

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León

UNAN-León

Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias

Maestría en Sanidad Animal con énfasis en Salud Pública



IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *RICKETTSIA* spp. EN GARRAPATAS DE ZONAS RURALES EN LOS MUNICIPIOS EL SAUCE Y ACHUAPA DEL DEPARTAMENTO DE LEÓN.

Tesis presentada por el Lic. M.V. Lady Lucrecia Mejía Bello para optar al título de Magister Scientiae, en “Medicina Preventiva con Mención en Salud Pública”

Tutor:

José Luis Bonilla Espinoza.

León, Nicaragua

18 de febrero del 2020.

“A la libertad por la Universidad”.

INDICE

	Pág.
INDICE	3
DEDICATORIA.....	6
AGRADECIMIENTO.....	7
RESUMEN	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. ANTECEDENTES.....	11
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
V. OBJETIVO GENERAL:.....	17
VI. OBJETIVO ESPECÍFICOS:.....	17
VII. MARCO TEÓRICO.....	18
1. RICKETTSIAS.....	18
1.1 Taxonomía.....	19
1.2 Ecología.....	20
1.3 Ciclo de vida de la bacteria y Patogénesis en el humano.....	22
Figura 1. Ciclo de vida de la <i>Rickettsia rickettsii</i> en la garrapata y en el mamífero hospedero.....	23
1.4 Distribución.....	24
1.2 Algunas fiebres del grupo de la mancha.....	25
1.2.1. Fiebre manchada por <i>Rickettsia rickettsii</i>	25
1.2.2. Fiebre manchada por <i>Rickettsia parkeri</i>	25
1.2.3. Fiebre manchada por <i>Rickettsia massiliae</i>	26

1.3	Diagnóstico	26
1.4	Tratamiento	28
1.5	Prevención y control	30
2.	GARRAPATAS.....	32
2.1	Generalidades de las garrapatas.....	32
2.2	Clasificación taxonómica de las garrapatas.....	33
2.3	Distribución	34
2.4	Epidemiología.....	34
2.5	Morfología general de las garrapatas	35
2.6	Ciclo biológico.....	37
2.6.1	Garrapatas de un solo huésped.....	39
2.6.2	Garrapatas de dos huéspedes.....	40
2.7	Cópula	42
2.8	Ovoposición	42
2.8	Larva.....	42
2.9	Ninfa	43
2.8	Adulto.....	43
2.9	Patogenia.....	43
2.9.1	Efectos locales:.....	45
2.9.2	Efectos sistémicos:	47
2.10	Diagnóstico	48
2.11	Control	49
VIII.	MATERIAL Y MÉTODO	53
7.1	Tipo de estudio: D.....	53
7.2	Periodo de estudio:	53

7.4 Unidad de análisis:	53
7.4 Área de estudio:.....	53
7.5 Territorios:.....	53
7.6 Población	54
7.7 Tamaño y selección de la muestra	54
7.8 Fuente(s) de información:	54
7.9 Método de recolección de las garrapatas:	54
7.10 Criterios de inclusión:.....	55
7.11 Criterios de exclusión.....	55
7.13. Tabla 3. Operacionalización de variables	55
7.14 Procedimientos para garantizar los aspectos éticos:.....	55
7.15 Procedimiento de análisis de las muestras:.....	56
7.15.1. Plan de análisis del vector:	56
7.15.2. Extracción del ADN.....	56
7.15.3. Amplificación del ADN para género	56
7.16 Plan de análisis:.....	56
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
X. CONCLUSIONES	63
XI. RECOMENDACIONES	64
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	65
XIII. ANEXOS	72

DEDICATORIA

A Dios por ser una luz, darme la vida, salud y sabiduría para seguir cumpliendo mis metas, mostrarme el camino del bien y la perseverancia necesaria para superar los obstáculos del día a día de la mejor manera posible; a mis hijas Eunice Aguilar y Bridget Aguilar por ser mi motivo de superación y crecimiento profesional, a mi esposo Nilson Aguilar por brindarme el apoyo necesario e incondicional en mi vida y desarrollo profesional, a mis padres María Cristina Bello y Pablo Mejía, por ser mi fuente de superación, brindarme siempre su amor, consejos, comprensión y apoyo a lo largo de mi camino espiritual y moral.

AGRADECIMIENTO

A Dios y la Virgen María por iluminarme siempre el camino que debo seguir, por regalarme la vida y por permitirme lograr las metas propuestas. A mi familia sobre todo mis hijas que son lo más preciado y el motor que impulsan mis esfuerzos, a mi esposo por siempre ser la persona que me brinda apoyo incondicional. A mi madre y padre por ser el ejemplo para seguir.

- A mi tutor MSc. José Luis Bonilla Espinoza, por brindarme el tiempo necesario, apoyo y disposición incondicional para poder culminar dicha investigación.
- Al investigador entomólogo MSc. Sergio Bermúdez, el cual me apoyo de manera incondicional en la identificación y clasificación taxonómica de las garrapatas.
- A la coordinadora de la maestría PhD. Ligia Hernández, la cual permitió gran parte del financiamiento de dicha investigación, al Dr. Miguel Vega por el apoyo en la toma de muestras.
- A todos aquellos compañeros y amigos que colaboraron de una u otra manera con este estudio.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *RICKETTSIA spp.* EN GARRAPATAS DE ZONAS RURALES EN LOS MUNICIPIOS EL SAUCE Y ACHUAPA DEL DEPARTAMENTO DE LEÓN.

^a Mejía B. Lady, ^b Bonilla E. José Luis.

^a Autor Principal, Oficial de Investigación UNAN –León

^b Tutor Principal, Docente Titular, Microbiología e Inmunología UNAN –León

RESUMEN

La Rickettsiosis son enfermedades zoonóticas, causada por bacterias intracelulares obligadas de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*, encontrándose asociada a garrapatas, como principal vector en la transmisión. El objetivo del estudio fue determinar la presencia de *Rickettsia spp.* en garrapatas que parasitan animales domésticos, mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en los municipios del Sauce y Achuapa del departamento de León, Nicaragua. De un total de 525 animales, de los cuales, se muestrearon 175 por cada especie (bovinos, equinos y caninos), en cuatro comarcas del municipio El Sauce y tres del municipio de Achuapa. Se recolectaron entre 10 y 15 garrapatas por cada especie de animal, colocándose en tubos de ensayos con alcohol al 90%, para luego proceder a la clasificación taxonómica de cada espécimen, posteriormente se procedió a realizar la extracción de ADN con pools de garrapatas, mediante el kit de extracción de Gane JET Plant Genomic DNA Purification Minit, la amplificación se realizó utilizando los cebadores procedente del gen citrato sintetasa (*gltA*), para obtener un amplicón de 398 bp, esto se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria. De los 1959 especímenes de garrapatas encontradas se detectaron tres géneros y 4 especies, siendo la de mayor frecuencia *R. Boophilus m.* (61.5%), de los hospedadores estudiado el bovino representó un 64.4%. 28 muestras fueron procesadas por PCR, obteniendo 6/28 muestras positivas a *Rickettsia spp* (21.4%) en ambos municipios, ésta se encontró en las especies de garrapatas *R. Boophilus m.*, *A. mixtum* y *D. nitens*.

Palabra claves: Garrapatas, *Rickettsia spp*, Animales domésticos, PCR.

I. INTRODUCCIÓN

Las rickettsiosis son entidades clínicas de tipo zoonóticas, emergentes y reemergentes causadas por bacterias intracelulares obligadas de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*, pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae*. Estas bacterias son transmitidas por artrópodos hematófagos como garrapatas, pulgas, piojos y ácaros (Labruna *et al.*, 2011; Hidalgo, 2013). El género *Rickettsia* se divide en cuatro grupos: el grupo Tifus, el grupo de las Fiebres Manchadas (GFM), el grupo Transicional y el grupo Ancestral. La mayoría albergan especies que representan patógenos potenciales de importancia para el humano (Gillespie *et al.*, 2008).

Las *Rickettsia* pueden desencadenar enfermedad febril inespecífica en humanos y animales, que sin el diagnóstico y tratamiento adecuado podría llevar a la muerte en el caso de las especies más patogénicas (Ramírez, 2014). El ser humano participa como un hospedero accidental de *Rickettsia* y la transmisión se da por medio de la saliva cuando la garrapata, ácaro y pulga, se están alimentando o en el caso del tifus, la entrada de la *Rickettsia* se da por piel cuando el humano esparce las heces en la picadura que causó el piojo, pero también puede existir la posibilidad de entrada por mucosas (Brenner *et al.*, 2005).

En la actualidad las garrapatas forman parte de los artrópodos vectores de mayor relevancia en la transmisión de microorganismos al hombre y a los animales. Los diferentes géneros de la familia *Ixodidae* están implicados en el papel vectorial y como reservorios o amplificadores de las *Rickettsia* GFM. En las Américas, las garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Amblyomma* están fuertemente relacionadas con la transmisión de *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. massiliae* y *R. africae*, siendo éstas las especies más representativas en este continente (Labruna M., 2011)

Aunque normalmente la relación *Rickettsia*-artrópodo es de tipo simbiótico (comensal), en algunos casos su efecto puede ser parasitario o patógeno, mediante

la alteración de la reproducción, la manipulación de los procesos celulares e incluso generando efectos letales en el hospedero invertebrado (Azad y Beard, 1998).

El presente estudio tiene como propósito determinar agentes *Rickettsiales* en las garrapatas que parasitan a los bovinos, equinos y caninos, así como la identificación taxonómica de las garrapatas en los municipios Sauce y Achuapa del departamento de León.

II. ANTECEDENTES

En el 2019 en Costa Rica, se realizaron exámenes clínicos en 441 muestras de perros en todo el país, donde se detectó ADN de *Rickettsia spp.* en 30% (39/130) y 32,3% (56/173) de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*. (Pacheco-Solano Katherine, 2019).

Un estudio elaborado en Nicaragua y Costa Rica en el año 2018 determinaron 316 grupos de garrapatas en perros. De 316, se obtuvo un 19.9% de perros infestados en Costa Rica y un 48% en Nicaragua. De las garrapatas colectadas se les realizó aislamiento de *Rickettsia* por Rt-PCR, obteniendo una tasa de infección mínima de 2.2%, de las cuales, 0.7% correspondía a *Rh. sanguineus*; 33.3% *Ixodidae boliviensis Neumann* y 9.7% *A. ovale*. (Springer Andrea, 2018).

Reller en el año 2016 en Nicaragua. De un total de 825 pacientes humanos con características clínicas no específicas, donde las infecciones por *Rickettsias* y Fiebre Q no fueron consideradas o tratadas, se identificaron infecciones por *Rickettsias* en 0.9% y fiebre Q en 1.3%. (Reller Megan E. & al., 2016).

En Brasil en el año 2016, determinaron que los equinos, juegan un papel importante en la epidemiología de la fiebre manchada de Brasil (BSF), ya que son primarios anfitriones de la garrapata *Amblyomma sculptum* y se encontraron que de los 183 equinos que se estudiaron se detectó *Rickettsia rickettsii*, en los cuales 73 (39.9%) eran de zonas no endémicas y 110 (54.7%), en área endémicos, *Rickettsia belli* en 86 (46.9%) y *Rickettsia parkeri* en 78 (42.6%). (Souza C. E., 2016).

En Nicaragua en el año 2015 registró por primera vez *Ixodes boliviensis Neumann* y *Dermacentor dissimilis Cooley*, en animales domestico de la región norte del país. (Bermúdez S., 2015).

Novakova en el 2015, Honduras, recolectan garrapatas en 24 reptiles de los cuales 12 (49%) se encontraron parasitadas, 280 aves de las cuales solo 23 (9%) se encontraban parasitadas y humanos recolectaron 9 garrapatas, encontraron garrapatas del género *Amblyomma* spp, distribuidas de la siguiente manera, *A. disímili* 9% en iguanas, *A. longirostre* 6% y *A. nodosum* 13% en aves y *A. mixtum* 6% en humanos y dos agentes Rickettsiales de grupo de fiebre manchada (Ca. '*R. amblyommii*' y *Rickettsia* spp. cepa *Colombianensi*). (Novakova, 2015).

En el año 2015 en Costa Rica, se realizó un estudio en el que se examinaron 1878 aves de las cuales 163 (9%) fueron infestadas con 388 garrapatas. donde se reportan dos géneros de garrapatas *Amblyomma* (218 individuos) e *Ixodes* (170 individuos). Se obtuvo que 12 de 24 garrapatas de *A. longirostre* analizadas se encontraron infectadas con el candidato *Rickettsia amblyommii*, 2 de 4 *Amblyomma sabanerae* se infectaron con *Rickettsia bellii* y 8 de 10 larvas de *Ixodes scapularis* están infestada con *Rickettsia* spp. (Ogrzewalska M, 2015).

