañeda *et al.*, 2017), los cuales fueron cebadas entre las 17:00 y 19:00 horas e inspeccionadas al amanecer entre las 5 y 6:00 horas, obteniendo así un promedio aproximado de 360 horas de esfuerzo de muestreo por salida a campo.



Figura 10. Trampa cepo modelo Víctor No. 3 con cubierta de goma.

Se excluyeron todas aquellas especies domésticas o silvestres capturadas por los cepos que sean ajenas a los objetivos del proyecto o que no se encuentre dentro del permiso de colecta autorizado por la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) con el número de oficio N°SGPA/DGBS/003086/18, por lo cual si dichas especies ajenas llegan a ser capturadas, fueron liberadas de manera inmediata.

Una vez que los coyotes fueron capturados y sometidos con uso de lazacuellos, se empleó una combinación de fármaco disociativo y un relajante muscular que son Ketamina y Xilacina a una dosis de 10 mg/kg y 0.5 mg/kg respectivamente por vía intramuscular como se observa en la figura 9, dichos fármacos y sus respectivas dosis ya están estandarizadas para el coyote (West *et*

al., 2007), las dosis fueron ajustadas de acuerdo a los pesos promedio descritos del coyote chihuahuense previamente descritos por Hernández y Laundré, 2014.



Figura 11. Inyección anestésica en el coyote una vez sometido con el lazacuellos.

Como métodos de marcaje se emplearon dos técnicas que fueron la aplicación de violeta de genciana directamente en la piel del abdomen como marca temporal y otra técnica empleada fue la realización de muescas en forma de cuña de un ancho de 1 cm y largo de 2cm en la escapa del oído izquierdo como marca permanente.

Una vez que los datos del coyote y del punto de captura hayan sido registrados, se procedió a tomar muestra de sangre, para esto se utilizó una jeringa de 3 ml con la cual se le tomo a muestra de aproximadamente 3 ml directamente de la vena cefálica de cualquiera de los dos miembros anteriores como se observa en la figura 12, se colocó la muestra en tubos de EDTA los cuales se almacenaron en hielera con bolsas de gel refrigerante de 4 a 8° C, previo a esto el área de toma de muestra será desinfectada con alcohol y agua oxigenada y ayudando a la localización de la vena con presión empleada por una liga. Una vez obtenida la muestra en el tubo de EDTA se homogenizo por inversión de una manera lenta y cuidadosa y se colocó dentro de una hielera con refrigerante, posteriormente se procedió a buscar en diferentes áreas anatómicas como cuello, orejas, espacios interdigitales, axilas y cuerpo en general en busca de ectoparásitos. Solo se encontraron pulgas entre el pelaje y no hubo rastro otros ectoparásitos. Para la colecta de pulgas se utilizó un cepillo de cerdas firmes para extraerlas del pelaje y posteriormente se colocaron en tubos con etanol al 70% para su almacenamiento, preservación e identificación taxonómica.



Figura 12. Toma de muestra sanguínea en el coyote por vena cefálica.

Una vez terminada la ronda del día se llevaron las muestras inmediatamente al laboratorio de Biotecnología de la UACJ y ese mismo día se retornó al área de estudio para continuar con el muestreo. Dichas muestras fueron foliadas, marcadas y registradas de acuerdo al número de coyote y hoja de campo.

5.10 Trabajo de laboratorio

Ya dentro del laboratorio, las muestras fueron refrigeradas a una temperatura de congelación a -20°C hasta su procesamiento para la prueba diagnóstica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). El almacenamiento de los especímenes consistió en someterlas a congelamiento a -20° para la posterior identificación por claves taxonómicas.

5.10.1 Identificación de ectoparásitos

Los especímenes fueron identificados mediante claves taxonómicas descritas por Pratt y Wiseman (1962) con uso de estereoscopio se identificaron los especímenes mediante la forma y presencia de estructuras en la cabeza. Se observó que todos los especímenes carecían de ctenidios o peines pronotales y genales lo cual lo descarto de otras especies que son características por tener solo uno o ambos peines, y contando en consideración otros aspectos característicos como la forma redondeada de la cabeza, de tal modo se logró diferenciar cada espécimen de pulga de otras especies de pulga.

5.10.2 Extracción de ADN de muestras sanguíneas

La extracción de ADN de las muestras de sangre obtenidas del coyote se llevó a cabo mediante el método fenol: cloroformo: alcohol isoamílico descrito por Sambrook y Rusell (2001). Se extrajo con una pipeta 250 µl de sangre de coyote entera y se añadió 400 µl de solución buffer lisis (Tris HCL 0.2 M, EDTA 10 mM, NACL 0.5 M y SDS 1%), junto con proteinasa K 20 mg/ml a una cantidad de 2.5 µl. Posteriormente la muestra se sometió a vortex por 2 segundos y después se colocó en termoblock a 100° C por 10 minutos, después se dejó reposar a temperatura ambiente por 3 minutos y se añadieron 400 µl de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico a una proporción de 24:24:1, se volvió a someter a vortex por dos segundos y centrifugada a 12,000 rpm por 3 minutos, luego la capa superior fue aislada en otro tubo y se sometió a lavado por dos ocasiones más. El tercer lavado se realizó con 400 µl de cloroformo:alcohol isoamílico a proporción 24:1 y se sometió nuevamente a vortex por 2 segundos y se centrifugó a 12,000 rpm por 3 minutos, luego se contabilizó la fase acuosa y fueron añadidos 1/10 del volumen de acetato de sodio 3 M 5.4 pH y 2 volúmenes de etanol frío y se almacenó la muestra a -20 ° C por 24 horas y se volvió a centrifugar a 14,000 rpm por 10 minutos a 4°C donde después se retiró el sobrenadante y se añadieron 500 µl de etanol frío a una concentración al 75% para centrifugar nuevamente a 7,500 rpm por 5 minutos y el producto obtenido se dejó secar por 15 minutos y se colocó posteriormente en 30 µl de agua estéril. Una vez terminado este proceso, las muestras obtenidas fueron almacenadas a -20 °C hasta que vaya a realizarse la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

5.10.3 Cuantificación de ADN obtenido

Para la obtención de estos parámetros se utilizaron los métodos descritos por Sambrook y Rusell, 2001. La concentración de ADN fue estimada por espectrofotometría con uso de Nanodrop, primero se calibró el lente con 2 µl de agua estéril y luego se colocó 2 µl de cada una de las muestras y se midió la absorbancia a 260 nm y 280 nm utilizando la fórmula $ADN = \frac{A_{260}}{D} \times 50 \mu g/ml$ D= factor de dilución. Y el grado de pureza se calculó dividiendo la absorbancia a 260 nm entre la absorbancia a 280 nm.

Se verificó la integridad del ADN mediante la técnica de electroforesis horizontal en gel de agarosa a una concentración al 1%, los cuales fueron preparados con una combinación de 20 ml de buffer TAE 1X y 0.2 gr de agarosa, a dicha mezcla se le agregó 10 µl de bromuro de etidio al

0.1%. Los geles se cargaron con 5 µl de buffer carga con 1,000 ng de ADN. Los geles electroforéticos una vez preparados se corrieron a una carga de 100 volts durante un periodo de 30 minutos y finalmente visualizados con uso de tras iluminador.

El ADN que se obtuvo de la sangre de coyote fue procesado y analizado para la identificación de fragmentos específicos de genes diana para la detección de los patógenos rickettsiales: *Rickettsia* spp, *Rickettsia rickettsii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia canis*.

