





**Universidad Autónoma de Ciudad Juárez**

**Instituto de Ciencias Biomédicas**

**Departamento de Ciencias Veterinarias**

**Maestría en Ciencia Animal**

**Análisis Espacio Temporal de Fiebre Manchada en  
Ciudad Juárez, Chihuahua**

Tesis para obtener el grado de  
Maestro en Ciencia Animal

**MVZ. Ernesto Irraragorri Rivas**

“Becado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología”

Bajo la Dirección de la  
**Dra. Angélica M. Escárcega Ávila**  
Y la Codirección de la  
**Dra. Florinda Jiménez Vega**

Ciudad Juárez, Chihuahua, México. abril de 2021

## **APROBACIÓN DE LA TESIS**

Análisis Espacio Temporal de Fiebre Manchada en Ciudad Juárez, Chihuahua, reporte de investigación  
preparado por Ernesto Irarragorri Rivas como requisito parcial para obtener el grado de

### **MAESTRO EN CIENCIA ANIMAL**

ha sido aprobado y aceptado por:

---

**Dra. Angélica M. Escárcega Ávila**  
DIRECTORA DE TESIS

---

**Dra. Florinda Jiménez Vega**  
CO-DIRECTORA DE TESIS

---

**Ph.D. Antonio de la Mora Covarrubias**  
ASESOR

---

**Ph.D. Ernesto Orozco Lucero**  
ASESOR

---

**Dr. José María Carrera Chávez**  
ASESOR

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

### **“ANÁLISIS ESPACIO TEMPORAL DE FIEBRE MANCHADA EN CIUDAD JUÁREZ, 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 LA MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

---

**Dr. Ramón Rivera Barreno**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS VETERINARIAS

---

**C.D. Salvador David Nava Martínez**  
DIRECTOR DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mis abuelos Aracely y Bernardo, a mis padres Rita y Bernardo.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues a ellos les debo todos el logros académicos y profesionales que he logrado hasta este día.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi abuela Aracely, quien nunca dejó de confiar en mí y me apoyó de forma incondicional para que pudiera lograr mis sueños.

Agradezco mi directora de tesis Angélica, quien aceptó la tutoría de mi tesis y comenzó a trabajar conmigo cuando todavía me encontraba en Cuba.

Agradezco a Nora, quien con mucho sacrificio y paciencia supo adentrarme en el área de los Sistemas de Información Geográficos y hacer que me enamorara de estos, quien se mantuvo a mi lado días completos de trabajo y análisis, quien me ayudó a gestionar información y me apoyó en todo momento.

Agradezco a la Asociación y al Colegio de Veterinarios de Ciudad Juárez, por la ayuda y el apoyo prestado en la recolección de muestras.

Agradezco a los estudiantes de la Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia correspondientes a las generaciones del 2018 al 2019, quienes hicieron un excelente trabajo ayudando a la recolección de las muestras.

Agradezco a todos mis compañeros del Laboratorio de Biotecnología de la UACJ, en especial a Karla López y a Cristóbal Ruiz.

Gracias por su apoyo incondicional

## RESUMEN

### “ANÁLISIS ESPACIO TEMPORAL DE FIEBRE MANCHADA EN CIUDAD JUÁREZ, CHIHUAHUA”

Elaborado por:

Ernesto Irarragorri Rivas

El ciclo de vida de *Rickettsia* spp. incluye la infección en mamíferos y artrópodos vectores, lo cual puede ser alterado por el ambiente. Con el objetivo de evaluar espacial y temporalmente la epizootiología de la Fiebre Manchada (FM) en Ciudad Juárez, se realizó un muestreo aleatorio mediante una encuesta en 28 clínicas veterinarias durante cuatro etapas del año (1<sup>ra</sup> Etapa: oct-nov/2018; 2<sup>da</sup> Etapa: ene-feb/2019; 3<sup>ra</sup> Etapa: abr-may/2019 y 4<sup>ta</sup> Etapa: jul-sep/2019) para realizar el diagnóstico molecular amplificando el fragmento *OmpA*<sub>1</sub> en perros de compañía (n=318) y pools de *Rhipicephalus sanguineus* (n=58) presentes en los perros. La geolocalización fue realizada en el programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A), utilizándose una elipse de desviación estándar y los Índice del vecino más próximo y Morans del programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A) para calcular tendencia y distribución del patógeno y su vector, así como la herramienta de IDW (IDW, por sus siglas en inglés: Inverse distance weighting) para el diseño de mapas de riesgo a FM. Mediante el programa SAS se realizó la prueba de  $X^2$  y la regresión logística. La prevalencia de *R. sanguineus* en perros de compañía fue del 12.50 % con una asociación ( $P<0.05$ ) entre la etapa y la prevalencia. Los machos adultos de *R. sanguineus* se hallaron con mayor frecuencia, y el mayor porcentaje de estadios ninfales fue obtenido en las etapas cálidas. La prevalencia general de FM en perros domésticos fue del 22.01 % alcanzándose la mayor prevalencia estacional en la 3<sup>ra</sup> Etapa con 29.90 % (29/97). No se encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) entre la prevalencia y la etapa. Solo se encontraron como factores de riesgo ( $P<0.05$ ) la no desparasitación de los perros y la edad (menor de 5 años). La FM en perros se encuentra dispersa ( $P<0.05$ ), sugiriendo la influencia de factores específicos. Las zonas de riesgo a FM según la prevalencia son el Noreste (con  $<11$  °C) y el Sureste (con  $>25$  °C). *R. sanguineus* presenta una tendencia hacia el Oeste con máximas de 22 °C, ampliándose hacia el Este con más de 25 °C. Las etapas más cálidas del año presentan una mayor prevalencia de FM en perros y en pools. La prevalencia de *R. sanguineus* es de 12.50 % y estacionalmente del 4.82%, 3.85%, 17.53 % y 19.77 % para la 1<sup>ra</sup>, 2<sup>da</sup>, 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa, respectivamente. La prevalencia de FM en perros domésticos fue del 22.01 % y del 82.54 % en pools de *R. sanguineus*, con máximas estacionales en la 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa. La no desparasitación y la edad inferior a los 5 años son los factores de riesgo existentes. En Ciudad Juárez, la FM se encuentra dispersa en toda la mancha urbana.

Palabras clave: *Rickettsia* spp., *Rhipicephalus sanguineus*, Factores de riesgo, Zonas de riesgo.

## CONTENIDO

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| <b>ÍNDICE DE CUADROS .....</b>   | <b>VIII</b>                         |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>   | <b>IX</b>                           |
| <b>ABREVIATURAS .....</b>  | <b>X</b>                            |
| <b>GLOSARIO .....</b>  | <b>XI</b>                           |
| <b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| <b>2. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA .....</b>   | <b>3</b>                            |
| <b>2.1. Generalidades del síndrome fiebre manchada .....</b>   | <b>3</b>                            |
| <b>2.2. Características génicas, proteínas y mecanismos moleculares de invasión .....</b>                        | <b>4</b>                            |
| 2.2.1. <i>Proteínas externas de membrana .....</i>   | 5                                   |
| <b>2.3. Características epidemiológicas .....</b>  | <b>7</b>                            |
| 2.3.1. <i>Distribución espacial y mapeo de R. sanguineus y las enfermedades que transmiten .....</i>             | 11                                  |
| 2.3.1.1. <i>Métodos comúnmente aplicados en los análisis espaciales de predicciones .....</i>                    | 11                                  |
| 2.3.2. <i>Distribución geográfica de la fiebre manchada .....</i>  | 13                                  |
| 2.3.3. <i>El papel de los animales en la epizootiología de la enfermedad .....</i>                               | 14                                  |
| <b>2.4. Horizonte clínico .....</b>  | <b>15</b>                           |
| 2.4.1. <i>Manifestaciones clínicas en los animales .....</i>   | 15                                  |
| 2.4.2. <i>Manifestaciones clínicas en el humano .....</i>  | 16                                  |
| <b>2.5. Diagnóstico de la fiebre manchada .....</b>  | <b>17</b>                           |
| <b>2.6. Prevención, control y riesgo .....</b>   | <b>18</b>                           |
| 2.6.1. <i>Factores de riesgo asociados a la fiebre manchada .....</i>  | 19                                  |
| 2.6.2. <i>El papel de los perros centinelas en la epizootiología de la Fiebre Manchada .....</i>                 | 19                                  |
| <b>3. HIPÓTESIS .....</b>  | <b>21</b>                           |
| <b>4. OBJETIVO GENERAL .....</b>   | <b>21</b>                           |
| 4.1. <b>Objetivos específicos .....</b>  | <b>21</b>                           |
| <b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>   | <b>22</b>                           |
| 5.1. <b>Área de estudio .....</b>  | <b>22</b>                           |
| 5.2. <b>Población y muestreo .....</b>   | <b>24</b>                           |
| 5.2.1. <i>Criterios de inclusión .....</i>   | 24                                  |
| 5.2.2. <i>Obtención de datos clínicos y epizootiológicos .....</i>   | 24                                  |
| 5.2.3. <i>Procedimiento para la toma de muestras de garrapatas .....</i>   | 25                                  |
| 5.2.4. <i>Procedimiento para la toma de muestras sanguíneas en perros .....</i>                                  | 26                                  |
| 5.3. <b>Trabajo de laboratorio .....</b>   | <b>26</b>                           |
| 5.3.1. <i>Clasificación de ectoparásitos y diseño de pools para el diagnóstico molecular en garrapatas .....</i> | 26                                  |
| 5.3.2. <i>Metodología para la extracción del ADN .....</i>   | 26                                  |
| 5.3.3. <i>Cuantificación de ADN .....</i>  | 28                                  |
| 5.3.4. <i>Amplificación de los genes OmpA para el diagnóstico de la fiebre manchada .....</i>                    | 28                                  |

|  |           |
|--|-----------|
| 5.3.5. <i>Análisis electroforético</i> .....   | 29        |
| <b>5.4. Análisis espacial</b> .....  | <b>30</b> |
| 5.4.1. <i>Geolocalización y distribución espacial de las unidades muestrales por etapa de muestreo</i> ..... | 30        |
| 5.4.2. <i>Estadística espacial</i> .....   | 30        |
| <b>5.5. Análisis estadístico</b> .....   | <b>30</b> |
| <b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....   | <b>31</b> |
| <b>6.1. Prevalencia y distribución espacial de <i>R. sanguineus</i> en perros.</b> .....                     | <b>31</b> |
| 6.1.1. <i>Prevalencia de <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos</i> .....                                 | 32        |
| 6.1.2. <i>Distribución espacial de <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos</i> .....                       | 35        |
| <b>6.2. Prevalencia y riesgo asociado a fiebre manchada.</b> .....   | <b>38</b> |
| 6.2.1. <i>Prevalencia de Fiebre Manchada en perros domésticos y en pools de <i>R. sanguineus</i></i> .....   | 38        |
| <b>6.3. Factores de riesgo asociados a la fiebre manchada.</b> .....   | <b>43</b> |
| <b>6.4. Distribución espacial y zonas de riesgo.</b> .....   | <b>46</b> |
| 6.4.1. <i>Distribución espacial Fiebre Manchada en perros domésticos</i> .....                               | 46        |
| 6.4.2. <i>Zonas de riesgo a Fiebre Manchada</i> .....  | 48        |
| <b>7. CONCLUSIONES</b> .....   | <b>51</b> |
| <b>8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....   | <b>52</b> |
| <b>9. ANEXO</b> .....  | <b>65</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 1. Características de las garrapatas vectores de la Fiebre Manchada.....  | 9  |
| Cuadro 2. Oligonucleótidos para el diagnóstico molecular de Fiebre Manchada.....   | 29 |
| Cuadro 3. Prevalencia de <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos por etapa de muestreo en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019.....  | 32 |
| Cuadro 4. Análisis de la cantidad y frecuencia de <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos según sexo y estadio por etapa de muestreo en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019.....    | 33 |
| Cuadro 5. Prevalencia del fragmento <i>OmpA<sub>1</sub></i> en pools de <i>R. sanguineus</i> y en sangre de perros domésticos de Ciudad Juárez, Chihuahua por etapa de muestreo..... | 41 |
| Cuadro 6. Prevalencia del fragmento <i>OmpA<sub>1</sub></i> en pools de <i>R. sanguineus</i> según el sexo y estadio evolutivo.....  | 44 |
| Cuadro 7. Factores de riesgo asociados a la presencia de Fiebre Manchada en perros domésticos de Ciudad Juárez.....  | 45 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Mecanismos moleculares de invasión de <i>Rickettsia</i> spp. pertenecientes al GFM. ....   | 7  |
| Figura 2. Distribución histórica de los brotes de FM y del diagnóstico de <i>Rickettsia</i> spp. en garrapatas en México. ....   | 14 |
| Figura 3. Área de estudio y distribución espacial de las clínicas veterinarias participantes Ciudad Juárez, Chihuahua, México. ....  | 23 |
| Figura 4. Climograma de medias mensuales históricas de temperatura y pluviosidad en Ciudad Juárez, Chihuahua 1957-2016. ....   | 24 |
| Figura 5. Climograma de medias mensuales de temperatura y pluviosidad en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019. ....  | 24 |
| Figura 6. Distribución espacial de las unidades muestrales por etapa de muestreo en Ciudad Juárez 2018 - 2019. ....  | 30 |
| Figura 7. Prevalencia de <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos y temperatura media por etapa de muestreo 2018-2019. ....   | 35 |
| Figura 8. Distribución espacial de perros domésticos positivos a <i>R. sanguineus</i> en Ciudad Juárez.....  | 37 |
| Figura 9. Distribución espacial de perros domésticos positivos a <i>R. sanguineus</i> con elipse de tendencia y temperatura media por zonas de Ciudad Juárez 3 <sup>ra</sup> Etapa (A) y 4 <sup>ta</sup> Etapa (B). .... | 38 |
| Figura 10. Análisis electroforético de los productos de amplificación de un fragmento del gen <i>OmpA</i> como diagnóstico molecular de Fiebre Manchada. ....  | 40 |
| Figura 11. Distribución espacial de Fiebre Manchada en perros domésticos de Ciudad Juárez .....  | 47 |
| Figura 12. Distribución espacial del gen <i>OmpA</i> y <i>R. sanguineus</i> en perros domésticos de Ciudad Juárez.....   | 48 |
| Figura 13. Zonas de riesgo a de Fiebre Manchada por etapa del año según el diagnóstico molecular en perros domésticos 2018-2019. ....  | 50 |

## ABREVIATURAS

|                         |   |
|-------------------------|---|
| CDC                     | Centros de Control y Prevención de Enfermedades                           |
| DGE                     | Dirección General de Epidemiología  |
| ELISA                   | Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas                               |
| FM                      | Fiebres Manchadas   |
| FMMR                    | Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas                                   |
| GFM                     | Grupo de las Fiebres Manchadas  |
| IFA                     | Inmunodetección en sandwich   |
| IFI                     | Inmunofluorescencia Indirecta   |
| INEGI                   | Instituto Nacional de Estadística y Geografía                             |
| LCCA                    | Laboratorio de Climatología y Calidad del Aire                            |
| LPS                     | Lipopolisacáridos   |
| <i>OmpA</i>             | Gen codificante para la proteína de membrana externa A                    |
| <i>OmpA<sub>1</sub></i> | Fragmento de amplificación de la Proteína de Membrana Externa A de 512 pb |
| <i>OmpB</i>             | Gen codificante para proteína de membrana externa B                       |
| PCR                     | Reacción en Cadena de la Polimerasa                                       |
| Pld                     | Fosfolipasa D   |
| SINAVE                  | Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica                             |
| SNPs                    | Polimorfismos de nucleótido único   |
| T4SS                    | Sistema de Secreción Tipo 4   |
| TGO                     | Transaminasas Glutámica-Oxaloacética                                      |
| TGP                     | Glutamicapirúvica   |
| Tlc                     | Translocasa   |
| TlyC                    | Fosfolipasa C   |

## GLOSARIO

|                  |  |
|------------------|--|
| Endolítico       | Organismo que vive dentro de una vivienda o sitio específico.  |
| Idiosoma         | Saco que conteniendo en su interior el canal alimentario del parásito.                               |
| Rickettsemia     | Infección causada por Rickettsias  |
| Superfecundación | Los óvulos de una hembra en un mismo ciclo, son fecundados por espermatozoides de diferentes machos. |
| Superparasitismo | Cuando un parásito es parasitado por otro parásito.  |
| Transovárica     | Se transmite a su descendencia.  |
| Transestadial    | Se transmite entre diferentes estadios.  |

## 1. INTRODUCCIÓN

La Fiebre Manchada es un síndrome hemorrágico febril causado por bacterias intracelulares del género *Rickettsia*, conformado por un grupo de 24 especies, de las cuales 16 producen procesos patológicos, y se encuentran distribuidas por muchas partes del mundo. La aparición de esta patología siempre ha sido asociada a determinantes ambientales, así como factores socioculturales de cada país, constituyendo una situación peligrosa para la salud pública mundial, ya que pueden afectar a varios sectores de la población, por las dificultades que caracterizan su diagnóstico y por los altos índices de letalidad y mortalidad, cuando no existe una intervención temprana en el tratamiento (La Scola *et al.*, 1997; Labruna *et al.*, 2004; Didier y Philippe, 2007).

Dentro del grupo de bacterias causantes del síndrome Fiebre Manchada (FM) se puede citar a *Rickettsia rickettsii* como la de mayor importancia epidemiológica. Esto se debe a los altos índices de letalidad que presenta en humanos, especialmente dentro del grupo etario de 5 a 9 años. La infección por estos patógenos se debe principalmente a la mordedura de varias especies de garrapatas duras (Rivera *et al.*, 2013; Field *et al.*, 2015).

La Fiebre Manchada fue reportada por primera vez en los Estados Unidos de América, específicamente en las Montañas Rocosas y por lo cual recibió el nombre de la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (FMMR) (Thorner *et al.*, 1998; Labruna, 2009). En México, se han presentado apariciones imprevistas de casos a través de la historia; en Mexicali, Baja California, fue detectado un brote con varias defunciones en el año 2009 donde fue posible comprobar la transmisión este patógeno por el ectoparásito de la especie *Rhipicephalus sanguineus* (Bustamante, 2010; Ereemeeva *et al.*, 2010). En el 2012, se envía un aviso a todas las unidades estatales de vigilancia epidemiológica del país por un aumento de los casos de Rickettsiosis en Coahuila por parte del CONAVE (Comité Nacional de Vigilancia Epidemiológica). Después de emitido este aviso se inician las acciones epidemiológicas en contra de esta enfermedad, sobre todo en los reportes semanales de casos y defunciones en los estados de Sonora, Sinaloa, Coahuila, Nuevo León y Baja California, estados vecinos de Chihuahua donde la Rickettsiosis se considera una enfermedad endémica (DGE, 2014). A su vez, en el propio 2012, se reportaron en el estado de Chihuahua 30 casos sospechosos de los cuales fueron confirmados seis (20 %) casos de Rickettsiosis: tres de Cd. Juárez, dos de Chihuahua Capital y un caso de Guachochi. En el año 2014, se notificaron cinco casos sospechosos de Rickettsiosis en el estado de Chihuahua, de los cuales, según SSA (2014), tres casos fueron confirmados, y en el propio año 2014 la Secretaría de Salud del Estado de Chihuahua reportó seis infantes sospechosos de Rickettsiosis, con antecedentes de

mordedura de garrapata, de los cuales tres fallecieron y solo dos tuvieron diagnósticos confirmados, lo que demuestra los elevados índices de letalidad con que cuenta esta enfermedad ( DGE, 2012, 2014).

La DGE (2016b, 2016a, 2017, 2018) en el estado de Chihuahua, entre 2016 y 2018 reportó mediante sus boletines semanales SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) un total de 44 casos de Fiebre Manchada con una media de 15 casos por año. Específicamente, en los años 2017 y 2018 se reportó un aumento en la frecuencia diagnóstica de Fiebre Manchada de cuatro veces con respecto a los años precedentes (DGE, 2017 y 2018).

A pesar de que Ciudad Juárez no es considerada una zona endémica de *R. rickettsii*, en un estudio realizado por Castañón (2016) en los períodos de otoño-invierno, el 29.85 % de las muestras de perros y el 9.52 % de *R. sanguineus* analizadas mediante diagnósticos moleculares, fueron positivas a *R. rickettsii*. Estos resultados hacen necesaria la implementación de acciones de detección, prevención y control, en donde la vigilancia epidemiológica ocupa un papel primordial en el territorio, debido al escaso conocimiento del perfil epidemiológico, la historia natural de la enfermedad, así como la falta de procedimientos específicos para la detección y estudio de Rickettsiosis.

Los estudios epidemiológicos realizados con perros indica exposición del hombre según el diagnóstico en los cánidos, razón por la cual se utilizan como centinelas de enfermedades como la FM (Chomel, 2011). Por este motivo, también resulta esencial el estudio de las garrapatas que se encuentran parasitando a los perros, lo cual confirma la circulación de los patógenos en el vector y reservorio de esta patología en la zona, permitiendo inferir la relación entre el diagnóstico positivo del animal y el hombre (Lado, 2015).

Derivado de lo anterior y debido a que la mayor parte de la información sobre Rickettsiosis en México es distribuida por la DGE en sus boletines semanales (DGE, 2017). Aunado lo anterior a los diagnósticos positivos de FM en Chihuahua y específicamente en Ciudad Juárez desde el 2014, así como las prevalencias de Rickettsiosis pertenecientes al GFM encontradas en el vector y perros condición calle, se hace cada vez más necesario evaluar espacial y temporalmente la epizootiología y los factores de riesgo de la Fiebre Manchada en Ciudad Juárez, Chihuahua.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del Síndrome Fiebre Manchada

Históricamente, y según la región en que se ha presentado la Fiebre Manchada, han sido muy diversas las sinonimias utilizadas para denominar a este síndrome febril hemorrágico causado por bacterias del género *Rickettsia* que pertenecen al Grupo de las Fiebres Manchadas (GFM). Según Llop (2001), dentro de los principales nombres con que se le conoce esta patología, se encuentran: Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (FMMR) y Fiebre por Garrapatas. En varios países del continente americano también se le llama Fiebre por Mordedura de Garrapata del Nuevo Mundo, Fiebre Manchada de Brasil (FMB), Fiebre por Garrapata de San Pablo o Fiebre Petequial y Fiebre de Tobía en Colombia. Específicamente, en Norteamérica, simplemente se le llama Fiebre Manchada (FM) en la mayor parte de las regiones en que se presenta esta patología.

Este síndrome hemorrágico-febril tiene una etiología bacteriana, siendo el microbio *R. rickettsii* quien ha sido identificado con mayor frecuencia en pacientes diagnosticados con esta patología. A su vez, *R. rickettsii* es el microorganismo prototipo de las Rickettsias que pertenecen al GFM. Como otros agentes etiológicos causantes de este síndrome se han identificado a las especies *R. conorii*, *R. felis*, y *R. parkeri*, aunque específicamente en México solo ha sido posible confirmar casos de FM por *R. rickettsii*, quien a su vez, es la especie de mayor patogenicidad del orden Rickettsiales (Field *et al.*, 2015), y por *R. felis*, aunque a diferencia de la *R. rickettsii* esta especie es transmitida por otro tipo de vector. *R. parkeri* solo ha sido identificada en el vector (Sánchez *et al.*, 2018; Zavala Velazquez *et al.*, 2006).

El género *Rickettsia* corresponde a un grupo de bacterias cortas, de forma cocobacilar, Gram negativos, de aproximadamente 0.3 x 0.6 µm a 0.4 x 1.5 µm, no forman esporas y contienen los dos tipos de ácidos nucleicos, ADN y ARN (Field-Cortazares *et al.*, 2015). La pared celular está formada de lipopolisacáridos (LPS) y posee estructuras muy similares a otras bacterias Gram negativas. A pesar de que estos organismos son muy difíciles de visualizar con reactivos de laboratorio, pueden ser teñidos y visualizados con los métodos de tinción Giemsa o Giménez (Chen y Sexton, 2008; El Karkouri *et al.*, 2016).

Específicamente, las Rickettsias del grupo de las FM, además de parasitar el interior de las células del endotelio vascular (núcleo y citoplasma celular), cuentan con antígenos comunes al grupo y antígenos capsulares y somáticos específicos para cada especie, que pueden ser detectados en sueros de

ratón mediante pruebas de inmunofluorescencia. De forma individual, se han descrito un total de siete genotipos diferentes para la bacteria de mayor patogenicidad y causante de la FMMR, *R. rickettsii*, los cuales están distribuidos en tres clados filogenéticos. Aunque no perfecta, estos clados muestran una correlación basada en el origen geográfico y en la especie de garrapata vector, contando algunos con una mortalidad del 40 %, mientras que otros, tan solo presentan 20 % de mortalidad. Según lo descrito por Karpathy *et al.* (2007) estos clados filogenéticos se dividen de la siguiente forma:

**Clado I:** contiene el genotipo 1, relacionado al ectoparásito *R. sanguineus* del estado de Arizona, en la frontera sur de los Estados Unidos y los genotipos 2 y 3, relacionados a la garrapata *Dermacentor variabilis* del Este y Oeste-medio de los Estados Unidos de América.