En el estado de Yucatán un estudio en el 2014 se identificó en una población de 150 garrapatas que se encontraban parasitando bovinos, las cuales 92 pertenecían al género *Rhipicephalus microplus* y 58 *Amblyomma cajennense*; donde se detectó *Rickettsia* spp. en 20 garrapatas todas de género *Amblyomma cajennense*, por medio de la técnica de tinción de Giménez. (Peniche-Lara G., 2014).

Barbieri en el 2012, El Salvador reportó la presencia de *Rickettsia bellii* en 4 garrapatas (*Amblyomma sabanerae*), encontradas en una tortuga infestada naturalmente (Barbieri Amalia R. M., 2012).

En el 2010 en Panamá, se llevó a cabo un ensayo de inmunofluorescencia, para detectar *Rickettsia* spp, donde se tomaron 20 muestras de caninos y 20 de Equinos, reportando un total del 70% (14/20) en caballos y 17% (13/20) de los perros fueron reactivos a *Rickettsia amblyommii*. Las principales especies de garrapatas encontradas en perros fueron *Rhipicephalus Sanguneus*, *Amblyomma ovale*,

Amblyomma oblongoguttatum y *Ctenocephalides felis* y en caballo predominan 2 especies *Amblyomma cajennense* y *Dermacentor nitens*. (Bermúdez C. Sergio E., 2011).

III. JUSTIFICACIÓN

Nicaragua, así como en otros países centroamericanos, no cuenta con programas epidemiológicos y de vigilancia que permitan una mejor comprensión de la verdadera carga de las enfermedades por agentes *Rickettsiales* en las Américas. La información actual con respecto a la presencia de estos agentes en estas áreas y la falta de diagnóstico específicos contribuye a ambiguos datos epidemiológicos en la región.

Las garrapatas son el principal vector en la transmisión de enfermedades Rickettsiales, sobre todo para la fiebre manchada de las Montañas Rocosas (GFM), siendo ésta una enfermedad zoonótica de gran importancia epidemiológica. Hasta el momento existen herramientas genéticas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que permiten identificar y aislar agentes Rickettsiales en diferentes especies de garrapatas, así como otro sin número de técnicas serológicas para detectar agentes Rickettsiales y entro otro tipo de enfermedades.

Las rickettsiosis están entre las enfermedades zoonóticas más importantes en las Américas y otras regiones del mundo, se encuentra asociada a ectoparásitos tales como garrapatas, que son el principal vector para transmitir dicha enfermedad.

En nuestro país el sector agropecuario es un pilar fundamental para la economía; siendo uno de los rubros más desarrollados. Para el año 2019 se tiene que la producción ganadera representa aproximadamente el 18% y 20% del producto interior bruto, tomando en cuenta que cuenta con más de 5 millones de cabezas de ganado, generando alrededor de 700 millones de dólares al año, según el informe de Faganic. Existe una gran cantidad de ganado con manejo sanitario inadecuado. Las mascotas juegan un papel fundamental en la epidemiología de la prevalencia de garrapatas, las cuales pueden ser los principales vectores y reservorios de múltiples especies de enfermedades como es el caso de *Rickettsiosis* que se transmiten al hombre por picadura de manera accidental y puede provocar

síntomas inespecíficos al humano y tienden a pasar desapercibidas en el momento del diagnóstico, por lo que si esto no son tratados a tiempo pueden causar la muerte de las personas. Debido a la estrecha relación que existe en nuestro país con las principales especies de hospedadores de estudio con la relación de los vectores transmisores de la enfermedad se pretende conocer si existe la presencia de *Rickettsia spp.* en garrapatas que parasitan animales domésticos.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe la presencia de agentes *Rickettsiales* en garrapatas de la zona rural en los Municipios El Sauce y San José de Achuapa del Departamento de León?

V. OBJETIVO GENERAL:

Determinar la presencia de *Rickettsia spp.* en garrapatas que parasitan animales domésticos, mediante técnicas moleculares en los municipios El Sauce y San José de Achuapa, del departamento de León, Nicaragua.

VI. OBJETIVO ESPECÍFICOS:

- Caracterizar mediante claves taxonómicas los géneros y especies de garrapatas en los bovinos, equinos y caninos de la zona en estudio.
- Identificar las principales especies de garrapata que predominan en la zona de estudio.
- Determinar la bacteria *Rickettsia spp.*, a partir de garrapatas, mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa.

VII. MARCO TEÓRICO.

1. RICKETTSIAS

Las rickettsiosis son un grupo de zoonosis de distribución geográfica heterogénea, causada por bacterias intracelulares y cuyo ciclo vital transcurre en parte o en su totalidad en un artrópodo vector. Los agentes etiológicos de la rickettsiosis humana más frecuente pertenecen a los géneros *rickettsia*, *coxiela* y *orienta*. (Sanfeliu Isabel, 2008).

Perlman y Hunter en el 2006 citado por (Peniche-Lara G., 2014) indican que las bacterias del género *Rickettsia* son organismos intracelulares obligados con formas polimórficas cuya presencia en humanos causan una infección conocida de manera general como Rickettsiosis, dependiendo de la especie de *Rickettsia* que causa la infección, la rickettsiosis tendrá una denominación específica, por ejemplo: la rickettsiosis causada por *Rickettsia typhi* es conocida como tifo murino y la rickettsiosis causada por *Rickettsia rickettsii* es conocida como fiebre manchada de las montañas rocallosas

Rickettsia está comúnmente asociada con artrópodos, los cuales sirven como vector, reservorio y/o reproductor de dichas bacterias, las que causan principalmente la enfermedad de la fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR). Las *Rickettsia* son capaces de infectar y multiplicarse en casi cualquier órgano del hospedero invertebrado.

Tipos de *Rickettsias* spp. Implicadas en enfermedades humanas (Sanfeliu Isabel, 2008).

Especie	Enfermedad	Vector	Distribución
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fiebre manchada de las Montañas Rocosas	<i>Dermacentor</i> sp.	Norteamérica
<i>Rickettsia conorii</i>	Fiebre botonosa	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Área mediterránea
<i>Rickettsia sibirica</i>	Tifus por garrapatas del Norte de Asia	<i>Dermacentor nuttalli</i>	Siberia, China
<i>Rickettsia australis</i>	Tifus por garrapatas de Queensland	<i>Ixodes holocyclus</i>	Australia
<i>Rickettsia akari</i>	Rickettsiosis varioliforme	<i>Allodermanyssus sanguineus</i>	Estados Unidos, Rusia, Corea, Croacia
<i>Rickettsia conorii israelensis</i>	Fiebre exantemática de Israel	<i>R. sanguineus</i>	Área mediterránea
<i>Rickettsia japonica</i>	Fiebre exantemática japonesa	<i>Dermacentor taiwanensis</i>	Japón
<i>Rickettsia honei</i>	Fiebre exantemática de las Islas Flinders (Australia)	Desconocido	Islas Flinders (Australia)
<i>Rickettsia conorii caspiensis</i>	Fiebre de Astracán	<i>Rhipicephalus pumilio</i>	Rusia
<i>Rickettsia africae</i>	Fiebre africana por garrapatas	<i>Amblyomma</i> sp.	África subsahariana, Indias occidentales
<i>Rickettsia felis</i>	Tifus murino	<i>Ctenocephalide felis</i>	Mundial
<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>	Innominada	<i>Dermacentor silvarum</i>	Rusia, China, Kazajistán
<i>Rickettsia mongolotimonae</i>	Innominada	<i>Hyalomma asiaticum</i>	Europa, Asia, África
<i>Rickettsia slovaca</i>	Tibola/debonel	<i>Dermacentor marginatus</i>	Europa
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	Innominada	<i>Hyalomma marginatum</i>	Europa, África
<i>Rickettsia parkeri</i>	Innominada	<i>Amblyomma</i> sp.	América
<i>Rickettsia marmionii</i>	Innominada	Desconocido	Australia
<i>Rickettsia massillae</i>	Innominada	<i>Rhipicephalus</i> sp.	Área mediterránea, África

1.1 Taxonomía

Dentro del Fílum alfa-proteobacterias, se encuentra el orden Rickettsiales, en el cual se incluyen a su vez las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae* (Brenner DJ, 2005). La familia *Rickettsiaceae* incluye dos géneros, el ya mencionado *Rickettsia* y el género *Orientia*. El género *Rickettsia* está compuesto por los grupos Tifo (TG por sus siglas en inglés) *R. prowazekii* y *R. typhi*, ambas patógenas para los seres humanos, el grupo de las Fiebres Manchadas de las montañas rocosas (SFG por sus siglas en inglés) existen 20 especies: *R. rickettsii* (*Rocky Mountain spotted fever*), *R. conorii* subsp. *conorii* (*Mediterranean spotted fever*), *R. conorii* subsp. *israelensis* (*Israeli spotted fever*), *R. conorii* subsp. *caspiensis* (*Astrakhan fever*), *R. conorii* subsp. *indica* (*Indian Tick Typhus*), *R. sibirica* subsp. *sibirica* (*Siberian tick typhus* or *North Asian tick typhus*), *R. sibirica* subsp. *mongolotimonae*, *R. australis*

(*Queensland tick typhus*), *R. japonica* (*Japanese or Oriental spotted fever*), *R. africae* (*African tick bite fever*), *R. honei* (*Flinders Island spotted fever*), *R. slovaca*, *R. heilongjiangensis*, *R. aeschlimannii*, *R. parkeri*, *R. massiliae*, *R. marmionii*, *R. amblyommii*, *R. texiana* y *R. helvética*. Todas las rickettsias de este grupo son potencialmente patógenas para el hombre, siendo *R. rickettsii* la más virulenta, el grupo transicional (TRG por sus siglas en inglés) están *R. akari* y *R. felis* y el grupo ancestral (AG por sus siglas en inglés) encuentran *R. belli* y *R. canadensis*.

En los últimos años, luego de los avances en biología molecular, hubo una gran reestructuración en el orden Rickettsiales y las familias que pertenecen a este orden fueron reclasificadas así: de la familia *Rickettsiaceae* fueron removidas las especies *Coxiela burnetii* y *Rickettsiella grylli* y fueron reubicadas dentro de la familia *Legionellaceae* (Valbuena G, 2002), los géneros *Eperythrozoon spp* y *Haemobartonella spp* se movieron a la familia *Mycoplasmataceae*, y por último, en la familia *Anaplasmataceae* encontramos en la actualidad los géneros *Ehrlichia spp* y *Anaplasma spp* (Brenner DJ, 2005).

Las bacterias del género *Rickettsia*, son pequeños agentes (0,3 a 0,5 μm por 1 a 2 μm), cuya envoltura es típica de una bacteria Gramnegativa, con una doble membrana interna, una membrana de péptido-glicanos y una doble membrana externa. Son microorganismos intracelulares obligados, encontrándose libres dentro del citoplasma de las células eucarióticas, donde se dividen por fisión binaria. Las especies del SFG también se pueden encontrar dentro del núcleo (Brenner DJ, 2005).

1.2 Ecología

La transmisión transovárica en garrapatas es el mecanismo de mantenimiento natural para todas las rickettsias del SFG, sin embargo, la *Rickettsia typhi* (del Grupo tifus), *R. akari*, y *R. felis* del grupo transicional (TRG) pueden también tener transmisión transovárica. De hecho, para algunas especies de *Rickettsia*, como la

R. peacockii, la transmisión transovárica parece ser el único mecanismo de supervivencia, mientras que para otras como la *R. rickettsii*, el microorganismo ejerce un efecto patológico en la garrapata (*Dermacentor andersoni* y *Dermacentor variabilis*, principales vectores en Estados Unidos) pudiendo eventualmente matarla, lo que conduciría a su propia extinción (Brenner DJ, 2005).

El mecanismo descrito en vertebrados ha dado lugar a los llamados reservorios "amplificadores" de la infección. Adicionalmente, se ha descrito que la transmisión transovárica dependerá también de la carga infecciosa de las garrapatas, y que dicha forma de transmisión le confiere al ectoparásito, el ser considerado como reservorio. De acuerdo con lo anterior, no solo la infección de nuevas líneas de garrapatas sino también la regulación de la transmisión transovárica, lograrían favorecer el mantenimiento de un equilibrio a pesar de la muerte de muchas de las garrapatas infectadas.

En el estado de Sao Paulo (Brasil), donde se han incrementado los casos de rickettsiosis en los últimos 30 años, el estudio de las condiciones eco-epidemiológicas de la región ha permitido identificar varios de los anteriormente mencionados reservorios "amplificadores" para *R. rickettsii* tales como los capibaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), los roedores silvestres (*Euryzgomatomys spinosus*) y algunos marsupiales (*Didelphis marsupialis*), los cuales, al ser mordidos por la garrapata *Amblyomma cajennense*, especie vector de *R. rickettsii* en Sur América, ayudarían a mantener y explicar zonas de alta endemicidad para ésta infección en población humana (Labruna, 2009).