5.10.4 Reacción en cadena de la polimerasa

Para la amplificación de los fragmentos de ADN de los patógenos rickettsiales se utilizaron 200 ng de ADN al cual se le añadió 1 µl de cebador sentido (20 mM) y 1 µl de cebador antisentido (20 mM), 12.5 µl de Master mix (dNTP's 10 mM, MgCl₂ 3 mM y Taq Polimerasa 50 U/µl) y una cantidad de agua destilada estéril necesaria para obtener una reacción con un volumen de 25 µl. Las características y condiciones necesarias para la amplificación específica de cada patógeno rickettsial de interés en el estudio se describen en el cuadro 11.

Cuadro 11. Oligonucleótidos usados para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Patógeno	Fragmento de gen diana	Oligonucleótidos 5' - 3'	Referencia
<i>Rickettsia</i> spp	GltA CS-78 CS-323	F: 5' GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT 3' R: 5' GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT 3'	Labruna, 2007
<i>Rickettsia rickettsii</i>	OmpA1	F: 5' ATGGCGAATATTTCTCCAAAA 3' R: 5' AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT 3'	Labruna, 2007
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	16SrRNA	F: 5' GGCATGTAGGCGGTTTCGGTAAGTT 3' R: 5' CCCCACATTCAGCACTCATCGTTTA 3'	Ghafari y Amer, 2011
<i>Ehrlichia canis</i>	EC1 EC2	F: 5' CGGACAATTATTTATAGCCTC 3' R: 5' CCATTACCTCACCAACTAG 3'	Pusterla <i>et al.</i> , 2000

5.10.5 Análisis electroforético

Los productos que resultaron amplificados mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), fueron observados por medio de electroforesis horizontal en gel con una concentración al 2.0% de agarosa. Estos geles fueron preparados usando 20 ml de solución buffer

la cual consistió con una mezcla de: TAE 1X (Tris base 1M pH 8 EDTA .5M pH 8 y ácido acético glacial) como también 0.44 gr de agarosa y 10 µl de bromuro de etidio al 0.1%.

Una vez elaborados los geles, estos fueron cargados con 5 µl de marcador de pares de bases de 100 pb y 10 µl del producto del PCR. Una vez hecho lo anterior, los geles fueron corridos con una carga de 100 volts durante 30 minutos y observados con el uso de transiluminador.

5.11 Análisis estadístico

El análisis se realizó con el paquete estadístico SAS, donde se realizaron dos pruebas estadísticas de variables categóricas siendo la primera la prueba de χ^2 y la Prueba Exacta de Fisher, donde se tomaron en cuenta a los patógenos rickettsiales como variables categóricas: *Rickettsia* spp, *Rickettsia rickettsii*, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* contra otras variables categóricas como: sexo del animal, presencia de pulgas y estación anual de muestreo como variables dependientes. El intervalo de confianza utilizado fue del 95%, mínimo empleado para los estudios de tipo biológico.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Resultados de captura y muestreo de coyotes

Se capturaron un total de 21 coyotes entre junio del 2018 y enero del 2019. Cinco de los coyotes fueron capturados en verano y 16 durante el invierno. De los 21 coyotes 9 resultaron positivos a ectoparásitos encontrando pulgas únicamente. La proporción sexual de los coyotes capturados fue de 15 machos y 6 hembras. Todos los ejemplares capturados se encontraron aparentemente sanos y no hubo efectos adversos hacia la salud de cada coyote durante el manejo o anestesia. El análisis estadístico no proporciono diferencia significativa entre el sexo de los coyotes y la presencia de *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*.

6.2 Resultados y discusión de la identificación de pulgas y ausencia de otros ectoparásitos

De los coyotes muestreados solo se colectaron pulgas y no se encontró ninguna otra especie de ectoparásito; Hernández y Laundré (2007) mencionan que la población de coyotes no suele presentar especies de ectoparásitos como los piojos, sugiriendo una resistencia inmunológica. La única especie de garrapata descrita en la región donde se llevó a cabo el presente estudio es la especie *Rhipicephalus sanguineus* o garrapata café del perro (Castañón, 2016), sin embargo, dicha garrapata no se encontró en ninguno de los coyotes muestreados. Dantas-Torres (2010) propone que dicha especie ataca preferentemente al perro doméstico como a conejos y ratas, así mismo, otros autores como Pusterla (2000) y Ebani (2011) mencionan que esta garrapata raramente afecta a especies silvestres o se limita a infestar a perros en Norteamérica. Dichas afirmaciones podrían explicar del porque la ausencia de esta especie de garrapatas en los coyotes del presente estudio. Hernández y Laundré (2007) mencionan que los coyotes en vida libre suelen tener niveles de infestación por pulgas que puede ser del 100% dependiendo la estación del año, dicho dato coincide con el índice de infestación por pulgas de casi el 50% en los coyotes muestreados del presente estudio. De las 15 especímenes de pulga colectados en total, fueron procesadas e identificadas mediante las claves taxonómicas descritas por Pratt y Wiseman (1962), las cuales fueron empleadas para la diferenciación de cada ejemplar de otras especies de pulgas y en base a las características morfológicas de las diferentes estructuras de la pulga como la ausencia de peines

pronotales y genales, así como la forma de la cabeza, ausencia de bastón queratinizado en la mesopleura se pudo llegar a la especie *Pulex irritans* o pulga del hombre (figura 13), la cual tiene una distribución a nivel mundial a excepción de los polos y es descrita por tener muy poca o nula especificidad de hospederos ya que se puede parasitar y atacar a diversas especies como animales silvestres, ganado doméstico y al humano. Eads (1948) describe diversas especies de pulgas encontradas en coyotes y lobos capturados en diferentes ciudades de Estados Unidos, Texas como Austwell, Crowell, Floydada, Vernon, Childres, Dickens, San Antonio, Sierra y Lubock donde se capturaron un total de 90 coyotes de los cuales se colectaron 2,280 especímenes de pulgas dentro de las cuales predominó la especie *P. irritans* con un total de 2,024 especímenes con el 88.77% de las pulgas colectadas, mientras que otras pulgas como *Echidnopaga gallinacea* resultó estar en segundo puesto con 255 especímenes que representó el 11.18% del total y solo se encontró un ejemplar de *Orchopeas sexdentatus* siendo solo el 0.04% del total de pulgas colectadas en los coyotes. Dentro del mismo estudio se capturaron 8 ejemplares de lobo en los estados de Vernon, Woodsboro, Marlin, Tennessee y Victoria, se obtuvieron un total de 64 especímenes de pulgas; 45 de la especie *P. irritans* (70.31%), 14 de *Echidnopaga gallinacea* (21.87%) y 5 de *Ctenocephalides felis* (7.81%), siendo en ambas especies *Pulex irritans* la especie de pulga predominante.