**Clado II:** contiene los genotipos 1 y 2, los cuales se encuentran relacionados con la cepa *Sheila Smith* y con aislamientos de *R. rickettsii* en garrapatas *Dermacentor andersoni* en los estados de Montana y Carolina del Norte.

**Clado III:** contiene el genotipo 1, identificado varias regiones de Costa Rica, Panamá y Brasil, así como el genotipo 2, el cual se aisló en Colombia. Estos genotipos han sido relacionados con garrapatas *Amblyomma cajennense* y *A. aureolatum*.

A su vez, Paddock *et al.* (2014) demostró la presencia y validación de un cuarto clado patógeno (*R. rickettsii* cepa Hlp). Esto se hizo después de una caracterización molecular de muestras en parafina, provenientes de un caso fatal reportado en el norte de los Estados Unidos de América y el cual no era considerado como un genotipo patógeno.

Este grupo de bacterias rickettsiales causantes de la FM, generalmente penetra la piel a causa de la mordedura de garrapata y se disemina vía linfo-hemática hasta la circulación sistémica y pulmonar. Una vez allí, estas se fijan en las células endoteliales mediante las proteínas externas de membranas que presentan estos microorganismos y otras proteínas receptoras que contiene la célula receptora, para de esta forma comenzar la invasión al interior de la célula, y de esta forma parasitar el citoplasma y el núcleo celular, aunque este último en menor grado. Una vez dentro de la célula del huésped, estas bacterias multiplican por fisión binaria (Raoult, 1991).

## 2.2. Características génicas, proteínas y mecanismos moleculares de invasión

El gen que codifica para la proteína transmembranal A: Sca0 (proteína de membrana externa A: *OmpA*) se encuentra conservado en el GFM y está ausente del grupo de tífus (GT) (Blanc *et al.*, 2005). Así mismo, el gen que transcribe para el antígeno proteico de superficie *OmpA*, está presente en todas las cepas virulentas de *R. rickettsii* y no se produce en la única cepa avirulenta documentada, Iowa, debido a un codón de parada prematuro (Noriea *et al.*, 2015).

### 2.2.1. Proteínas externas de membrana

Los antígenos de superficie celular 0 (*Sca0*) y 5 (*Sca5*), *ScaO* (*OmpA*), de 135 a 247 kDa, las cuales presentan un punto isoeléctrico (pI) de 5.1 y contienen un dominio de 6 a 15 unidades similares repetidas en tándem, y *Sca5* (*OmpB*) de 120 a 168 kDa, así como los antígenos de superficie *Sca1* y *Sca2*, implicados en la adhesión e invasión de las células del huésped (Noriea *et al.*, 2015). Se han reportado 17 genes llamados *Sca* que codifican para proteínas de adherencia y de autotransporte intracelular ligadas a la patogenicidad y virulencia, debido a su participación en los procesos de infección e invasión y colonización celular, de los cuales se han reportado cinco genes muy conservados de la familia *Sca* (*ScaO* u *OmpA*, *Sca1*, *Sca2*, *Sca4* y *Sca5* u *OmpB*), lo cual representa evidencia de su importante rol en el ciclo de vida de este grupo de microorganismos (GFM) (Chan *et al.*, 2011; Kleba *et al.*, 2010; Riley *et al.*, 2010; Rosado *et al.*, 2017).

Los 17 miembros de la familia de proteínas de membrana externa (*OmpB*) identificados en nueve genomas de *Rickettsia* completamente secuenciados presentan una arquitectura típica de las proteínas *Sca*. Estas proteínas están compuestas por un péptido señal N-terminal y un dominio AT C-terminal que promueve la exportación del dominio central del pasajero hacia el exterior de las bacterias. Una característica de esta familia es la frecuente degradación de los genes, lo que resulta en diferentes subconjuntos de los genes *Sca* que se expresan entre las especies de *Rickettsia* (Blanc *et al.*, 2005).

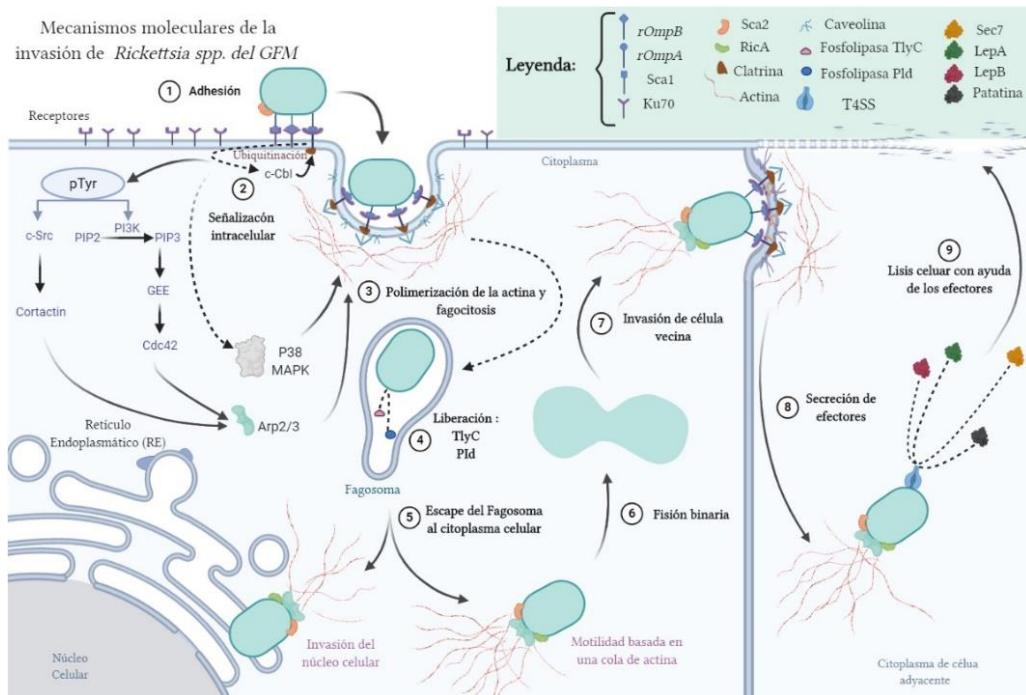
En esta misma dirección, los trabajos reportados por Clark *et al.* (2015), encontraron que las cepas de Montana, Sheila Smith y R, eran muy similares, mientras que las cepas del este de Iowa y Morgan eran muy similares entre sí, y que un antígeno de superficie principal *OmpA* está severamente truncado en la cepa de Iowa. Durante la secuenciación de la región de *OmpA* que contiene 13 repeticiones en tándem, se reveló solo siete SNPs compartidos para las cepas R y Morgan en comparación con Sheila Smith, con 17 SNPs adicionales identificados en Morgan.

Se conoce que en *R. rickettsii* cepa Sheila Smith, *Sca0* codifica para una proteína de 247 kDa, *R. rickettsii* cepa Iowa, *Sca0* codifica una proteína de 247.39 kDa y en *R. conorii* Malish 7, *Sca0* codifica para una proteína de membrana de 224 kDa (Clark *et al.*, 2015).

El papel de estas proteínas durante la infección rickettsial se observa en la Figura 1, donde se aprecia como el proceso de invasión por *Rickettsia* spp. pertenecientes al GFM inicia con la adhesión entre el receptor Ku70 (primera proteína identificada como receptor para Rickettsias) de la célula huésped con el antígeno de superficie celular *Sca5* (*OmpB*) (Chan *et al.*, 2009); posteriormente ocurre la adhesión de antígenos de superficie celular *Sca0* (*OmpA*), que participa en la adhesión e invasión celular y el antígeno de superficie *Sca1* que participa en la adherencia de la célula huésped en la motilidad de estos microorganismos en la célula que parasitan (Riley *et al.*, 2016, 2010).

A continuación, la *Rickettsia* spp. se incorpora hacia el interior de la célula huésped por medio de fagocitosis; la célula huésped adopta este comportamiento por la interacción de algunos efectores que modifican la función de las proteínas, como proto-oncogén (c-CbI) que estimula la ubiquitinación, Caveolina 2 y Clatrina, todas responsables de regular diversos procesos celulares, provocando un re-arreglo de la membrana celular y la consiguiente invasión bacteriana (Martinez *et al.*, 2005). Al encontrarse la bacteria en el fagosoma, dentro del citosol de la célula huésped, la bacteria escapa del fagosoma lisándolo con la ayuda de las proteínas fosfolipasa D (Plid) y fosfolipasa C (TlyC). Además, se conoce por trabajos experimentales que el gradiente de calcio tiene importancia en la llamada fagocitosis inducida y la salida posterior de las Rickettsias de los fagosomas recién formados, para liberarse en el citoplasma (Llop *et al.*, 2001), donde ya libre en el citosol utiliza la proteína RicA y Sca2 para reclutar a la proteína Arp2/3 y polimerizar actina, con el fin de obtener motilidad dentro del citosol, logrando con ello poder trasladarse e invadir el núcleo celular o alguna célula vecina, donde podrá llevar a cabo su replicación por fisión binaria (principalmente en el citosol, aunque también en el núcleo celular).

Luego, *Rickettsia* spp. comienza a secretar efectores *Sce7*, LepA, LepB y patatinas por el sistema de secreción tipo 4 (T4SS, por sus siglas en inglés: Type IV Secretion Systems) en la célula diana para apoderarse de diversos mecanismos celulares. También secreta algunas enzimas llamadas Translocasas que participan en el intercambio de diversos componentes entre la bacteria y la célula huésped, donde se destacan como más importantes, Translocasa 1 (Tlc1), Translocasa 4 (Tlc4) y Translocasa 5 (Tlc5) (Audia y Winkler, 2006; La *et al.*, 2007). La lisis de la membrana de la célula huésped ocurre gracias a la citotoxicidad producida por la bacteria con la ayuda de los efectores (*Sce7*, LepA, LepB y patatinas) que fueron secretados por T4SS (Whitworth *et al.*, 2005).



**Figura 1. Mecanismos moleculares de invasión de *Rickettsia spp.* pertenecientes al GFM. Elaboración propia mediante el programa ©BioRender 2020.**

Según Llop *et al.* (2001), la destrucción de las células del endotelio vascular produce un incremento en la permeabilidad vascular generando microtrombos, la llegada de células mononucleares de la inflamación en varias ocasiones produce obstrucción vascular y como consecuencia, microinfartos. La vasculitis producida por Rickettsiosis puede ser detectada en casi todos los órganos, como son piel, pulmón, donde produce una neumonitis intersticial, en el miocardio, produciendo en este una miocarditis intersticial, y meningoencefalomielitis. En las Rickettsiosis producidas por Rickettsias del GFM, las vasculitis son el resultado de la lesión producida directamente por la bacteria en las células endoteliales, a diferencia de otros procesos que producen vasculitis, y en los cuales son el resultado de la acción del sistema inmunitario del propio huésped.

### 2.3. Características epidemiológicas

El vector y reservorio natural de las bacterias del GFM son por lo general un complejo de garrapatas que pertenecen a la familia Ixodidae, así como pequeños mamíferos de vida libre que, mediante la

mordedura de garrapatas al alimentarse de ellos, les transmiten la Rickettsiosis, lo cual hace que esta bacteria se mantenga circulando en la naturaleza. Así mismo, Raoult y Roux (1997) plantean que también es posible adquirir la rickettsemia por la inhalación de las heces de garrapatas portadoras de *Rickettsia* spp. o mediante la inoculación intradérmica de estas en caso de que puedan presentarse las condiciones para ello. Aunque la *R. felis* es transmitida por pulgas y según los hallazgos encontrados por Hayes *et al.* (1980), la transmisión sexual puede ser otra vía de transmisión de *Rickettsia* spp. entre garrapatas.

Estos ectoparásitos (Familia: Ixodidae) “de cuerpo duro” tienen como característica que presentan el capítulo en posición anterior durante todos sus estadíos, también cuentan con un idiosoma con cutícula endurecida, y con la presencia de un escudo dorsal, el cual cubre toda la región dorsal del idiosoma en los machos, y se encuentra ubicado en la porción anterior del idiosoma en los estadíos inmaduros (larvas y ninfas) y hembras (Anderson y Magnarelli, 2008). En el Cuadro 1, se describen las principales características de la familia Ixodidae.

En los Estados Unidos de América, *Dermacentor andersoni* ha sido identificada en la región de las Montañas Rocosas como el vector y reservorio de varias especies de Rickettsias, especialmente de *R. rickettsii*. Se ha identificado a *Dermacentor variabilis* como el vector de estos parásitos intracelulares en el Este y Sureste de los Estados Unidos de América. Debido a que la mayor parte de los casos confirmados en humanos ocurren en la región oriental de Estados Unidos de América, *D. variabilis* ha adquirido una mayor relevancia en la epidemiología de la FM en ese país (Fuentes *et al.*, 1985).

En las áreas endémicas de América Latina, el principal vector de la FM es la especie de garrapata dura *Amblyomma cajennense*. Esta garrapata es capaz de morder al hombre en todos los estadios de su desarrollo, mientras que *D. andersoni* y *D. variabilis* lo hacen solamente en el estadio adulto. En México, *R. sanguineus*, la garrapata marrón del perro, ha sido identificada como el principal vector de FM en el norte del país (Fuentes *et al.*, 1985; Eremeeva *et al.*, 2010; Oliveira, 2010; Almazán *et al.*, 2016).

El ectoparásito *R. sanguineus* es altamente endolítico, es decir, está adaptado a la vida en el interior y se puede encontrar dentro de las casas en alfombras, paredes y muebles. Diferentes estudios han demostrado que esta garrapata está muy bien adaptada a vivir en ambientes humanos y a reproducirse en estos, siendo también capaz de colonizar jardines y perreras; sin embargo, también puede sobrevivir en el exterior, principalmente en refugios como agujeros en pisos y paredes (Dantas-Torres, 2008).

**Cuadro 1. Características de las garrapatas vectores de la Fiebre Manchada, (Anderson y Magnarelli 2008).**

| Características                          | Familia Ixodidae (cuerpo duro)                                   |
|--|--|
| Aspectos morfológicos                    |  |
| Capítulo                                 | Visible en vista dorsal  |
| Escudo                                   | Presente   |
| Ecología                                 |  |
| Hábitats                                 | Ambientes abiertos (excepto especies nidícolas)                  |
| Actividad estacionaria                   | Presente   |
| Comportamiento en la búsqueda de huésped | Activo   |
| Hospederos                               | Usualmente tres hospederos                                       |
| Periodo de vida                          | Varios meses hasta tres años; menor resistencia a la desecación  |
| Aspectos biológicos                      |  |
| Estadios ninfales                        | Uno  |
| Alimentación                             | Cada estadio se alimenta lentamente (varios días) y una sola vez |

La garrapata marrón del perro (*R. sanguineus*) se encuentra distribuida en todo México, especialmente en zonas del norte, así como mayormente en algunos estados del sur de los Estados Unidos de América, como California, Arizona, Nuevo México y Texas (Herrera *et al.*, 2016). También cabe destacar que en un estudio nacional mexicano llevado a cabo en 2015 por Sosa *et al.* (2016) se reportó que *R. sanguineus* fue la especie de garrapata que se encontró con mayor frecuencia.

Así mismo, en un estudio llevado a cabo en Mexicali, Baja California, Tinoco *et al.* (2009) encontraron al menos una garrapata en 56 de los 94 perros muestreados. Todas las garrapatas fueron identificadas morfológicamente como *R. sanguineus*, localizándose la mayoría de estas garrapatas duras en las orejas (29 perros), seguido por los espacios interdigitales (27 perros) y la región dorsal (23 perros); así mismo se encontraron en el cuello de 11 perros y en la cara de seis perros. De acuerdo con el nivel de infestación, 44 de los perros con garrapatas fueron calificados como leve, nueve de tipo media y tres con infestación severa.

Según Llop *et al.* (2001) tradicionalmente se conocía que principalmente *R. rickettsii* se mantiene en ambientes naturales por medio de los vectores que, al alimentarse de animales silvestres como los roedores, son capaces de transmitir patógenos Rickettsiales. Así mismo estos vectores no infectados pueden adquirir patógenos Rickettsiales al alimentarse de la sangre de los animales silvestres infectados. Hoy día se conoce que las garrapatas desempeñan un papel importante no solo como vectores biológicos de Rickettsias, sino también como reservorios primarios, ya que éstas tienen la capacidad de transmitir este grupo de bacterias rickettsiales (GFM) en forma transestadial y transovárica. En ocasiones se encuentran garrapatas infestadas por estos patógenos sin que se encuentren mamíferos parasitados por estas, por lo que se sugiere que tal vez, las garrapatas fungen como reservorio de las Rickettsia en la naturaleza y no solo los vertebrados. Debe considerarse que las garrapatas transmiten a su descendencia las Rickettsia y que cada garrapata adulta alimentada puede oviponer más de 4 000 huevos.

Llop *et al.* (2001) explican que las características biológicas de las garrapatas (Ixodídeas), tanto blandas (Argosíneas) como duras (Ixodíneas), favorecen enormemente su papel de transmisores. Dentro de estas características biológicas tenemos: 1) no padecen afecciones por las Rickettsias que las parasitan, a diferencia de los piojos, por ejemplo; 2) en ellas ocurre el fenómeno biológico no muy habitual, de la super-fecundación de una hembra por varios machos; 3) ocurre en ellas el fenómeno denominado bifásico virginal, donde la hembra no fecundada no se desprende del vertebrado parasitado por ella; y 4) el largo tiempo que la garrapata puede resistir sin alimentarse, lo cual según Goddard (1987) puede ir en el caso de las larvas hasta por aproximadamente 8 meses, mientras que las ninfas y los adultos pueden hacerlo por hasta 19 meses.

El fenómeno del super-parasitismo es la esencia del proceso que permite la circulación de los agentes patógenos en las enfermedades de focos naturales. La tasa de garrapatas infectadas, inclusive en áreas de alta endemicidad, es baja y varía de un año a otro. No obstante, es posible que la infección pueda mantenerse en la naturaleza solo por la transmisión transovárica. En ese caso, las garrapatas serían los principales reservorios de la infección y los animales servirían para alimentarlas, re-infestarlas y amplificar la rickettsemia, sin haberse comprobado el papel de los animales como reservorios capaces de mantener la infección en la naturaleza, pues la rickettsemia que experimentan es de corta duración (Burgdorfer *et al.*, 1980).

El hombre se infecta por la mordedura de la garrapata, que debe estar prendida al cuerpo por lo menos entre cuatro y seis horas para que ocurra el fenómeno de “reactivación” de la rickettsia (el paso del estado avirulento al virulento). Según Llop *et al.* (2001), este fenómeno de “reactivación” solo sucede si la garrapata ingiere sangre fresca. Otros experimentos indican que la rickettsia es virulenta

sólo cuando metabólicamente está activa. Con menor frecuencia, la rickettsia puede penetrar por la piel lesionada por medio de las heces o los tejidos de la garrapata cuando se la aplasta al tratar de desprenderla (Chen y Sexton, 2008).

El hombre contrae la infección al entrar en áreas infestadas por garrapatas o por intermedio de los perros que las llevan a los domicilios en las áreas suburbanas. Según Llop *et al.* (2001), la infección humana tiene un carácter estacional que coincide con las épocas del año de mayor actividad de las garrapatas. Esto también fue reportado por Dantas-Torres (2010) quien indica que las temperaturas cercanas a los 20 °C e inferiores a los 35 °C con una humedad relativa superior al 35 % son las condiciones ideales para los procesos de protoquia (periodo de preovoposición) y cotoquia (período de incubación), la eclosión de los huevecillos y la fijación al huésped.

Además de la importancia que tiene la temperatura en la biología de estos ectoparásitos, esta puede tener una gran influencia sobre el tipo de huésped al que parasitan. Esto se debe a que las temperaturas superiores a los 35 °C aumentan los ataques de *R. sanguineus* al hombre y consigo el riesgo de transmisión de patógenos rickettsiales. Los cambios climáticos de temperatura también parecen influir en la distribución espacial y la dinámica estacional de los ectoparásitos pertenecientes a la familia *Ixodidae*, lo cual evidencia la afectación de estos cambios estacionales o temporales en los agentes rickettsiales transmitidos por estos vectores (Parola *et al.*, 2008).

### 2.3.1. Distribución espacial y mapeo de *R. sanguineus* y las enfermedades que transmiten

La distribución de las garrapatas se predice en función de la distribución espacial de datos recopilados y de las covariables presentes, ya que es muy común la falta de datos en el campo sobre la aparición de garrapatas. El mapeo predictivo de la presentación de garrapatas y de las enfermedades transmitidas por estas puede basarse en información sobre las características biológicas de la especie en estudio. El primero se basa en una dependencia comprobada experimentalmente de la especie de garrapata dada o de factores ambientales que lleva a modelos espaciales. En este sentido, la aplicación de modelos matemáticos apropiados para cada caso en particular permite realizar estimaciones estadísticas de tendencia en la aparición de garrapatas. Con respecto a los métodos óptimos para esto, existe una amplia variedad de modelos de estadística espacial disponibles (Guisan y Zimmermann, 2000), sin ser ninguno considerado universalmente el mejor que otro, sino que cada modelo utilizado para el análisis estadístico espacial debe ser usado según sean las características de los datos recopilados y el número de los mismos, las características temáticas de los datos, la presencia o ausencia de una variable y el área en estudio, entre otras. Una predicción precisa siempre requiere la optimización de

cualquier modelo dado dependiendo de las condiciones ecológicas específicas y los datos disponibles (Robinson, 2000).

2.3.1.1. Métodos comúnmente aplicados en los análisis espaciales de predicciones. Los métodos de predicciones más comúnmente aplicados en la presentación de ectoparásitos como las garrapatas están ligados a factores temporales como lo es el macroclima, por lo que es común el uso de modelos basados en el clima. Un ejemplo de programa ampliamente utilizado es CLIMEX (Sutherst y Maywald, 1985). Este tipo de modelo pertenece a los modelos ambientales de tipo envolvente. CLIMEX se encuentra delimitado positivamente por un Índice de crecimiento que combina temperatura y humedad favorables, así como delimitada negativamente en su envoltura por Índices de estrés representados por temperatura y humedad extremas. El resultado de este tipo de modelo envolvente ambiental es un Índice ecoclimático que se interpreta como una medida general de la idoneidad climática para una especie determinada. CLIMEX ha encontrado muchas aplicaciones en zoogeografía, incluida la predicción de la aparición de garrapatas (Norval *et al.*, 1991; Perry *et al.*, 1991; Sutherst, 2001).

Los métodos deductivos que emplean signos geobotánicos también han sido usados frecuentemente para el mapeo de hábitats de garrapatas. Estos métodos utilizan las asociaciones entre los factores climáticos reflejados en las plantas y sus estructuras, así como las condiciones geológicas, los cuales también crean condiciones microclimáticas, nutricionales y de refugio para la presencia de garrapatas. La asociación de la densidad de población de garrapatas y cierto tipo de vegetación es un fuerte criterio predictivo de ocurrencia (Estrada-Peña, 2001; Gilot, Pautou, y Moncada, 1975; Sonenshine, Peters, & Levy, 1972). La aplicación efectiva de este principio en la epidemiología del paisaje ha sido facilitada por el desarrollo de RS (Detector Remoto o Remote sensing, por sus siglas en inglés) que permite la identificación de hábitats de garrapatas a partir de imágenes multiespectrales (Daniel y Kolár, 1990; Hugh-Jones *et al.*, 1992, 1989).

Otro método es la clasificación por teledetección de los hábitats de las garrapatas. Este método se encuentra muy relacionado con las características estructurales de la vegetación, y no se ha comprobado una disminución de su potencial predictivo en comparación con la caracterización basada en el suelo (Beck *et al.*, 2000; Daniel *et al.*, 1998; Duffy *et al.*, 1994).

Existen varios modelos que se basan en predicciones matemáticas de relaciones reales de causa-efecto y utilizan datos fisiológicos y/o fenológicos de las especies bajo estudio que se reunieron en investigaciones experimentales. Este tipo de modelo no está destinado principalmente para el diseño de mapas, sino para comprobar la corrección teórica de hipótesis sobre la respuesta de algunas especies de garrapatas bajo diferentes condiciones ambientales (Estrada-Peña, 2002).