Cuando los ovarios y los oocitos de una garrapata hembra se infectan, las *rickettsias* pueden ser transmitidas de manera transovárica a su progenie. Al infectarse las glándulas salivales de la garrapata esta puede infectar a su hospedero vertebrado vía saliva durante la hematofagia, por lo tanto todos los estadios; larval, ninfa y adulto pueden ser potenciales infectivos para su hospedero vertebrado por tanto las garrapatas son consideradas como el principal reservorio de *rickettsias*. (Medina S. A., 2013).

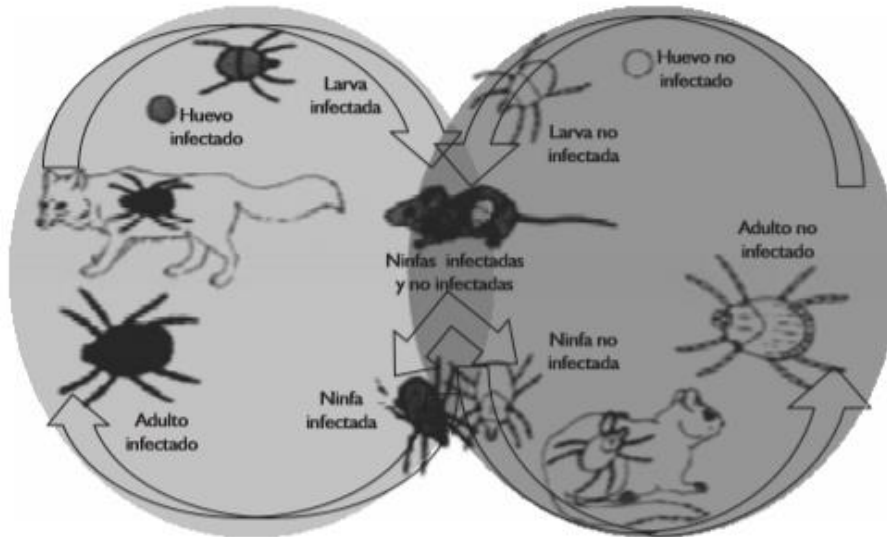
1.3 Ciclo de vida de la bacteria y Patogénesis en el humano.

El ciclo de la bacteria involucra hospederos vertebrados e invertebrados. *R. rickettsii* se mantiene en garrapatas infectadas mediante transmisión transovarial (rango 30-100%) y transestadial; ésta también puede establecerse en nuevas líneas de garrapatas mediante alimentación de hospederos infectados (figura 1). Los huevos de las garrapatas hembras infectados con *R. rickettsii* desarrollarán larvas infectadas, las cuales al alimentarse en roedores pequeños los infectarán con las rickettsias presentes en su saliva. Larvas no infectadas desarrolladas a partir de huevos no infectados, las cuales pueden alimentarse en un animal infectado y, dependiendo de la magnitud y duración de la rickettsia del hospedero infectado, la larva no infectada puede ingerir suficientes *R. rickettsii* en el sustento sanguíneo y es entonces cuando comienza la infección. *R. rickettsii* inicialmente infecta células epiteliales del estómago superior de la garrapata, sin dañar aparentemente a la garrapata hospedera, entrando en el torrente circulatorio, y de ahí invade y multiplica en otros tejidos de la garrapata, incluyendo glándulas salivales y ovarios. Cuando ocurre la infección generalizada, todos los tejidos de la garrapata pueden estar infectados con *R. rickettsii*; esto sucede entre los siete a 10 días después de la infección. Estas larvas infectadas mudan a ninfas infectadas, las cuales, al alimentarse, pueden infectar animales de tamaño mediano. Estas ninfas infectadas, mudarán, resultando en garrapatas adultas que pueden infectar animales mayores. Adultos y ninfas no infectadas pueden comenzar a infectarse con *R. rickettsii* cuando éstas se alimentan frecuentemente de animales con ninfas o adultos infectados. Las hembras infectadas cuando depositan sus huevos pasan *R. rickettsii* de manera transovarialmente a la siguiente generación de garrapatas en el proceso. *R. rickettsii* aparentemente no es transmitida eficazmente a garrapatas hembras por esperma masculino durante su apareamiento.

Se ha demostrado, sin embargo, que la oportunidad para que una garrapata adquiera la infección se limita a un periodo corto de tiempo (tres a cuatro días). El

nivel de ricketsemía depende de la capacidad de la bacteria para invadir el epitelio gástrico. Datos disponibles indican que muchos géneros y especies de garrapatas están involucradas en la transmisión de *R. rickettsii*. (Barba Evi José Roberto., 2009)

Figura 1. Ciclo de vida de la *Rickettsia rickettsii* en la garrapata y en el mamífero hospedero.



En el ser humano participa dentro del ciclo de rickettsia como un hospedero accidental y la transmisión se da por medio de la saliva cuando la garrapata, ácaro y pulga (invertebrados hematófagos), se están alimentando o en el caso del tifus, la entrada de la rickettsia se da por piel cuando el humano esparce las heces en la picadura que causó el piojo, pero también puede existir la posibilidad de entrada por mucosas (Brenner DJ, 2005).

Dicha interacción induciría un re-arreglo en el citoesqueleto, que resulta en la entrada de la bacteria por medio de un fagosoma, posteriormente la bacteria se multiplica por fisión binaria (Valbuena G, 2002) y lisa rápidamente la membrana fagosomal para escapar al citoplasma, donde sobrevive gracias a la liberación de factores de secreción IV(T4SS), los cuales desencadenan en la célula infectada, la síntesis y secreción de nutrientes. La bacteria adquiere un fenotipo diferente para

su desplazamiento célula a célula y se disemina a través de mecanismos de polimerización de actina (Valbuena G, 2002).

Luego de que las células endoteliales han sido infectadas por las rickettsias, comienzan a producir diferentes tipos de citoquinas y adhesinas como: IL-1, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-11, IL-14, IL-15, TGF- β , GM-CSF, M-CSF, PDGF, TNF- α , ICAM-1, prostaglandinas, IL-8, MCP-1, gro, ENA-78, RANTES, IP-10 (Valbuena G, 2002).

La inmunidad humoral o Th2 se da por la presentación de antígenos provenientes de las proteínas OmpA y OmpB principalmente a los linfocitos B. En general existe una relación negativa en los primeros días de la infección, en cuanto a los niveles de INF- γ e IL-12 con la producción de anticuerpos, a mayor INF- γ e IL-12, menor es la producción de anticuerpos. La respuesta humoral es muy importante en los casos de reinfección y también para la eliminación de la bacteria en el periodo de convalecencia de la enfermedad (Valbuena G, 2002).

El período de incubación de la enfermedad en humanos es de 10 a 14 días y en la fase aguda se presentan fiebre alta (> a 38°C), dolor de cabeza y brote en la piel del tronco, las extremidades, alrededor de las axilas y en la palma de las manos, en 5 a 7 días después de los primeros síntomas. A nivel neurológico se presenta un síndrome meníngeo, con estupor y coma, esta enfermedad puede ser fatal hasta en un 10 a 30% de los pacientes (Bernabeu-Wittel W, 2005).

1.4 Distribución.

En el Cono Sur de Sudamérica, un total de seis especies de *Rickettsia* y al menos cuatro cepas de *Rickettsia* spp. Fueron detectadas en garrapatas de los géneros *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus*, y una en pulgas del género *Ctenocephalides*. Cuatro de estas rickettsias, *R. rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia massiliae* y *R. felis* son reconocidas como patógenas para los humanos. Pero las más relevantes desde una perspectiva epidemiológica en el Cono Sur de Sudamérica son solo tres *R. rickettsii*, *R. parkeri* y *R. massiliae*, debido a que

prácticamente todos los casos de rickettsiosis en humanos fueron causados por ellas. Las dos únicas excepciones son *R. felis*, la cual ha sido detectada en pulgas en Argentina, Chile, Uruguay y Brasil (Labruna, 2009).

1.2 Algunas fiebres del grupo de la mancha

1.2.1. Fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii*

La fiebre manchada por *R. rickettsii*, comúnmente llamada fiebre manchada de las montañas rocosas o fiebre maculosa brasileña es la rickettsiosis humana transmitida por garrapatas más patogénica del mundo y ocurre en las Américas. Existen citas de esta rickettsia en Argentina, Brasil, Canadá, Colombia, Costa Rica, Estados Unidos, México y Panamá, con casos fatales en varios de estos países. Aunque ha sido detectada infectando distintas especies de garrapatas, entre ellas *Amblyomma aureolatum* y *Rhipicephalus Sanguineus sensu lato*, el principal vector en Sudamérica es *Amblyomma cajennense*. *Dermacentor variabilis* y *Dermacentor andersoni* (José M. Venzal, 2011)

1.2.2. Fiebre manchada por *Rickettsia parkeri*

La garrapata *Amblyomma maculatum* 70 años antes, y posteriormente demostró ser patógena al ser inoculada en cobayos y producir un cuadro febril leve compatible con otras fiebres manchadas como RMSF y fiebre botonosa o del Mediterráneo (*Rickettsia conorii*). Finalmente, en 1965, esta rickettsia del grupo de las fiebres manchadas es considerada una nueva especie y denominada *R. parkeri*

Estudios epidemiológicos del vector *Amblyomma triste*, realizados en las zonas donde se han producido los casos de rickettsiosis en humanos en Uruguay y Argentina, indican que la actividad de adultos de la garrapata, que es el estadio que

transmite la rickettsia a los humanos, se produce entre los meses de agosto a febrero con el pico de actividad en primavera. Esta actividad estacional de los adultos de *A. triste* coincide en general con la mayoría de los casos de rickettsiosis por fiebre manchada reportados en Uruguay y Argentina. (José M. Venzal, 2011)

1.2.3. Fiebre manchada por *Rickettsia massiliae*

La mayoría de los registros de *R. massiliae* corresponden a Europa y África, donde fue detectada infectando garrapatas del género *Rhipicephalus*. La transmisión transtadial y transovárica de esta rickettsia ha sido demostrada en *Rhipicephalus turanicus*, que es una garrapata filogenéticamente relacionada a *R. sanguineus*, por lo que de allí se infiere que las especies que forman este complejo pueden actuar como reservorios de *R. massiliae* en la naturaleza (Labruna, 2009).

1.3 Diagnóstico

El diagnóstico de la infección por rickettsias se basa empíricamente en el examen físico del paciente y datos epidemiológicos. Sin embargo, el diagnóstico clínico es difícil, debido a que los signos y síntomas iniciales generalmente son inespecíficos, lo que provoca un diagnóstico incorrecto. (Barba Evi José Roberto., 2009)

La detección e identificación de las rickettsias del grupo de las fiebres papulosas antes del inicio de la década de 1990, mayormente dependía de cultivos y técnicas de reconocimiento de epítomos, tales como pruebas de inmunofluorescencia, aglutinación y de serotipificación con anticuerpos monoclonales. Recientemente, nuevas técnicas han sido desarrolladas como herramientas de diagnóstico útiles, sensibles y rápidas. (Chun CW, 2008).

Las pruebas serológicas tienen un valor diagnóstico limitado. Anticuerpos contra *R. rickettsii* no son detectables hasta siete a 10 días después de la lesión inicial. Un

resultado negativo no excluye la posibilidad de infección y un resultado positivo no necesariamente confirma la presencia de infección. La prueba de Weil-Félix, el ensayo serológico más antiguo en uso, debido a su falta de sensibilidad y especificidad está cayendo en desuso. La prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos es considerada como el estándar de oro de las pruebas serológicas para rickettsias, la cual es altamente sensible, pero no permite distinguir entre infección con *R. rickettsii* de otras rickettsias que conforman el grupo de las fiebres manchadas. Reactividad cruzada de antígenos de rickettsias resulta en respuesta con anticuerpos, los cuales son típicamente agrupados como grupo específicos, pero no necesariamente especie específicos; por lo tanto, debido a esta actividad cruzada de los anticuerpos, un ensayo serológico que utilice un simple antígeno de rickettsia no es suficiente para determinar su especie.

Los ensayos inmunoenzimáticos (EIA) también han sido utilizados debido a su elevada sensibilidad y reproducibilidad. Nuevos métodos serológicos, potencialmente adaptables a laboratorios de rutina, han comenzado a desarrollarse para ciertas infecciones por rickettsias del grupo de las fiebres papulosas. También han sido desarrollados ensayos inmunoenzimáticos, los cuales presentan reacción cruzada entre miembros del mismo grupo de rickettsias. (Dantas TF., 2007).

Los anticuerpos fluorescentes indirectos (IFA) constituyen las pruebas de laboratorio más estandarizadas y más ampliamente utilizadas para el diagnóstico de FMMR. Un resultado positivo igual o mayor a 1:64 puede ser detectado dentro de los siete a 10 días de desarrolladas las lesiones; su índice de sensibilidad es de 94%. Se ha reportado que la aglutinación en látex posee sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos contra *R. rickettsii*. Adicionalmente, resultados falso-positivos han sido reportados en mujeres embarazadas, posiblemente debido a una baja avidéz de anticuerpos a títulos bajos, reacción cruzada con antígenos inducidos por el embarazo o aglutinación eritrocítica no específica. (Kostman JR., 1996).