López-Pérez (2017) en la biosfera de Janos al noroeste del estado de Chihuahua, localizada aproximadamente a 220.7 km al oeste del APFF Médanos de Samalayuca, describe la presencia de múltiples especies de pulgas en varias especies silvestres capturadas como Coyote (*Canis latrans*), Gato Montes (*Linx rufus*), Mofeta encapuchada (*Mephitis macroura*), Mofeta rayada (*M. mephitis*), Mapache (*Procion lotor*), Tejon (*Taxidea taxus*), Zorro Gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y Zorro Norteño (*Vulpex macrotis*). En dicho estudio se identificaron 8 especies de pulgas de las cuales en orden de abundancia fueron *Pulex simulans*, *P. irritans*, *Echidnopaga gallinacea*, *Pulex* spp, *Thrassis aridis*, *Euplopyllus glacialis*, *Orchopseas sexdentatus* y *Oropsylla montana*. Siendo las especies de pulgas predominantes *P. simulans*, *P. irritans*, *Echidnopaga gallinacea* y *Pulex* spp. Dichos resultados contrastan con el presente trabajo y con el de Eads (1948), debido a la especie de pulga dominante. *P. simulans* fue la especie dominante en los coyotes de Janos (López-Pérez *et al.*, 2017) mientras que *P. irritans* fue dominante en los coyotes de Samalayuca y los de Eads (1948). López-Pérez (2017) propone que las diferentes especies de pulgas tienen diferentes requerimientos de ecosistemas; lo cual deja explícito que cada especie tiene su humedad, clima, vegetación y especificidad de hospederos; dichas características

conlleven a que una especie pueda tener mayor adaptabilidad que otras, por otro lado, se observó una correlación negativa entre especies de machos de pulgas, es decir, donde había mayor abundancia de machos de *P. simulans*, se encontró poca o nula abundancia de *P. irritans* y *E. gallinácea* y viceversa, en base a esto López-Pérez (2017) sugiere una competencia y agresión entre especies de pulgas por el territorio dentro de la población de hospederos; dicha hipótesis puede explicar los resultados de nuestro trabajo en el cual la especie predominante en su totalidad fue *P. irritans* como también en el de Eads (1948) en el cual la especie considerablemente predominante fue también *P. irritans*. Como se mencionó anteriormente en el trabajo de López-Pérez (2017) la latitud, características climáticas así como la biodiversidad de hospederos en la región de Janos puede estar favoreciendo la proliferación de *P. simulans* ante *P. irritans* y *E. gallinácea*, mientras que los resultados tanto de Eads (1948) y el nuestro pueden indicar que la latitud tanto del APFF Médanos de Samalayuca y las regiones del estado de Texas donde se realizó el trabajo de Eads (1948) donde en ninguno de los trabajos se reportó presencia alguna de *P. simulans* puede indicar que la región noreste de Chihuahua y México que es donde se encuentran ambas regiones de estudio negativas a *P. simulans*, no favorecen la proliferación de dicha especie de pulga pero si la de *P. irritans* debido al tipo de posibles diferencias de los ecosistemas como son la disponibilidad de especies de hospederos, el tipo de vegetación como también la humedad del entorno en ambas regiones.

Los resultados procesados por análisis estadístico no mostraron diferencia significativa entre la presencia o a ausencia de pulgas en los coyotes muestreados con la presencia de *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* (cuadro 13).

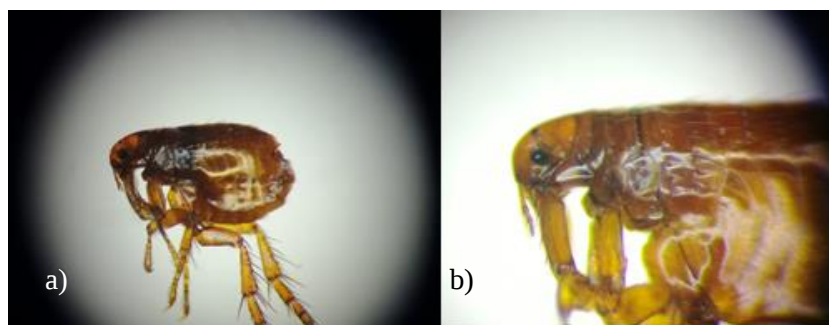


Figura 13. a) Pulga vista en cuerpo completo, b) porción cefálica de la pulga con aumento donde se aprecia la ausencia de ctenidios y se aprecia la forma de la cabeza.

6.3 Resultados y discusión de la detección de ADN de *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia canis* en la sangre de coyote mediante la Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Según los resultados observados en los campos del gel agarosa y la localización de las bandas de ADN, de las 21 muestras de sangre de coyote, dos resultaron positivos a *Ehrlichia canis* resultaron y uno resultado positivo a *Anaplasma phagocytophilum* (cuadro 12). Se sospechó que estos patógenos podían estar presentes en la población de coyotes debido a su cercanía con Juárez, región donde previamente esta reportada la presencia de algunos de estos patógenos así como su especie de ectoparásito vector siendo este la garrapata *R. sanguineus* (Escárcega *et al.*, 2018). En el estudio realizado por Castañón (2016) en Ciudad Juárez, Chihuahua, se realizó un diagnóstico por PCR de *A. phagocytophilum* y *Ehrlichia* spp, en garrapatas y muestras de sangre colectadas en perros, las garrapatas fueron identificadas como *R. sanguineus*. En dicho estudio, mediante la técnica de PCR, las garrapatas procesadas resultaron positivas a *A. phagocytophilum*, y a *Ehrlichia* spp, en cuanto a los resultados del PCR en las muestras sanguíneas de los perros se encontró una prevalencia del 88.89% de *A. phagocytophilum* y 76.19% de *Ehrlichia* spp. Escárcega (2018) también realizó un estudio de detección de *Ehrlichia* spp y *A. phagocytophilum* en perros y garrapatas de ciudad Juárez donde también se detectó la presencia de 40% de *Ehrlichia* spp y 27% de *A. phagocytophilum* en las muestras sanguíneas de perro. Como es sabido, los perros y los canidos silvestres como el coyote están estrechamente relacionados genéticamente por lo que debido a la distribución del perro así como la abundancia e igual distribución del coyote sumado a su alto riesgo de interacción entre ambas especies, los hace tanto a los unos como a los otros albergar patógenos y enfermedades que pueden transmitirse mutuamente (Brzeski *et al.*, 2015).

Nuestros resultados de *E. canis* son similares a los encontrados en 1,550 zorros rojos de Italia (Pusterla, 1999), 149 coyotes en Estados Unidos (Pusterla, 2000), 21 coyotes en Oklahoma (Kocan, 2000) 150 muestras de vaso en zorro rojo en Italia (Ebani, 2011), donde no se encontró presencia alguna de *E. canis* en las muestras procesadas por detección molecular en los respectivos estudios, contrastando con lo encontrado en 50 muestras de coyote en Oklahoma con 16% de prevalencia de *E. canis*, sin embargo, dicho número resulta ser relativamente bajo tomando en cuenta el número de muestras en dicho estudio. El principal ectoparásito vector de *E. canis* en el mundo es la garrapata de la especie *R. sanguineus* y el sitio donde se realizaron los respectivos estudios son regiones donde no hay distribución de *R. sanguineus* o su reporte es escaso, por lo

cual cada autor concluye que la baja o nula presencia del patógeno en las especies muestreadas se debe en una parte a la ausencia del vector en dichas regiones de muestreo. Sin embargo, otros autores mencionan que la garrapata *R. sanguineus* tiene preferencias de hospedero a especies como el perro, el conejo o la rata (Dantas-Torres, 2010), y otros donde menciona que dicha garrapata raramente ataca a especies silvestres y ha demostrado una preferencia al medio doméstico y por lo tanto a especies domésticas (Ebani, 2011), y finalmente otros autores mencionan que la garrapata *R. sanguineus* únicamente tiende a limitarse a atacar y parasitar al perro doméstico en Norteamérica (Pusterla, 2000) y los pocos reportes de esta garrapata en el coyote es debido posiblemente al translapamiento del hábitat del perro y del coyote, dando a entender que el coyote suele ser un hospedero accidental para esta especie de garrapata. La detección de *E. canis* en nuestro estudio fue del 4.76%, considerando la ausencia de la garrapata *R. sanguineus* en todos los coyotes capturados, y lo mencionado por Dantas- Torres (2010), Ebani (2011) y Pusterla (2000) acerca de la poca o nula tendencia de esta garrapata a parasitar a especies como el coyote, justifican la ausencia de *R. sanguineus* en todos los coyotes muestreados a pesar de la cercanía a una región donde está descrita la presencia de esta garrapata (Castañón, 2016; Escárcega *et al.*, 2018). También la ausencia de esta garrapata (previamente descrita como el principal vector de *E. canis*) en los coyotes podría explicar la baja presencia de *E. canis* en la población de coyotes de APFF Médanos de Samalayuca, Chihuahua.