El uso de covariables que se espera que estén relacionadas con la aparición de garrapatas es otro de los modelos predictivos ampliamente utilizados. Por lo general, estos modelos se basan en una muestra relativamente pequeña de datos recopilados en el campo sobre la aparición de garrapatas y un conjunto de covariables en forma de mapas digitales. Además de las covariables climáticas y vegetativas, existen covariables geológicas, del tipo de suelo, hidrológicas y de la población huésped, así como factores antropogénicos y de otro tipo que determinan conjuntamente el sitio o el área de ocurrencia. Para evaluar la relación y/o riesgo a enfermedades transmitidas por garrapatas con covariables, se aplican una amplia variedad de métodos estadísticos. En principio, la predicción estadística puede basarse en la dependencia ambiental o en la dependencia espacial. Las técnicas de modelado que se basan en la dependencia ambiental de las especies de garrapatas determinan las relaciones entre la aparición de estas y las covariables en el espacio ambiental, y luego usan el patrón espacial de las covariables para proyectarlo de forma espacial. Los modelos más comunes son las modificaciones del modelo lineal generalizado, como la regresión lineal y logística, el análisis discriminante y los métodos de árbol de clasificación. Las técnicas basadas en la dependencia espacial estiman la idoneidad de un área para una especie de garrapata en el espacio geográfico. Las técnicas de interpolación más empleadas son Kriging y Distancia Inversa Ponderada (IDW, por sus siglas en inglés: Inverse distance weighting ) (Guisan y Zimmermann, 2000).

### 2.3.2. Distribución geográfica de la Fiebre Manchada

La FM ha sido diagnosticada en el Brasil (Minas Gerais, Rio de Janeiro y São Paulo), el oeste del Canadá, Colombia, Costa Rica, los Estados Unidos de América, México y Panamá. En los Estados Unidos de América la enfermedad se presenta en todo el país con excepción de los estados de Alaska, Hawái, Maine y New Hampshire (Dantas-Torres, 2008). Según informa Narrativa *et al.* (2009) esta patología ha sido identificada también en algunas zonas de Europa. Es importante reconocer que la distribución global de este patógeno rickettsial varía según la densidad y distribución de las garrapatas vectores-reservorios predominantes y la población de sus huéspedes vertebrados susceptibles a estos patógenos (Shaw *et al.*, 2001; Greene y Breitschwerdt, 2006). La expansión de las poblaciones de estas garrapatas vectores puede introducir la FM a nuevas áreas geográficas (Parola *et al.*, 2005).

Específicamente, como se aprecia en la Figura 2 la Fiebre Manchada en México fue descrita por primera vez en 1923 en regiones del norte de México, específicamente en la localidad del El Fuerte en el estado de Sinaloa (Hoffmann, 1925) y en 1943 Bustamante y Varela (1943), asociaron esta patología a determinantes ambientales específicas, y a la situación socioeconómica de zonas rurales de La Laguna y Galena.

Después de varias décadas sin reporte de casos, en la década del 2 000, la enfermedad resurgió nuevamente al norte de México en el estado de Sonora, así como en el municipio de Mexicali, BC (Figura 2). Fue en esta región del norte donde hubo un brote en el año 2009 asociado a la garrapata de la especie *R. sanguineus* y el cual estuvo impulsada por las mismas circunstancias ambientales descritas en los brotes de la década de 1940 (Field *et al.*, 2011; Tinoco *et al.*, 2009).



**Figura 2. Distribución histórica de los brotes de FM y del diagnóstico de *Rickettsia* spp. en garrapatas en México.** En el mapa se muestra a geolocalización cronológica de los principales brotes de FM y diagnósticos moleculares de *Rickettsia* spp. en México. Elaboración propia con datos publicados por Spencer y Parker (1923); Hoffmann (1925); Bustamante y Varela (1943) ; Zavala Velazquez *et al.* (2006); Tinoco-Gracia *et al.* (2009); Peniche Lara *et al.* (2014); Castillo- Martínez *et al.* (2015); Castañón (2016); López (2017).

Actualmente la Rickettsiosis es considerada en el estado de Baja California como una enfermedad endémica y se toma de manera intencionada como parte del diagnóstico clínico en unidades de salud de primer nivel de atención, lo cual favorece la detección de casos de manera oportuna (SINAVE, 2014).

### 2.3.3. El papel de los animales en la epizootiología de la enfermedad

En los animales, la rickettsemia es de corta duración (aproximadamente 15 días, tiempo que *Rickettsia* spp. se encuentra dentro del organismo de los animales susceptibles), por lo cual, su

dispersión está ligada a la infección de estas bacterias en animales que nunca han presentado la enfermedad, y quienes son los amplificadores de rickettsiosis en las poblaciones de garrapatas (Krawczak *et al.*, 2014).

En el Brasil, la especie *R. rickettsii* se ha podido aislar de diferentes especies de mamíferos que sirven como amplificadores, dentro de los que se encuentran como principales especies hospedadoras, el Capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), el perro (*Canis lupus familiaris*), la zarigüeya (*Didelphis marsupialis*) y el conejo silvestre (*Sylvilagus spp.*) (Polo *et al.*, 2017). En áreas de los Estados Unidos de América, consideradas como endémicas, agentes etiológicos rickettsiales, también han podido ser aislado de especies de roedores silvestres, así como también de zarigüeyas y perros (Weiss y Moulder, 1984; Raoult y Walker, 1991).

En estudios serológicos realizadas en los Estados Unidos de América se comprobó que muchas especies de mamíferos silvestres tienen anticuerpos contra *Rickettsia spp.* Puesto que el perro parasitado por *D. variabilis* sirve como eslabón importante en la transmisión de la infección al hombre, resulta de interés conocer su grado de exposición a las garrapatas infectadas. En varias encuestas serológicas la prevalencia más alta de seropositivos se registró en Columbus, Ohio, donde 45 % de los 73 perros examinados con la prueba de microinmunofluorescencia resultaron positivos, y mediante métodos moleculares en el año 2015 se encontró una prevalencia a *R. rickettsii* de 30.5 % en Mexicali, Baja California (Smith *et al.*, 1983; Field-Cortazares *et al.*, 2015).

El hombre es un huésped accidental, y el perro es un importante eslabón en la transmisión de la infección al hombre al llevar al ambiente humano las garrapatas infectadas de especies tales como *D. variabilis*, *D. andersoni*, *A. cajennense* y *R. sanguineus* (Márquez *et al.*, 2005).

## **2.4. Horizonte clínico**

### *2.4.1. Manifestaciones clínicas en los animales*

En la mayoría de los animales silvestres la infección se presenta de manera asintomática. Los canidos domésticos infectados en forma experimental o natural pueden cursar una forma sintomática en algunas ocasiones. De cuatro perros diagnosticados mediante serología; tres presentaron: fiebre, dolor abdominal, depresión y anorexia, en dos se observó: letargia y nistagmo, y en uno solo ocurrió conjuntivitis y petequias en la boca; el cuarto presentó una forma asintomática de la enfermedad. Existe la posibilidad de que perros que se encuentran en áreas endémicas se encuentren protegidos por

anticuerpos adquiridos de la madre después de que esta estuvo expuesta a la bacteria *R. rickettsii* y por lo tanto presenten una forma de la enfermedad más leve (Lissman y Benach, 1980).

En la epidemia de 1985 que se presentó principalmente en los estados de Sinaloa, Coahuila y Nuevo León principalmente, fueron descritos los siguientes signos de la enfermedad: letargia, anorexia, secreción nasal y ocular, incoordinación, inyección esclerótica, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia y aumento de los sonidos respiratorios (Weiser y Greene, 1989). En 11 perros cuya enfermedad se cuantificaron anticuerpos contra la *Rickettsia*; nueve presentaban lesiones oftálmicas que resolvieron después de aplicar oxitetraciclina por vía parenteral o tetraciclina por vía oral por 15 días (Davidson *et al.*, 1989). Como el perro está más en contacto con las garrapatas que el humano este es utilizado frecuentemente como indicador de la prevalencia y ubicación de zonas de riesgo para contraer la enfermedad (Feng *et al.*, 1979).

#### 2.4.2. Manifestaciones clínicas en el humano

La FM es clínicamente indiferenciable de la Ehrlichiosis (Rikihisa *et al.*, 1991; Davoust *et al.*, 1996). La sintomatología clínica aparece entre el segundo y el decimocuarto día después de la mordedura de la garrapata. La enfermedad se inicia súbitamente y se caracteriza por fiebre (40 °C), escalofríos, dolor de cabeza, artralgias y mialgias. En algunas ocasiones hay presencia de problemas gastrointestinales tales como náusea, vómito y diarrea antes de que comience el rash característico de las enfermedades rickettsiales (Raoult, 1991). Entre el tercero y el sexto día una vez iniciada la fiebre, se puede observar una erupción maculosa generalizada, que en algunos casos progresa a petequial. El rash es el signo más característico de este padecimiento; se presenta en más de 80 % de los casos e inicia por las muñecas y los tobillos. Después de la primera semana pueden aparecer anomalías en sistema nervioso tales como agitación, insomnio, delirio y coma, una vez concluida la primera semana se pueden presentar el CID y algunos problemas pulmonares (Kirkland *et al.*, 1993).

En un estudio realizado en un hospital infantil del estado de Sonora, de 116 niños, 77 (66.4 %) se confirmaron a FMMR mediante IFI y en 9 (7.7 %) por examen anatomopatológico con tinción de Pinkerton, empleando muestras de coágulo, o bien, de biopsia de piel. En 30 (25.9 %) de los infantes no fue posible confirmar la infección, ya que 16 de éstos murieron entre los 7 y 10 días (cuando aún no existen anticuerpos circulantes para la detección de *R. rickettsii*), por lo que los resultados de la IFI fueron negativos; en los 14 niños restantes no se hizo la prueba confirmatoria (IFI). En cuanto a la letalidad, ésta ocurrió en 28.3 %, ya que 33 de los niños fallecieron por FMMR. En lo que respecta a la edad de los niños, no hubo diferencias, dado que sobrevivieron  $7.3 \pm 2.7$  y fallecieron  $7.5 \pm 2.09$ , ya que los casos en estudio oscilaron entre los nueve meses y 17 años (Rivera *et al.*, 2013).

Los signos clínicos más frecuentes al ingreso de estos niños fueron: edema de tobillos y muñecas, exantema centrípeto, dolor abdominal y deterioro del estado de alerta. Los niños que fallecieron tuvieron una trombocitopenia menor a  $100\ 000/\text{mm}^3$ , aumento de las transaminasas glutámica-oxaloacética (TGO) y glutámicasapirúvica (TGP) y también lactato sérico elevado, a diferencia de los niños que sobrevivieron (Rivera *et al.*, 2013).

Según reportan Álvarez (2010) y Álvarez y Contreras (2013), la letalidad por FMMR en pediátricos atendidos es mayor a cualquier otro padecimiento infeccioso de interés epidemiológico como tosferina, influenza tipo A (H1N1), tuberculosis, neumonías y diarrea infecciosa, y que debe considerarse como una emergencia sanitaria y un problema prioritario de salud pública en el estado de Sonora, México.

## **2.5. Diagnóstico de la Fiebre Manchada**

El diagnóstico confirmatorio de laboratorio se realiza a través del cultivo de *Rickettsia* spp. de sangre o tejido del paciente durante la etapa febril y la inoculación de estas en cobayos machos o huevos embrionados, consecutivamente a seis días se realiza un examen microscópico de extensiones marcadas de la túnica vaginal. Aunque esta es la prueba de oro para el diagnóstico, su aplicación es limitada ya que se requiere de un laboratorio de bioseguridad nivel III (CDC, 1990).

Para una recuperación satisfactoria del paciente es crucial un diagnóstico precoz de la Fiebre Manchada. En la actualidad, las pruebas más empleadas y de mayor certeza son la IFI y otras técnicas serológicas como ELISA, la cual es una prueba fácil y rápida, que según plantea Field-Cortazares *et al.* (2015) demostró una alta confiabilidad por los valores de concordancia que genera respecto a IFA (Inmunodetección en sándwich) (Stockham *et al.*, 1992; Davoust *et al.*, 1996). Según Russel (1993) la prueba de IFI (Inmunofluorescencia Indirecta) posee elevada especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de FM, por lo cual es el más recomendado, con el inconveniente de la necesidad de contar con un microscopio de luz ultravioleta. Una desventaja de los ensayos serológicos es que no pueden diferenciar entre las especies rickettsiales a las que responden los anticuerpos, ya que generan reacciones cruzadas principalmente entre especies del mismo grupo.

Las pruebas de fijación del complemento, aglutinación del látex y microaglutinación son específicas, pero carecen de sensibilidad (Stockham *et al.*, 1992; Davoust *et al.*, 1996). A veces, el antígeno específico para la especie *R. rickettsii* se puede detectar en lesiones eruptivas de la piel mediante la prueba de inmunofluorescencia directa (50-70 % de sensibilidad) (CDC, 1990).

La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés, Polimerase Chain Reaction) ha sido exitosamente aplicada a muestras de sangre periférica, plasma, capa leucocitaria, tejido, biopsias de piel y garrapatas en el diagnóstico de *Rickettsia* spp. (Sogner y Post, 2006; Oteo *et al.*, 2014). Es una herramienta diagnóstica que presenta muchas ventajas por su rapidez y eficacia diagnóstica (Brouqui *et al.*, 2004; Oteo *et al.*, 2014), permitiendo hacer un diagnóstico específico de la especie que causa esta patología y con la ayuda de la secuenciación permite caracterizar e identificar molecularmente las cepas de este patógeno; además, puede detectar la *Rickettsia* spp. en sangre horas después de su incubación. Presenta una sensibilidad de 79 % al realizarse con muestras sanguíneas. Los resultados de esta prueba se pueden ver afectados por la presencia de inhibidores de la enzima polimerasa, por la degradación del ADN durante el transporte de la muestra y/o la terapia con antibióticos antes de tomar la muestra; otra desventaja sería la posible contaminación de los cebadores con productos de PCR anteriores (Pierre y Raoult, 2004). Sobre la sensibilidad de la prueba de PCR, se tiene el caso descrito por Sexton *et al.* (1994), quienes mencionan que, aunque se pudo establecer el diagnóstico de *R. rickettsii* en los coágulos de sangre de cuatro de cinco pacientes, en tres de ellos fue necesaria la reamplificación, lo cual puede estar dado por el nivel de infestación o por el momento en que se toma la muestra, además del estado de la muestra tomada.

## **2.6. Prevención, control y riesgo de FM**

La prevención y el control de estas enfermedades se enfocan en la reducción y la eliminación del vector, el uso de ropa protectora, la aplicación de repelentes y garrapaticidas (dietiltoluamida, dimetilftalato), en cuanto al personal expuesto se recomienda la revisión constante de la ropa para eliminar las garrapatas que se encuentren circulando y desprender las que se encuentren fijadas. Sabiendo que el perro es un importante huésped de las garrapatas se recomienda la aplicación de desparasitantes externos así como la limpieza y fumigación de las áreas donde estos se encuentren.

Aunque en los mamíferos susceptibles como los capibaras o el perro, el haber cursado con esta patología les confiere una inmunidad permanente, en el humano la inmunidad conferida por esta patología es incompleta y temporal, y las vacunas para proteger a las personas expuestas a riesgo alto (laboratoristas y ecólogos) han dado resultados poco satisfactorios. Aunque existen vacunas que se han aplicado en personal expuesto voluntario, la eficacia ha sido baja (25 % de eficacia), pero los voluntarios que se infectaron tuvieron una enfermedad más leve (Clements *et al.*, 1983).

El tratamiento de elección contra la Fiebre Manchada para humanos de cualquier edad es la doxiciclina. La mayoría de los otros antibióticos de amplio espectro no sirven para el tratamiento de esta enfermedad, el uso de las sulfonamidas estimulan el crecimiento de las Rickettsias, y según lo descrito por Llop *et al.* (2001), su empleo empeora a los enfermos. Es muy importante empezar el tratamiento con doxiciclina tan pronto se sospeche de la enfermedad, ya que es más eficaz si se inicia antes del quinto día de la fecha de inicio de síntomas (CDC, 2012).

### 2.6.1. Factores de riesgo asociados a la Fiebre Manchada

Las enfermedades Rickettsiales se asocian a diversos factores tales como: el económico, cultural, la ecología del vector, etc. En cuanto a el económico se refiere a la pobreza, hacinamiento, lugares antigénicos y el contacto estrecho con animales infestados por vectores. En México, aproximadamente el 60% vive bajo estas condiciones de vulnerabilidad, por lo tanto, se considera a las enfermedades rickettsiales difíciles de erradicar, sin embargo, se han aplicado medidas para el control de vector (Openshaw *et al.*, 2010; SSA., 2013).

En el caso de los perros, el riesgo de adquirir FM depende de varios factores, dentro de los cuales la abundancia de los vectores adquiere una importancia extraordinaria. Otro factor importante es la prevalencia por regiones y zonas, según la temporalidad, así como el tiempo de adhesión que presentan estos ectoparásitos en el perro (Balraj *et al.*, 2009). Teniendo en cuenta lo anterior, para que otras especies de mamíferos, donde incluimos a los humanos, sean mordidos por garrapatas como *R. sanguineus*, debe haber una constante renovación y reproducción de perros que permita mantener una abundante población de garrapatas y una óptima transmisión de estos ectoparásitos a los perros y viceversa (Parola *et al.*, 2008).

Esta patología en los perros tiene un carácter estacional que afecta con mayor frecuencia a los cánidos jóvenes, especialmente a los que son menores de tres años. Desde el punto de vista estacional la mayor prevalencia de este síndrome febril se presenta entre los meses de abril y septiembre en el hemisferio norte, época en que las garrapatas presentan una actividad mucho mayor, debido a la temperatura a la que están expuestas ( Dantas-Torres, 2008; Balraj *et al.*, 2009; Chomel, 2011; Díaz y Cataño, 2010; Lorusso *et al.*, 2010).

Teniendo en cuenta que es la garrapata uno de los principales vectores de FM y que estas actúa como reservorio este síndrome, la exposición de los perros a estas es, lógicamente, un factor de riesgo (Proboste *et al.*, 2015). En un estudio en Arizona, los perros que tenían al menos una garrapata adherida mostraron una probabilidad tres veces mayor de presentar anticuerpos antirickettsia según reportó

McQuiston *et al.* (2011). A su vez, en algunas zonas del estado de Arizona se ha relacionado el aumento del número de perros callejeros con el desarrollo de la FM (Nicholson *et al.*, 2006).

En las zonas rurales, los perros que son utilizados para actividades como el pastoreo, resguardo de los hogares, eliminación de fauna nociva, entre otras actividades, están más expuestos a las garrapatas y roedores; de hecho, más del 80 % de los casos clínicos de Rickettsiosis son de perros que viven fuera de las casas (Melo *et al.*, 2011).

En cuanto a este aspecto, en un estudio en Brasil, los factores de riesgo más importantes fueron: 1) que el perro fuera utilizado para la caza, 2) que el perro viviera en zona rural, 3) que el perro estuviera infestado con garrapatas *A. cajennense* (el principal vector de FM en Brasil) (Melo *et al.*, 2011). El crecimiento de las ciudades, así como el uso de animales para distintas actividades, con la posterior modificación del ecosistema, expone a nuevos hospederos susceptibles a la infestación por garrapatas y rickettsias asociadas (Parola *et al.*, 2013).

#### 2.6.2. *El papel de los perros centinelas en la epizootiología de la Fiebre Manchada*

Existe una fuerte asociación entre el contacto y proximidad de las personas con perros, cargas de garrapatas en los últimos, la densidad de poblaciones de garrapatas en el ambiente y el riesgo subsecuente de infección por Rickettsiosis en humanos (Nicholson *et al.*, 2010). La presencia de *R. rickettsii* en los vectores y en los hospederos amplificadores de una zona, indica también exposición humana (Sosa-Gutiérrez *et al.*, 2014).

En algunas regiones donde la FM es endémica se han observado prevalencias de Rickettsiosis del 60 % o más en perros (Levin *et al.*, 2014). Como se han obtenido prevalencias similares en humanos en el mismo tiempo y lugar, se ha considerado que los perros son centinelas eficientes de la enfermedad en el hombre (Nicholson *et al.*, 2006; Chomel, 2011; Eremeeva, 2012; Proboste *et al.*, 2015). Por ello, la infestación humana por garrapatas, así como el aumento de infecciones de FM, tiende a darse por factores como propiedad de perros infestados y presencia de las garrapatas en el ambiente (Dantas-Torres, 2010).

### **3. Hipótesis**

La prevalencia y distribución espacial de la Fiebre Manchada en perros domésticos y en el vector *Rhipicephalus sanguineus* en Ciudad Juárez, Chihuahua, se encuentran asociados a factores socioculturales y ambientales.

### **4. Objetivo general**

Evaluar espacial y temporalmente la epizootiología y los factores de riesgo de la Fiebre Manchada en Ciudad Juárez, Chihuahua.

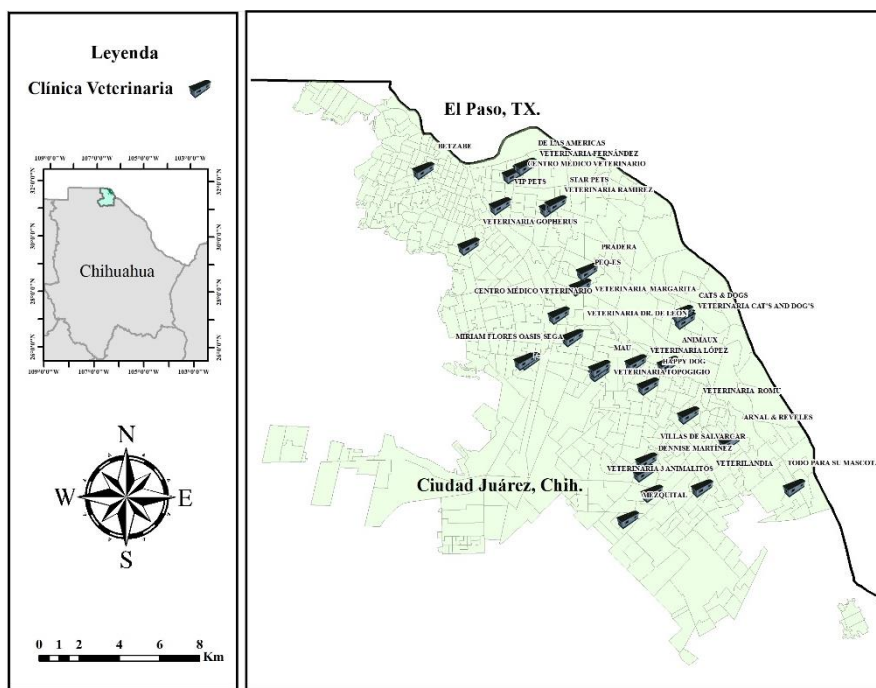
#### **4.1. Objetivos específicos**

1. Estimar la prevalencia estacional de *R. sanguineus* en perros domésticos.
2. Estimar la prevalencia estacional de Fiebre Manchada en pools de *R. sanguineus* y sangre de perros domésticos.
3. Calcular factores de riesgo asociados a la Fiebre Manchada en perros domésticos.
4. Analizar la distribución estacional de Fiebre Manchada en perros domésticos.
5. Identificar temporalmente las zonas de riesgo para la Fiebre Manchada en Ciudad Juárez, Chihuahua.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

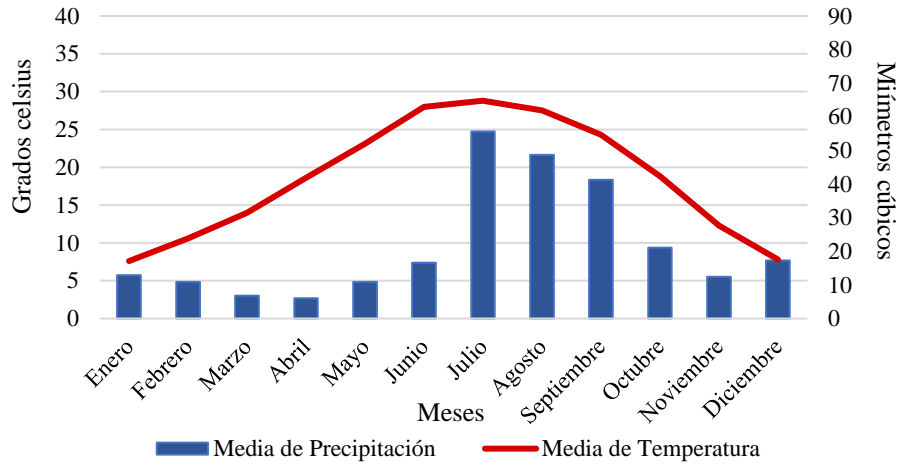
### 5.1. Área de estudio

El estudio se desarrolló en Ciudad Juárez, Chihuahua, la cual es una ciudad fronteriza del norte de México que colinda con los estados de Nuevo México y Texas, Estados Unidos de América (Figura 3). La misma se localiza en 31°44'47" N, 106°29'06" E, a una altitud de 1,131 msnm y cuenta con una población de 1 390 180 habitantes, de los cuales 691 131 (49.7 %) son hombres y 700 049 (50.3 %) son mujeres, según datos del INEGI (2017b, 2018).