Como ocurre en otras rickettsias, *R. rickettsii* retiene fucsina básica cuando se tiñe utilizando el método de Giménez o Romanowski. Tinciones inmunohistoquímicas de antígenos de rickettsias fijados con formalina, utilizando tejidos biopsiados embebidos en parafina, pueden ser empleados en estados agudos, particularmente en pacientes con rash. Este tipo de tinciones realizadas en biopsias de piel han reportado especificidad de 100% y sensibilidad de 70%. Este método se ha utilizado para el diagnóstico de enfermedades en necropsias de tejidos como hígado, bazo, pulmón, corazón, riñones y cerebro. (Dantas TF., 2007) , (Kostman JR., 1996).

El uso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico está limitado debido a su baja sensibilidad para detectar ADN en especímenes sanguíneos. El número de rickettsias circulantes en sangre es bajo, particularmente en ausencia de enfermedad avanzada o infección fulminante. Esta técnica es de mayor utilidad para la detección de *R. rickettsii* en biopsias de piel o en especímenes de tejidos de necropsia (Dantas TF., 2007).

Debido a que *R. rickettsii* está clasificada como un agente de bioseguridad nivel 3, los cultivos en el laboratorio de rutina no son utilizados para fines diagnósticos. Hallazgos de laboratorio como son: anemia, trombocitopenia, incrementos en los niveles de bilirrubina, aminotransferasas, creatinina e hiponatremia están limitados por ser inespecíficos. (Dantas TF., 2007).

1.4 Tratamiento

Las rickettsias son resistentes a cefalosporinas, aminoglucósidos y penicilinas; los antibióticos con sulfas no son eficaces y pueden exacerbar las fiebres manchadas. El tratamiento con tetraciclina o cloramfenicol se originó por la necesidad de las rickettsias de sintetizar proteínas OmpB, responsables de la virulencia de la bacteria y de la formación de su membrana celular a partir del sitio de unión Ku70, ligasa receptora para células huésped. (Mercado Uribe, 2010)

El tratamiento primario es con doxiciclina oral 4 mg / kg / día, en dos dosis: para niños con peso menor de 45 kg se recomiendan 2 mg / kg, dos veces por día. La duración del tratamiento es de 7 a 10 días, o más de tres días luego del cese de la fiebre.²² Aunque no se recomienda para niños menores de nueve años, el tratamiento una vez al día por periodos cortos de 6 a 10 días puede no tener efecto importante en el esmalte dental. Una opción para pacientes alérgicos a doxiciclina es cloramfenicol oral o intravenoso de 50 a 100 mg / kg / día, en tres dosis. (Fleta-Zaragozano, 2002), (Mercado Uribe, 2010)

Hace poco se efectuaron estudios abiertos en el grupo de las fiebres manchadas que compararon doxiciclina con azitromicina; no se observó superioridad de ningún antimicrobiano en eficacia ni en eventos adversos. La roxitromicina oral, 10 mg / kg / día, en dos dosis por 10 días para el tratamiento de tifo de los matorrales ha presentado buenos resultados, 48 mejores que doxicilina con rifampicina.⁴⁹ Para el grupo tifo, son eficaces azitromicina oral, 5 mg / kg, una vez al día,⁵⁰ o 7 días con claritromicina oral, 10 mg / kg / día. Los pacientes que iniciaron terapia durante los primeros 5 días de la enfermedad suelen tener mejor pronóstico, pero no debe descuidarse el estado hídrico y de coagulación. Los corticoides y quinolonas son tema de polémica. (Mercado Uribe, 2010).

Históricamente, las vacunas para *R. prowazekii* utilizaron antígenos vivos y rickettsias inactivadas, que en parte cumplían su función pero se acompañaban de reacciones tóxicas indeseables y dificultades en la estandarización. Se introducirá en plásmidos la secuenciación genómica de proteínas con potencial inmunogénico e inmunoprotector, basada en los genes del agente para la invasión (*invA*), división celular (*fts*), secreción de proteínas (*sec gen*) y de virulencia (*ompA* y *ompB*, *virB gen* familiar, *cap*, *tlyA* y *tlyC*) por medio de PCR del sistema GatewayTM y sus productos para producir una vacuna con 24 genes amplificados de *R. prowazekii*, de los cuales 15 irán a un vector de clonación en un intento por proteger a población vulnerable. (Fleta-Zaragozano, 2002).

1.5 Prevención y control

Según el CDC, disminuir la exposición a los ectoparásitos vectores, es la manera más eficaz de reducir el riesgo de la infección por rickettsias patógenas. A continuación, se presentan algunos métodos para disminuir la infestación de los vectores en personas que se mantienen permanentemente expuestas a ellos:

- Usar ropa de colores claros que permite ver los ectoparásitos que se posan sobre la misma.
- Meter las botas de los pantalones dentro de las medias para que los ectoparásitos no puedan entrar en el interior del pantalón y tener contacto con las piernas.
- Aplicar repelentes en la ropa que contengan permetrina además de repelentes en la piel que contengan DEET (N, N-dietil-m-toluamida). Hay que tener precaución con la aplicación de estos repelentes en los niños, debido a que se ha asociado con reacciones adversas.
- Llevar un monitoreo permanente y minucioso de su cuerpo luego de regresar de las áreas que están potencialmente infestadas de ectoparásitos. Si es posible utilizar un espejo de cuerpo entero para ver todas las partes del cuerpo y retirar todos los ectoparásitos que se encuentren.
- Examinar los niños por todo el cuerpo sobre todo en las áreas donde se mimetizan mejor los ectoparásitos como en la cabeza, la zona inguinal y las axilas. También es importante revisar los animales domésticos luego de haber regresado al peri-domicilio de las zonas probablemente infestadas por ectoparásitos (Quintero Vélez, 2012)
- .

Hay que tener en cuenta que, si la infestación es por garrapatas, estas se deben retirar del cuerpo de acuerdo con las siguientes especificaciones:

- Utilizar pinzas de punta fina y proteger los dedos con un papel desechable, una toalla de papel o guantes de látex. Se debe evitar a toda costa eliminar las garrapatas con las manos desnudas.
- Agarrar la garrapata tan cerca de la superficie de la piel como sea posible y tirar hacia arriba con presión constante y uniforme. No doblar o arrancar la garrapata, esto puede hacer que su aparato bucal permanezca dentro de la piel (si esto sucede, se deben retirar las piezas bucales remanentes con pinzas).
- Después de retirar la garrapata, desinfectar bien el sitio de la mordedura y lavarse las manos con agua y jabón (Quintero Vélez, 2012).

2. GARRAPATAS

2.1 Generalidades de las garrapatas

Las garrapatas son ácaros cosmopolitas, ectoparásitos temporales obligados de reptiles, aves o mamíferos. Por su gran tamaño resultan observables a simple vista. En muchos casos son vectores de agentes que pueden causar enfermedades en los hospedadores, además de tener la capacidad de producir daños provocando dermatosis debido a las picaduras, intoxicación causada por su saliva, pérdida de sangre y son capaces de producir toxinas que producen parálisis en el hospedador. (Bowman, 2011).

Los arácnidos son artrópodos generalmente terrestres, algunas formas secundariamente acuáticas, normalmente carnívoros y depredadores, cefalotórax carente por lo general de segmentos, abdomen segmentado o insegmentado; carecen de ojos compuestos; respiración por filotráqueas, por tráqueas o mediante ambos sistemas, fecundación interna y desarrollo directo o indirecto. La Clase Arácnida se divide en tres principales Ordenes; Escorpiones, Araneae y Acarina (Quiroz, 2000). aunque la clase arachnida incluye las arañas, escorpiones y otras especies de interés ocasional para los veterinarios, el siguiente estudio queda restringido a la clasificación de las garrapatas y en específico a las garrapatas de la familia Axiidea.

Son parásitos hematófagos y la mayor importancia de estas está relacionada con el gran número y variedad de enfermedades que transmiten a los animales domésticos. Otros daños asociados a las garrapatas son toxicosis, lesiones cutáneas en el lugar de la picadura y pérdida de sangre (Alvarez V, 2003). Sin embargo, los Ixódidos son de mayor relevancia para la transmisión de enfermedades producidas por protozoos, bacterias, virus y rickettsias (Urquhart, 2001) .

2.2 Clasificación taxonómica de las garrapatas.

Las garrapatas pertenecen al orden Ixodidae, que consta de tres familias: Ixodidae (para algunos autores en realidad esta familia sería de: Ixodidae y Amblyommidae), Argasidae y Nuttalliellidae. (Cordero del Campillo, 2000) .

El grupo de estos artrópodos incluye cerca de 825 especies divididas en tres familias: la Argasidae (garrapatas blandas), la Ixodidae (garrapatas duras) y la Nuttalliellidae, que vive en África y comprende una sola especie la Nuttalliella namaque. La familia Ixodidae contiene alrededor de 650 especies, con cuatro subfamilias y trece géneros, la familia Argasidae comprende cinco géneros y alrededor de 170 especies y la Nuttalliellidae tan solo una especie, relativamente incipiente (Guglielmone A A, 2005).

Tabla 2. Subfamilias y géneros de Garrapatas. (Guglielmone A A, 2005)

Familia	Subfamilia	Genero	N° de especies
Ixodidae	Ixodinae	Ixodes	217
	Rhipicephalinae	Dermacentor	30
		Rhipicephalus	75
	Hyalommae	Hyalomma	30
	Haemaphysalinae	Haemophysalis	155
	Amblyommae	Amblyomma	102
Argasidae	Ornithodorinae	<i>Ornithodoros</i>	100
	Antricolinae	<i>Antricola</i>	8
	Otobinae	<i>Otobius</i>	2
	Argasinae	<i>Argas</i>	56
Nuttalliellidae	Nuttalliellinae	Nuttalliella	1 (namaque)

2.3 Distribución

La distribución general de los artrópodos está fuertemente determinada por la geografía y el clima. En muchas ocasiones han sido asociadas a las regiones tropicales y subtropicales, se encuentran distribuidas en todo el mundo, debido a que muestran una gran adaptabilidad y resistencia a las diferencias climáticas, hay algunas especies que poseen la capacidad de resistir bajas temperaturas por lo que se encuentran en la Antártida y en países como Islandia o Rusia. Están ausentes en los grandes desiertos terrestres. (Alvarez V, 2003).

El género *Amblyomma* es el más diseminado en todas las regiones incluyendo 102 especies a nivel mundial, la especie más importante de este género es *Amblyomma mixtum* antes conocida como *cajennense*, por parasitar a animales domésticos y silvestres; en América Central es el principal vector de rickettsias del grupo de la fiebre manchada, se encuentra distribuida en América, desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina. (Alvarez V, 2003) y se encuentra en EE. UU., México, Sudamérica, Golfo de México. El género *Boophilus* se encuentra en México, Australia, Centro y oeste de África, El Sudan, El Mediterráneo, Sudamérica, en el oriente y poniente de la India. *Dermacentor* se distribuye por EE. UU., Canadá, oeste de la India Centroamérica y Suramérica. El género *Otobius*, se encuentra distribuido en EE. UU., México, Centroamérica; Sudamérica India y África.

2.4 Epidemiología

Las garrapatas son ectoparásitos principalmente de animales silvestres y la mayoría de los vertebrados terrestres son objeto de su ataque. Sólo el 10% de las especies se consideran con importancia médico-veterinaria y están involucradas en la epidemiología de las enfermedades entre los seres humanos y animales. (Faccioli, 2011)

Las garrapatas, sus anfitriones y los patógenos que transmiten no pueden ser considerados como entidades individuales que son independientes uno de otro. Más bien, representan un complejo sistema de interacciones y están conectados íntimamente. (Faccioli, 2011).

Los brotes de infección por patógenos pueden ocurrir en lugares donde habitan animales silvestres. Cambios ecológicos como la tala de bosques, las divisiones de la tierra en sitios de bosques y la introducción de nuevas especies animales, puede resultar en un mayor contacto entre los huéspedes silvestres de las garrapatas, los seres humanos y animales domésticos. La propagación de enfermedades transmitidas por garrapatas y la aparición de nuevas enfermedades son ejemplos de combinaciones ecológicas y de comportamiento humano, que han penetrado y ocupado cada vez más áreas silvestres. (Dumitrache MO, 2012)

2.5 Morfología general de las garrapatas

Las garrapatas se caracterizan por ser ácaros de tamaño pequeño a mediano, con aplanamiento dorso ventral. Los miembros de la familia Ixodidae, o garrapatas duras, poseen un escudo que cubre toda la superficie dorsal del macho, pero solo parte de la zona dorsal en la hembra. El tamaño del escudo permanece constante mientras la hembra se alimenta de sangre y, en consecuencia, cubre la proporción progresivamente menor del dorso. El ojo de una garrapata cuando existe una simple área redondeada y brillante en el margen del escudo, aproximadamente a la altura de la segunda coxa. El escudo y el borde posterior del cuerpo pueden contener una serie de pliegues a lo largo del margen que se denominan festones. Además, el escudo puede mostrar patrones coloreados en su superficie, o no tener coloración alguna. (Bowman, 2011).