En relación a *A. phagocytophilum*, los resultados fueron muy similares a los obtenidos para *E. canis*. Sin embargo, otras investigaciones encontraron diferentes prevalencias de acuerdo a la región y a el tipo de artrópodo vector de *A. phagocytophilum*: Foley (2005), realizó una detección de *A. phagocytophilum* en 215 muestras sanguíneas de coyote mediante IFA en el estado de California, Estados Unidos, se obtuvo una seroprevalencia del 39.5% y el principal artrópodo vector es la garrapata *Ixodes pacificus*. Otros estudios como el de Pusterla (1999) realizado en Switzerland, Suiza en 1550 muestras de sangre de zorro rojo (*Vulpes vulpes*) mediante IFA, obtuvo una seroprevalencia del 2,8% (44 muestras), mientras que Ebani (2011) realizó un estudio similar en Italia Central con PCR en 150 muestras de vaso de zorro rojo se obtuvo una prevalencia del 16.6 % (25 muestras). Torina (2013) realizó un estudio de detección de patógenos rickettsiales en pulgas colectadas de zorro rojo (110 en total) en la provincia de Sicilia, Italia, identificando *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides felis*, *C. canis* y *Cedipsylla inaequalis* con PCR, y encontró *A. phagocytophilum* en el 1% de las pulgas de la especie *X. cheopis*, también se menciona que esta

especie puede ser portadora de *A. ovis*, sin embargo aún no está confirmado si puede ser vector de *A. phagocytophilum* en esta región. Pusterla (1999), Ebani (2011) y Torina (2013), concuerdan que la garrapata vector de *A. phagocytophilum* es la especie *I. ricinus* en Europa, mientras que Foley (2005), identifica a la garrapata *I. pacificus* como vector de *A. phagocytophilum*. Por lo tanto, se supone que *A. phagocytophilum* tiene un mayor margen de vectores que *E. canis* la cual previamente se ha descrito como único vector a la garrapata *R. sanguineus* tanto en Estados Unidos como en Europa. Sin embargo, otros estudios (Castañón, 2016; Escárcega *et al.*, 2018) demuestran que *A. phagocytophilum* puede ser transmitida por *R. sanguineus* en el municipio de Ciudad Juárez, sitio donde se llevó a cabo el presente estudio, y la preferencia de *R. sanguineus* (Pusterla *et al.*, 2000; Dantas-Torres *et al.*, 2010; Ebani *et al.*, 2011) respaldan nuestro resultado de la poca presencia de *A. phagocytophilum* en los coyotes del APFF Médanos de Samalayuca, Chihuahua.

Los resultados procesados por análisis estadístico no mostraron diferencia significativa entre variables como sexo del coyote, presencia o ausencia de pulgas y temporada de muestreo con variables como *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia canis* (cuadro 13).

6.4 Resultados y discusión de la detección de ADN de *Rickettsia* spp y *Rickettsia rickettsii* en la sangre de coyote mediante la Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

De las 21 muestras sanguíneas de coyote procesadas: 19 resultaron positivas a *Rickettsia* spp y 19 dieron positivo a *R. rickettsii*. Tomando en cuenta que *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* como posibles patógenos independientes el uno del otro, todos los coyotes exceptuando el coyote 3 y 4 resultaron positivos con coinfección entre ambas rickettsias (cuadro 12). Dichos patógenos también fueron sospechosos de estar presentes en la población de coyotes de la región debido al resultado del trabajo de Castañón (2016) donde realizó detección mediante PCR de *R. rickettsii* en sangre de perro doméstico obteniendo una prevalencia total de positivos de 9.52% del total de perros muestreados.

Los resultados vistos sobre los patógenos del género *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, en contraste con los resultados de *A. phagocytophilum* y *E. canis*, mostraron un índice de muestras positivas considerablemente elevado del 90.47% del total de muestras. Pero al igual que *A. phagocytophilum*, los patógenos del género *Rickettsia* spp como el de *R. rickettsii* tienen

características que dificultan comparar los resultados de otras investigaciones con las del presente estudio ya que los patógenos del genero *Rickettsia* tienen un margen de dispersión y transmisión distinto al de *E. canis* (previamente descrito), así como un margen de hospederos aún mayor. En algunos de los resultados de las investigaciones revisadas se encontró que los resultados de *Rickettsia* seguían un mismo patrón de prevalencia de acuerdo a la presencia de potenciales vectores, como por ejemplo, Bischof y Rogers (2005) en Nebraska, Estados Unidos, realizaron un estudio de detección de *Rickettsia rickettsii* mediante IFA indirecta en sueros sanguíneos de 67 coyotes, con un índice de presencia del 13%, en esas regiones esta descrita la garrapata *Dermacentor* spp, considerada como potencial vector de *R. rickettsii*. Starkey (2012) en Oklahoma, Estados Unidos, donde *R. Rickettsii* tuvo un índice de positivos del 60% del total de muestras (77 muestras) con la técnica de IFA, en dicha región abunda la garrapata *D. variabilis* la cual se describe como el principal artrópodo vector de *R. rickettsii*. En otras investigaciones se describen otras especies de ectoparásitos como potenciales transmisores de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, como las pulgas, González (2018) menciona que en los últimos años especies como las pulgas han estado implicadas en la transmisión del grupo de fiebres manchadas dentro de las cuales patógenos como *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* forman parte, y tomando en cuenta lo mencionado por Abdad (2011) acerca de que más de 20 especies de pulgas están descritas como potenciales transmisoras de *Rickettsia felis* la cual también es causal de la fiebre manchada, como se mencionó anteriormente, podemos considerar que los patógenos del genero *Rickettsia* tienen un amplio margen de especies de potenciales artrópodos vectores además de las garrapatas.

En investigaciones sobre detección molecular de patógenos rickettsiales donde se involucran a pulgas como potencial vector, podemos observar resultados muy variados como los vistos en la investigación de Bermúdez (2012) realizada en Panamá, con pulgas de 47 perros y 5 gatos colectando un total de 52 pulgas, identificadas como *Ctenocephalides felis*, y mediante la técnica de PCR, 10 de 16 pools resultaron positivos a *Rickettsia felis*; Torina (2013) en su trabajo con zorro rojo con 110 pulgas identificadas como *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides canis*, *C. felis* y *Cediopsylla inaequalis*, los pools de *C. felis* resultaron positivos a *R. felis*. Otra investigación como la de Peniche-Lara (2015) realizada en el municipio de Okkutzcab, Yucatán, México, de detección de *Rickettsia rickettsii* y *Rickettsia felis* mediante la técnica de PCR en pulgas y garrapatas colectadas en 16 casas, se colectaron 106 especímenes de garrapatas y 65 especímenes de pulgas, identificadas como *Rhipicephalus sanguineus* y *C. felis* respectivamente, y una vez

obtenidos los resultados se observó que 28 de las 106 garrapatas resultaron positivas a *R. rickettsii* y 13 de las 65 pulgas positivas a *R. felis*, ninguna pulga fue positiva a *R. rickettsii* pero el autor sugiere que esta especie de pulga al ser también transmisora de *Rickettsia thypi*, podría ser portadora de *R. rickettsii*.