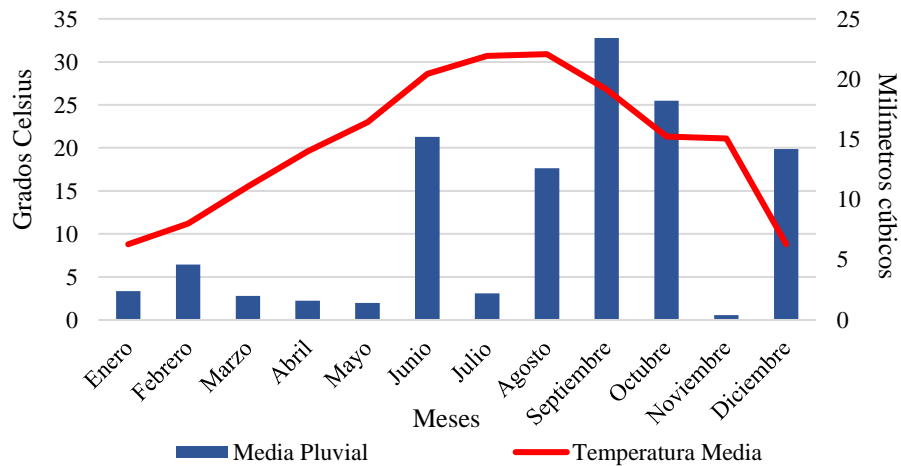
**Figura 3. Área de estudio y distribución espacial de las clínicas veterinarias participantes Ciudad Juárez, Chihuahua, México.** Se muestra el área de estudio (Ciudad Juárez) y la geolocalización espacial de las 28 clínicas veterinarias donde se tomaron las muestras. Elaboración propia.

El clima es extremoso desértico, con un promedio mensual histórico de temperatura y de precipitación pluvial representado en el Figura 4 y una oscilación entre 13 °C y -4 °C específicamente para la época de invierno y una máxima de hasta 42 °C en la época de verano (INEGI, 2018).



**Figura 4. Climograma de medias mensuales históricas de temperatura y pluviosidad en Ciudad Juárez, Chihuahua 1957-2016.** Elaboración propia con datos del Anuario Estadístico y Geográfico del INEGI (2017b).

Específicamente, en Ciudad Juárez, durante el período 2018 a 2019 se registraron en los meses de julio, agosto y noviembre, niveles de precipitaciones por debajo de la media histórica, contrario a lo ocurrido en el mes de junio (Figura 5), donde se triplicó el promedio de precipitación obtenido históricamente (Figura 4). En la temperatura media, hubo un comportamiento similar con la media histórica (Figura 4 y 5).



**Figura 5. Climograma de medias mensuales de temperatura y pluviosidad en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019.** Elaboración propia con datos del LCCA UACJ (2019).

## 5.2. Población y muestreo

El presente estudio epidemiológico se desarrolló utilizando un método de muestreo probabilístico sistemático para la selección aleatoria en la población perros domésticos de Ciudad Juárez, durante cuatro etapas distintas del período de 2018 a 2019: 1<sup>ra</sup> Etapa, octubre a noviembre del 2018; 2<sup>da</sup> Etapa, enero a febrero del 2019; 3<sup>ra</sup> Etapa, abril a mayo del 2019; y 4<sup>a</sup> Etapa, julio a septiembre del 2019.

Este estudio fue presentado ante el Comité Institucional de Ética y Bioética de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, quien le otorgó un dictamen favorable (CIBE- 2018-10-05) para realizar el muestreo y la utilización de los datos obtenidos en la presente investigación.

### 5.2.1. Criterios de inclusión

Para determinar la población de perros domésticos en el estudio, se siguieron tres criterios de inclusión: 1) Contar con la autorización por parte del responsable de la mascota mediante la firma del consentimiento informado (Anexo); 2) Determinar las características clínicas y epizootiológicas de la Fiebre Manchada; y 3) Perro doméstico con más de quince días en la ciudad y conocer la dirección exacta donde vive el perro, para de esta forma poder realizar la geolocalización de las unidades muestrales.

### 5.2.2. Obtención de datos clínicos y epizootiológicos

La obtención aleatoria de los datos fue realizada muestreando al segundo perro que asistió a una de las 28 clínicas u hospital veterinario (Figura 3) que accedieron a participar en el presente estudio, y que cumpliera con los criterios de inclusión expuestos con anterioridad. Para la realización de este procedimiento se utilizó herramienta “Historia Clínica Epidemiológica” (Anexo), que fue diseñada y estandarizada teniendo en cuenta la estructura general de la historia clínica y enfocándola según la epizootiología y la clínica de la Rickettsiosis canina, para lo que se utilizaron las claves epidemiológicas planteadas por Angeletti *et al.* (2016) y donde se indica que durante la anamnesis y el examen clínico (de la historia clínica epidemiológica) se investigue acerca de algunos aspectos como:

- Datos generales del responsable
- Personas expuestas según grupos etarios
- Especies y cantidad de mascotas en el hogar
- Antecedentes de mordedura de garrapatas y nivel de infestación
- Realización de actividades en espacios con riesgo de exposición a garrapatas

- Programas de desparasitaciones y vía de administración
- Programas de fumigación/aspersión en el hogar (Frecuencia)
- Presencia de casos similares en vecinos o individuos con que se relaciona

Para la estandarización de la historia clínica epidemiológica, se realizaron dos pilotajes previos a su aplicación, con el objetivo de evaluar la comprensión de las preguntas por la población.

#### 5.2.3. *Procedimiento para la toma de muestras de garrapatas*

La recolección de los especímenes fue realizada mediante la revisión y conteo de garrapatas (en caso de contar con una infestación por este ectoparásito) en ambos lados del perro, teniendo en cuenta las garrapatas perceptibles al tacto y dividiendo el cuerpo del perro en ocho regiones para cada lado de la línea alba: lomo, costillas, abdomen, miembro anterior, miembro posterior, área perianal, axila y cabeza. Para la extracción del ectoparásito, se utilizó una pinza estéril de punta fina lo más cercano a la piel de donde estaba alimentándose la garrapata, junto a un algodón remojado con alcohol y, girando sobre su propio eje, se fue halando en dirección perpendicular a la piel (CDC, 2014); los especímenes fueron depositados en un microtubo de 1.7 mL identificados con el folio de la historia clínica a la que le corresponda. El almacenamiento de las muestras de garrapatas fue realizado en la clínica u hospital según la metodología descrita por Oteo *et al.* (2014) para la conservación y transporte de ectoparásitos destinados al diagnóstico de enfermedades rickettsiales, Almacenamiento de 2 °C a 8 °C y a -20 °C para más de 24 h. La transportación de las muestras fue realizada en una hielera con gel refrigerante hasta el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencias Biomédicas (ICB) de la UACJ, donde se almacenaron a -20 °C para su posterior manejo.

#### 5.2.4. *Procedimiento para la toma de muestras sanguíneas en perros*

La flebotomía se realizó en la vena Yugular o Cefálica, según las características del perro (raza, tamaño, estética y agresividad). Para este procedimiento, primeramente, se realizó un rasurado con desinfección del área utilizando alcohol etílico al 70 %. El volumen de sangre obtenida fue aproximadamente 2 mL por perro y depositada en un tubo vacutainer de 4 mL con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), homogenizándose la muestra por inversión. Los tubos se identificaron con el folio de la historia clínica a la que le correspondía, para luego ser conservados

de 2 °C a 8 °C y transportarse a esa temperatura, para finalmente almacenarse a -20 °C (Oteo *et al.*, 2014) antes de ser usados para el diagnóstico molecular.

### **5.3. Trabajo de laboratorio**

#### *5.3.1. Clasificación de ectoparásitos y diseño de pools para el diagnóstico molecular en garrapatas*

El ectoparásito fue identificado utilizando un estereoscopio (ZEISS, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) mediante el programa ©ZEN 2.3 Blue edition, Carl Zeiss (Microscopy GmbH, Germany), siguiendo la clave taxonómica descrita por Walker *et al.* (2014) diferenciándose entre larva, ninfa y adulto hembra o macho.

Para el diseño de los pools y el almacenamiento de los especímenes fueron analizadas las características epizootiológicas de la Fiebre Manchada y lo descrito por Oteo *et al.* (2014), conformándose pools de hasta cinco garrapatas de un mismo sexo y estadio, para su posterior manejo en el diagnóstico molecular.

#### *5.3.2. Extracción del ADN*

Para la extracción del ADN en pools de *R. sanguineus* y sangre de perros, fue utilizado el método de Fenol: Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:24:1) (Sambrook y Russell, 2001).

Para la extracción del ADN en pools de *R. sanguineus* fueron tomados uno o varios especímenes (según el diseño del pool máximo x especímenes) con pinzas estériles y utilizando un bisturí fueron diseccionados en una placa de petri estéril. Luego de la disección, los especímenes se colocaron en un microtubo de 1.7 mL debidamente etiquetado y al que se le adicionaron 400 µL de Buffer lisis (SDS 1 %, NaHCO<sub>3</sub> 10 mM, NH<sub>4</sub>Cl 115 mM, EDTA 10 mM pH 8), posteriormente, con la ayuda de un pistilo, los especímenes fueron macerados dentro del microtubo. Una vez terminada la maceración y con el contenido del microtubo bien homogenizado fue adicionado 10 µL de Proteínasa K (25 mg/mL) y se realizó vortex para incubar en termoblock a 70 °C durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de incubación fue realizado un lavado con 400 µL de fenol mercaptoetanol al 0.2 % y mezclando por vortex, para luego centrifugar a 12 000 rpm durante 5 min. Después de la centrifugación, fue obtenida la parte acuosa con una micropipeta y se pasó a un nuevo microtubo, contando los µL depositados. Una vez depositados los µL en el microtubo fue adicionado el mismo volumen (misma cantidad de µL obtenidos) de Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:1) y fue mezclado por vortex nuevamente para posteriormente centrifugar a 10 000 rpm durante 10 min. Una vez terminada la centrifugación y contando los µL, fue obtenida nuevamente la fase acuosa para un nuevo microtubo estéril y le fueron

adicionados  $\frac{1}{10}$  de los  $\mu\text{L}$  obtenidos, de acetato de sodio ( $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ) 3M pH 5.4 y dos volúmenes de etanol 100 % frío. A continuación, el microtubo fue mezclado por inversión y se almacenó en una gradilla a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Al día siguiente (pasadas 24 h) fue realizada una centrifugación a 12 000 rpm durante 15 min y fue decantado el exceso de etanol con cuidado de no desechar pellet. Luego fue lavado el pellet con 1 mL de etanol frío al 75 % y se volvió a centrifugar el microtubo a 7 500 rpm durante 5 min. Este último paso se repitió nuevamente dos veces más. Una vez terminado los lavados, fue decantado todo el Etanol al 75 % (siendo cuidadoso de no desechar pellet) y el microtubo fue puesto a secar boca abajo por unos 15 min aproximadamente, hasta que se secó el etanol. Para finalizar, el pellet fue resuspendido en 30  $\mu\text{L}$  o 40  $\mu\text{L}$  (según el tamaño del pellet) de agua estéril.

Para la extracción del ADN en sangre de perro, una vez que las muestras fueron descongeladas y homogenizadas por inversión, fueron tomados 250  $\mu\text{L}$  de sangre total, la cual fue depositada en un microtubo de 1.7 mL, añadiéndosele posteriormente 500  $\mu\text{L}$  de solución buffer lisis (Tris HCl 0.2 M, EDTA 10 mM, NaCl 0.5 M y SDS 1 % 10mg/mL). Después de mezclar por inversión, le fueron resuspendidos 2.5  $\mu\text{L}$  de proteinasa K (25 mg/mL), la muestra fue mezclada por vortex durante dos segundos, para posteriormente incubar a  $56\text{ }^\circ\text{C}$  por 15 min, y repitiéndose este último paso. Una vez realizada la segunda incubación la muestra se enfrió a temperatura ambiente por 30 seg, y mezclada utilizando vortex durante 2 seg, para posteriormente volverse a incubar en el termoblock a  $100\text{ }^\circ\text{C}$  por 10 min. Transcurrido ese tiempo se dejó enfriar por 3 min a temperatura ambiente. Después se procedió a realizar el primero de los tres lavados, donde le fueron adicionados a la muestra 400  $\mu\text{L}$  de Fenol: Cloroformo: Alcohol Isoamílico (24:24:1), se continuó con la homogenización utilizando el vortex por dos segundos. Una vez homogenizada la muestra fue centrifugada a 12 000 rpm durante 3 min. Después de realizar el segundo lavado, fue recuperada la fase acuosa en un nuevo microtubo, repitiéndose este procedimiento de igual forma. Al finalizar el tercer lavado, fue recuperada y contabilizada la fase acuosa en un nuevo microtubo, donde se le añadió  $\frac{1}{10}$  de los  $\mu\text{L}$  obtenidos, de acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  a 3M, pH 5.4) y 2 volúmenes de etanol 100 % frío. Luego, se mezcló por inversión y fue almacenada a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Después de transcurrido ese tiempo se realizó una centrifugación a 12 000 rpm durante 15 min, para luego decantarse el sobrenadante cuidadosamente, para no desechar el pellet y añadirsele 500  $\mu\text{L}$  de etanol frío al 75 %. Después se realizó otra centrifugación a 7 500 rpm durante 5 min, repitiéndose este paso nuevamente. Al culminar el último lavado, se procedió a la decantación cuidadosa del sobrenadante, dejándose secar el pellet durante 15 min con el microtubo boca abajo, sobre un papel adsorbente. La resuspensión para la dilución del pellet fue realizada en 30 o 40  $\mu\text{L}$  de agua estéril. Las muestras de ADN fueron

almacenadas posteriormente a -20 °C hasta su cuantificación y utilización para realizar el diagnóstico molecular por la técnica de PCR punto final.

### 5.3.3. Cuantificación de ADN

La cuantificación y la pureza del ADN extraído de pools de garrapatas y de sangre se calculó mediante la espectrofotometría con ayuda del NanoDrop 2000. Este procedimiento fue realizado calibrando a cero el NanoDrop 2000 con 2 µL de agua estéril (diluyente del ADN), depositándose posteriormente 2 µL de cada una de las muestras para estimar la pureza del ADN según la relación de absorbancia  $\frac{A_{260}}{A_{280}}$  considerándose un ADN de pureza estable, a una relación < A2.00 y >A1.50 por cada 2 µL. La concentración de ADN (ng/µL) se calculó usando el nivel de absorbancia a 260 nm (A260) para alcanzar una templado de 200 ng/25 µL. Entre cada cuantificación fueron realizados de tres a cinco lavados con agua estéril.

### 5.3.4. Amplificación de los genes *OmpA*<sub>1</sub> para el diagnóstico de la Fiebre Manchada

El diagnóstico molecular fue realizado mediante la prueba de PCR de punto final (Sogner y Post, 2006) según lo escrito por Regnery *et al.* (1991), Labruna (2007) y Oteo *et al.* (2014). Para esto fue realizada la amplificación del fragmento *OmpA*<sub>1</sub>, correspondiente al gen *OmpA*.

**Cuadro 2. Oligonucleótidos para el diagnóstico molecular de Fiebre Manchada.**

| Fragmento<br>(Tamaño del amplicón) | Oligonucleótidos 5'-3'   | Condiciones PCR<br>(Este estudio) | Referencia                      |
|------------------------------------|--|-----------------------------------|---------------------------------|
| <i>OmpA</i> <sub>1</sub> (532 pb)  | <b>Rr190.70p:</b> ATGGCGAATATTTCTCCAAAA<br><b>Rr190.602n:</b> AGTGCAGCATTGCTCCCCCT | 95 °C 5 min. 1 Ciclo              | Regnery <i>et al.</i> ,<br>1991 |
|                                    |  | 95 °C 40 seg.                     |                                 |
|                                    |  | 58 °C 30 seg. 35 Ciclos           |                                 |
|                                    |  | 72 °C 1 min.                      |                                 |
|                                    |  | 72 °C 8 min. 1 Ciclo              |                                 |

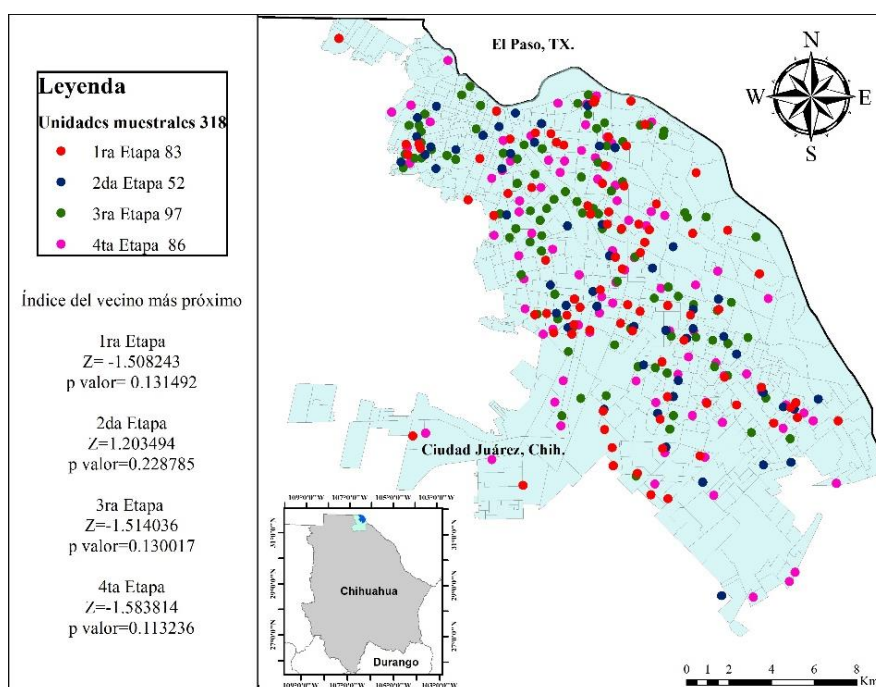
Para la amplificación de PCR fue utilizado un templado de 200 ng de ADN, adicionándosele 1 µL de cebador Rr190.70p o sentido (20 mM) y 1 µL de cebador Rr190.602n o antisentido (20 mM), 12.50 µL de Master mix Promega® (dNTPs 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM y Taq Polimerasa 50 U/µL) y la cantidad necesaria de agua destilada para obtener una reacción con un volumen total de 25 µL. El control negativo contó solamente con los cebadores, el Master mix y agua; y el control positivo estuvo compuesto de los cebadores, el Master mix, el agua estéril y 5 µL de muestra positiva a *R. rickettsii* confirmada por secuenciación y donada por el Laboratorio de Salud Pública de la Universidad Autónoma de Baja California.

### 5.3.5. Análisis electroforético

Los productos de amplificación fueron corridos a 100 V durante 45 min mediante una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 2.2 %. Los geles fueron preparados con 20 o 40 mL de buffer TAE 1X (40 mM Tris-acetate y 1 mM EDTA, pH 8.3), 0.44 o 0.88 gr de agarosa y 10 o 20  $\mu$ L de Bromuro de Etidio al 0.1 % para geles de 8 y 16 pozos respectivamente. En cada pozo del gel se cargó un volumen de 10  $\mu$ L de producto de PCR y fue utilizado un marcador de peso molecular de 100 pb DNA ladder Promega. Los geles electroforéticos fueron visualizados en el transiluminador, y fotodocumentados utilizando el sistema EDAS 290 Kodak.

## 5.4. Análisis espacial

### 5.4.1. Geolocalización y distribución espacial de las unidades muestrales por etapa de muestreo



**Figura 6. Distribución espacial de las unidades muestrales por etapa de muestreo en Ciudad Juárez 2018 - 2019.** Se muestran la geolocalización espacial de los 318 perros domésticos muestreados, distribuidos por etapa: 1<sup>ra</sup> Etapa, color rojo; 2<sup>da</sup> Etapa, color azul; 3<sup>ra</sup> Etapa, color verde; y 4<sup>ta</sup> Etapa, color rosado. El análisis estadístico espacial por etapa muestra distribución aleatoria para alfa=0.05. Elaboración propia.

Una vez realizada la geolocalización de las clínicas participantes en el estudio (28), y paralelo al muestreo en cada una de las etapas, fue realizada la geolocalización de los perros domésticos (Unidades muestrales) en el programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A) (Figura 6).

Una vez terminada la geolocalización de las unidades muestrales por etapa de muestreo, fue realizado un análisis de la distribución espacial de las mismas para un alfa de 0.05, utilizando la herramienta Vecino más próximo, mediante la cual se comprobó la distribución aleatoria de las unidades muestrales (Figura 6).

#### 5.4.2. Estadística espacial

Fue realizado un análisis de estadística espacial, sin asociación de variables temáticas para unidades espaciales, de la FM y de los perros domésticos positivos a *R. sanguineus* en el programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A) mediante la herramienta de estadística Vecino más próximo. Para el análisis de la distribución espacial de variables con atributos temáticos medibles (valor de cada objeto) fue usada la herramienta de estadística espacial que también presenta el programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A) Autocorrelación de Moran (o Índice de Moran) con un nivel de significación del 0.05. Los mapas de zonas de riesgo a la presentación de FM en Ciudad Juárez fueron obtenidos mediante la herramienta de interpolación IDM (Distancia Inversa Ponderada) también e en el programa ArcMap (ArcGIS v10.3, Esri, U.S.A).

### 5.5. Análisis estadístico

Los datos se registraron en una hoja de cálculo de Microsoft Excel y analizados en el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc., Cary NC). El cálculo de la prevalencia se realizó

mediante la ecuación de prevalencia=  $\frac{\text{Positivos a FM}}{\text{Total de unidades muestreadas}} \cdot 100$ .

La asociación entre las variables se investigó mediante la prueba de  $\chi^2$  con un nivel de significación del 0.05. La estimación del riesgo asociados a *R. sanguineus* y a la Fiebre Manchada se hizo mediante una regresión logística, en la que fueron calculados los Odds Ratio (OR) y de esta manera se estimó cuáles elementos de la historia clínica (Anexo) representa un factor de riesgo para la presencia de garrapatas y de la enfermedad Rickettsial.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Prevalencia y distribución espacial de *R. sanguineus* en perros

#### 6.1.1. Prevalencia de *R. sanguineus* en perros domésticos

Se muestrearon un total de 318 perros domésticos en las cuatro etapas del período, de octubre de 2018 a septiembre de 2019. Los resultados evidenciaron un total de 40 perros domésticos positivos a garrapatas, identificadas según las características morfológicas como *R. sanguineus*. Esto permitió determinar una prevalencia de *R. sanguineus* en perros domésticos del 12.50 % (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Prevalencia de *R. sanguineus* en perros domésticos por etapa de muestreo en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019.**

| Etapa                 | Prevalencia      | Valor de <i>P</i> |
|-----------------------|------------------|-------------------|
| 1 <sup>ra</sup> Etapa | 4.82 % (4/83)    | 0.0025            |
| 2 <sup>da</sup> Etapa | 3.85 % (2/52)    |                   |
| 3 <sup>ra</sup> Etapa | 17.53 % (17/97)  |                   |
| 4 <sup>ta</sup> Etapa | 19.77 % (17/86)  |                   |
| Total                 | 12.50 % (40/318) |                   |

<sup>a</sup>Prueba  $\chi^2=14.35$ ; 1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019).

Las prevalencias obtenidas en cada una de las cuatro etapas de muestreo (Cuadro 3) mostraron diferencias significativas ( $P<0.05$ ).

Estas prevalencias encontradas contrastan con las obtenidas por Tinoco-Gracia *et al.* (2009) quienes reportaron prevalencias del 59.57 % (56/94) de *R. sanguineus* en perros provenientes de un Centro Antirrábico y diferentes clínicas veterinarias de Mexicali, BC entre los meses de septiembre y noviembre. Los niveles de prevalencia obtenidos también en el norte de México por Tinoco-Gracia *et al.* (2009) muestran una prevalencia mayor en aproximadamente un 47 % a la prevalencia general reportada en esta investigación. Además de lo mencionado, también destaca que estos resultados

obtenidos en Mexicali fueron solamente en la época de septiembre a noviembre del 2008, y en la primera etapa de muestreo del presente estudio, solo se reportó una prevalencia de *R. sanguineus* en perros del 4.82 % y destacándose que estas prevalencias obtenidas provienen en su totalidad de perros domésticos y no de perros condición calle o perros que provengan de esta condición. Estas diferencias en cuanto a las prevalencias encontradas, pudieran deberse al efecto de la temperatura, ya que a diferencia de la temperatura media mensual (5 °C hasta 18 °C) en Ciudad Juárez, para un periodo similar la media mensual de la temperatura en el municipio de Mexicali va desde los 20 °C hasta más de 35 °C (INEGI, 2017a, 2017b) lo cual es una temperatura ideal para la fijación de *R. sanguineus* a su huésped canino (Dantas-Torres, 2010), además de aumentar su voracidad e inespecificidad por el huésped cuando las temperaturas son superiores a los 35 °C (Parola *et al.*, 2008).