Las garrapatas tienen un cuerpo redondeado, sin segmentación, que recibe el nombre de idiosoma. La cabeza de la garrapata o capítulo presenta dos órganos lacerantes o de corte, denominados quelíceros; un órgano de succión penetrante,

semejante a un ancla, el epistoma y dos apéndices accesorios semejantes a las patas, o pedipalpos, que actúan como elementos sensitivos o de soporte cuando la garrapata se engancha al cuerpo del hospedador. El cuerpo de la garrapata puede estar totalmente cubierto por una placa dura quitinosa (el escudo). El aparato bucal puede estar escondido debajo del cuerpo del ácaro o puede extenderse desde su extremo anterior. Las larvas tienen 6 patas, las ninfas y adultas 8-9.

Los adultos tienen un claro dimorfismo sexual, evidente en la presencia de un escudo dorsal quitinizado, duro, que cubre prácticamente por completo la superficie dorsal de los machos, mientras que en las hembras este escudo dorsal se restringe a la mitad anterior. El escudo limita la expansión del cuerpo en los machos debido a su rigidez. Dado que las hembras (y los estadios inmaduros) deben ingerir una gran cantidad de sangre durante su alimentación, pueden dilatar su volumen corporal gracias a la síntesis de nueva cutícula en las zonas del cuerpo que no están cubiertas por el escudo. Las hembras presentan unas áreas porosas en el capítulo, y los machos de algunos géneros tienen escudos ventrales quitinizados, cerca del ano. Algunos de los estadios inmaduros y los adultos de las garrapatas presentan las llamadas placas espiraculares, en las que se origina el sistema de traqueolas respiratorias. Estas placas aparecen a los lados del cuerpo. Todas las garrapatas, con excepción de las larvas, poseen cuatro pares de patas, con seis segmentos (uno de ellos anclado a la cara ventral del idiosoma). (Bowman, 2011)

Son aplanadas dorsoventralmente y no segmentadas, lo que las caracteriza de otros arácnidos que a diferencia de las garrapatas poseen un cuerpo dividido en dos partes, el cefalotórax y el abdomen. (Álvarez, 2007).

Las hembras en la base del capítulo por la cara dorsal poseen aéreas porosas, que contienen las aberturas de unas glándulas cuya secreción interviene en la impermeabilización de los huevos.

En las larvas, ninfas y hembras, la parte anterior de la cara dorsal, el idiosoma está cubierto por el escudo; este en los machos, cubre toda la cara dorsal, lo que permite

reconocerlo a simple vista. Los ojos se sitúan a cada lado de los márgenes del escudo a la altura aproximada del segundo par de patas. En los adultos, por la cara ventral, se observan dos aberturas; la anterior es la genital y la posterior es la anal.

En los Postriatas (Ixodes) el ano está rodeado anteriormente por el denominado surco anal, que tiene forma de U invertida. En los Metastrata (resto de los géneros), el surco anal, en el caso de existir, tiene forma de Y; el ano se sitúa entre sus ramas. (Cordero del Campillo, 2000)

2.6 Ciclo biológico.

Las garrapatas tienen cuatro estados evolutivos en su ciclo vital, es decir: el huevo, la larva hexápoda o pinolillo, la ninfa octópoda y los adultos. La transformación entre un estado y otro requiere de una o más mudas. Los cambios evolutivos no están restringidos necesariamente a una estación del año, hay una adaptación de las diferentes especies a la temperatura y humedad, habilidad para llegar al huésped que influyen en la duración de cada una de las etapas. El número de generaciones puede variar de tres o cuatro en las especies de un solo huésped como *Boophilus microplus* y *Anocentor nitens*; una por año como en el caso de *Otobius* y otras *Argasidae* y aun una generación cada dos o tres años como en algunas especies de tres huéspedes como *Dermacentor andersoni*. (Shaw, 1970)

Todas pasan por fase de huevo, ninfa, larva y adulto de uno u otro sexo. Las larvas y ninfas necesariamente han de realizar una toma de sangre para pasar a la fase evolutiva siguiente. Los machos mueren después de fecundar a las hembras y estas tras realizar la puesta de huevos. Cada ejemplar de garrapata solo realiza tres tomas de sangre a lo largo de su vida (los de las garrapatas blandas, mucho más).

El tiempo que tardan en alimentarse los ejemplares es de unos 3-5 días en el caso de las formas juveniles y de 7-12 en el caso de los adultos, aunque estos tiempos pueden sufrir variaciones importantes según el grado de sensibilización de los

animales. La duración del ciclo completo es generalmente de un año (puede variar de pocos meses a 3 años). Para la entrada en contacto con los hospedadores, pasan a situarse en el extremo de los tallos de las plantas. (Guía neotropical)

Las garrapatas son artrópodos que se movilizan en los campos en donde esperan a que un hospedador pase cerca de ellas, en muchas ocasiones los diferentes estadios de las garrapatas suelen encontrarse en el hospedador, en el suelo, en arbustos y en los lugares donde los animales descansan, como madrigueras o cuevas, esperan sigilosamente a que el hospedador pase cerca y poderlo abordar, ellas suben cuidadosamente por las extremidades de los animales y en casos accidentales en humanos, buscando las zonas cubiertas de vellosidades como cabeza, axilas y en animales en la parte perianal, cuello, patas y orejas. En la mayoría de los casos el hospedador no nota la presencia de la garrapata, debido a que esta produce una picadura indolora, ya fijada en la piel delgada ingiere sangre para subsistir, la búsqueda de una fuente de alimento puede durar días hasta meses dependiendo la especie de garrapata. (Manzano Román ., 2012.)

Durante su estadio en la víctima ancla el hipostoma para poder fijarse a la piel y poder tener una vía directa a la sangre, cuando la hembra se encuentra repleta de sangre y sexualmente madura baja de su hospedador a colocar en una sola vez miles de huevos en forma de paquetes en los bosques y muriendo al poco tiempo, la nueva generación guardará a la espera de una fuente de sangre para cumplir su ciclo. El ciclo de vida de las garrapatas está ligado a la época del año ya que en los meses más calurosos su población se ve aumenta debido a que se prestan las condiciones ambientales y de hospedador para su desarrollo. (Manzano Román ., 2012.)

Los huevos los ponen en una única nidada de varios miles. Las larvas, ninfas y adultos de los *Ixodidae* se alimentan una sola vez en cada estadio, y requieren habitualmente varios días para alimentarse por completo. Normalmente los *Ixodidae*

viven en el ambiente y se pegan al hospedador una vez esta pasa. (Barros-Battesti DM. Onofrio VC, 2009) .

Las especies que completan ambas mudas sin cambiar de hospedador se denomina garrapatas de un solo hospedador, las especies cuyas ninfas alimentadas abandonan al hospedador para mudar se llaman garrapatas de dos hospedadores; y aquellas cuyas larvas y ninfas abandonan el hospedador para alimentarse, se llaman garrapatas de tres hospedadores. (Wall R, 2008.)

El desarrollo de las garrapatas ocurre en uno, dos o tres huéspedes por lo que se denominan garrapatas de 1, 2 o 3 huéspedes. (Shaw, 1970)

2.6.1 Garrapatas de un solo huésped

Estas dependen de un solo huésped para el desarrollo de larva, ninfa y adulto sin dejar al huésped desde su fijación como larva hasta que se desprende en forma de adulta repleta para posteriormente ovopositar; como ejemplo *Rhipicephalus microplus*. (Shaw, 1970).

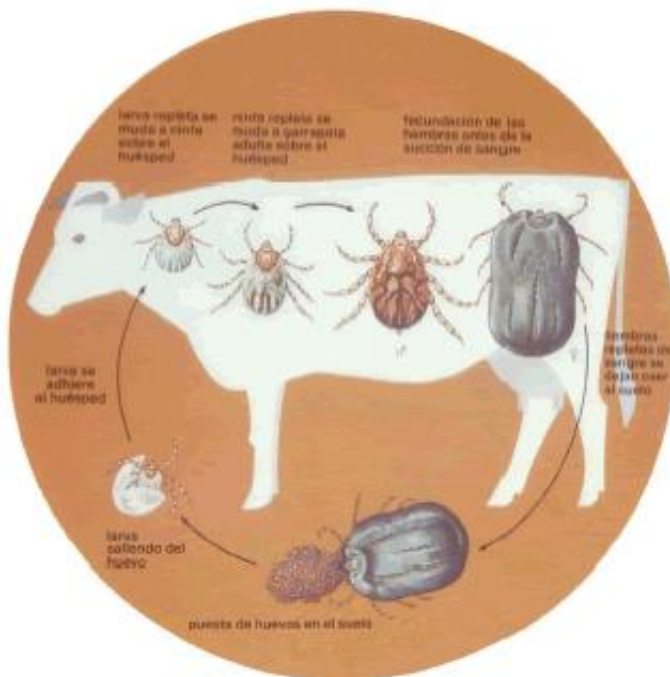


Figura: 2 *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

2.6.2 Garrapatas de dos huéspedes

Las garrapatas de 2 huéspedes atacan el huésped en estado de larva, se alimentan, mudan y se transforman en ninfa; esta se alimenta hasta estar repleta, se deja caer del huésped, muda en el suelo y el adulto sube a un segundo huésped en donde se alimenta. Como ejemplo está la garrapata *Rhipicephalus evertsi* (de África). (Shaw, 1970).

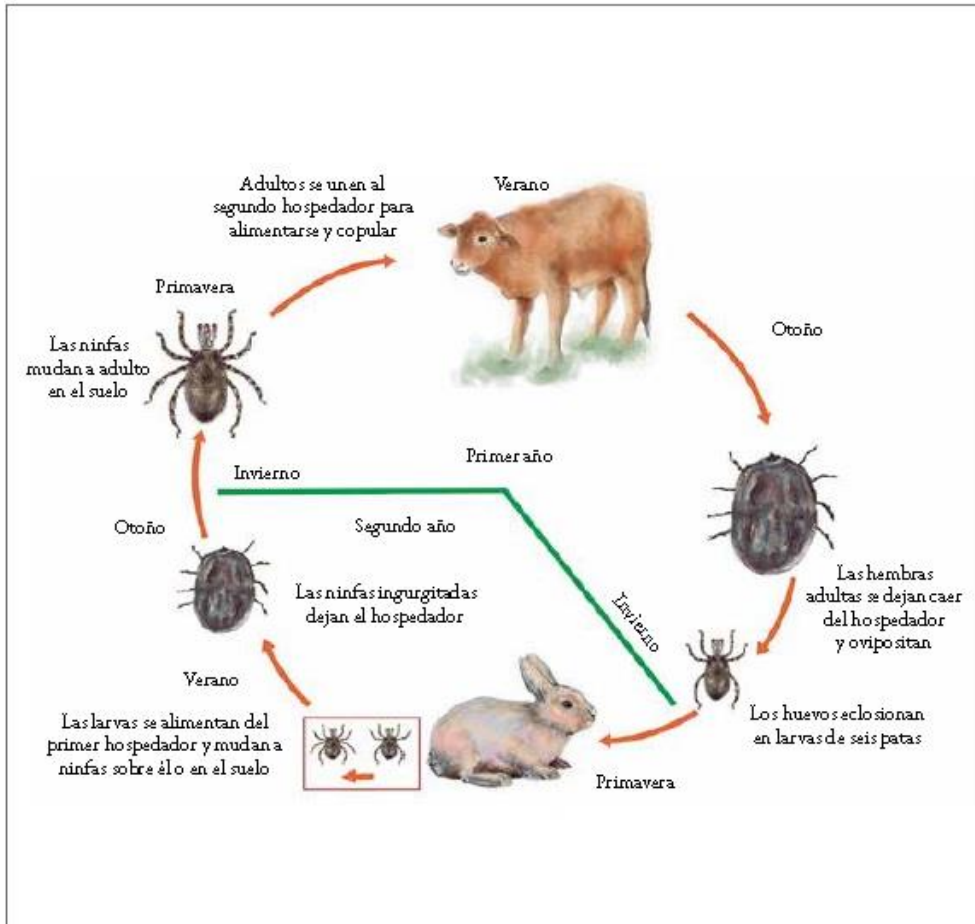


Figura: 3. *Rhipicephalus evertsi*.