Como se puede observar, los resultados entre las diferentes investigaciones de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, y su relación con sus potenciales vectores son resultados muy variados, y difícilmente se pueden comparar con los obtenidos en el presente estudio. Castañón (2016) describe que en la región norte de Chihuahua, la garrapata *R. sanguineus* también esta reportada como vector de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, dicha especie de garrapata no se encontró presente en los coyotes y retomando lo descrito por Pusterla (2000), Dantas-Torres (2010) y Ebani (2011), como también tomando en consideración el alto porcentaje de coyotes positivos a *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* se podría sospechar que existe otro potencial vector responsable de la transmisión de dichos patógenos en el área de estudio. El único parasito presente en los coyotes muestreados fue *Pulex irritans*, en investigaciones de algunos autores como Abdad (2011) y Lareschi (2018) está descrita por ser potencial responsable de la transmisión de rickettsias como *R. felis* y *R. thypi*, también Lareschi (2018) describe a *P. irritans* como responsable de la aparición y transmisión de enfermedades pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas, grupo al cual pertenecen *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*. Tomando en consideración el índice de presencia de ambos patógenos en los coyotes (90.47% ambos), así como el índice de casi el 50% de presencia de pulgas en los coyotes sugiere que *P. irritans* podría ser el artrópodo responsable de la transmisión de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* y en los coyotes del APFF Médanos de Samalayuca, Chihuahua.

Los resultados procesados por análisis estadístico no mostraron diferencia significativa entre variables como sexo del coyote, presencia o a ausencia de pulgas y temporada de muestreo con variables como *Rickettsia* spp y *Rickettsia rickettsii*, como se observa en el cuadro 13.

Cuadro 12. Resultados totales del muestreo de coyotes (M) Macho / (H) Hembra / (X) positivo / (-) negativo).

Coyote	Sexo	Captura	Pulgas	Especie	<i>Rickettsia</i> spp	<i>R. rickettsii</i>	<i>E. canis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	
1	M	Verano	-	-	X	X	-	-	
2	H	Verano	3	<i>P. irritans</i>	-	-	-	-	
3	H	Verano	2	<i>P. irritans</i>	-	-	-	-	
4	M	Verano	-	-	X	X	-	-	
5	H	Verano	-	-	X	X	-	-	
6	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
7	M	Invierno	3	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
8	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
9	M	Invierno	-	-	X	X	X	X	
10	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
11	H	Invierno	2	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
12	M	Invierno	1	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
13	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
14	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
15	M	Invierno	-	-	X	X	-	-	
16	M	Invierno	1	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
17	M	Invierno	1	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
18	H	Invierno	-	-	X	X	-	-	
19	M	Invierno	1	<i>P. irritans</i>	X	X	X	-	
20	H	Invierno	-	-	X	X	-	-	
21	M	Invierno	1	<i>P. irritans</i>	X	X	-	-	
Total			15			19	19	2	1

Cuadro 13. Resultados del análisis estadístico mediante Prueba Exacta de Fisher (valor de P=izquierda/valor de tabla=derecha).

Patógenos	Sexo	Pulgas	Temporada
<i>A. phagocytophilum</i>	0.7143/1.0000	0.5714/1.0000	0.7619/1.0000
<i>E. canis</i>	0.7143/1.0000	0.5714/1.0000	0.7619/1.0000
<i>Rickettsia</i> spp	0.4286/0.5000	0.3143/0.4857	0.9048/1.0000
<i>R. rickettsii</i>	0.4286/0.5000	0.3143/0.4857	0.9048/1.0000

7. CONCLUSION

De los ectoparásitos colectados en los coyotes de este estudio, *Pulex irritans* fue la especie identificada en este estudio, la cual tiene una distribución mundial exceptuando los polos, así como una baja especificidad de hospederos y basándonos en lo mencionado por Hernández y Laundré (2007) sobre la alta presencia de pulgas en los coyotes de vida libre, es predecible la presencia de *P. irritans* en los coyotes del APFF Médanos de Samalayuca. Esto sugiere que la región del ANP Médanos de Samalayuca favorece a la especie *P. irritans*. Por otro lado la ausencia de otras especies de ectoparásitos como piojos en los coyotes capturados, podría deberse a un tipo de rechazo inmunológico de parte del coyote hacia este tipo de ectoparásitos (Hernández y Laundré 2007).

También se observó ausencia de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, reportada en las cercanías de la región de estudio, según Pusterla (2000), Ebani (2001) y Dantas-Torres (2010) *R. sanguineus* no suele parasitar a especies silvestres como los coyotes y siendo la principal transmisora de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en la región, justifica la baja presencia de estos patógenos en la población de coyotes del ANP Médanos de Samalayuca. En cambio *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, tuvieron presencia superior al 90% en los coyotes muestreados y en vista de que casi el 50% de ellos resultaron positivos a la presencia de *P. irritans* podríamos sugerir que el artrópodo responsable en la transmisión de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii* en los coyotes de la región es la pulga *P. irritans*. Sin embargo faltan más estudios para poder corroborar que esta especie es la principal causa de la transmisión de dichos patógenos en el área en cuestión.

Todos los coyotes a excepción de cuatro y el cinco coinciden en cuanto a la positividad de *Rickettsia* spp y *R. rickettsii*, por lo que la positividad de *Rickettsia* spp podría traducirse como un resultado falso positivo ya que la cadena de oligonucleótidos de *Rickettsia* spp tiene una especificidad menor que la cadena de *R. rickettsii* al molde de Oligonucleótidos del patógeno para la amplificación del ADN. Sin embargo, no contamos con la evidencia suficiente, según la bibliografía, las pulgas también tienen la capacidad de ser portadores de patógenos rickettsiales como *Rickettsia* spp, *R. thypi* y *R. felis*, por lo tanto la presencia de la pulga podría indicar presencia de otras especies de *Rickettsia* que pudieran haber sido enmascaradas dentro de *Rickettsia* spp, por lo cual resultaría imposible dar por hecho que los resultados tanto de *Rickettsia* spp y de *R. rickettsii*, aun coincidiendo en las mismas muestras sanguíneas sean el mismo patógeno, por lo que

hacen falta más estudios para determinar si se tratara de un enmascaramiento real de otra especie de *Rickettsia* sobre los resultados de *R. rickettsii* vistos en el presente estudio.

A lo largo de este estudio se observó que en cuanto a diagnóstico molecular de patógenos rickettsiales y artrópodos vectores en especies silvestres descritos como excelentes bioacumuladores como el coyote, el zorro y el lobo, hay muy pocas investigaciones en las cuales se puede contrastar los resultados de los proyectos propios para dar sustento a las hipótesis planteadas. Comenzando en cuanto a se trata de parásitos como los pulgas únicamente se encontraron dos referencias con las que se pueden contrastar los resultados del presente estudio; Eads (1948) y López-Pérez (2017) hay un espacio de casi 60 años en el cual no hubo investigaciones de este tipo sobre pulgas en el coyote, y dentro de las investigaciones revisadas se describen únicamente garrapatas y no a otros posibles artrópodos involucrados con excepción de Torina (2013). Otro detalle a tomar en consideración es que el tema de detección de rickettsiales en estas especies, también fueron muy y la mayoría de las investigaciones dieron lugar en Estados Unidos (Pusterla, 2000) y Foley (2005) en el estado de California, Bischof y Rogers (2005) en Nebraska, Kocan (2000) y Starkey (2013) en Oklahoma y Brzeski (2015) en el norte del estado de Carolina, el resto de investigaciones dieron lugar en otro continente como Europa (Pusterla, 1999) en la provincia de Zwisterland, Zurich, Suiza, Ebani (2011) en el centro de Italia y Torina (2013) en Sicilia, Italia, siendo estos tres últimos investigaciones de detección de patógenos rickettsiales en zorros.