La clasificación de las garrapatas *R. sanguineus* según sexo y estadio mostró una mayor frecuencia de machos adultos en las cuatro etapas de muestreo con un total de 73 (61.87 %), lo que representa aproximadamente un 24 % más del total de hembras y ninfas obtenidas durante el estudio (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Análisis de la cantidad y frecuencia de *R. sanguineus* en perros domésticos según sexo y estadio por etapa de muestreo en Ciudad Juárez, Chihuahua 2018-2019.**

| Etapa                 | Ninfas<br>n (%) | Adultas♂<br>n (%) | Adultas♀<br>n (%) | Total<br>n (%) |
|-----------------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------------|
| 1 <sup>ra</sup> Etapa | 2 (15.4)        | 9 (69.2)          | 2 (15.4)          | 13 (100)       |
| 2 <sup>da</sup> Etapa | -               | 1 (50.0)          | 1 (50.0)          | 2 (100)        |
| 3 <sup>ra</sup> Etapa | 1 (2.4)         | 24 (57.6)         | 16 (40.0)         | 41 (100)       |
| 4 <sup>ta</sup> Etapa | 6 (9.7)         | 39 (62.9)         | 17 (27.4)         | 62 (100)       |
| Total                 | 9 (7.6)         | 73 (61.8)         | 36 (30.1)         | 118 (100)      |

1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019). ♂:

A pesar de haberse obtenido un número de garrapatas hembra menor al número de machos obtenidos en tres de las cuatro etapas de muestreo (1<sup>ra</sup>, 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa), resalta que las hembras adultas

fueron halladas en la 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa con una frecuencia del 24.6 % y del 12 % mayor a la frecuencia obtenida en la 1<sup>ra</sup> Etapa (15.4 %). También se observa que el número de ninfas obtenidas en los perros fue significativamente mayor en la 4<sup>ta</sup> Etapa, donde se obtuvo el 66.67 % (6/9) de las ninfas obtenidas en los perros domésticos muestreados durante el estudio (Cuadro 4).

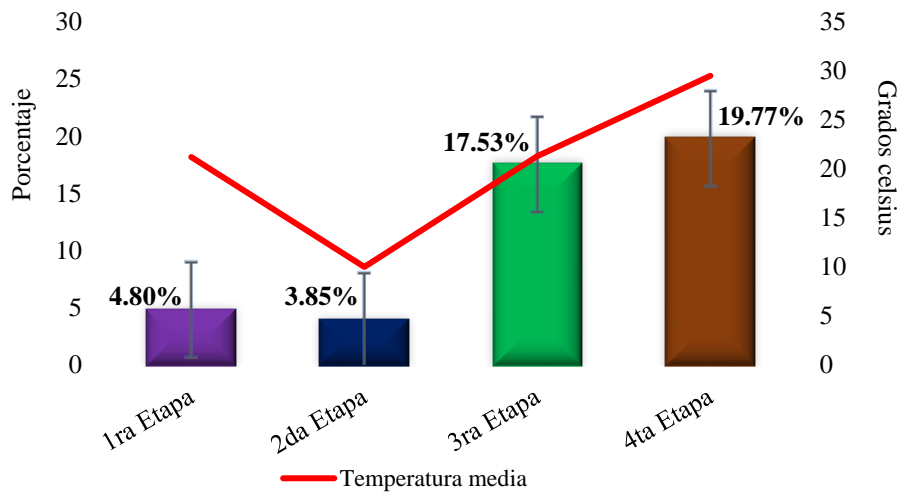
Con respecto al sexo y a estadio de las garrapatas obtenidas se destaca el hecho de haber encontrado un número de garrapatas hembra menor al número de machos obtenidos (Cuadro 4) en tres de las cuatro etapas de muestreo (1<sup>ra</sup>, 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa), lo cual pudo estar dado por el hecho de que los machos de *R. sanguineus* pasan toda su vida adulta en el hospedador, en contraste con la hembra, quien una vez que copulan y se alimentan (6 a 50 días) baja del hospedero canino para ovopositar un promedio de 4 000 huevos recubiertos por una sustancia que los mantiene hidratados hasta su eclosión, la cual puede tardar hasta 7 meses dependiendo de la temperatura y humedad relativa (Hugh-Jones *et al.*, 1992; Walker *et al.*, 2014; Witter *et al.*, 2012).

La razón por la que el número de ninfas obtenidas en los perros fue significativamente mayor en la 4<sup>ta</sup> Etapa (Cuadro 4) puede deberse a que la metamorfosis de larva a ninfa necesita para ocurrir un mínimo de temperatura de 14 °C, y que el aumento de la temperatura media propicia la aceleración del proceso de cotoquia, aumentando por ende el número de ectoparásitos (López-Vélez y Moreno, 2005). Esto fue comprobado en un estudio realizado Koch y Tuck (1986) quienes mantuvieron estados ninfales de *R. sanguineus* bajo diferentes gradientes de temperatura (10–35 °C) para la muda. Esto demostró que las larvas y ninfas pudieron mudar con un éxito del 86 % y el 98 % respectivamente, en condiciones de temperatura por encima de 10 °C.

Después de realizar una comparación entre los porcentajes de prevalencia de *R. sanguineus* en perros domésticos con la temperatura media en la etapa de muestreo se observó cómo simultáneamente cuando disminuía y aumentaba la temperatura media en cada etapa, había una reducción e incremento en la prevalencia de garrapatas respectivamente (Figura 7). También se puede apreciar en la Figura 7 como los niveles más altos de prevalencia (3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa) coinciden con las etapas de muestreo más cálidas del período de estudio y donde la temperatura media osciló entre los 22 °C y los 30 °C. A su vez, la actividad parasitaria de *R. sanguineus* en perros domésticos fue muy baja con temperaturas medias en la etapa inferiores a los 11 °C, lo cual coincidió con la 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> Etapa (Figura 7).

Como es posible apreciar en la Figura 7, las prevalencias de *R. sanguineus* en perros domésticos durante las últimas etapas de muestreo (3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa) fueron muy similares (valor  $P=0.69$ ) con un valor de  $\chi^2= 0.1514$ . La 3<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa representan a las épocas más cálidas de muestreo y donde el

promedio de la temperatura en la etapa osciló entre los 21 °C y los 29.5 °C. Esto se debe a que esta es la temperatura ideal para la fijación al huésped, reproducción y eclosión de sus huevecillos (Dantas-Torres, 2010).



**Figura 7. Prevalencia de *R. sanguineus* en perros domésticos y temperatura media por etapa de muestreo 2018-2019.** En la figura se muestra el porcentaje de prevalencia de *R. sanguineus* en cada una de las etapas de muestreo: 1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019). Error estándar y tendencia (Línea roja)  $\chi^2=14.11$ .

No se encontraron diferencias significativas en las prevalencias de *R. sanguineus* en perros domésticos mediante la prueba de Fisher (valor  $P=1$ ) entre la 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> Etapa de muestreo. En estas etapas se presentaron promedios de temperatura inferiores a los 11 °C la actividad parasitaria en perros de compañía fue casi inexistente, encontrándose solo cuatro y dos perros positivos a garrapatas, de los 83 y 52 perros domésticos muestreados durante las dos primeras etapas, para obtener una prevalencia de este ectoparásito en perros domésticos del 4.8 % y del 3.85 % para cada etapa respectivamente.

Aunque, fue posible encontrar diferencias altamente significativas, obteniéndose una  $\chi^2=14.11$  y un valor  $P=0.0002$  entre las etapas más frías (1<sup>ra</sup> Etapa de oct-nov/2018 y 2<sup>da</sup> Etapa de ene-feb/2019), donde la media de la temperatura se mantuvo por debajo de los 11 °C, y las etapas de muestreo más

cálidas (3<sup>ra</sup> y 4<sup>a</sup> Etapa) donde hubo un promedio de temperatura superior a los 25 °C. Estos resultados se deben a que durante el invierno las larvas y ninfas de *R. sanguineus* no se fijan al huésped y los adultos tienden a disminuir su actividad y pasar a un estado de dormancia, aunque aún no está claro si este estado de dormancia es una conducta de la garrapata como respuesta al cambio de clima o un estado de inactividad por las bajas temperaturas (Alcaíno *et al.*, 1990; Dantas-Torres, 2010; Gray *et al.*, 2013).

A su vez, existen estudios llevados a cabo en regiones con medias de temperatura superiores a los 35 °C en meses de otoño (Arizona) en donde la mayor prevalencia de garrapatas en perros se encontró entre los meses de noviembre a enero (78.50 %) (McQuiston *et al.*, 2011), contrastando con los resultados obtenidos en el presente estudio, debido a que Ciudad Juárez presenta temperatura promedio mensuales mayores a los 14 °C y hasta los 18 °C (INEGI, 2017a) lo cual es una temperatura donde puede haber un aumento de la actividad de *R. sanguineus* (Dantas-Torres, 2010).

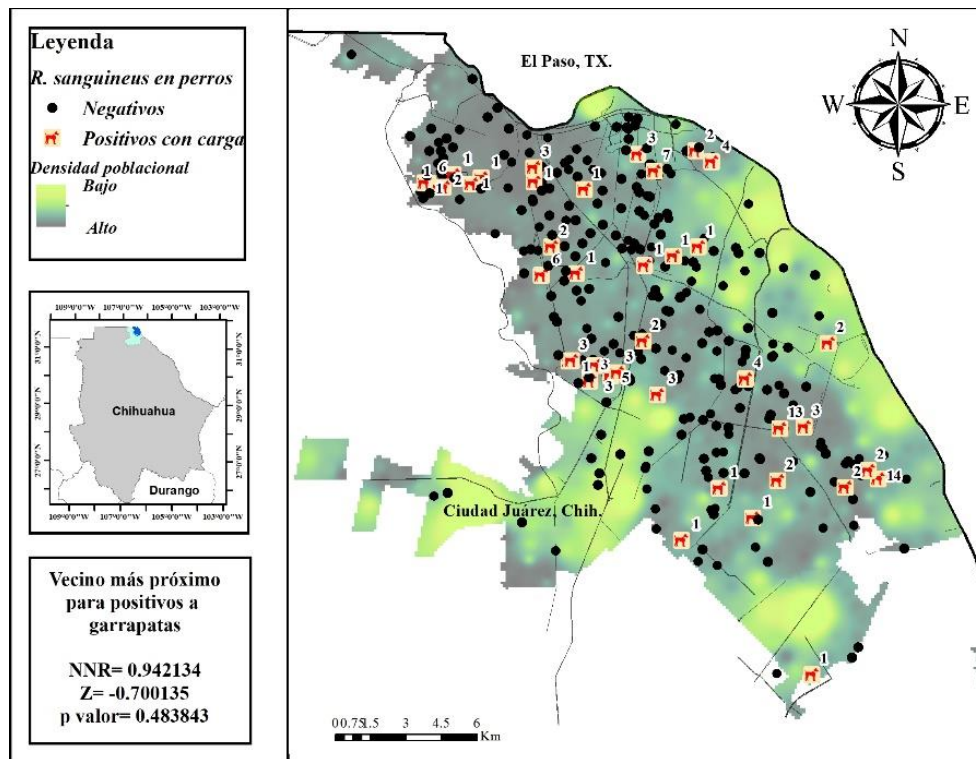
Con respecto a las prevalencias presentadas bajo similares condiciones, en un estudio llevado a cabo en Ciudad Juárez durante el 2016, aunque en diferente tipo de población de perros, los mayores niveles de prevalencia de garrapatas en perros condición calle encontrados por Castañón (2016) fueron en meses que presentaron una media de temperatura mensual cálida (>22 °C), al igual que los resultados obtenidos en la presente investigación.

#### 6.1.2. Distribución espacial de *R. sanguineus* en perros domésticos

Las unidades muestrales (perros domésticos) positivos a garrapatas presentaron una distribución espacial aleatoria (valor  $P=0.48$ ) mediante el análisis del vecino más próximo (Figura 8). Estos hallazgos en la disposición espacial de los perros domésticos positivos a garrapatas sugieren una distribución aleatoria o al azar de perros domésticos infestados por este ectoparásito.

Teniendo en cuenta las diferencias obtenidas en el análisis espacial y con la prueba de  $\chi^2$  ( $P=0.0002$ ) en la prevalencia de *R. sanguineus* entre las etapas más frías y las etapas más cálidas de muestreo (Figura 7), se puede decir con un 95 % de confianza que las diferencias en la prevalencia de garrapatas en los perros domésticos son el resultado del efecto de la época y no de factores asociados a determinadas áreas de la ciudad que propicien la infestación por este ectoparásito.

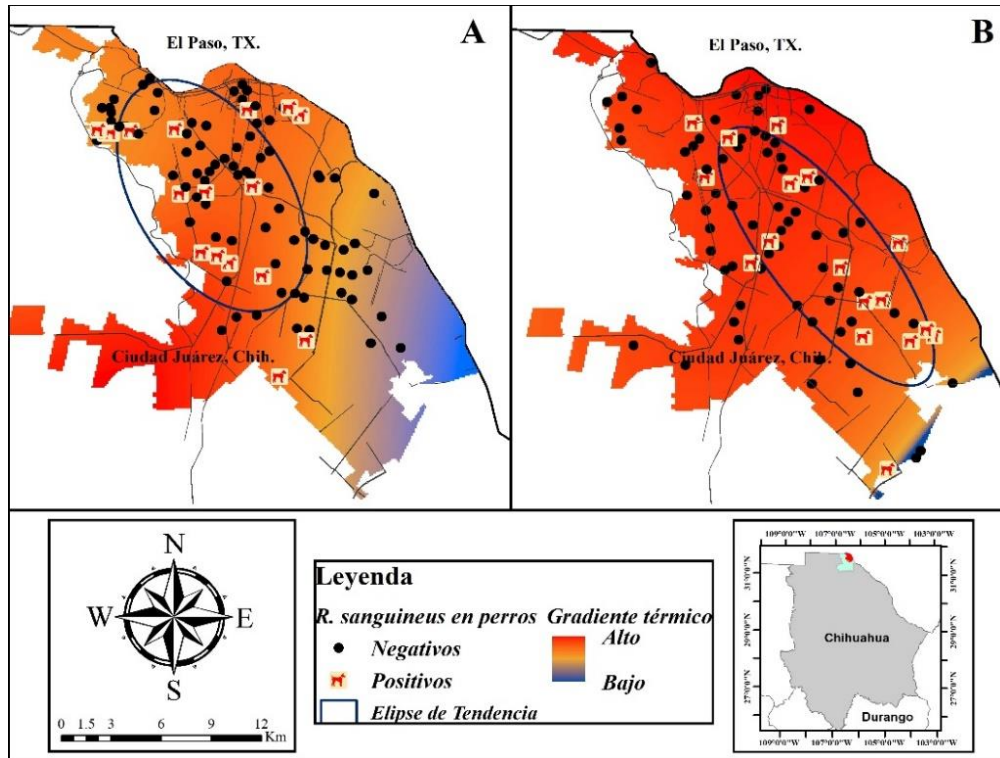
También pareciera que los perros que presentaron mayor carga parasitaria se encontraban hacia la zona Sureste y zonas periféricas del Sur de la ciudad (Figura 8), pudiendo ser un indicativo de una mayor densidad poblacional de garrapatas en esas áreas de Ciudad Juárez.



**Figura 8. Distribución espacial de perros domésticos positivos a *R. sanguineus* en Ciudad Juárez.** En rojo se muestran los perros positivos a garrapatas y los números indican la cantidad de garrapatas *R. sanguineus* con que contaba el perro al momento del muestreo.

Según los datos del LCCA-UACJ (2019) durante las primeras dos etapas de muestreo (octubre a noviembre del 2018 y enero a febrero del 2019), la temperatura media se mantuvo por debajo de los 11 °C con temperaturas mínimas de hasta -3 °C aproximadamente para la época de enero a febrero del 2019. En las últimas etapas de muestreo la temperatura media osciló entre los 18.5 °C y los 22.5 °C para los meses de abril a mayo del 2019 (3<sup>ra</sup> Etapa de muestreo) y hubo una oscilación de 5 °C en la media mensual de la época de julio a septiembre de 2019 (4<sup>ta</sup> Etapa de muestreo) con promedio mensual de 30 °C. Estos datos se pueden ver reflejados en los mapas de temperatura media de la Figura 9, donde se puede apreciar como en la 3<sup>ra</sup> Etapa (Figura 9 A) a pesar de que la prevalencia de garrapatas en perros domésticos tiene una distribución espacial de tipo aleatoria ( $P=0.34$ ) se pudo comprobar mediante una elipse de desviación estándar que la actividad parasitaria de *R. sanguineus* presenta una tendencia direccional del centro al oeste de la ciudad, lo cual coincide con las zonas donde según informa el LCCA-UACJ (2019) se presentó un gradiente de temperatura media más

cálido (22 °C) con respecto a las áreas del Este de Ciudad Juárez donde el promedio de temperatura mensual se mantuvo alrededor de los 18 °C en igual época.



**Figura 9. Distribución espacial de perros domésticos positivos a *R. sanguineus* con elipse de tendencia y temperatura media por zonas de Ciudad Juárez 3<sup>ra</sup> Etapa (A) y 4<sup>a</sup> Etapa (B).** En la figura se muestra hacia donde se encuentra la tendencia de *R. sanguineus* en perros domésticos según el gradiente térmico en la etapa: 3<sup>ra</sup> Etapa (A) (abr-may/2019) con un gradiente térmico medio en la etapa de 18 °C a 22 °C y 4<sup>a</sup> Etapa (B) (jul-sep/2019) con un gradiente térmico medio en la etapa de 25 °C a 31 °C.

Los resultados en la 3<sup>ra</sup> Etapa contrastan con lo obtenido durante la 4<sup>a</sup> Etapa de muestreo (Figura 9, B) en la que de manera individual no presentó una disposición espacial de tipo aleatoria, sino una dispersión (valor  $P=0.005$  y  $Z=2.801$  585) de perros domésticos positivos a *R. sanguineus* a lo largo de toda la ciudad. En esta última etapa la elipse de desviación estándar presentó una tendencia que abarca tres cuartas partes de la ciudad (Figura 9 B) desde el sureste hasta el noroeste. En estos resultados encontrados durante esta última etapa de muestreo se destaca que el LCCA-UACJ (2019) reportó un gradiente de temperatura media en la etapa superó los 30 °C. Esto sugiere que los niveles de prevalencia de *R. sanguineus* en perros depende mayoritariamente de la temperatura y no de una

época específica, así como del promedio de temperatura en cada área o zona de la ciudad. A su vez, estos datos de temperatura reportados por el LCCA-UACJ (2019) demuestran que *R. sanguineus* tiene una alta sensibilidad a los cambios de temperatura y que tan solo un aumento de 2 °C en el promedio de la temperatura condiciona una mayor agresividad y voracidad de este ectoparásito, trayendo consigo un aumento en la población de esos artrópodos mediante la disminución del periodo de incubación de los huevecillos (~7 a 21 días) y extendiendo el periodo estacional de transmisión de patógenos (López-Vélez y Moreno, 2005; Witter *et al.*, 2012).

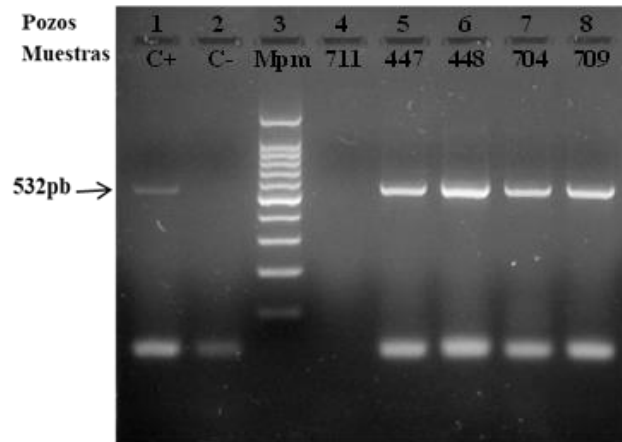
Este análisis en la distribución espacial de los perros domésticos positivos a *R. sanguineus* no pudo ser realizado en las dos primeras etapas de muestreo (1<sup>ra</sup> Etapa: oct/2018 a nov/2018 y 2<sup>da</sup> Etapa: ene/2019 a feb/2019), debido al bajo número de perros positivos encontrados en cada una de las etapas por separado (Cuatro y dos, respectivamente).

## **6.2. Prevalencia y riesgo asociado a fiebre manchada**

### *6.2.1. Prevalencia de Fiebre Manchada en perros domésticos y en pools de *R. sanguineus**

La Figura 10 muestra un gel electroforético representativo del diagnóstico molecular para identificar muestras positivas a Fiebre Manchada, mediante la amplificación de un fragmento del gen codificante para la proteína transmembranal OmpA, representado por la amplificación mediante PCR de una banda de peso molecular de 532 pb.

La prevalencia de Fiebre Manchada de perros domésticos de Ciudad Juárez obtenida mediante la amplificación del fragmento *OmpA*<sub>1</sub> fue de 22.01 % (70/318). Con respecto a los 58 pools de garrapatas procesados, 54 fueron positivos al gen *OmpA* lo cual representó una prevalencia general del 82.54 % del gen en pools de *R. sanguineus* (Cuadro 5).



**Figura 10. Análisis electroforético de los productos de amplificación de un fragmento del gen *OmpA* como diagnóstico molecular de Fiebre Manchada.** Gel electroforético de agarosa al 2.2 % 20.2 mg/mL. Carriles: 1) Amplicón control positivo de 532 pb, 2) Control negativo, 3) Marcador de peso molecular de 100 pb, 4) al 7) Muestras problema.

Estos reportes de prevalencia de Fiebre Manchada (Cuadro 5) obtenida en perros domésticos de Ciudad Juárez (22.01 %) coincide con el último reporte del gen *OmpA* en poblaciones de perros en Ciudad Juárez durante el 2016 en el cual se reportaron prevalencias del 29.85 % en sangre de perros condición calle por Castañón (2016).

En el Cuadro 5 se observa que la 2<sup>da</sup> Etapa de muestreo (ene-feb/2019) fue el período donde se obtuvo la menor prevalencia de Fiebre Manchada (Cuadro 5) coincidiendo con la etapa de menor prevalencia de garrapatas en perros domésticos, así como la de menor temperatura media (Figura 7). También se destaca la 3<sup>ra</sup> Etapa de muestreo (abr-may/2019) como la que presentó mayor prevalencia de Fiebre Manchada en perros doméstico con 29.90 % (29/97). Estos resultados fueron los únicos que alcanzaron la cifra de casi 30 % de prevalencia de FM encontrada por Castañón (2016) en similar etapa de muestreo y bajo similares condiciones ambientales, lo cual indica que los perros no solo están jugando un importante papel como hospedadores de patógenos causantes de Fiebre Manchada, sino que podrían estar sirviendo como amplificadores de estos patógenos rickettsiales (Raoult y Walker, 1991; Weiss y Moulder, 1984).

A su vez, también se observa cómo en la 1<sup>ra</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa de muestreo (oct-nov/2018 y jul-sep/2019) se presentaron prevalencias muy similares (20.93 % y 20.48 %) de Fiebre Manchada en 83 y 86 perros domésticos, respectivamente. Estas prevalencias se obtenidas se hallaron por encima del 20 % (17/83

y 18/86) (Cuadro 5), aspecto que llama la atención debido a que estos niveles de prevalencia han sido reportados solamente mediante diagnóstico serológico de ELISA o IFI y en zonas donde esta enfermedad es considerada endémica (López, 2017) como lo son los municipios de Petrolina y Juazeiro en Brasil, donde fueron reportados por Araes-Santos *et al.* (2015) que el 12.1 % de los perros (61/504) seropositivos a al menos a una especie de *Rickettsia*; en estos resultados obtenidos en Brasil se observó a su vez un alto porcentaje de reactividad cruzada, ya que 51 (83.6 %) de los 61 perros seropositivos reaccionaron a dos o más especies de *Rickettsia*. Estas se distribuyeron de la siguiente manera: 35 muestras de suero de perros mostraron reacciones cruzadas con *Rickettsia rhipicephali* y *R. rickettsii*, 23 mostraron reacciones cruzadas a *R. rhipicephali* y *R. parkeri* y 31 mostraron reacciones cruzadas con antígenos de *R. rhipicephali* y *R. amblyommii*. Finalmente, 23 perros reaccionaron tanto a *R. bellii* (no pertenece al GFM) con al menos un agente del GFM (*R. parkeri*, *R. rickettsii*, *R. rhipicephali* o *R. amblyommii*) lo que indica la circulación de agentes rickettsiales en la población de perros de la zona, aunque cabe resaltar que debido a las frecuencias con que se observó reacciones cruzadas con agentes que no pertenecen al GFM, es muy posible que la prevalencia a FM sea aún menor.