2.6.3 Garrapatas de tres huéspedes

En este caso, la larva se alimenta en un primer huésped, cae al suelo y muda al estado de ninfa, ataca a un segundo huésped, se alimenta hasta estar repleta, se

deja caer al suelo y muda; finalmente el adulto se sube a un tercer huésped en donde se alimenta nuevamente; ejemplo *Rhipicephalus sanguineus*. (Shaw, 1970)

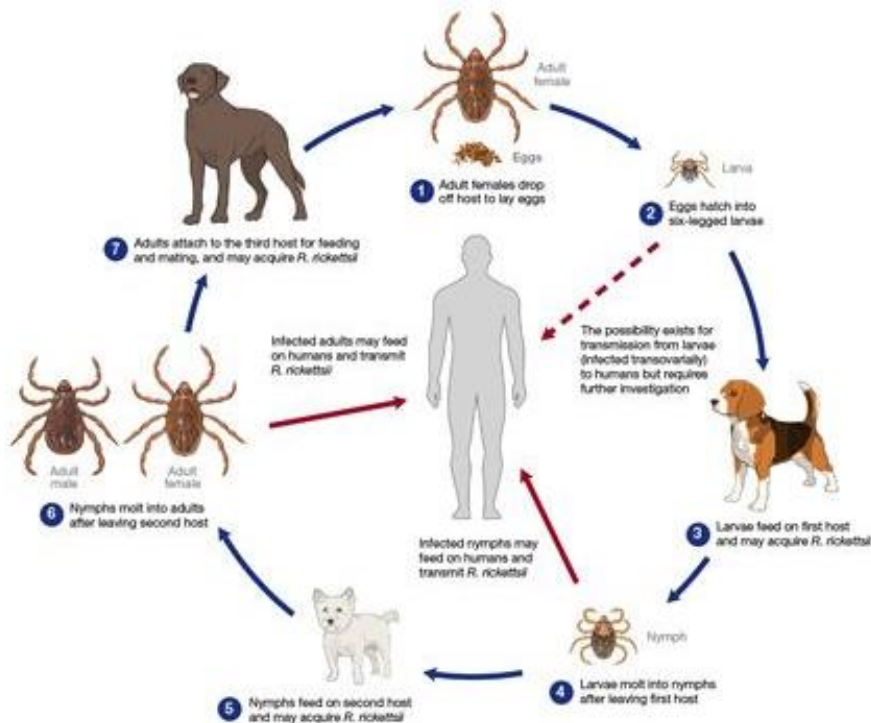


Figura: 4 *Rhipicephalus sanguineus*.

Esta designación se aplica a las garrapatas Ixodidae y no a las Argasidae; estas garrapatas pueden ser llamadas poli huéspedes. Por ejemplo *Ornithodoros coriaceus* que puede tener más de siete estados ninfa en cada uno de los cuales se alimenta en huésped diferente. Las hembras de *Argas persicus* puede alimentarse por periodos más de siete veces depositando o realizando sus posturas entre una y otra comida. En general el estado larvario de estas garrapatas ataca al huésped y se alimenta por algunos días, pero el estado adulto y las ninfas normalmente se alimentan de treinta minutos a dos horas, abandonan al huésped y regresan a áreas protegidas. (Shaw, 1970).

2.7 Cópula

La cópula puede realizarse sobre el huésped o fuera de este, durante o después de la repleción alimenticia; por ejemplo, en Argasidae la cópula se realiza después de que los adultos han dejado al huésped en tanto que en Ixodidae ocurre sobre el huésped, después de la cual la hembra parece engordar más rápidamente. (Shaw, 1970)

2.8 Ovoposición

Después de la monta y la repleción alimenticia, las hembras se dejan caer al suelo y buscan un sitio protegido para ovopositar. En condiciones favorables la postura tarda dos días, pero en climas fríos se prolonga por semanas o meses.²

Los huevos al ser puestos son cubiertos por una sustancia que los protege de la hidratación y los mantiene unidos formando racimos. Las hembras de Ixodidae ponen varios miles de huevos en una postura después de la cual mueren. Boophilus microplus pone aproximadamente 4,500 huevos. Las hembras de Argasidae ponen varias veces grupos de 150 a 250 huevos. (Shaw, 1970)

2.8 Larva

El periodo de incubación se determina en gran parte por la temperatura y varía de dos semanas a siete meses. Al nacer las larvas, generalmente permanecen cerca del lugar donde eclosionan, luego suben al pasto y pequeños arbustos en espera de un huésped susceptible, las larvas son estimuladas fuertemente por el olor a bióxido de carbono, pero las vibraciones, corrientes de aire, luz intermitente, calor y humedad son factores que alientan la presencia de un huésped.

Dependiendo de la especie de garrapata, las larvas sobreviven por meses y varios años. Una vez sobre el huésped, algunas se fijan rápidamente en cualquier parte del cuerpo y empiezan a alimentarse con sangre, otras recorren el cuerpo para

alojarse en determinados sitios como por ejemplo las orejas para *Otobius megnini* y *Anocentor nitens*, otras prefieren parte del cuerpo con piel delgada.

Las larvas se alimentan y engordan rápidamente, la mayoría de las especies de Ixodidae caen al suelo para mudar, dependiendo de la temperatura y la humedad, la muda para pasar a estado ninfa va de cinco días a varias semanas. Las larvas de un solo huésped después de alimentarse permanecen sobre el huésped, después de un corto período de letargo mudan. (Shaw, 1970)

2.9 Ninfa

El comportamiento de las ninfas es similar al de las larvas, excepto en que en la mayor parte de las especies las ninfas viven más. En algunas especies mudan sobre el huésped después de un corto periodo de letargo, otras se caen del huésped para mudar. Todas las garrapatas Ixodidae tienen solamente un estado ninfa, mientras que en Argasidae tienen varios estados ninfal que va de dos a siete. (Shaw, 1970)

2.8 Adulto

En el estado adulto en las especies de un solo huésped la ninfa deja la muda y cambia de sitio para picar otra parte de la piel. En los adultos de las especies que abandonan al huésped en estado de ninfa la muda es capaz de sobrevivir más que las larvas o las ninfas. (Shaw, 1970)

La cópula de las garrapatas duras o Ixodidae generalmente sucede sobre el huésped, después de la cual hay repleción alimenticia muy activa. Las hembras repletas pueden caer del huésped unos cuantos días o permanecer 30 días o más. Con frecuencia los machos permanecen durante periodos más prolongados. En cambio, las garrapatas blandas o *Argasidae* copulan siempre fuera del huésped. (Shaw, 1970).

2.9 Patogenia

Las garrapatas son parásitos obligatorios ya que requieren para su desarrollo de fluidos y sangre de sus huéspedes. El daño que causan las garrapatas se puede analizar desde dos puntos de vista, directo o sea la suma de la acción traumática al perforar la piel con sus partes bucales y la acción expoliatriz al sustraer líquidos tisulares y sangre, situación que varía grandemente de acuerdo con las diferentes especies que la provoquen. (Shaw, 1970)

Tras subir al hospedador y localizar un lugar adecuado para fijarse, las garrapatas perforan la piel con el extremo distal, dentado, de sus quelíceros a la vez que introducen el hipostoma en la misma, sirviendo así de primer elemento de anclaje. Durante este proceso los pedipalpos, que son órganos sensoriales, se retiran hacia los lados y quedan fuera de la piel. Es decir, los pedipalpos no participan en la picadura. En el caso de los ixódidos, éstos segregan enseguida un cono de cemento alrededor de las piezas bucales obteniendo así el anclaje definitivo. Este cemento es un fluido rico en proteínas, lipoproteínas, lípidos y carbohidratos que puede provocar dermatosis con manifestaciones cutáneas diversas. (Santos-Silva MM., 2011)

Las mayorías de las garrapatas tienen predilección por ciertos sitios del huésped, algunas prefieren las porciones con piel delgada perineal, crural interna, otras la espalda. La garrapata *Anocentor nitens* prefiere las orejas, pero se adhiere a otras partes del cuerpo. La garrapata *Rhipicephalus evertsi* cuando pasa por el estado de larva y ninfa se encuentra en la parte profunda de las orejas, en la base de la cola o entre las piernas en el estado adulto. (Shaw, 1970)

Durante la perforación de la piel, los quelíceros y el hipostoma desgarran los vasos capilares provocando una hemorragia. Al mismo tiempo, las garrapatas inoculan la saliva, cuyas moléculas líticas cooperan con la respuesta inflamatoria e inmunitaria del hospedador para formar un pequeño absceso o cavidad de alimentación en el extremo de los apéndices bucales, desde el cual succionan la sangre y los exudados tisulares que fluyen hacia dicha cavidad. Las garrapatas inoculan la saliva y

succionan la sangre a través del mismo canal, de manera que realizan ambas funciones alternativamente durante todo el tiempo que tardan en completar la toma de sangre.

En el caso de los ixódidos, la toma de sangre se realiza en dos fases, una de alimentación lenta, de unos 7 días, en la que incrementan su peso en ayunas unas diez veces y otra, de alimentación rápida, en la que en las últimas 12-24 horas de permanencia sobre el hospedador multiplican ese peso de nuevo por 50. El aumento de peso es por tanto de unas 500 veces su peso en ayunas. En el caso de los argásidos hay una sola fase de alimentación y sólo ingieren una cantidad de sangre equivalente a unas 2-4 veces su peso en ayunas.

Entre las moléculas salivales que las garrapatas inoculan al hospedador, las hay con propiedades analgésicas y otras que previenen la coagulación, la inflamación y la activación de los mecanismos defensivos del sistema inmunitario del hospedador, así como toxinas que pueden provocar parálisis y toxicosis en los animales. (Muñoz LE., 2001)

Entre las acciones patogénicas provocadas por las garrapatas se encuentran las siguientes:

2.9.1 Efectos locales:

2.9.1.1 Acción Mecánica

Las garrapatas se fijan al huésped y cortan la piel con el par de quelíceros e insertan el hipostoma en la herida de esta forma ocasiona daños directos en la piel de los animales o personas a los que parasita provocando diferentes grados de afecciones en diferentes regiones anatómicas. (Shaw, 1970)

2.9.1.2 Acción Expoliatriz

El tiempo durante el cual se alimentan de sangre varía según la especie y también con el estado evolutivo; las hembras de las garrapatas duras se alimentan hasta el último día en que están fijadas, al quedar repletas de sangre. La mayoría de las

hembras de las garrapatas Ixodidae se alimentan en el huésped durante 7 a 12 días y en ciertas condiciones más, pero nunca menos de 5 días.

Las larvas y las ninfas de estas garrapatas se alimentan por periodos más cortos que las hembras adultas. Los machos de las garrapatas duras se alimentan pero no llegan a la repleción de las hembras, al nutrirse en forma intermitente, cambiando de lugar y por tanto, causando más daño a la piel con sus picaduras; además permanecen sobre el huésped por semanas y aun por meses, como la garrapata *Amblyomma variegatum*. Se ha calculado que cada hembra puede expoliar de 2-4 gr de sangre, lo que explica las anemias agudas que con frecuencia se observan en animales con infestaciones masivas. (Shaw, 1970)

La acción expoliatriz de las ninfas y los adultos de las garrapatas Argasidae generalmente es por periodos de 30 minutos a 2 horas, mientras que las larvas se alimentan por periodos que varían de 5 a 30 días. (Shaw, 1970)

2.9.1.3 Acción Tóxica y Antigénica

Además de la acción expoliatriz las garrapatas ejercen acción tóxica y antigénica, las secreciones salivales inyectadas en la herida aparentemente ayudan a penetrar en la piel del huésped y contribuyen a prevenir la coagulación de la sangre, facilitando la ingestión de ésta. (Shaw, 1970)

Algunas garrapatas al picar inoculan sustancias semejantes a neurotoxinas, y producen una parálisis ascendente que causa incoordinación y colapso entre los 4 y los 7 días de estarse alimentando la garrapata, los síntomas desaparecen o aminoran al retirar a las garrapatas; si las garrapatas no son retiradas el animal llega a morir. Algunas de las garrapatas que intervienen en este problema son *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor variabilis*, *Amblyomma americanum* y *Amblyomma maculatum*, una sola garrapata es capaz de producir parálisis en humanos, perros y borregos; es necesario un mayor número para producir parálisis en el ganado. (Shaw, 1970)

2.9.1.4 Acción Traumática e irritativa

Las secreciones salivales de algunas garrapatas son irritantes como *Ornithodoros coriaceus* que produce un fuerte dolor en el lugar de la picadura produciendo dolor y reacción inflamatoria. La picadura de *Amblyomma* en el hombre cuando las piezas bucales quedan en la piel al hacer el desprendimiento de la garrapata, produce intenso prurito e inflamación. (Shaw, 1970)

2.9.2 Efectos sistémicos:

2.9.2.1 Acción inoculadora o Vector de enfermedades

En muchos casos son vectores de agentes que pueden causar enfermedades en los hospedadores. Como ejemplo: La Piroplasmosis o Babesiosis bovina es transmitida por *Boophilus annulatus* y *Boophilus microplus* en América. La *Babesia canis* es transmitida por *Rhipicephalus sanguineus*. La Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas causada por una *Rickettsia*, es transmitida por *Dermacentor variabilis*, *Amblyomma americanum*, *Amblyomma cajennense*, etc. Louping ill en ovinos es transmitida por la garrapata *Ixode ricinus*. (Guglielmone e. a., 2003.) (Shaw, 1970)

A través de sus hábitos alimenticios, las garrapatas son importantes como vectores de enfermedades en los animales, transmitiendo una gran variedad de virus patógenos, bacterias y protozoo. Además, muchas de las enfermedades principales transmitidas por garrapatas, como la enfermedad de Lyme Borreliosis, fiebres recurrentes o tifus exantemático de la Montaña Rocky, son patógenos para los humanos. Los animales descabellados y domésticos son en particular importantes como depósitos de los organismos causando estas enfermedades a través de un ciclo de contacto humano/animal/garrapata.