Dicho lo anterior, se observa que de toda la literatura citada, la gran mayoría de las investigaciones se centraron en el animal como un simple reservorio y dispersor de la enfermedad dándole un enfoque más a salud pública y no a la salud de la especie o del ecosistema, a excepción del trabajo de Brzeski y el presente estudio todos fueron estudios de muestreo oportunista de cacería por lo que no había un acercamiento directo con el animal que involucre un examen físico para determinar o estandarizar una condición de salud del animal a estudiar. Tampoco en ningún estudio se extrajo muestra de sangre o muestra de orina que brinde información sobre un perfil hematológico como hemograma o química sanguínea donde se pueda hacer una relación entre el perfil hematológico, resultados de patógenos en sangre así como la completo acerca de si el animal es meramente un reservorio y si este presenta sintomatología clínica o subclínica y tanto su salud como la salud de la población está siendo o no comprometida por la presencia de los patógenos

rickettsiales dando en consecuencia datos que puedan dar un resultado más preciso acerca de la salud de la población en cuestión y por ende el ecosistema.

Haciendo múltiples búsquedas y revisiones se observó que no hay antecedentes de este tipo de investigaciones en México u otro sitio por lo que se ve un claro reflejo de falta de estudios en el mundo y muy importante en México, es un hecho preocupante debido al impacto ambiental que puede ocasionar la falta de estudios sobre patógenos y enfermedades transmitidos por vectores en especies silvestres y las consecuencias que podría conllevar sobre la conservación de especies e incluso salud humana. Es importante realizar este tipo de estudios en áreas naturales protegidas como el APFF Médanos de Samalayuca para la realización de inventarios sobre parásitos de potencial participación en la transmisión de patógenos, así como la posible presencia de enfermedades, teniendo así una mejor base de datos que proporcionen información esencial para el desarrollo de programas de manejo y control que tengan aplicación tanto en salud pública como en salud ambiental.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, R., J. A. Fernández. 2015. Flea diversity and prevalence on arid-adapted rodents in the Oriental Basin, Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 86: 981-988.
- Acosta-Gutiérrez, R. 2014. Biodiversity of Siphonaptera in Mexico. *Rev. Mex. Biodivers.* 85: 345-352.
- Aguirre, A.A. 2009. Wild canids like a sentinel of ecological health: a conservation medicine perspective. *Parasit. Vectors.* 2: 1-8.
- Álvarez-Castañeda, S.T., T. Álvarez, N. González-Ruiz. 2015. Keys for identifying Mexican mammals. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Asociación Mexicana de Mastozoología A. C. Guadalajara, Jalisco, México.
- Arrivillaga, J., V. Caraballo. 2009. Medicina de la Conservación. *Rev. Biomed.* 20: 55-67.
- Arias-Del Razo, I., L. Hernández, J.W. Laundre, L. Velasco-Vázquez. 2012. The landscape of fear: habitat use by a predator (*Canis latrans*) and its main prey (*Lepus californicus* and *Sylvilagus audubonii*). *Can. J. Zool.* 90: 683-693.
- Arrieta, T. M., R. Soto, R. Gonzáles, J. Nombera, C. Holguín, J. Monje. 2001. Características de la población de roedores y pulgas en áreas de diferente riesgo para peste de tres provincias del departamento de Piura-Perú. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica*, 18: 90-97.
- Beall, M., R. Alleman, E. Breitschwerdt, L. Cohn, G. Couto. 2012. Dryden M. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. *Parasit. Vectors.* 5: 1-11.
- Bermúdez, S., R. Miranda, Y. Zaldívar, P. González, G. Berguido, D. Trejos. J.M. Pascale, M. Labruna. 2012. Detección de *Rickettsia* spp. En ectoparásitos de animales domésticos y silvestres de la Reserva Natural Privada Cerro Chucantí y comunidades aledañas, Panamá, 2007-2010. *Biomédica*, 32: 189-195.
- Bischof R. and D. G. Rogers. 2005. Serologic Survey of Select Infectious Diseases in Coyotes and Raccoons in Nebraska. *J. Wildl. Dis.* 41: 787-791.

- Brown, C. and C. Bolin. 2000. Emerging Diseases of Animals. Whashington, DC. Ed. ASMPRESS.
- Brzeski, K., R. Harrison, W. Waddell, K. Wolf, D. Rabon, S. Taylor. 2015. Infectious disease and red wolf conservation: assessment of disease occurrence and associated risks. J. Mammal. 96: 751-761.
- Cartagena, L.M., L. A. Ríos, J. A. Cardona. 2015. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. Rev. Med. Vet. 29: 51-62.
- Castañón, A. (2016). Prevalencia de *Rickettsia rickettsii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia* spp, Detectados por PCR en garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) en caninos de Ciudad Juárez, Chihuahua. Maestria. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- CDC. 2016. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fever Group Rickettsioses, Ehrlichioses, and Anaplasmosis — United States, 21-24.
- Chapman, A.S., J. S. Bakken, S. M. Folk. 2006. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever, Ehrlichioses, and Anaplasmosis. MMWR. Recomm. Rep. 55: 1-27.
- Courtney, J., L. Kostelnik, N. Zeidner, R. Massung. 2004. Multiplex Real-Time PCR for Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. J. Clin. Microbiol. 42: 3164-3168.
- Clemente-Sánchez, F., J. Palacio-Núñez, E. Carreón-Hernández. 2017. Reproducción, estructura, movimientos y densidad de coyotes (*Canis latrans*) bajo control, en la región semiárida de San Luis Potosí, México. Agro productividad. 10: 33-38.
- CONANP; Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2013). Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca. México, D.F. 21-36p.
- Dantas-Torres, F., 2007. Rocky Mountain spotted fever. The Lancet. Infect. Dis. 7:724-732.
- Dantas-Torres, F., 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasit. Vectors. 26: 1-11.

- Dumler, S., N. Barat, C. Barat, J. Bakken. 2007. Human Granulocytic Anaplasmosis and Macrophage Activation. Clin. Infect. Dis. 45: 199-204.
- Dumler, S., C. Kyoung-Seong, J. García-García, N. Barat, D. Scorpio, J. Garyu. 2005. Human Granulocytic Anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. Emerg. Infect. Dis. 11: 1828-1834.
- Eads, R.B. 1948. Ectoparasites from a Series of Texas Coyotes. J. Mammal. 29: 268-271.
- Ebani, V.V., R. Verin, F. Fratini, A. Poli, D. Cerri. 2011. Molecular Survey of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia canis* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) from Central Italy. J. Wildl. Dis. 37. J. 1168-1169.
- Elizalde-Arellano, C., J. C. López-Vidal, L. Hernández, J. W. Laundré, F. M. Morales-Mejía. 2014. Bases para el monitoreo de dos especies de carnívoros medianos en la Reserva de la Biosfera de Mapimí, Durango. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO, proyecto GT022. México. D.F.
- Escárcega Ávila, A. M., B. S. Luna Flores, A. de la mora Covarrubias, F. Jiménez Vega. Análisis exploratorio de enfermedades Rickettsiales transmitidas por garrapatas en perros de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Acta Universitaria. 28: 72-78.
- Foley, J.E., E. V. Queen, B. Sacks, P. Foley. 2005. GIS-facilitated spatial epidemiology of tick-borne diseases in coyotes (*Canis latrans*) in northern and coastal California. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 28: 197-212.
- Gallina, S., C. López-González. 2011. Manual de técnicas para el estudio de la fauna. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro-Instituto de Ecología.
- Galindo, R., N. Ayllon, K. Strasek, M. Boadella, B. Beltran-Beck, M. Mazariegos. 2012. Gene expression profile suggests that pigs (*Sus scrofa*) are susceptible to *Anaplasma phagocytophilum* but control infection. Parasit. Vectors. 5: 1-14.
- Garcia, L. and Y. Fernandez. 2010. Characterization and control of flea veterinary importance to animal and human health. Rev. electrón. Vet. 11: 1695-7504
- Gese, E.M., Bekoff, M., Andelt, W., Carbyn, L. & Knowlton, F. 2008. *Canis latrans*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T3745A10056342.