**Cuadro 5. Prevalencia del fragmento *OmpA<sub>1</sub>* en pools de *R. sanguineus* y en sangre de perros domésticos de Ciudad Juárez, Chihuahua por etapa de muestreo.**

| <b>Muestreo</b>         | <b>Pools de <i>R. sanguineus</i><br/>% (n positivos/n total)</b> | <b>Perros domésticos<br/>% (n positivos/n total)</b> |
|-------------------------|--|--|
| (1 <sup>ra</sup> Etapa) | 0 (0/6)  | 20.4 (17/83)   |
| (2 <sup>da</sup> Etapa) | 100.0 (2/2)  | 11.5 (6/52)  |
| (3 <sup>ra</sup> Etapa) | 96.1 (25/26)   | 29.90 (29/97)  |
| (4 <sup>ta</sup> Etapa) | 87.5 (21/24)   | 20.9 (18/86)   |
| Total                   | 82.5 (54/58)   | 22.0 (70/318)  |

\*1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019).  $P=0.1$

A pesar de los niveles de seroprevalencia obtenidos por Araes-Santos *et al.* (2015), a diferencia de este estudio, no encontraron perros positivos mediante el diagnóstico por PCR en 504 perros muestreados en áreas urbanas y rurales de dos municipios. Esto puede deberse a efectos culturales de introducción de perros y razas caninas de otras regiones del país (México) donde no está presente este síndrome en la población de perros domésticos, a diferencias de algunas regiones endémicas como lo

son Brasil y Estados Unidos de América, en las cuales es posible crear inmunidad en la población de cánidos mediante una previa exposición a esta patología (Clements *et al.*, 1983; Norment y Burgdorfer, 1984).

También al igual que en esta investigación, niveles de prevalencia de Rickettsiosis canina superiores al 20 % fueron reportados en Uruguay y en la región brasileña fronteriza con Uruguay, por los grupos de investigadores Krawczak *et al.* (2016) y Lado *et al.* (2015) quienes reportaron aproximadamente un 20 % de prevalencia de fiebre manchada en 1 000 y 137 perros domésticos muestreados, respectivamente. El hecho de que las prevalencias obtenidas en el presente estudio mediante PCR sean similares a las obtenidas por serología en zonas consideradas endémicas para la FM, indica que hay una alta circulación de estos patógenos en la población de perros domésticos. Lo anterior es un llamado de alerta al sistema de vigilancia epidemiológica, ya que al ser los perros, animales catalogados como centinelas de esta y muchas otras patologías, alertan del riesgo al cual está expuesta la población, principalmente los grupos etarios de 5 a 9 años de edad (Álvarez y Contreras, 2013).

No obstante, en países como Brasil, Colombia y Costa Rica, donde esta patología rickettsial se considera endémica, se han reportado niveles de prevalencia de Rickettsias pertenecientes al GFM en garrapatas desde el 1.1 % hasta el 3.9 % (Araes-Santos *et al.*, 2015; Faccini Martínez, 2014; Sangioni *et al.*, 2005), las cuales son prevalencias muy inferiores a las que se reportan en México, y especialmente a los resultados obtenidos en la zona norte del país donde las prevalencias de Rickettsias en garrapatas *R. sanguineus* van desde el 4 % hasta casi un 30 % de prevalencia reportadas por Tinoco-Gracia *et al.* (2009); Castillo- Martínez *et al.* (2015) y Fritz *et al.* (2012). A su vez, resultados similares a los obtenidos en el presente estudio en cuanto a la prevalencia de Rickettsias pertenecientes al GFM en garrapatas fueron reportadas por Beeler *et al.* (2011) en la zona fronteriza del suroeste americano. Estos investigadores reportaron en abril del 2008 tras un reporte de FM, 32 de 50 *R. sanguineus* recolectados en el patio de una vivienda dieron positivo por PCR para ADN procedente de bacterias pertenecientes al GFM utilizando para el diagnóstico molecular el fragmento *OmpA<sub>1</sub>* y la subsiguiente secuenciación a partir de garrapatas positivas, lo que arrojó una prevalencia del 64 % de esta patología en garrapatas. A su vez estos investigadores también reportaron prevalencias superiores al 80 % en garrapatas provenientes de perros mediante la amplificación del fragmento *OmpA<sub>1</sub>*. Estos resultados demuestran que a pesar de que los niveles de prevalencias de Rickettsias pertenecientes al GFM son bajos en la mayoría de los reportes de Brasil, Colombia, Costa Rica, México y los Estados Unidos de América (Krawczak *et al.*, 2016; Moreira-Soto *et al.*, 2016; Cuitun Borges *et al.*, 2015; Peniche Lara *et al.*, 2014; Pacheco *et al.*, 2011;), el diagnóstico molecular

en determinadas poblaciones puede aumentar considerablemente los niveles de prevalencia. Esta afirmación se debe al hecho de que en esta investigación, al igual que en el estudio realizado por Beeler *et al.* (2011) se reportan niveles de prevalencia de ADN del GFM en *R. sanguineus* superiores al 80 %. Estos valores encontrados pueden deberse al tipo de población bajo estudio, ya que a diferencia de la investigación realizada en Ciudad Juárez por Castañón (2016), en la cual se recuperaron ectoparásitos de perros condición calle, en el presente estudio se realizó el diagnóstico molecular del gen *OmpA* en pools de garrapatas provenientes de perros domésticos que fueron llevados a clínicas veterinarias de la ciudad. Por lo cual, aumenta la probabilidad de muestrear garrapatas provenientes de perros que cursaron recientemente o se encuentran cursando este síndrome hemorrágico.

Cabe destacar también que en esta investigación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el diagnóstico molecular de Fiebre Manchada en perros domésticos mediante la amplificación del fragmento *OmpA<sub>I</sub>* con las etapas de muestreo por separado ( $P=0.1$ ) así como entre las dos primeras y las dos últimas etapas ( $P=0.09$ ). No obstante, si fue posible encontrar diferencias significativas ( $P=0.03$ ) entre las etapas de muestro con temperaturas más frías (oct-nov/2018 y ene-feb/2019) y la 3<sup>ra</sup> Etapa de muestreo (abr-may/2019), la cual presentó medias de temperaturas que oscilaron entre los 18.5 °C y los 22.5 °C, con la presencia de Fiebre Manchada en perros domésticos (Cuadro 5).

Solamente un pool de garrapatas ninfas conformado por dos especímenes de la 1<sup>ra</sup> Etapa fue negativo al gen *OmpA* (Cuadro 6). También fue negativo a este gen un pool conformado por un macho adulto proveniente ambos del mismo perro negativo a Fiebre Manchada. A pesar de haberse obtenido poco más del 50 % garrapatas macho (Cuadro 4) y un total de 9 pools más a los obtenidos en las garrapatas hembra durante el estudio, el porcentaje de prevalencia del gen *OmpA* encontrado en los pools de garrapatas hembra fue mayor en casi un 6 % (Cuadro 6).

Otro aspecto que resalta es que a pesar de haberse obtenido más del 50 % de garrapatas macho (Cuadro 4), y un total de nueve pools más a los obtenidos en las garrapatas hembra durante el estudio, el porcentaje de prevalencia del gen *OmpA* encontrado en los pools de garrapatas hembra fue mayor en casi un 6 % (Cuadro 6), lo cual aumenta el riesgo a FM debido a que *R. sanguineus* ovoposita como promedio 4 000 huevos que al eclosionar, son capaces de transmitir esta enfermedad en cualquiera de sus estadios (Dantas-Torres, 2010; Gray *et al.*, 2013).

A su vez resalta que no fueron encontrados pools positivos y negativos simultáneamente en un mismo perro muestreado durante ninguna de las etapas.

**Cuadro 6. Prevalencia del fragmento *OmpA*<sub>1</sub> en pools de *R. sanguineus* según el sexo y estadio evolutivo.**

| Etapa                 | Pools de ninfas<br><u>% (n positivos/n total)</u> | Pools de adultas ♂<br><u>% (n positivos/n total)</u> | Pools de adultas ♀<br><u>% (n positivos/n total)</u> | Total<br><u>% (n positivos/n total)</u> |
|-----------------------|---|--|--|---|
| 1 <sup>ra</sup> Etapa | 0 (0/1)   | 0 (0/3)  | 0 (0/2)  | 0 (0/6)                                 |
| 2 <sup>da</sup> Etapa | -   | 100 (1/1)  | 100 (1/1)  | 100 (2/2)                               |
| 3 <sup>ra</sup> Etapa | 100 (1/1)   | 93.33 (14/15)  | 100 (10/10)  | 96.15 (25/26)                           |
| 4 <sup>ta</sup> Etapa | 100 (5/5)   | 81.81 (9/11)   | 87.50 (7/8)  | 87.50 (21/24)                           |
| Total                 | 85.71 (6/7)                                       | 80 (24/30)   | 85.71 (18/21)  | 82.54 (54/58)                           |

\*1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019).

### 6.3. Factores de riesgo asociados a la Fiebre Manchada

Como se observa en el Cuadro 7, se encontró que la probabilidad de presentar Fiebre Manchada en los perros domésticos es de 1.83 (OR 1.045, IC 1.045-3.20) para aquellos que no habían sido sometidos a una desparasitación ( $P < 0.05$ ), lo cual concuerda con lo reportado por Pacheco-Solano *et al.* (2019) quien recientemente reportó en Costa Rica altas infestaciones de *Rickettsia* spp. en perros que no habían sido tratados previamente contra garrapatas.

Aunque en esta investigación no se encontró asociación con el tipo de desparasitación. También se observó que los perros de hasta cinco años tenían 1.98 (OR 1.98, IC 1.023-3.85) más probabilidades de ser positivos a Fiebre Manchada que los perros con más de cinco años (Cuadro 7), por lo cual se puede decir con un 95 % de confianza que la edad inferior a los 5 años es un factor de riesgo a la presentación en perros de esta patología. Este resultado concuerda con lo reportado por Castañón (2016), en un estudio similar, pero en perros condición calle, aunque, a diferencia de este último autor, y de lo reportado por Foley *et al.* (2019), donde se reporta una asociación significativa de estas variables con la presencia de *OmpA*, en el presente estudio no se encontró asociación con la condición corporal y el estado de ánimo de los perros. Otros estudios de riesgo también reportan diferencias con lo reportado por Castañón (2016) y los resultados obtenidos en esta investigación.

Esto se puede apreciar en un estudio llevado a cabo en Costa Rica por Pacheco-Solano *et al.* (2019) quienes reportaron en un análisis de riesgo en perros mediante la utilización de diagnóstico serológico que las edades hasta siete años en los perros tenían más probabilidad de padecer esta patología rickettsial. Estas diferencias encontradas se deben al método diagnóstico utilizado, ya que los estudios realizados en Ciudad Juárez reportan la presencia de estos patógenos circulantes en sangre y el reporte hecho en Costa Rica sugiere que los perros adultos con altos títulos de anticuerpos cursaron este síndrome hemorrágico a temprana edad, creando altos títulos de anticuerpos que le permitieran mantenerse inmunes a la FM.

**Cuadro 7. Factores de riesgo asociados a la presencia de Fiebre Manchada en perros domésticos de Ciudad Juárez.**

| Variable                                | Positivos<br><i>OmpA<sub>I</sub></i> | Total | Frecuencia<br>(%) | Odds Ratio<br>(OR) | Intervalo de<br>confianza $\alpha$ 0.05 |      | Valor<br>de <i>P</i> |
|---|--------------------------------------|-------|-------------------|--------------------|---|------|----------------------|
| Sin desparasitación                     | 27                                   | 88    | 28.03             | 1.83               | 1.045                                   | 3.20 | 0.032                |
| Con desparasitación                     | 44                                   | 226   | 71.97             |                    |   |      |                      |
| Edad<br>0.1 – 5 años                    | 54                                   | 215   | 70.49             | 1.98               | 1.023                                   | 3.85 | 0.040                |
| Edad<br>> 5 años                        | 13                                   | 90    | 29.51             |                    |   |      |                      |
| 1 <sup>ra</sup> y 2 <sup>da</sup> Etapa | 24                                   | 135   | 17.78             | 0.50               | 0.27                                    | 0.94 | 0.030                |
| 3 <sup>ra</sup> Etapa                   | 29                                   | 97    | 29.900            |                    |   |      |                      |
| Con tratamiento de<br>Antibiótico       | 12                                   | 102   | 32.90             | 0.33               | 0.171                                   | 0.66 | 0.001                |
| Sin tratamiento de<br>Antibiótico       | 59                                   | 208   | 67.10             |                    |   |      |                      |

\*1<sup>ra</sup> Etapa (oct-nov/2018); 2<sup>da</sup> Etapa (ene-feb/2019); 3<sup>ra</sup> Etapa (abr-may/2019); 4<sup>ta</sup> Etapa (jul-sep/2019).

De esta misma, forma no se encontró una asociación entre el diagnóstico de Fiebre Manchada con las variables de condición corporal, estado de ánimo, hábitat, frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca, temperatura, especies con las que convive, perros en los alrededores y que pululan la zona, área de diversión y paseo, tipo de vivienda, frecuencia con que se realizan las fumigaciones; y a pesar de no haberse obtenido asociación con el tipo de antibióticos con que fueron tratados algunos de los

perros, se pudo encontrar asociación entre la presencia del gen *OmpA* y el tratamiento con antibiótico para  $P=0.01$ .

Debido a que la Razón de momios (Odds Ratio) para la variable uso de antibiótico fue igual a 0.33 se puede decir con un 99 % de confianza que el uso de antibiótico actúa como un factor de protección para la Fiebre Manchada en perros de compañía. Este efecto protector se debe a la alta sensibilidad que presentan estos patógenos a las tetraciclinas, las cuales son uno de los antimicrobianos más usados en Ciudad Juárez debido a los altos niveles de prevalencia de *Ehrlichia* spp. (Allison y Little, 2013; Castañón, 2016; Llop *et al.*, 2001).

Este mismo efecto protector fue obtenido al analizar las dos primeras etapas de muestreo (1<sup>a</sup> y 2<sup>da</sup> Etapa) con la 3<sup>ra</sup> Etapa donde la media de la temperatura en la etapa fue superior a los 25 °C. Por lo planteado con anterioridad se puede decir con un 95 % de confiabilidad que existe la mitad del riesgo de Fiebre Manchada en las épocas más frías (Cuadro 7).

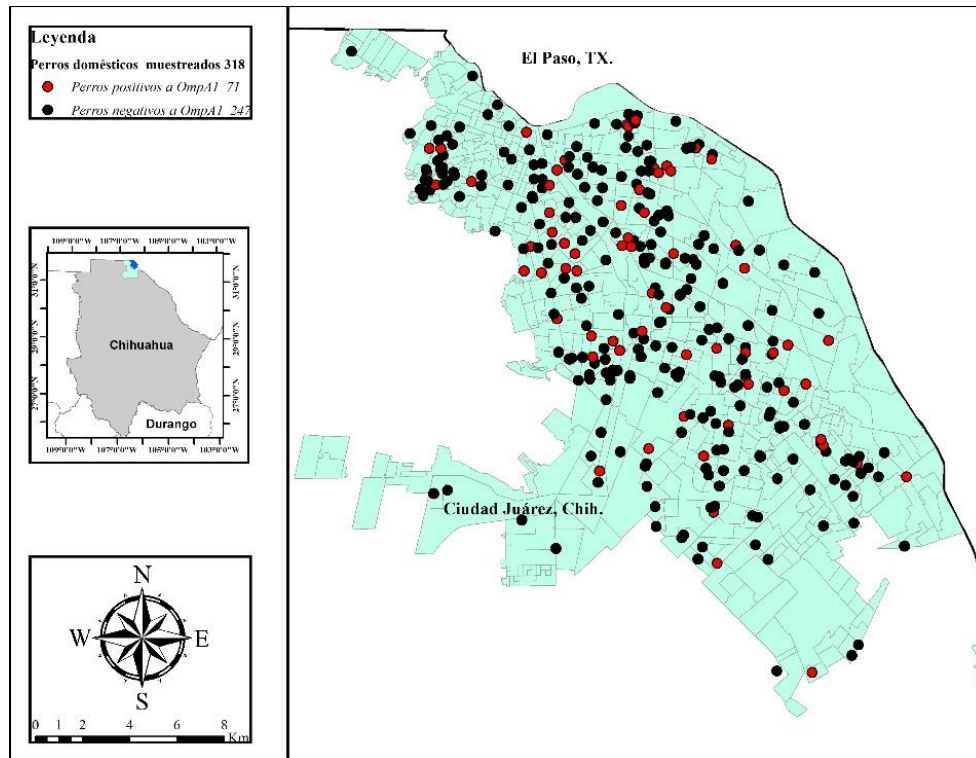
Muchos autores reportan como factores de riesgo a FM la residencia de los perros en zonas rurales y el hábitat de estos en jardines o pastizales (Da Cunha *et al.*, 2014; Melo *et al.*, 2011) ,lo cual no tuvo una asociación significativa en el presente estudio al evaluar el diagnóstico positivo a *OmpA*<sub>1</sub> y el área en que vivía el perro (patio o jardín). Algo similar a estos resultados sucedió en Veracruz, donde López (2017) no pudo encontrar asociación significativa entre del diagnóstico positivo de FM y la exposición del perro a otros ambientes fuera de la casa. Estos resultados en conjunto con los resultados anteriores sin asociación, así como las asociaciones obtenidas en cuanto a la desparasitación sugieren que, en un área urbana, la exposición de los perros a zona abiertas como patios, jardines, calles o parques no influye sobre la presencia de FM.

Más recientemente, en un estudio realizado por Foley *et al.* (2019) en el municipio de Mexicali, se encontró que, al igual que en este estudio, la infestación por garrapatas *R. sanguineus* o la no utilización de productos desparasitantes en perros domésticos es un factor de riesgo a la presentación de la FM. Esto se debe a que es la garrapata la responsable de la transmisión de la FM y su presencia aumenta considerablemente el riesgo al padecimiento de esta patología en el perro.

## 6.4. Distribución espacial y zonas de riesgo

### 6.4.1. Distribución espacial Fiebre Manchada en perros domésticos

La distribución espacial del total de perros domésticos positivos y negativos al diagnóstico molecular de FM mediante la amplificación del fragmento *OmpA*<sub>1</sub> de 532 pares de base, se muestra en la Figura 11.



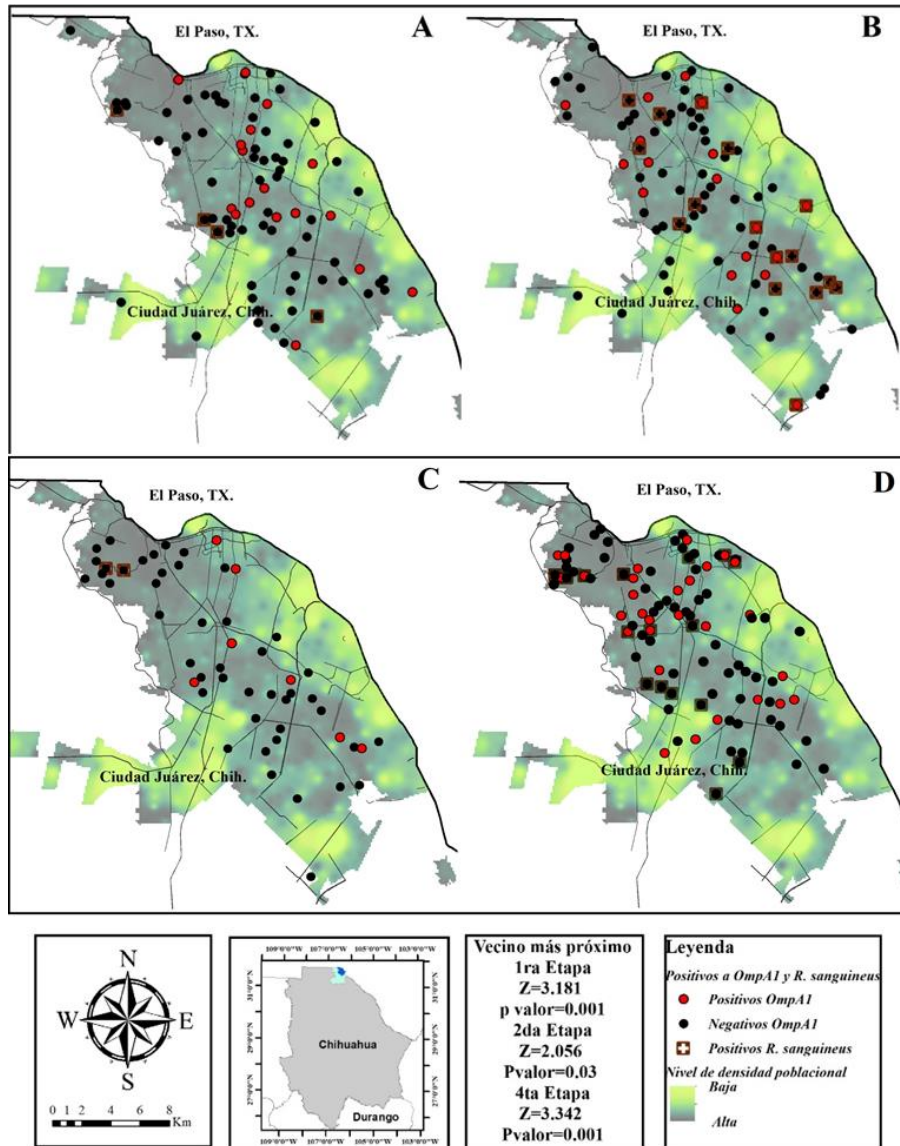
**Figura 11. Distribución espacial de Fiebre Manchada en perros domésticos de Ciudad Juárez.**

En el mapa se muestran la distribución espacial del total de perros domésticos muestreados (n=318) durante las cuatro etapas de muestreo en el periodo de oct/2018 a sep/2019. Los perros positivos al gen *OmpA* (n=71) se muestran de color rojo y los casos de perros negativos (n=247) se muestran de color negro.

De los 318 perros muestreados y georreferenciados en el mapa de la Figura 11 se observan un total de 71 que resultaron positivos a FM y 247 que resultaron negativos al diagnóstico molecular.

Al realizarse un análisis de la distribución espacial de los casos positivos al gen *OmpA* mediante la herramienta Índice de vecino más próximo y utilizándose un nivel de significación de  $\alpha=0.05$ , se

obtuvo que tres de las cuatro etapas (1<sup>ra</sup>, 2<sup>da</sup> y 4<sup>ta</sup> Etapa) presentaron una dispersión de casos positivos a Fiebre Manchada por toda la ciudad (Figura 12 A, C y B). En este sentido, la obtención de estas puntuaciones en tres de las cuatro etapas de muestreo sugiere que la presencia de este gen en la población de perros de compañía es producto de la influencia de factores de riesgo que propician la aparición de este en la población.



**Figura 12. Distribución espacial del gen *OmpA* y *R. sanguineus* en perros domésticos de Ciudad Juárez.** Mapa A) 1<sup>ra</sup> Etapa; Mapa B) 4<sup>ta</sup> Etapa, Mapa C) 2<sup>da</sup> Etapa, Mapa D) 3<sup>ra</sup> Etapa.

Esta dinámica no fue igual en la 3<sup>ra</sup> Etapa de muestreo (Figura 12 D), donde se presentó una distribución aleatoria y a su vez se obtuvo el mayor número de unidades muestrales (n=97) así como

el mayor número de casos positivo a Fiebre Manchada (n=29) y donde la temperatura media osciló entre los 18.5 °C y los 22.5 °C según datos del LCCA-UACJ (2019).

Así mismo se destaca que el hábitat de estos perros muestreados son en su mayoría zonas donde según el INEGI (2010) existe la mayor densidad poblacional de Ciudad Juárez (Figura 12). Teniendo en cuenta los resultados de prevalencia obtenidos en este estudio (82.54 %) con un total de 54 pools positivos de los 58 muestreados (Cuadro 6) en estas áreas existen una alta prevalencia de garrapatas que pudieran estar actuando como reservorio y vector de bacterias causantes de FM. Esto representa un alto riesgo para la población humana, principalmente para los más jóvenes (Álvarez y Contreras, 2013).