Los animales también son afectados por un gran número de enfermedades transmitidas por garrapatas, por ejemplo: la Fiebre Africana del Cerdo causada por un virus ADN no clasificado, Ehrlichiosis de las ovejas y ganado bovino, la fiebre Q

rickettsiosis que afecta a cabras, ovejas y ganado bovino, Theileria, Tularemia o fiebre en los conejos, babesiosis y anaplasmosis bovina, entre otras.

2.9.2.2 La parálisis por picadura de garrapata

La presencia de una neurotoxina en la saliva de la garrapata hembra puede causar una enfermedad conocida como la parálisis de la garrapata. La toxina desestabiliza el nervio motor sináptico en la médula espinal y bloquea el enlace neuromuscular, impidiendo la liberación de acetilcolina y causándole daño a los sitios del receptor. Acerca de 40 especies pueden causar esta parálisis, cada uno del cual puede poseer una toxina única. La parálisis de la garrapata es causada primordialmente por *Dermacentor Andersoni* en la occidental América del Norte, *Dermacentor Variabilis* en América del Norte, *Ixodes Holocyclus* en Australia e *Ixodes Ribicundus* y *Rhipicephalus Evertsi* en África del Sur. Los primeros síntomas comienzan aproximadamente 5 días después del ataque y alimentación de la hembra. Los síntomas incluyen disfunción neurotóxica periférica, efectos de dificultad respiratoria, cardiovascular, vómito y cambios en la temperatura del cuerpo.

2.10 Diagnóstico

El diagnóstico de una infestación de garrapatas en el ganado es relativamente sencillo si la cantidad de parásitos es elevada. Ahora bien, si se desea un diagnóstico cualitativo es necesario recolectar las garrapatas y realizar su identificación morfológica. Cuando las garrapatas se encuentran en números reducidos, es necesario realizar una cuidadosa inspección y exploración cutánea para encontrar alguno o algunos especímenes, esto es muy importante sobre todo en las estaciones cuarentenarias o de inspección oficial cuando hay un control de movimientos de ganado entre países. (Shaw, 1970)

La determinación del número de garrapatas sobre el animal requiere de un cuidadoso examen de todas las partes del animal. Algunas de las cuales se encuentran en lugares específicos del huésped como es en la oreja, partes de la piel, entre la parte interna de las patas, en la base de la cola o en la espalda, los párpados y en la lengua. En la búsqueda de las garrapatas se usan ojos y dedos, como lo hace un inspector con movimientos cuidadosos de los dedos recorre la superficie del animal. (Shaw, 1970)

Las hembras de las garrapatas por lo general son más grandes y por tanto se observan con mejor facilidad. Una cuidadosa exploración del área cerca de la hembra revela la presencia de machos. La recolección de las garrapatas debe ser cuidadosa a fin de evitar romper el capítulo, sobre todo en las que tienen partes bucales largas como *Amblyomma*, mientras que en *Boophilus* es más fácil. (Shaw, 1970)

El diagnóstico puede realizarse algunas veces mediante la recolección de garrapatas de todo un lado del animal para obtener datos cuantitativos de la población, diagnóstico que es de gran utilidad en estudios epidemiológicos y de control. Otras veces la recolección de garrapatas se realiza en el campo, para lo cual se utilizan cuadros de franelas que se arrastran sobre el pasto o los arbustos en estudio. Una vez colectadas las garrapatas si se desea conservarlas por largo tiempo, se colocan en frascos o tubos de ensayo con alcohol al 70%. Las garrapatas colectadas de diferentes especies nunca se deben mezclar, aunque sea la misma finca o rancho. Es conveniente agregar alguna información, por ejemplo, el número de garrapatas colectadas, la región anatómica, número de animales examinados, raza, edad, sexo, localización geográfica. (Shaw, 1970)

2.11 Control

Se ha estimado con el 80% de la población de bovinos del mundo sufre de los efectos de las garrapatas, el problema adquiere un carácter en las zonas con clima

tropical y subtropical. Prácticamente todas las especies domésticas sufren de los efectos directos e indirectos de las garrapatas, sin embargo en los bovinos el efecto es el mayor. (Shaw, 1970)

Las garrapatas se controlan de varias maneras; por medio de parásitos y depredadores, modificando el medio, utilizando medios físicos y químicos. Debido a la diferencia de hábitos entre las diferentes especies de garrapatas, en un programa de control debe de precisarse las especies que se desean controlar ya que un plan que es efectivo contra una especie de un solo huésped no necesariamente funciona contra otra de dos o tres huéspedes.

Los parásitos de las garrapatas se han observado en varias partes del mundo, principalmente himenópteros del género Encyrtides familia Encyrtidae y se ha experimentado con ella para el control de las garrapatas con resultado poco halagadores para el control biológico.

Los depredadores de las garrapatas en condiciones naturales tienen un papel en la regulación de la población. Los bovinos destruyen garrapatas por aplastamiento al rascarse contra diferentes objetos. Los mamíferos pequeños, como roedores, al rascarse desprenden algunos especímenes. Algunas aves actúan como depredadores como la garza garrapatera que desde África se ha extendido a otras partes del mundo; algunos roedores como ratas y ratones ingieren sobre todo garrapatas adultas repletas de sangre cuando caen al suelo. Algunas hormigas atacan a las garrapatas repletas de sangre pero no a las larvas ni a los huevos.²

El control de las garrapatas mediante la modificación del medio incluye: por una parte modificaciones del microhábitat y por otra la retirada de los huéspedes, dependiendo de la especie y la especificidad de la garrapata se puede realizar un control con el cambio de métodos del cultivo, con el tiempo de rotación de los potreros, con el estabulamiento del ganado y recolección del forraje. Sin embargo todas estas medidas deben de ser completadas con otros sistemas. Por ejemplo en el caso de *Boophilus microplus*, los potreros deben permanecer durante un periodo mínimo de 8 a 9 meses, dada la longevidad de la larva de esta garrapata.

Algunos tipos de pastos ayudan al control, como es el caso de zacate gordura, que debido a las vellosidades de sus hojas las larvas pierden su orientación y permanecen más tiempo bajo los rayos directos del sol cuyo efecto es mortal. (Shaw, 1970)

2.11.1 Medios físicos y químicos

Las modificaciones del medio que cambien las condiciones de temperatura y humedad para llegar hacer desfavorables para las garrapatas. Existen dos formas de destrucción directa de garrapatas en el suelo: una por medio de fuegos y otra por medio ixodicidas químicos.

En muchas regiones del mundo se utiliza la quema de pasturas al final de la estación de sequías, en donde coincide con una abundancia de estados evolutivos de las garrapatas en los pastos, disminuyendo considerablemente la población de las garrapatas, aunque no debe ser el único medio de control utilizado si no que es necesario conjugar este con otros medios de lucha dependiendo el tipo de garrapatas; por ejemplo si se trata de *Boophilus*, generalmente será suficiente el tratamiento del ganado que alberga diferentes estados de esta garrapata, pero si se trata de *Amblyomma* hay que considerar a la población de ratones como huéspedes de larvas y ninfas, además de los bovinos y otros vertebrados.

La aplicación de ixodicidas en establos, caballerizas, gallineros y otros locales, es una práctica común en muchas regiones sin embargo el uso de ixodicidas en el pasto es poco usual. Aunque en algunos países se ha utilizado el DDT, Dieldrin y el heptaclor obteniendo buenos resultados en bosques para el control de *Ixodes*.

2.11.2 Tratamiento del huésped con baños

El control de las garrapatas por medio de baños por sumersión es uno de los métodos más eficaces y más ampliamente utilizados, el cual consiste en hacer

pasar al ganado por un tanque con un líquido ixodicida. Hay presentación de acaricidas en polvos en un medio inerte que se utilizan principalmente en gatos, perros y aves. (Shaw, 1970)

VIII. MATERIAL Y MÉTODO

7.1 Tipo de estudio: Descriptivo de cohorte. Transversal.

7.2 Periodo de estudio: Se realizó en un periodo de enero a marzo del 2016.

7.4 Unidad de análisis: las garrapatas que se encontraban parasitando a los bovinos, equinos y caninos que se encuentren en las fincas.

7.4 Área de estudio: El estudio se realizó en veintidós fincas del sauce y 3 fincas de Achupapa. Distribuidos en cuatro comarcas del sauce (Sabana Grande, El Campamento, Los Tololos y Las Palmas) y en tres comarcas de Achupapa (la calera, piedras gordas y el consuelo).

7.5 Territorios:

El Sauce es un municipio que le pertenece al departamento de León en el occidente del país, ubicado a 177 km de la ciudad de Managua, las comarcas donde se realizó el estudio están localizadas entre las siguientes coordenadas: Las Palmas 12°55'45.48" latitud y 86°34'22.44' longitud; Los Tololos 12°50'52.8" latitud y 85°32'24" longitud; El Campamento 12°59'15.36" latitud y 86°29'9.96" longitud; Sabana Grande 12°49'5.52" latitud y 86°29'3.84" longitud. El clima del municipio El Sauce es tropical seco con temperaturas medias entre 27,7 °C y 32,2 °C y con una elevación media de 173 m.s.n.m, las precipitaciones medias anuales llegan a los 1773 mm².

San José de Achupapa, es un municipio que le pertenece al departamento de León en el occidente del país, ubicado a 210 km de la ciudad de Managua, las comarcas donde se realizó el estudio están localizadas entre las siguientes coordenadas: La calera, Piedras gordas 2. 54°-57'.60" latitud y 14°37'948" longitud, El Consuelo 54°-36'.51" latitud y 14°38'585" longitud. Clima es de tipo Subtropical seco, con un

promedio anual de precipitación de 1,400 a 1,800 mm, con una distribución regular principalmente en los meses de mayo a noviembre.

7.6 Población

El total son 525 animales, 175 por cada especie de animales (bovinos, equinos y caninos), de las cuatro comarcas muestreadas del municipio El Sauce y tres de San José de Achuapa.

De los cuales se tomarán aproximadamente 10 a 15 garrapatas que se encuentren parasitando en cada uno de ellos.

7.7 Tamaño y selección de la muestra

De 525 animales los cuales están distribuidos en un total de cinco por cada especie muestreada (Bovinos, Equinos y Caninos), distribuidas en cuatro comarcad del Sauce y tres de San José de Achuapa. El número y selección de la muestra, fue tomado de forma aleatoria utilizando el programa estadístico online winepi.net, donde se procedió a seleccionar las comarcas requeridas a través del cálculo de tamaño de muestra para detección de enfermedad, con un nivel de confianza del 95% y una prevalencia mínima esperada del 50%, posteriormente se realizó un muestreo aleatorio simple con el listado del total de comarcas y fincas, El Sauce (Los tololos, sabana grande, El campamento y Las palmas) y San José de Achuapa (La Calera, Piedras gordas y el consuelo).

7.8 Fuente(s) de información:

Se realizó una encuesta a los productores de cada finca y se recolectaron las Garrapata que se encuentren parasitando al bovino, caninos y equinos tomando en cuenta la cantidad de animales que se encuentren en las fincas de los municipios El Sauce y San José de Achuapa.

7.9 Método de recolección de las garrapatas:

Se recolectarán un total de cinco a diez por cada animal y se mantendrán conservadas en alcohol al 90% en tubo, para luego ser transportadas al centro

veterinario de diagnóstico e investigación (CEVEDI) de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria, en Bioterio donde se preservarán en alcohol al 96%. Las garrapatas se identificarán en géneros y especie usando claves taxonómicas de Fairchild et al. 1966 y Barros-Battesti agrupándose por especie. Se mantendrán en conservación con alcohol al 90% hasta que se realice la extracción de AND o la identificación molecular de los agentes *Rickettsiales*.

7.10 Criterios de inclusión:

Fincas con bovinos que tengan garrapatas. Fincas en que la presencia de éstas sea casi permanente o gran parte del año.

7.11 Criterios de exclusión:

Fincas donde el bovino no presente garrapatas y que el ganado tenga un manejo adecuado para la desparasitación.