- González, V.H., A. Castillo, A. Abdulhakeem, A.M. Rodríguez, A.I. Ortega. 2018. Flea (Siphonaptera: Pulicidae) prevalence and first record of *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) in domestic dogs in north-central México. J. Dairy Vet. Anim. Res. 7: 146-148.
- Hernández, N., Pineda, R.F., Primer registro de *Dirofilaria immitis* (Spirurida: onchocercidae) en coyotes de México. Acta zool Mex; 28: 659-662.
- Hernández, L., Laundré J.W., Coyotes en México. En: Valdés R., Ortega-S., A., Ecología y manejo de fauna silvestre en México. 1. México: Biblioteca Básica de Agricultura; 2014. 271-293.
- Karbowiak, G., B. Biernat, J. Stanczak, J. Werszko, P. Wroblewski, T. Szewczyk. 2016. The role of particular ticks developmental stages in the circulation of tick-borne pathogens in Central Europe. Ann. Parasitol. 62: 267-284.
- Kocan, A., G. Crowder, L. Whitworth, G. Murphy, S. Ewing, R. Barker. 2000. Naturally Occurring Infection *Ehrlichia chaffeensis* in Coyotes from Oklahoma. Emer. Infect. Dis. 6: 477-480.
- Lareschi, M., J. Venzal, M. Nava, S. Mangold, A. J. Portillo, A.M. Palomar-Urbina, J.A. Oteo-Revuelta., J. A. 2018. The human flea *Pulex irritans* (Siphonaptera: Pulicidae) in northwestern Argentina, with an investigation of *Bartonella* and *Rickettsia* spp. Rev. Mex. Biodivers. 89: 375-381.
- López-Pérez, A., K. Gage, A. Rubio, J. Montenieri, L. Orozco, G. Suzan. 2017. Drivers of flea (Siphonaptera) community structure in sympatric wild carnivores in northwestern Mexico. J. Vector Ecol. 43: 15-25.
- Massung, R., M. Mael, J. Owens, N. Allan, J. Courtney, K. Stafford. 2002. Genetic Variants of *Ehrlichia phagocytophila*, Rhode Island and Connecticut. Emer. Infect. Dis. 8: 467-472.
- Mcquiston, J., C. McCall, W. L. Nicholson. 2003. Zoonosis Update Ehrlichiosis and related infections. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223: 1750-1756.
- Medina-Vogel, G. 2010. Ecology of emerging infectious diseases and wild species conservation. Arch. Med. Vet. 42: 11-24.
- Miller, E., Fowler, M., 2012. Fowlers Zoo and Wild Animal Medicine current therapy. Missouri, United States, Saunders.

- Niehaus, C., I. Valerio, K. Blanco, M. Chinchilla. 2012. Infecciones parasitarias del coyote, *Canis latrans* (Carnivora: *Canidae*) en un Parque Nacional y una zona agrícola en Costa Rica. *Rev. de Biol. Trop.* 60: 799-808.
- Oteo, J., and P. Brouqui, P. 2005. Ehrlichiosis y Anaplasmosis Humana. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 23: 375-380.
- Paras, K., S. Little, M. Reichard, M. Reiskind. 2012. Detection of *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia* Species in Coyotes (*Canis latrans*), from Rural Oklahoma and Texas. *J. Clin. Microbiol.* 12: 619-621.
- Peniche-Lara, G., B. Jiménez-Delgadillo, K. Dzul-Rosado. 2015. *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia felis* infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks and *Ctenocephalides felis* fleas co-existing in a small city in Yucatan, Mexico. *J. Vector Ecol.* 40: 422-424.
- Pérez-Ponce de León, G., L. García-Prieto, B. Mendoza-Garfias. 2011. Describing parasite biodiversity: The case of helminth fauna of wildlife vertebrates in Mexico. *Changing Diversity in Changing Environment.* 2010: 33-54.
- Pratt, H.D., and J.S. Wiseman. 1962. Fleas of public health importance and their control. US Department of Health, Education, and Welfare, Atlanta, GA.
- Pusterla, N., Deplazes, P., Braun, U., Lutz, H., 1999. Serological Evidence of Infection with *Ehrlichia spp.* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 37:1168-1170.
- Pusterla, N., C. Chao-Ching, B. Chomel, C. Joon-Seok, J. Foley, E. DeRock. 2000. Serologic and Molecular Evidence of *Ehrlichia spp.* In Coyotes in California. *J. Wild. Dis.* 36: 494-499.
- Quintero, J.C., M. Hidalgo, J. D. Rodas. 2012. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Univ. Sci.* 17: 82-99.
- Quiroz Romero, H. 1999. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domesticos. Ciudad de Mexico. Ed. Limusa.
- Sacks, B.N., 2005. Reproduction and body condition of California coyotes (*Canis latrans*). *J. Mammal.* 86: 1036-1041.

- Sambrook, J., Russell, D., 2001. Molecular Cloning. A Laboratory. New York, United States, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SENASICA, 2013 [1 pantalla] Disponible en: [http:// www.senasica.gob.mx/?id=4393](http://www.senasica.gob.mx/?id=4393) Consultado en: Abril 03, 2019.
- Starkey, L., M. West. A. Barrett, J. Saucier, T. Oconnor, K. Paras. 2013. Prevalence of Antibodies to Spotted Fever Group *Rickettsia spp.* and *Ehrlichia spp.* in Coyotes (*Canis latrans*) in Oklahoma and Texas, USA. J. Wild. Dis. 49: 670-673.
- Taylor, M., Coop, R., Wall, R., 2007. Veterinary Parasitology, Iowa, United States, Blackwell Publishing.
- Torina, A., V. Blanda, F. Antoci, S. Scimeca, R. D'Agostino, E. Scariano, A. Piazza, P. Galluzzo, E. Giudice, S. Caracappa. 2013. A Molecular Survey of *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.*., *Ehrlichia canis* and *Babesia microti* in Foxes and Fleas from Sicily. Transbound Emerg. Dis. 60: 125-130.
- Rodríguez, A. 2011. Distribución y abundancia del coyote (*Canis latrans*) en el centro del desierto chihuahuense en México (Tesis de pregrado). Universidad de Santiago de Querétaro, México.
- Rojas-Treviño, A., A. Rueda-Hurtado, D. Díaz-Molano, N. Mesa-Cobo, J. Benavides-Montaño, K. Imbach-López. 2013. Identificación de *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard) Moshkovski mediante PCR anidada. Veterinaria y Zootecnia. 7: 37-48.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W., 2001. Parasitologia Veterinaria. Oxford: Blackwell Sciercer Ltd.
- Watts, A. G., S.M. Alexander. 2012. Community variation of gastrointestinal parasites found in urban and rural coyotes (*Canis latrans*) of Calgary, Alberta. Cites and Environment (CATE). 4: 1-20.
- West, G., Heard, D., Caulkett, N., 2007. Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia, Iowa, United States, Blackwell Publishing.
- Wimberly, M., A. Baer, M. Yabsley. 2008. Enhanced spatial models for predicting the geographic distributions of tick-borne pathogens. Int. J. Health Geogr. 7: 1-14.