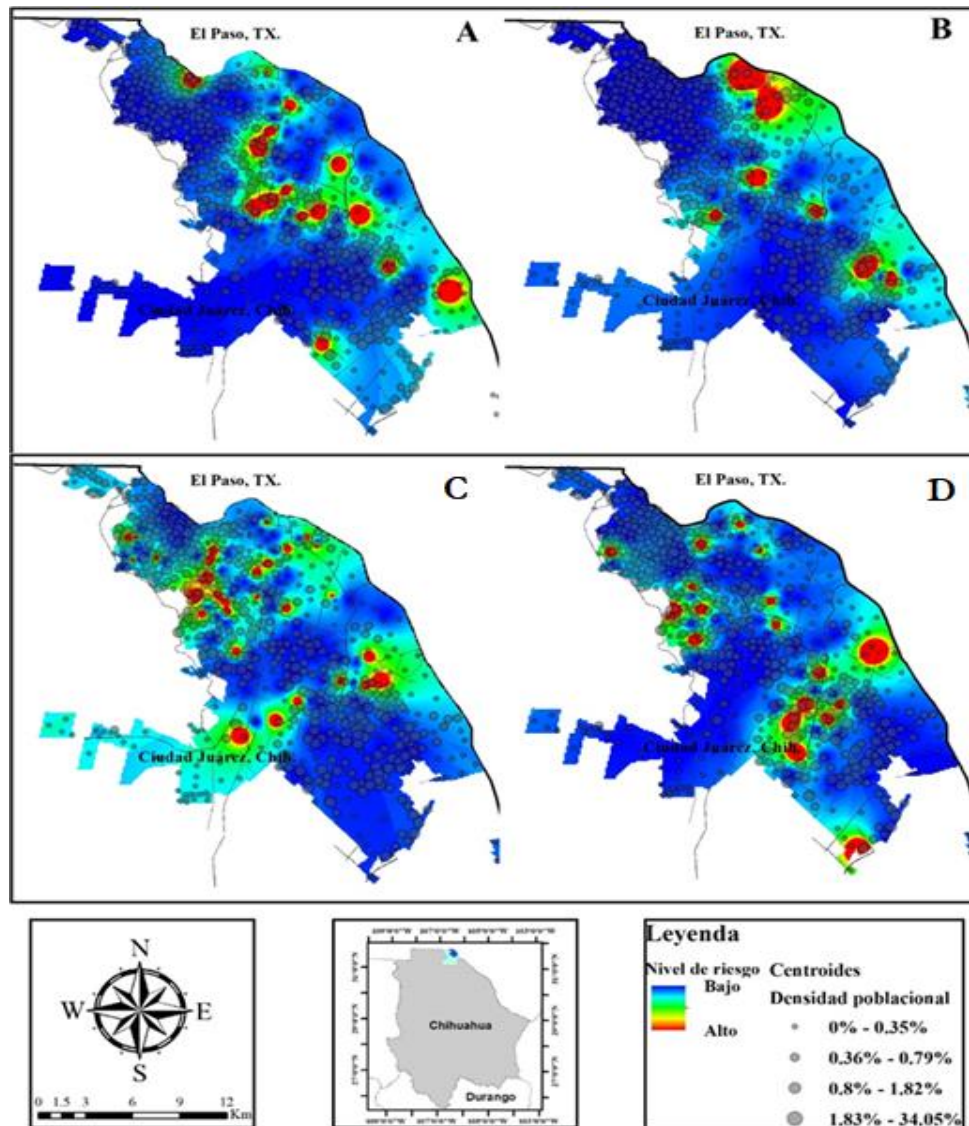
No fue posible obtener un diagnóstico positivo a Fiebre Manchada en sangre de perros que al mismo tiempo fueran positivos también a garrapatas *R. sanguineus* en las dos primeras etapas de muestreo (oct-nov/2018 y ene-feb/2019) y en la 4<sup>a</sup> Etapa (jul-sep/2019) solo el 25 % (6/24) de la sangre de los perros con diagnóstico molecular positivos a Fiebre Manchada, fueron también positivos al vector *R. sanguineus* cómo se puede apreciar en la Figura 12 (B). Solo fueron negativos al gen *OmpA* dos pools de garrapatas provenientes de la sangre de un mismo perro diagnosticado molecularmente como positivo a Fiebre Manchada.

El resto de los perros domésticos positivos a *R. sanguineus* en la 4<sup>a</sup> Etapa (11) fueron negativos a Fiebre Manchada, a pesar de que solamente las garrapatas de uno de ellos resultasen negativas al gen *OmpA*. Esta misma dinámica se presentó en la 3<sup>a</sup> Etapa (abr-may/2019) donde solo el 20.6 % (6/27) de los perros positivos a Fiebre Manchada fueron también positivos a *R. sanguineus*. De los pools de garrapatas provenientes de estos perros positivos a Fiebre Manchada, uno (1/6) resultó negativo al gen *OmpA*, mientras que en los restantes pools (21) provenientes de perros domésticos negativos a Fiebre Manchada (11) fueron positivos al gen.

#### 6.4.2. Zonas de riesgo a Fiebre Manchada

Para la identificación de las zonas que presentan un mayor riesgo a esta patología se utilizó como centinelas a los perros domésticos mediante el diagnóstico molecular del gen *OmpA* en DNA sanguíneo de estos, después se realizó el mapeo de estos con el diagnóstico molecular de FM, luego de lo cual se procedió a realizar una interpolación y de esta manera se identificó las zonas de riesgo a la FM.

Según el análisis estadístico espacial de los perros positivos a Fiebre Manchada por etapa de muestreo, las zonas de riesgo identificadas se encuentran dispersas en Ciudad Juárez. A pesar de estos resultados, se puede observar en la Figura 13 A y B, que en las épocas con temperaturas promedio mensual de 3 °C hasta los 11 °C (1<sup>ra</sup> Etapa: oct-nov/2018 y 2<sup>da</sup> Etapa: ene-feb/2019) las zonas que presentaron un mayor riesgo a esta patología fueron las áreas del Norte y el Noreste de la ciudad.



**Figura 13. Zonas de riesgo a de Fiebre Manchada por etapa del año según el diagnóstico molecular en perros domésticos 2018-2019.** En la figura se muestra una interpolación (IDW) entre perros positivos y negativos a FM por etapa: mapa A: 1<sup>ra</sup> Etapa, mapa B: 2<sup>da</sup> Etapa, mapa C: 3<sup>ra</sup> Etapa y mapa D: 4<sup>ta</sup> Etapa donde se observa una gradiente de color indicado las zonas con mayor riesgo (Rojo) y las zonas que presentan una menor probabilidad de contagio (Azul) a FM según la etapa. Los centroides muestran el grado de densidad poblacional humana.

A su vez, en las etapas más cálidas del año (3<sup>ra</sup> Etapa: mar-abr/2019 y 4<sup>ta</sup> Etapa: jul-sep/2019) donde se registró una temperatura promedio mensual que va desde los 20 °C hasta los 30 °C se destacan las zonas periféricas, el Sur y el Sureste de Ciudad Juárez como las que muestran mayor riesgo a la presentación de Fiebre Manchada. También se puede ver en la Figura 13, cómo estas zonas de riesgo coinciden con áreas donde se presenta una alta densidad de población humana según datos proporcionados por el INEGI (2010) en el censo poblacional del 2010.

Este mismo tipo de relación entre las enfermedades transmitidas por garrapatas o garrapatas de cuerpo duro (Acari: Ixodidae) y la temperatura fue reportada también por Estrada-Peña *et al.* (2004); James *et al.* (2013) quienes indicaron al componente temporal como esencial en la distribución de las garrapatas y de las enfermedades transmitidas por ellas. Este hecho resalta la necesidad de comprender y cartografiar mejor la propagación de estas poblaciones, para evaluar el riesgo de amplificación y propagación de infecciones transmitidas por este vector. Esta vigilancia espacial de las garrapatas con la comparación de datos que permitan el seguimiento de las tendencias a nivel de la poblacional propiciará un sistema de alerta temprana ante el riesgo a la presentación de FM y otras las enfermedades transmitidas por garrapatas (Medlock *et al.*, 2013).

En este sentido, los mapas de riesgos diseñados para la FM en perros domésticos (Figura 13) son de gran ayuda para reducir el riesgo de exposición a FM y predecir la prevalencia y distribución de patógenos en el futuro bajo determinadas condiciones ambientales. Este aspecto concuerda con James *et al.* (2013) quien plantea que los modelos de sistemas de información geográficos que aplican la interpolación para la evaluación del riesgo y que además utilizan las condiciones ambientales asociadas a la abundancia de garrapatas y la prevalencia de patógenos, son determinantes en la predicción de las enfermedades transmitidas por garrapatas.

Al igual que en el presente estudio, Perrin (2017) en el Reino Unido, después de realizar un muestreo de garrapatas y el diagnóstico molecular de enfermedades transmitidas por estos ectoparásitos, también propuso utilizar la interpoblación de positivos y negativos como alternativa para el diseño de mapas de riesgo en la predicción de enfermedades transmitidas por garrapatas.

## 7. CONCLUSIONES

Los perros domésticos de Ciudad Juárez presentaron una prevalencia estacional de *R. sanguineus* del 12.50 % destacándose la etapa de julio a septiembre del 2019 como la de mayor prevalencia con 19.77 % y las etapas de octubre a noviembre del 2018 y de enero a febrero del 2019 como las de menor prevalencia de *R. sanguineus*. Los niveles de prevalencia de Fiebre Manchada en perros domésticos fueron del 22.01 % y del 82.54 % en pools de *R. sanguineus*. Así mismo se destacan las épocas más cálidas del año, como las temporadas donde se presenta una mayor prevalencia de esta patología. Este estudio indica la existencia de factores de riesgo asociados a la desparasitación y la predisposición en perros jóvenes a la presencia de Fiebre Manchada sin la existencia de una asociación de Fiebre Manchada y la condición corporal, el estado de ánimo, el hábitad, especies con las que convive, perros en los alrededores y que pululan la zona, área de diversión y paseo, tipo de vivienda, y frecuencia con que se realizan las fumigaciones. La Fiebre Manchada en perros domésticos se encuentra dispersa en la ciudad, y la interpoblación del diagnóstico molecular produjo “mapas de riesgo” por época de muestreo que proporcionan una herramienta de fácil interpretación para visualizar las zonas de riesgo a la presentación de Fiebre Manchada en la Ciudad. Estas zonas de riesgo propician información traducible a estrategias y programas para el control y contención de la enfermedad, mediante campañas de desparasitación y la aplicación de medicina preventiva en la población de perros de la ciudad.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Alcaíno, H., Gorman, T., & Jiménez, F. (1990). Ecology of *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) in the Metropolitan Region of Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 22(2), 159–168. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19930514847>
- Allison, R. W., & Little, S. E. (2013). Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(2), 127–144. <https://doi.org/10.1111/vcp.12040>
- Almazán C, Gonzalez AVH, Fernandez de Mera IG, Cabezas CA, Rodríguez MR, de la F. J. (2016). Molecular identification and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs in Mexico. *Ticks Tick-Borne*, 7(2), 276–283.
- Álvarez Hernández, G. (2010). La Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas, una epidemia olvidada. *Salud Publica Mex*, 52(2), 3–1.
- Álvarez Hernández, G., & Contreras Soto, J. (2013). Letalidad por fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* en pacientes de un hospital pediátrico del estado de Sonora, 2004-2012. 55(2), 152–151.
- Anderson, J. F., & Magnarelli, L. A. (2008). Biology of Ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*, 22(2), 195–2015.
- Angeletti, V., Ubeira, C., Santini, M., Borrás, P., Yantorno, L., Romer, Y., Malbran, C. (2016). Guía de diagnóstico y tratamiento de la Fiebre Manchada por *Rickettsia parkeri*. (1ra ed. Sa). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Araes-Santos, A. I., Moraes-Filho, J., Peixoto, R. M., Spolidorio, M. G., Azevedo, S. S., Costa, M. M., Horta, M. C. (2015). Ectoparasite Infestations and Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in a Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 15(11), 645–651. <https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1786>
- Audia, J. P., & Winkler, H. H. (2006). Study of the five *Rickettsia prowazekii* proteins annotated as ATP/ADP translocases (Tlc): Only Tlc1 transports ATP/ADP, while Tlc4 and Tlc5 transport other ribonucleotides. *Journal of Bacteriology*, 188(17), 6261–6268. <https://doi.org/10.1128/JB.00371-06>
- Balraj, P., Renesto, P., & Raoult, D. (2009). Advances in rickettsia pathogenicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166, 94–105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04517.x>
- Beck, L. R., Lobitz, B. M., & Wood, B. L. (2000). Remote sensing and human health: New sensors and new opportunities. *Emerging Infectious Diseases*, 6(3), 217–227. <https://doi.org/10.3201/eid0603.000301>
- Beeler, E., Abramowicz, K. F., Zambrano, M. L., Sturgeon, M. M., Khalaf, N., Hu, R., Eremeeva, M. E. (2011). A focus of dogs and *Rickettsia massiliae*-infected *Rhipicephalus sanguineus* in

- California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84(2), 244–249. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0355>
- Blanc, G., Ngwamidiba, M., Ogata, H., Fournier, P. E., Claverie, J. M., & Raoult, D. (2005). Molecular evolution of Rickettsia surface antigens: Evidence of positive selection. *Molecular Biology and Evolution*, 22(10), 2073–2083. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi199>
- Brouqui, P., Bacellar, F., Baranton, G., Birtles, R. J., Bjoërsdorff, A., Blanco, J. R., Wilske, B. (2004). Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(12), 1108–1132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01019.x>
- Burgdorfer W, Cooney JC, Mavros AJ, Jellison WL, M. C. (1980). The role of cottontail rabbits (*Sylvilagus spp.*) in the ecology of *Rickettsia rickettsii* in the United States. *Am J Trop Med Hyg* (Vol. 29). <https://doi.org/https://doi.org/10.4269/ajtmh.1980.29.686>
- Bustamante, J. (2010). Actualización en la vigilancia epidemiológica de la Rickettsiosis. Boletín Epidemiológico.
- Bustamante, M., & Varela, G. (1943). Una nueva rickettsiosis en México. Existencia de la fiebre manchada Americana en los estados de Sinaloa y Sonora. *Rev. Del Inst. de Salubridad y Enfs. Tropicales*, (4), 189–210.
- Castañón, A. I. (2016). Prevalencia *Rickettsia rickettsii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Ehrlichia* spp. detectados por PCR en garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) y en caninos de Ciudad Juárez, Chihuahua. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, México.
- Castillo- Martínez, A., Cueto-Medina, S. M., Hernández-Rodríguez, S., Gallegos-Robles, M. Á., Valdés-Perezgasga, M. T., Sánchez-Ramos, F. J., & Ortega-Morales, A. I. (2015). Detección de *Rickettsia* sp. en la garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) en Matamoros, Coahuila, México. *Acta Zoológica Mexicana* (N.S.), 31(1), 80–83. <https://doi.org/10.21829/azm.2015.311509>
- CDC. (1990). Rocky Mountain spotted fever and human ehrlichiosis—. United States, 1989. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 39:, 281-284.
- CDC. (2014). Tick Removal.
- Chan, Yvonne G Y, Cardwell, M. M., Hermanas, T. M., Uchiyama, T., & Martinez, J. J. (2009). Rickettsial outer-membrane protein B (rOmpB) mediates bacterial invasion through Ku70 in an actin, c-Cbl, clathrin and caveolin 2-dependent manner. *Cellular Microbiology*, 11(4), 629–644. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01279.x>
- Chan, Yvonne Gar Yun, Riley, S. P., Chen, E., & Martinez, J. J. (2011). Molecular basis of immunity to rickettsial infection conferred through outer membrane protein B. *Infection and Immunity*, 79(6), 2303–2313. <https://doi.org/10.1128/IAI.01324-10>

- Chan, Yvonne Gar Yun, Riley, S. P., & Martinez, J. J. (2010). Adherence to and invasion of host cells by spotted fever group *Rickettsia* species. *Frontiers in Microbiology*, 1(DEC), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00139>
- Chen, L. F., & Sexton, D. J. (2008). What 's New in Rocky Mountain Spotted Fever? 22, 415–432. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.008>
- Chomel, B. (2011). Tick-borne infections in dogs-an emerging infectious threat. *Veterinary Parasitology*, 179(4), 294–301. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.040>
- Clark, T. R., Noriega, N. F., Bublitz, D. A. C., Ellison, D. W., Martens, C., Lutter, E. I., & Hackstadt, T. (2015). Comparative genome sequencing of *Rickettsia rickettsii* strains that differ in virulence. *Infection and Immunity*, 83(4), 1568–1576. <https://doi.org/10.1128/IAI.03140-14>
- Clements, M. L., Wisseman, C. L. J., Woodward, T. E., Fiset, P., Dumler, J. S., McNamee, W., Levine, M. M. (1983). Reactogenicity, immunogenicity, and efficacy of a chick embryo cell-derived vaccine for Rocky Mountain spotted fever. *The Journal of Infectious Diseases*, 148(5), 922–930. <https://doi.org/10.1093/infdis/148.5.922>
- Clements, M., Wisseman, C., Woodward, T., Fiset, P., Dumler, J., & McNamee, W. (1983). Reactogenicity, immunogenicity, and efficacy of a chick embryo cell-derived vaccine for Rocky Mountain Spotted Fever. *J Infect Dis B*, 148:, 922-930.
- Cuitun Borges, M., Castellanos Escalante, P. C., Carrillo González, N. V., Aguayo Romero, M. A., & Montserrat Balmaceda, L. (2015). Presencia de *Rickettsia* sp en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* parasitando perros domésticos en la isla de Cozumel, Quintana Roo, México. *Ciencia y Humanismo En La Salud*, 2(3), 89–93. Retrieved from <http://revista.medicina.uady.mx/revista/index.php/cienciayhumanismo/articulo/view/46>
- Da Cunha, N. C., De Lemos, E. R. S., Rozental, T., Teixeira, R. C., Cordeiro, M. D., Lisbôa, R. S., ... Da Fonseca, A. H. (2014). Rickettsiae of the Spotted Fever group in dogs, horses and ticks: An epidemiological study in an endemic region of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, 36(3), 294–300.
- Daniel, M., & Kolár, J. (1990). Using satellite data to forecast the occurrence of the common tick *Ixodes ricinus* (L.). *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology*, 34(3), 243–252.
- Daniel, M., Kolár, J., Zeman, P., Pavelka, K., & Sádlo, J. (1998). Predictive map of *Ixodes ricinus* high-incidence habitats and a tick-borne encephalitis risk assessment using satellite data. *Experimental & Applied Acarology*, 22(7), 417–433. <https://doi.org/10.1023/a:1006030827216>
- Dantas-Torres, F. (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, 152(3–4), 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030>

- Dantas-Torres, F. (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites and Vectors*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-26>
- Davidson, M., Breitschwerdt, E., Nasisse, M., & Roberts, S. (1989). Ocular manifestations of Rocky Mountain Spotted Fever. *J Am Vet Med Assoc*, 194:, 777-781.
- Davoust, B., Parzy, D., Pubert, D., Martet, G., Deparis, X., & Ott, D. (1996). Haematological Signs of Acute Canine Ehrlichiosis. *Rev de Med Vet.*, 147((1):), 69-74.
- Díaz, J. S., & Cataño, J. C. (2010). Fiebre manchada de las montañas rocosas: ni tan manchada ni tan montañosa como pensábamos. *Infectio*, 14(4), 264–276. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(10\)70120-x](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(10)70120-x)
- Didier, R., & Philippe, P. (2007). Rickettsial diseases. CRC Press.
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2012). Boletín Epidemiológico SNAVE Sistema Único de Información (Vol. 28). Álvaro Obregón, México.
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2014). *Boletín Epidemiológico SNAVE Sistema Único de Información*. Álvaro Obregón, México.
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2016a). Boletín epidemiológico SINAVE Sistema Único de Información (Vol. 32). Álvaro Obregón, México.
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2016b). Boletín Epidemiológico SNAVE Sistema Único de Información (Vol. 33). Álvaro Obregón, México.
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2017). Boletín Epidemiológico SNAVE Sistema Único de Información (Vol. 34). <https://doi.org/10.1587/transinf.2015ICL0003>
- Dirección General de Epidemiología DGE. (2018). Boletín Epidemiológico SNAVE Sistema Único de Información. Álvaro Obregón, México.
- Duffy, D. C., Clark, D. D., Campbell, S. R., Gurney, S., Perello, R., & Simon, N. (1994). Landscape patterns of abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on Shelter Island, New York. *Journal of Medical Entomology*, 31(6), 875–879. <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.6.875>
- El Karkouri, K., Pontarotti, P., Raoult, D., & Fournier, P. E. (2016). Origin and evolution of rickettsial plasmids. *PLoS ONE*, 11(2), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147492>
- Eremeeva, M., Zambrano, M., Anaya, L., Beati, L., Karpathy, E., Santos, S., Alpuche, A. (2010). *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus* spp. Ticks, Mexicali, Mexico. *J Med Entomol*, 48:(2), 418-421.
- Estrada-Peña, A., Martínez, J. M., Sanchez Acedo, C., Quilez, J., & Del Cacho, E. (2004). Phenology of the tick, *Ixodes ricinus*, in its southern distribution range (central Spain). *Medical and Veterinary Entomology*, 18(4), 387–397. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2004.00523.x>
- Estrada-Peña, Agustín. (2001). Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus*

- (Acari: Ixodidae) in northern Spain. *Journal of Medical Entomology*, 38(3), 361–370. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.3.361>
- Estrada-Peña, Agustín. (2002). A simulation model for environmental population densities, survival rates and prevalence of *Boophilus decoloratus* (Acari: ixodidae) using remotely sensed environmental information. *Veterinary Parasitology*, 104(1), 51–78. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00607-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00607-0)
- Faccini Martínez, A. (2014). Caracterización de especies de rickettsia en garrapatas (ixodidae) del municipio de Villeta, Cundinamarca y su relación con la epidemiología de la rickettsiosis en el mismo municipio. "Master's thesis. Retrieved from <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/15448/1/FacciniMartinezalvaroAdolfo2014.pdf>
- Feng, W., Murray, E., Rosenberg, G., Spielman, G., & Waner, J. (1979). Natural infection of dogs on Cape Cod with *Rickettsia rickettsii*. *J Clin Microbiol*, 10:, 322-325.
- Field-Cortazares, J., Escárcega-Ávila, A. M., López-Valencia, G., Barreras-Serrano, A., & Tinoco-Gracia, L. (2015). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en humanos de Ensenada, Baja California, México. *Gaceta Médica de México*, 151(1), 42–46.
- Field-Cortazares, J., & Seijo y Moreno, J. L. (2011). Rickettsiosis en Baja California. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son*, 28(2), 44–50.
- Field Cortazares, J., Escárcega Ávila, A. M., López Valencia, G., Barreras Serrano, A., & Tinoco Gracia, L. (2015). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en humanos de Ensenada, Baja California, México Introducción. *Gaceta Médica de México*, 151(1), 42–46.
- Foley, J., Tinoco-Gracia, L., Rodríguez-Lomelí, M., Estrada-Guzmán, J., Fierro, M., Mattar-Lopez, E., Zazueta, O. E. (2019). Unbiased assessment of abundance of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks, canine exposure to spotted fever group rickettsia, and risk factors in Mexicali, México. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(1), 22–32. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0878>
- Fritz, C. L., Kriner, P., Garcia, D., Padgett, K. A., Espinosa, A., Chase, R., Messenger, S. L. (2012). Tick infestation and spotted-fever group *Rickettsia* in shelter dogs, California, 2009. *Zoonoses and Public Health*, 59 1, 4–7.
- Fuentes, L., Calderón, A., & Hun, L. (1985). Isolation and identification of *Rickettsia rickettsii* from the rabbit tick (*Haemaphysalis leporispalustris*) in the Atlantic zone of Costa Rica. (Vol. 34). *Am J Trop Med Hyg*.

- Gilot, B., Pautou, G., & Moncada, E. (1975). L'analyse de la vegetation appliquee a la detection des populations de tiques exophiles dans le sud-est de la france; l'exemple d'ixodes ricinus (linne 1758) (acarina, ixodoidea). *Acta Tropica*, 32(4), 347–340.
- Goddard, J. (1987). Ticks of medical importance occurring in the Western Hemisphere.
- Gray, J., Dantas-Torres, F., Estrada-Peña, A., & Levin, M. (2013). Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(3), 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.12.003>
- Greene, C., & Breitschwerdt, E. (2006). Rocky Mountain spotted fever, murine typhuslike disease, rickettsialpox, typhus, and Q fever. In: Greene CE (3a ed. St.; editor. Infectious Diseases of the Dog and Cat., Ed.).
- Guisan, A., & Zimmermann, N. E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135(2–3), 147–186. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00354-9)
- Hayes, S. F., Burgdorfer, W., & Aeschlimann, A. (1980). Sexual Transmission of Spotted Fever Group Rickettsiae by Infected Male Ticks: Detection of Rickettsiae in Immature Spermatozoa of *Ixodes ricinus*. *Infection and Immunity*, 27(2), 638–642.
- Herrera Hernández, O., Arriola Mosqueda, L., Prieto Avella, E., Jiménez Lara, Y., Lazcano Ortíz, L., Angel Sahagún, C. ., Cruz Vázquez, C. (2016). Evaluación de acaricidas sobre *Rhipicephalus sanguineus* (latreille). (Acari: Ixodidae). *Entomología Mexicana*, (3), 70–74.
- Hoffmann, C. C. (1925). La fiebre manchada de Choix. Memoria preliminar. In Boletín.
- Hugh-Jones, M., Barre, N., Nelson, G., Wehnes, K., Warner, J., Garvin, J., & Garris, G. (1992). Landsat-TM identification of *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) habitats in Guadeloupe. *Remote Sensing of Environment*, 40(1), 43–55. [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(92\)90125-4](https://doi.org/10.1016/0034-4257(92)90125-4)
- INEGI. (2010). Censo de Población y Vivienda 2010. Retrieved April 5, 2020, from <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2010/default.html#Tabulados>
- INEGI. (2017a). Anuario estadístico y geográfico de Baja California 2017.
- INEGI. (2017b). Anuario estadístico y geográfico de Guerrero. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2009.03468.x>
- INEGI. (2018). México en Cifras. Retrieved January 9, 2019, from <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=08#>
- James, M. C., Bowman, A. S., Forbes, K. J., Lewis, F., McLeod, J. E., & Gilbert, L. (2013). Environmental determinants of *Ixodes ricinus* ticks and the incidence of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, the agent of Lyme borreliosis, in Scotland. *Parasitology*, 140(2), 237–246. <https://doi.org/10.1017/S003118201200145X>
- Karpathy, S. E., Dasch, G. A., & Eremeeva, M. E. (2007). Molecular typing of isolates of *Rickettsia*

- rickettsii* by use of DNA sequencing of variable intergenic regions. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(8), 2545–2553. <https://doi.org/10.1128/JCM.00367-07>
- Kirkland, K. B., Marcom, P. K., Sexton, D. J., Dumler, J. S., & Walker, D. H. (1993). Rocky mountain spotted fever complicated by gangrene: Report of six cases and review. *Clinical Infectious Diseases*, 16(5), 629–634. <https://doi.org/10.1093/clind/16.5.629>
- Kleba, B., Clark, T. R., Lutter, E. I., Ellison, D. W., & Hackstadt, T. (2010). Disruption of the *Rickettsia rickettsii* *Sca2* autotransporter inhibits actin-based motility. *Infection and Immunity*, 78(5), 2240–2247. <https://doi.org/10.1128/IAI.00100-10>
- Koch, H. G., & Tuck, M. D. (1986). Molting and Survival of the Brown Dog Tick (Acari: Ixodidae) under Different Temperatures and Humidities. *Annals of the Entomological Society of America*, 79(1), 11–14. <https://doi.org/10.1093/aesa/79.1.11>
- Krawczak, F. S., Binder, L. C., Oliveira, C. S., Costa, F. B., Moraes-Filho, J., Martins, T. F., Labruna, M. B. (2016). Ecology of a tick-borne spotted fever in southern Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 70(2), 219–229. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0070-1>
- Krawczak, F. S., Nieri-Bastos, F. A., Nunes, F. P., Soares, J. F., Moraes-Filho, J., & Labruna, M. B. (2014). Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoeris hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-7>
- la Rosa, D. (n.d.). Procedimiento para el aislamiento de ADN a partir de sangre coagulada de aves.
- La Scola, B., Raoult., & Didier. (1997). Laboratory diagnosis of Rickettsioses: Current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11), 2715–2727. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2715-2727.1997>
- La, M. Van, François, P., Rovey, C., Robineau, S., Barbry, P., Schrenzel, J., Renesto, P. (2007). Development of a method for recovering rickettsial RNA from infected cells to analyze gene expression profiling of obligate intracellular bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 71(3), 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.09.017>
- Labruna, M. (2009). Ecology of Rickettsia in South America. *Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad Sci.* 166:, 1, 156–166.
- Labruna, Marcelo, Whitworth, T., Bouyer, D. H., McBride, J. W., Pinter, A., Popov, V., ... Walker, D. H. (2004). Rickettsia Species Infecting *Amblyomma cooperi* Ticks from an Area in the State of São Paulo, Brazil, Where Brazilian Spotted Fever Is Endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 90–98. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.90>
- Lado, P., Costa, F. B., Verdes, J. M., Labruna, M. B., & Venzal, J. M. (2015). Seroepidemiological survey of *Rickettsia* spp. in dogs from the endemic area of *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in

- Uruguay. *Acta Tropica*, 146, 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.02.014>
- LCCA-UACJ. (2019). Laboratorio de Climatología y Calidad del Aire, Historicos. Retrieved from <http://cecatev.uacj.mx/Estacion101/history.html>
- Lissman, B., & Benach, J. (1980). Rocky Mountain spotted fever in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 176:, 994-995.
- Llop, A., Valdés-Dapena, M., & Zuazo, J. L. (2001). Microbiología y Parasitología Médicas (3ra ed.; N. C. Herrero, Ed.). La Habana.
- López-Vélez, R., & Moreno, R. M. (2005). Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Revista Espanola de Salud Publica*, 79(2), 177–190. <https://doi.org/10.1590/s1135-57272005000200006>
- López Flores, E. (2017). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a *Rickettsia rickettsii* en perros del municipio de Veracruz, México. Universidad Veracruzana.
- Lorusso, V., Dantas-Torres, F., Lia, R. P., Tarallo, V. D., Mencke, N., Capelli, G., & Otranto, D. (2010). Seasonal dynamics of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*, on a confined dog population in Italy. *Medical and Veterinary Entomology*, 24(3), 309–315. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00885.x>
- M. Hugh-Jones. (1989). Applications of Remote Sensing habitats parasites. *Parasitology Today*, 5(8), 244–251.
- Márquez Jiménez, F. J., Hidalgo Pontiveros, A., Contreras Chova, F., Rodríguez Liébana, J. J., & Muniain Ezcurra, M. Á. (2005). Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clinica*, 23(2), 94–102. <https://doi.org/10.1157/13071613>
- Martinez, J. J., Seveau, S., Veiga, E., Matsuyama, S., & Cossart, P. (2005). *Ku70*, a component of DNA-dependent protein kinase, is a mammalian receptor for *Rickettsia conorii*. *Cell*, 123(6), 1013–1023. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.046>
- McQuiston, J. H., Guerra, M. A., Watts, M. R., Lawaczeck, E., Levy, C., Nicholson, W. L., Swerdlow, D. L. (2011). Evidence of exposure to spotted fever group rickettsiae among Arizona dogs outside a previously documented outbreak area. *Zoonoses and Public Health*, 58(2), 85–92. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01300.x>
- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Bormane, A., Derdakova, M., Estrada-Peña, A., George, J. C., Van Bortel, W. (2013). Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites and Vectors*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-1>
- Melo, A. L. T., Martins, T. F., Horta, M. C., Moraes-Filho, J., Pacheco, R. C., Labruna, M. B., & Aguiar, D. M. (2011). Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs from

- the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2(4), 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.09.007>
- Moreira-Soto, A., Carranza, M. V., Taylor, L., Calderón-Arguedas, O., Hun, L., & Troyo, A. (2016). Exposure of dogs to spotted fever group rickettsiae in urban sites associated with human rickettsioses in Costa Rica. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(5), 748–753. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.03.007>
- Narrativa, U. R., Alejandro, D., & Medina, B. (2009). Epidemiología de las rickettsiosis, una revisión narrativa. Aportes para la vigilancia epidemiológica. *Medidas de presentación y factores asociados*. 1–88. Retrieved from <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/430>
- Nicholson, W. L., Gordon, R., & Demma, L. J. (2006). Spotted fever group rickettsial infection in dogs from eastern Arizona: How long has it been there? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078, 519–522. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.102>
- Noriea, N., Clark, T., & Hackstadt, T. (2015). Targeted knockout of the *Rickettsia rickettsii* OmpA surface antigen does not diminish virulence in a mammalian model system. *MBio*, 6(2), 3223–15.
- Norment, B. R., & Burgdorfer, W. (1984). Susceptibility and reservoir potential of the dog to spotted fever-group rickettsiae. *American Journal of Veterinary Research*, 45(9), 1706–1710. Retrieved from <http://europemc.org/abstract/MED/6548617>
- Norval, R. A. I., Perry, B. D., Kruska, R., & Kundert, K. (1991). The use of climate data interpolation in estimating the distribution of *Amblyomma variegatum* in Africa. *Preventive Veterinary Medicine*, 11(3–4), 365–366. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(05\)80027-3](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(05)80027-3)
- Oliveira. (2010). *Amblyomma imitator*: A novel vector for *Rickettsia rickettsii* in Mexico and South Texas [tesis doctoral]. Minas Gerai, Brasil: Universidad Federal de Vicosa.
- Openshaw, J. J., Swerdlow, D. L., Krebs, J. W., Holman, R. C., Mandel, E., Harvey, A., ... McQuiston, J. H. (2010). Rocky mountain spotted fever in the United States, 2000-2007: Interpreting contemporary increases in incidence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(1), 174–182. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0752>
- Oteo, J. A., Nava, S., Sousa, R. de, Mattar, S., Venzal, J. M., Abarca, K., ... RIICER. (2014). [Latinamerican guidelines of RIICER for diagnosis of tick-borne rickettsioses]. *Revista Chilena de Infectología: Organo Oficial de La Sociedad Chilena de Infectología*, 31(1), 54–65. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000100009>
- Pacheco-Solano, K., Barrantes-González, A., Dolz, G., Troyo, A., Jiménez-Rocha, A. E., Romero-Zuñiga, J. J., & Taylor, L. (2019). Exposure of dogs to *Rickettsia* spp. in Costa Rica: Risk factors for PCR-positive ectoparasites and seropositivity. *Parasite Epidemiology and Control*, 7, e00118. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2019.e00118>

- Pacheco, R. C., Moraes-Filho, J., Guedes, E., Silveira, I., Richtzenhain, L. J., Leite, R. C., & Labruna, M. B. (2011). Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Medical and Veterinary Entomology*, 25(2), 148–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00915.x>
- Paddock, C. D., Denison, A. M., Lash, R. R., Liu, L., Bollweg, B. C., Dahlgren, F. S., ... Karpathy, S. E. (2014). Phylogeography of *Rickettsia rickettsii* genotypes associated with fatal rocky mountain spotted fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(3), 589–597. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0146>
- Parola, P., Paddock, C. D., & Raoult, D. (2005). Tick-borne rickettsioses around the world: Emerging diseases challenging old concepts. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 719–756. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.719-756.2005>
- Parola, P., Paddock, C. D., Socolovschi, C., Labruna, M. B., Mediannikov, O., Kernif, T., ... Raoult, D. (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 657–702. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-13>
- Parola, P., Socolovschi, C., Jeanjean, L., Bitam, I., Fournier, P. E., Sotto, A., ... Raoult, D. (2008). Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe Rickettsioses. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(11), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000338>
- Peniche Lara, G., Dzul Rosado, K., Jiménez Delgadillo, B., Vado Solis, I., Perez Osorio, C., & Zavala Castro, J. (2014). Identificación de *Rickettsia* spp. en garrapatas *Amblyomma cajennense* parasitando bovinos en ranchos del estado de Yucatán. *Ciencia y Humanismo En La Salud*, 1(1), 23–27.
- Perrin, L. D. (2017). Exploration of the spatial epidemiology of tick borne pathogens of livestock in southern Cumbria. *PhD Thesis*, (October).
- Perry, B. D., Kruska, R., Lessard, P., Norval, R. A. I., & Kundert, K. (1991). Estimating the distribution and abundance of *Rhipicephalus appendiculatus* in Africa. *Preventive Veterinary Medicine*, 11(3–4), 261–268. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(05\)80012-1](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(05)80012-1)
- Pierre, E., & Raoult, D. (2004). Suicide PCR on Skin Biopsy Specimens for Diagnosis of Rickettsioses. *J Clin Microbiol.*, 42((8):), 3428–3434.
- Polo, G., Mera Acosta, C., Labruna, M. B., & Ferreira, F. (2017). Transmission dynamics and control of *Rickettsia rickettsii* in populations of *Hydrochoerus hydrochaeris* and *Amblyomma sculptum*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(6), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005613>
- Proboste, T., Kalema-Zikusoka, G., Altet, L., Solano-Gallego, L., Fernández De Mera, I. G., Chirife, A. D., ... Millán, J. (2015). Infection and exposure to vector-borne pathogens in rural dogs and their ticks, Uganda. *Parasites and Vectors*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0919-x>

- Raoult, D., & Walker, D. (1991). *Rickettsia rickettsii* y otras rickettsias del grupo de las fiebres manchadas. *Enfermedades infecciosas*. (Editorial; P. y práctica. 3ª Ed., Ed.). Buenos Aires. (2).
- Raoult, Didier, & Roux, V. (1997). Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, *10*(4), 694–719. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.4.694>
- Regnery, R. L., Spruill, C. L., & Plikaytis, B. D. (1991). Genotypic Identification of Rickettsiae and Estimation of Intraspecies Sequence. *Analysis*, *173*(5), 1576–1589.
- Rikihisa, Y., Stills, H., & Zimmerman, G. (1991). Isolation and continuous culture of Neorickettsia helminthoeca in a macrophage cell line. *J-Clin-Microbiol*. Washington, D.C.: Ameri Soci for Microb., *29*(9:), 1928-1933.
- Riley, S. P., Fish, A. I., Garza, D. A., Banajee, K. H., Harris, E. K., del Piero, F., & Martinez, J. J. (2016). Nonselective persistence of a *Rickettsia conorii* extrachromosomal plasmid during mammalian infection. *Infection and Immunity*, *84*(3), 790–797. <https://doi.org/10.1128/iai.01205-15>
- Riley, S. P., Goh, K. C., Hermanas, T. M., Cardwell, M. M., Chan, Y. G. Y., & Martinez, J. J. (2010). The *Rickettsia conorii* autotransporter protein sca1 promotes adherence to nonphagocytic mammalian cells. *Infection and Immunity*, *78*(5), 1895–1904. <https://doi.org/10.1128/IAI.01165-09>
- Rivera, N. G., Hernández, G. Á., Zárate, M. G. G., Chon, I. F., García, L. V., & Rangel, M. A. C. (2013). Fiebre manchada de las Montañas Rocosas en niños: experiencia hospitalaria. *Revista Mexicana de Pediatría*, *80*(6), 227–231.
- Robinson, T. P. (2000). Spatial statistics and geographical information systems in epidemiology and public health. *Advances in Parasitology*, *47*, 81–128. [https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(00\)47007-7](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(00)47007-7)
- Rosado, K. D., Romero, J. B., Pacghetco, G. V, Caballero, C. L., León, J. A., Lara, G. P., & Castro, Z. J. (2017). Immunogenicity of OmpA and OmpB antigens from *Rickettsia rickettsii* on mononuclear cells from rickettsia positive mexican patients. *Journal of Vector Borne Diseases*, *54*(4), 317–327. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4103/0972-9062.225836>
- Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. (3a ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sánchez montes, S., López perez, A. M., Guzmán cornejo, C., Colunga salas, P., Becker, I., Mora, J. D. de, ... Suzán, G. (2018). *Rickettsia parkeri* in dermacentor parumapertus ticks, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, *24*(6).
- Sangioni, L. A., Horta, M. C., Vianna, M. C. B., Gennari, S. M., Soares, R. M., Galvão, M. A. M., Labruna, M. B. (2005). Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity.

- Emerging Infectious Diseases*, 11(2), 265–270. <https://doi.org/10.3201/eid1102.040656>
- Sexton, D., Kanj, S., & Wilson, K. (1994). The use of a polymerase chain reaction as a diagnostic test for rocky mountain spotted fever. *Am J Trop Med Hyg*, 50: 59-63.
- Shaw, S. E., Day, M. J., Birtles, R. J., & Breitschwerdt, E. B. (2001). Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology*, 17(2), 74–80. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(00\)01856-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(00)01856-0)
- SINAVE. (2014). Vigilancia Epidemiológica Semana 28. D.F.: *Boletín Epidemiológico*. SINAVE.
- Smith, R., Gordon, J., Gordon, S., & Philip, R. (1983). Rocky Mountain spotted fever in an urban canine population. *J Am Vet Med Assoc* (Vol. 183:).
- Sogner, J., & Post, K. (2006). Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease. *Estados Unidos de America. Vet Microbiol.*, 6((3):), 242-245.
- Sonenshine, D. E., Peters, A. H., & Levy, G. F. (1972). Rocky mountain spotted fever in relation to vegetation in the Eastern United States, 1951-1971. *American Journal of Epidemiology*, 96(1), 59–69. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a121433>
- Sosa-Gutierrez, C. G., Vargas-Sandoval, M., Torres, J., & Gordillo-Pérez, G. (2016). Tick-borne rickettsial pathogens in questing ticks, removed from humans and animals in Mexico. *Journal of Veterinary Science*, 17(3), 353–360. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.3.353>
- Spencer, A. R. R., & Parker, R. R. (1923). Rocky Mountain spotted fever: infectivity of fasting and recently fed ticks. *Public Health Reports*, 38(8), 333–339.
- SSA. (2013). Prevención, diagnóstico y tratamiento de la fiebre manchada por *Rickettsia Rickettsii* en población pediátrica y adulta, en el primer y segundo nivel de atención.
- SSA. (2014). Sistemas Especiales de Vigilancia Epidemiológica. Chihuahua: Sistemas Especiales de Vigilancia Epidemiológica.
- Stockham, S., Schmidt, D., Curtis, K., Schauf, B., Tyler, J., & Simpson, S. (1992). Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri, including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, and *Borrelia burgdorferi*. *Am J Vet Res. Schaumburg, Ill.: American Veterinary Medical Association.*, 53((1):), 63-68.
- Sutherst, R. W., & Maywald, G. F. (1985). A computerised system for matching climates in ecology. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 13(3–4), 281–299. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(85\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0167-8809(85)90016-7)
- Sutherst, Robert W. (2001). The vulnerability of animal and human health to parasites under global change. *International Journal for Parasitology*, 31(9), 933–948. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00203-X](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00203-X)
- Thorner, A., Walker, D., & Petri, W. (1998). Rocky Mountain spotted fever. In *Oxford University Press* (Vol. 27). Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/4481728>

- Tinoco-Gracia, L., Quiroz-Romero, H., Quintero-Martínez, M., Rentería-Evangelista, T., González-Medina, Y., Barreras-Serrano, A., Vinasco, J. (2009). Prevalence of dogs in a region on the Mexico-USA border. *Veterinary Record*, (154), 59–61.
- Vázquez Aguirre, M. (2014). Uoptimización de una técnica de extracción de adn genómico de espermatozoides de toro.
- Walker, A. R., Bouattour, A., Camicas, J.-L., Estrada-peña, A., Horak, I. G., Latif, A. A., Preston, P. M. (2014). Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species. In *The University of Edinburgh*. Retrieved from [http://www.researchgate.net/publication/259641898\\_Ticks\\_of\\_domestic\\_animals\\_in\\_Africa\\_a\\_guide\\_to\\_identification\\_of\\_species/file/5046352d0429878d7f.pdf%0Ahttp://www.alanwalker.com/assets/PDF/tickguide-africa.pdf](http://www.researchgate.net/publication/259641898_Ticks_of_domestic_animals_in_Africa_a_guide_to_identification_of_species/file/5046352d0429878d7f.pdf%0Ahttp://www.alanwalker.com/assets/PDF/tickguide-africa.pdf)
- Weiser, I., & Greene, C. (1989). Dermal necrosis associated with rocky mountain spotted fever in four dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 195:, 1756-1758.
- Weiss, E., & Moulder, J. (1984). *Rickettsiales Gieszczkiewicz, 1939*. Krieg, N.R., J.G. Holt, eds: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins. (1).
- Whitworth, T., Popov, V. L., Yu, X. J., Walker, D. H., & Bouyer, D. H. (2005). Expression of the *Rickettsia prowazekii pld* or *tlyC* gene in *Salmonella enterica* serovar typhimurium mediates phagosomal escape. *Infection and Immunity*, 73(10), 6668–6673. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.10.6668-6673.2005>
- Witter, L. A., Johnson, C. J., Croft, B., Gunn, A., & Gillingham, M. P. (2012). Behavioural trade-offs in response to external stimuli: Time allocation of an arctic ungulate during varying intensities of harassment by parasitic flies. *Journal of Animal Ecology*, 81(1), 284–295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01905.x>
- Zavala Velazquez, J., Laviada Molina, H., Zavala Castro, J., Perez Osorio, C., Becerra Carmona, G., Ruiz Sosa, J. A., Walker, D. H. (2006). *Rickettsia felis*, the agent of an emerging infectious disease: Report of a new case in Mexico. *Archives of Medical Research*, 37(3), 419–422. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.08.003>

## 9. ANEXO

### HISTORIA CLÍNICA EPIDEMIOLÓGICA

Esta información será utilizada exclusivamente para el estudio epidemiológico de la Fiebre Manchada en Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Instrucciones para el aplicador: Por favor, de respuesta a este cuestionario utilizando letra de molde y seleccione la respuesta que mejor caracterice, según su criterio.

#### DATOS GENERALES

|  |                   |                                  |                        |                   |                    |
|--|-------------------|----------------------------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| APLICADOR (MVZ):                       |                   | (50)FECHA (D.M.A): ___/___/_____ |                        | HORA:             |                    |
| (18) NOMBRE DE LA CLÍNICA VETERINARIA: |                   |                                  |                        |                   |                    |
| NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL PERRO:      |                   |                                  |                        |                   |                    |
| CALLE DE LA VIVIENDA:                  |                   |                                  | No.                    | CALLE QUE CRUZA:  |                    |
| COLONIA/FRACCIONAMIENTO:               |                   |                                  | No. Teléfono/contacto: |                   |                    |
| TOTAL PERSONAS EN EL HOGAR (100):      | 0 a 4 años (101): | 5-9 años (102):                  | 10-15 años(103):       | 16-59 años (104): | 60 años más (105): |

#### ANAMNESIS CLÍNICA

|   |   |
|---|---|
| <p>1.1. ¿Tipo de vivienda?</p> <p>Casa <input type="checkbox"/>      D<sup>o</sup>artamento <input type="checkbox"/> 2      Otro 3</p> <p>¿Cuál? _____</p> <p>1.1.1. ¿ESTADO DE LAS PAREDES DE LA VIVIENDA?</p> <p>Ladrillos visibles 1 <input type="checkbox"/>    Grietas 2 <input type="checkbox"/>    Paredes con enjarre 3 <input type="checkbox"/></p> <p>Otro 4 <input type="checkbox"/>    ¿Cuál? _____</p> | <p>1.2. ¿Patio en la vivienda?      Si    No</p> <p style="text-align: right;">1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/></p> <p>1.2.1. Tipo:</p> <p>Tierra 1 <input type="checkbox"/>    Cemento 2 <input type="checkbox"/>    Mixto 3 <input type="checkbox"/></p> <p>1.3. ¿Aplicación de fumigaciones/aspersiones?    Si    No</p> <p style="text-align: right;">1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/></p> <p>1.3.1. ¿Frecuencia?</p> <p><input type="checkbox"/> 1 Mensual</p> <p><input type="checkbox"/> 2 Trimestral</p> <p><input type="checkbox"/> 3 Semestral</p> <p><input type="checkbox"/> 4 Anual</p> <p><input type="checkbox"/> 5 Otra      ¿Cuál? _____</p> |
| <p>1.4. ¿Número de perros en la vivienda?</p> <p>No. Total _____</p> <p>1.4.1. De ellos, cuantos son;</p> <p>Machos 1 <input type="checkbox"/>      Hembras 2 <input type="checkbox"/></p>  | <p>1.5. ¿Ha estado enfermo durante el último año?    Si    No</p> <p style="text-align: right;">1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/></p> <p>1.5.1. Enfermedad:</p> <p><input type="checkbox"/> 1 Ehrlichiosis      <input type="checkbox"/> 2 Anaplasmosis      <input type="checkbox"/> 3 Babesiosis</p> <p><input type="checkbox"/> 4 Leptospirosis    <input type="checkbox"/> 5 Otra    ¿Cuál? _____</p>   |
| <p>1.6. ¿Hábitat normal del perro?</p> <p><input type="checkbox"/> 1 Casa      <input type="checkbox"/> 2 Patio</p> <p><input type="checkbox"/> 3 Casa y Patio    <input type="checkbox"/> 4 Patio y calle</p> <p><input type="checkbox"/> 5 Otro      ¿Cuál? _____</p>   | <p>1.7. ¿Paseos dentro de la ciudad con el perro?      Sí    No</p> <p style="text-align: right;">1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/></p> <p>1.7.1. ¿Dónde?</p> <p><input type="checkbox"/> 1 Calle      <input type="checkbox"/> 2 Parque    <input type="checkbox"/> 3 Otro(s)</p> <p>¿Cuál (es)? _____</p> <p>1.7.2. ¿Frecuencia?    Diaria 1 <input type="checkbox"/>    Semanal 2 <input type="checkbox"/>    Semestral 3 <input type="checkbox"/></p> <p>Otra 4 <input type="checkbox"/>    ¿Cuál?: _____</p>   |

#### RESEÑA DEL PERRO

|                                     |           |                                 |                     |                                 |
|-------------------------------------|-----------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| (6) Raza:                           | (7) Edad: | (8) Sexo:                       | (9) Fin zootécnico: | (17) Motivo de la consulta:     |
| (12) Condición corporal: (1-5)      |           |                                 | (16) Actitud:       |                                 |
| (13) Frecuencia Respiratoria (RPM): |           | (14) Frecuencia cardiaca (PPM): |                     | (15) Temperatura corporal (°C): |