ANEXO 1

Permiso de colecta otorgado por la Secretaría de Manejo de Recursos Naturales



SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN
AMBIENTAL

DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE

Oficio N° SGPA/DGV5/003086/18

Ciudad de México, a 16 de abril de 2018

DRA. CUAUHCHUATL VITAL GARCÍA

MAESTRA DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ
CALLE PARQUE REAL No. 8263
COLONIA LOS PARQUES
CIUDAD JUÁREZ, CHIHUAHUA
C.P. 32440, MÉXICO
TEL. (656) 688 1800 EXT. 1666, E-MAIL: cuauvital@gmail.com

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 29 de enero de 2018, a la cual se le asignó la bitácora 09/K5-1383/10/17 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º. Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; Artículo 85, Artículo 88, fracciones I y II, Artículo 105, fracciones II y III del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Áreas Naturales Protegidas (ANP's); las disposiciones relativas de la Norma Oficial Mexicana NOM-126-SEMARNAT-2000, por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional; la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo y al oficio F00.DRNSMO.-238/2018 del 28 de mayo de 2018, emitido por la Dirección Regional Norte y Sierra Madre Occidental; la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto, sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto de investigación denominado: **"Relación de prevalencia y carga parasitaria del coyote (*Canis latrans*) con la densidad y tipo de vegetación en cuatro puntos del Área de Protección de Flora y Fauna de Samalayuca"**, con el objetivo identificar la prevalencia de parásitos gastrointestinales, garrapatas y *Ehrlichia* spp, en la población y compararla entre las estaciones climáticas del año y puntos de muestreo.

- Contención de hasta ciento cincuenta (150) ejemplares de "Coyote" ***Canis latrans***, para la obtención de datos morfométricos, muestras de heces y de sangre, y su liberación inmediata.



No se autoriza el procesamiento de muestras con metodología distinta a la autorizada en el protocolo entregado a la DGV5, procurando en todo momento aplicar las medidas de bioseguridad pertinentes, especialmente las referidas al ambiente, el personal, el vestido, el procesamiento de las muestras y la esterilización final.

Las actividades de colecta se llevarán a cabo en la **APFF Médanos de Samalayuca, Estado de Chihuahua**. La presente autorización tendrá una vigencia de **un año** a partir de la emisión de la misma.

Las actividades se realizarán con el Aval de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, con la colaboración de la Dr. Angélica Escártega, el MVZ César Hernández Urbina, la MVZ Sharai Montiel Armendáriz, la Biol. Cinthia Prieto Marta, el EMVZ Michelle Lugo Castro, el EMVZ Claudio Rodríguez y el EMVZ Edgar Rivera, debiendo sujetarse obligatoriamente el titular y colaboradora a las siguientes condiciones:

1.- Cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.

2.- Obligatoriamente y previo al inicio de las actividades de campo en Áreas Naturales Protegidas deberá realizar ante la CONANP el trámite CNANP-00-007 "Aviso para realizar actividades de investigación con colecta o manipulación de ejemplares de flora y fauna silvestre en ANP", deberá contactar al Director del Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, al Biol. Pablo Domínguez González, con dirección en Antigua Carretera Panamericana, S/N, Comunidad Samalayuca, C.P. 32720, Municipio de Juárez, Chihuahua, Teléfono celular (614) 1321143, para coordinar las actividades de campo en el ANP; presentar a la Dirección del ANP el proyecto a realizar, justificar la necesidad de 150 ejemplares de coyote, sitios de colecta, especificando coordenadas, fecha de colecta y método de colecta, lista de participantes, así como la temporalidad del proyecto, especificando fecha de inicio y término; la Dirección designará al personal que acompañará al investigador y/o colaboradores durante el desarrollo de las actividades de investigación; para llevar a cabo la colecta se deberá obtener previamente la autorización de los propietarios o legítimos poseedores de los predios, debiendo informar a los mismos sobre el objeto de la colecta o investigación; deberá portar en todo momento las identificaciones de las personas que se enlistan para la ejecución de los trabajos a realizar durante el proyecto; al término de su visita y no más de 30 días naturales, deberá enviar un informe detallado de manera física y electrónica de las actividades realizadas y los resultados obtenidos del proyecto, que contenga una base de datos de los animales capturados, sexo, medidas, pesos, sitios de captura de cada ejemplar, indicando el tipo de daño que hubiera sufrido durante la captura y/o manipulación en la Dirección del Área de Natural Protegida y deberá acatar lo establecido en los programas de Manejo y Reglas Administrativas del ANP, así como las indicaciones y recomendaciones del personal del ANP.



3.- En todo momento el investigador será responsable de los impactos significativos que haya sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestres y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si el riesgo es alto.

4.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a la Delegación Federal de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en el **estado de Chihuahua** 01 (614) 442 1516, enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esa Delegación Federal, enviando un reporte detallado por escrito.

5.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, las muestras (heces y sangre) colectadas serán depositadas en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, para la realización de análisis coprológicos y PCR, y el titular de la autorización asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) del(os) depósito(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado y el procesamiento que se dará al material biológico.

6.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y -en su oportunidad-, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

7.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

8.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento del material biológico colectado para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

9.- Se recomienda que, durante sus actividades de campo, en el caso de observar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.



La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido en el Artículo 87 de la Ley General de Vida Silvestre el titular de la presente deberá contar con el consentimiento previo, expreso e informado de los legítimos propietarios de la(s) tierra(s) donde pretende desarrollar el proyecto.

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

Notifíquese la presente resolución a la DRA. CUAUHCHUATL VITAL GARCÍA, MAESTRA DE CIENCIA ANIMAL, DEPARTAMENTO DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ, por alguno de los medios legales previstos por el Artículo 35 y demás relativos y aplicables de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

ATENTAMENTE
EL DIRECTOR GENERAL DE VIDA SILVESTRE

LIC. JOSÉ LUIS PEDRO FUNÉS IZAGUIRRE.

"Por un uso eficiente del papel, las copias de conocimiento de este asunto son remitidas vía electrónica".

C.c.p.— C. Joel González Moreno - Director General de Inspección de Vida Silvestre, Recursos Marinos y Ecosistemas Costeros, PROFEPA. e-mail: vida_silvestre@profepa.gob.mx, jmgia@profepa.gob.mx
C. Brenda Ríos Prieto - Delegada Federal de la SEMARNAT en el Estado de Chihuahua. e-mail: brenda.rios@chihuahua.semarnat.gob.mx
C. Gustavo Rubio Hernández - Delegado de la PROFEPA en el Estado de Chihuahua. e-mail: gustavo.rubio@profepa.gob.mx
C. Miguel Ángel Espinosa Luna - Coordinador de Asesores de la Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental. e-mail: coordinación.sgpa@semarnat.gob.mx
C. Cinthya Aurora Pérez Tirado - Directora General de Operación Regional, CONANP. e-mail: cinthya.perez@conanp.gob.mx
Subdirección de Comercio Nacional, Internacional y Otros Aprovechamientos

Archivo General (09/K5-1383/10/17 - 09/O1-1380/10/17 - DGVVS-00311/1801 - DGVVS-01383/1804)
cymc/colecta científica/Autorización_ Cuauhchuatl Vital (COYOTE MOD B) SUNIVS (13-03-18)