7.13. Tabla 3. Operacionalización de variables.

Variable	Tipo de Variable	Definición	Indicador
<i>Rickettsia</i>	Cualitativa	Genero de bacterias muy pequeñas, gran-negativas, no forman esporas.	PCR
Garrapata	Cualitativa	Se refiere a la existencia del ectoparásito.	presencia o ausencia
Taxonomía	Cualitativa	Identificación taxonómica de garrapatas.	Claves taxonómicas

7.14 Procedimientos para garantizar los aspectos éticos:

Se solicitó el consentimiento de los productores tomando en cuenta la opinión de querer o reservar la opinión de participar o no en el estudio informando de manera clara lo que se realizara y cuáles son los beneficios que se obtendrán. En los animales se mantendrá ética profesional sin causar daño solo se retirarán las garrapatas del cuerpo de manera adecuada y sin ocasionar lesiones.

7.15 Procedimiento de análisis de las muestras:

7.15.1. Plan de análisis del vector:

Identificación de Garrapatas en géneros y especie mediante el estereoscopio usando claves taxonómicas de Fairchild et al. 1966 y Barros-Battesti.

7.15.2. Extracción del ADN

Se utilizo el Kit Gane JET Plant Genomic DNA Purification Minit y el procedimiento se llevó a cabo de acuerdo con el manual de dicho kit, para ello se realizaron los pools de las garrapatas, los cuales contienen entre 2 y 5 especímenes por especie encontrada, siendo un total de 28 (pool) muestras de las 7 comarcas estudiadas.

7.15.3. Amplificación del ADN para género

Se utilizará un volumen de reacción final de 50 µl, correspondiente a 45 µl de Máster Mix, Agua libre de ADNasa, y los cebadores (*Rickettsia* spp., 5`GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT`3 y 5`GCTTCCTTAAAATTCAATAAAATCAGGAT`3) y 5 µl del ADN extraído. Se utilizará el termociclador Applied Biosystem modelo 2720 con el siguiente programa, 95°C x 3 min, 95°C x 15 seg, 50°C x 30 seg, 72°C x 30 seg, una extensión de 72°C x 7 min y 40 ciclos, para un amplicón de 398 bp del gen citrato sintetasa (*gltA*); posteriormente se revelará en gel de agarosa al 1,5% con bromuro de etidio.

7.16 Plan de análisis:

La información recolectada en las fichas o encuesta y los resultados de laboratorio se digitó en una base de datos en el SPSS 24 (IBM Corp., 2012-2016). Se utilizó el análisis estadístico de distribuciones de frecuencia para las variables de tipo cualitativo. Esta prueba de significación estadística nos permite encontrar relación o asociación entre dos variables de carácter cualitativo que se presentan únicamente según dos modalidades, es decir, dicotómicas.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron un total de 1959 especímenes de garrapatas, las cuales fueron identificadas mediante claves taxonómicas, según Fairchild et al. 1966 y Barros-Battesti, en género y especie, como se describe en la tabla 1.

Tabla 4. Frecuencia de géneros y especies de garrapatas.

	Géneros	Frecuencia	Porcentaje
Válido	Amblyomma	151	7.7
	Dermacentor	296	15.1
	Rhipicephalus	1512	77.2
	Total	1959	100.0

	Especie	Frecuencia	Porcentaje
Válido	R. Boophilus m.	1205	61.5
	A. Mixtum	151	7.7
	D. Nitens	296	15.1
	R. Sanguineus	307	15.7
	Total	1959	100.0

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó que el género que más sobresalió fue *Rhipicephalus* con 77.2% (1512/1959), de los cuales, las especies relevantes fueron *R. Boophilus microplus* con 61.5% (1205/1512) y *R. sanguineus* con 15.7% (307/1512), esto concuerda con algunos estudios de Costa Rica, Nicaragua y México, donde reportan como la principal especie; sin embargo, en países como Brasil y Honduras encontraron las especies *Amblyomma spp* como la más frecuente. Esto puede ser atribuible al tipo de clima que predomina en la zona y a los tipos de hospederos. (Peniche-Lara G., 2014)

Otras especies de garrapatas identificadas en el estudio fueron: *D. nitens* con 15.1% (296/1959), seguido de *A. mixtum* con 7.7% (151/1959); estos datos coinciden con estudios realizados en Panamá (Bermúdez C. Sergio E., 2011); sin embargo existen reportes de otras especies reportadas en Nicaragua, como son: *Ixodidae boliviensis Neumann*, *Dermacentor dissimilis cooley* y *Amblyomma ovale*, las cuales fueron encontradas en Jinotega y Rivas (Bermúdez S., 2015), esto no coinciden con el presente estudio; probablemente a que el hábitat de cada una de las especies de garrapatas está sujeta a factores climáticos y al hospedador, ya que por ejemplo en la zona norte del país, las temperaturas oscilan entre 20 a 26°C, una humedad relativa de 80% y una precipitación de 1205.8 mm, en cambio en la zona sur del país, las temperaturas pueden ser de aproximadamente 27°C, una humedad relativa de 78% y precipitaciones de 1350.7mm; a diferencia con el presente estudio, éste fue llevado a cabo en occidente del país donde la temperatura es mayor a 27.4°C, una humedad relativa de 76% y precipitaciones de 1592.9 mm; Por tanto, hay considerar el factor clima para la adaptación de las diferentes especies de garrapatas. (INETER, 2012 ©)

En el estudio también se determinó el hospedador en el que encontraron las diferentes especies de garrapatas, el cual, se describe en la siguiente tabla N°5.

Tabla 5. De total de las garrapatas colectadas, lograron identificarse varias especies por hospedero, las cuales se describen en la siguiente tabla.

Especie Hospedar		Especie				Total	
		Boophilus	Mixtum	Nitens	Sanguineus		
Bovino	Recuento	1065	32	3	161	1261	
	% del total	54,4%	1,6%	0,2%	8,2%	64,4%	
	Canino	Recuento	42	57	58	131	288
		% del total	2,1%	2,9%	3,0%	6,7%	14,7%
	Equino	Recuento	98	62	235	15	410
		% del total	5,0%	3,2%	12,0%	0,8%	20,9%
Total	Recuento	1205	151	296	307	1959	
	% del total	61,5%	7,7%	15,1%	15,7%	100,0%	

En los resultados obtenidos, se observó que la especie de hospedero con mayor infestación fueron los bovinos con 64.4% (1261/1959), siendo *Rhipicephalus Boophilus microplus* con un 54,4% (1065/1261) la especie con mayor presencia, *R. Sanguineus* 8.2% (161/1261); esto concuerda con un estudio realizado en México, donde el bovino fue la especie con mayor infestación con 61.3% (92/150), siendo *Rhipicephalus Boophilus microplus* la especie de garrapata que más prevaleció (Peniche-Lara G., 2014). en cuanto a los equinos tienen un 20.9% (410/1959), con mayor presencia de *Dermacentor Nitens* 12% (325/410), *Amblyomma Mixtum* 3.2% (62/410), siendo el mismo resultado en estudios en Panamá (Bermúdez C. Sergio E., 2011), aunque un poco diferente para Brasil ya que la especie predominante fue *Amblyomma sculptum* y esta no se encontró en el presente estudio considerando que se le puede atribuir esto al tipo de clima que favorece la presencia de dicha especie (Souza C. E., 2016). En el caso de los caninos fue menor porcentaje con un 14.7% (288/1959) siendo la de mayor relevancia la *R. Sanguineus* 6.7% (131/288), esto coincide con algunos estudios de costa Rica, Nicaragua y Panamá donde encuentran que la presencia de los mismos vectores en los mismos hospederos. Esto puede ser atribuible al ciclo de vida de las especies de garrapatas encontrado principalmente son trioxenos, considerando que presentan poca a moderad especificidad por los hospedadores, su habitad son en zonas tropicales - subtropicales y los hospedadores principales son los vertebrados de sangre caliente. (Pacheco-Solano Katherine, 2019) , (Springer Andrea, 2018).

Se determinó la distribución de las especies de garrapatas según los municipios, el cual, se describe en la siguiente tabla N°6. (La distribución de las especies de garrapatas por comarcas, ver en la tabla 7 de los Anexos).

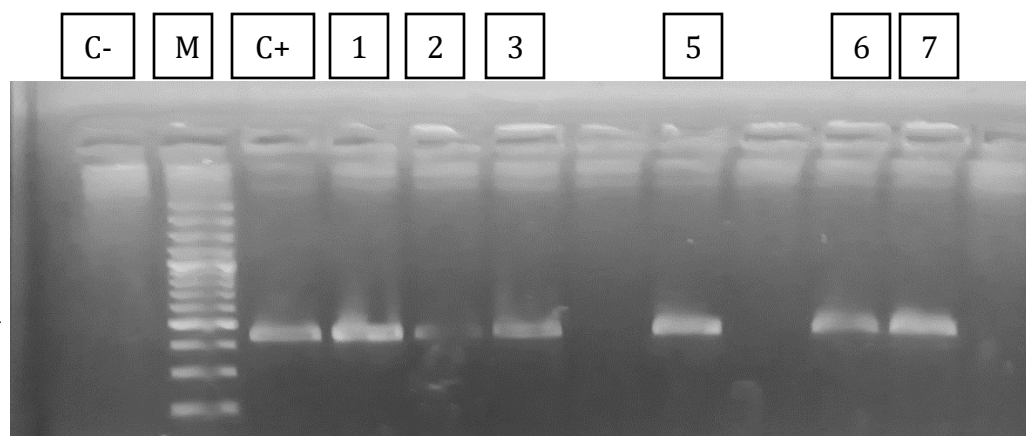
Tabla 6. Distribución de especies de garrapatas por municipio

Municipio		Especie				Total
		Boophilus	Mixtum	Nitens	Sanguineus	
Achuapa	Recuento	116	121	133	34	404
	% del total	5.9%	6.2%	6.8%	1.7%	20.6%
El sauce	Recuento	1089	30	163	273	1555
	% del total	55.6%	1.5%	8.3%	13.9%	79.4%
Total	Recuento	1205	151	296	307	1959
	% del total	61.5%	7.7%	15.1%	15.7%	100.0%

El estudio se llevó a cabo en los municipios del sauce y San José de Achuapa perteneciente al departamento de León. En ambos municipios se colectaron garrapatas que se encontraban parasitando a bovinos equinos y caninos. del total de las garrapatas colectadas la especie de mayor frecuencia en ambos municipios fue *Rhipicephalus Boophilus microplus* con 61,5% (1205/1); como se ha descrito que esta especie de garrapata se ha adaptado a la zona del trópico, por lo tanto como son zonas muy similares y no varían las condiciones climáticas por lo que la especie de garrapata es la misma y considerando también que el bovino es el hospedador principal de dichas especies de garrapatas no se espera que varíe la especie independientemente que se aumenta el tamaño de la muestra. (Alvarez V, 2003).

Del total de garrapatas colectadas (1959), se realizaron 28 pooles, conteniendo entre 4 y 5 garrapatas cada uno. A estas garrapatas se les extrajo el ADN a partir de un kit de extracción y purificación, para luego ser analizadas por PCR y aislar *Rickettsia* spp. Según los resultados obtenidos se logró determinar *Rickettsia* spp en 6/28 muestras, representando un 21.4% en ambos municipios, de los cuales, en ambos municipios se logró aislar la misma cantidad de *Rickettsia* spp (3 y 3, respectivamente). En el municipio de Achuapa se logró identificar *Rickettsia* spp en las garrapatas *R. Boophilus* (1/3), *A. mixtum* (1/3) y *D. nitens* (1/3); en cambio en el municipio de El Sauce se identificó *Rickettsia* spp en *R. Boophilus* (1/3) y *A. mixtum* (2/3). esto concuerda con algunos estudios de Costa Rica, Nicaragua y México, donde reportan la detección de ADN de *Rickettsia* spp., en las mismas especies de garrapatas encontrada en el presente estudio, las cuales se ha reportado y demostrado en distintas partes del Continente Americano (Domínguez L., 2007), (ver Anexos Tabla 8.). considerando que la especie *A. mixtum* en otro estudio fue encontrada parasitando a los humanos, esta podría ser un riesgo, ya que se alimenta de una diversa variedad de especies hospedadoras silvestres y domésticas, en su mayoría mamíferos medianos a grandes, y con frecuencia ataca a los humanos (ver Anexos Tabla 9.). (Novakova, 2015).

Figura 5. Producto de PCR convencional. Gel de agarosa al 2% mostrando los amplicones de 245 bp del gen citrato sintetasa (*gltA*) de *Rickettsia* spp., en Nicaragua.



X. CONCLUSIONES

Los municipios El Sauce y San José de Achuapa, del departamento de León, se evidencia la presencia de *Rickettsia* spp, se identificaron tres géneros y cuatro especies de garrapatas (*R. (B) microplus*, *R. (B) sanguineus*, *D. nitens* y *A. mixtum*), parasitando a tres diferentes tipos de hospedadores (bovinos, equinos y caninos).

La garrapata *R. (B) microplus* fue la más frecuente en los bovinos, los equinos y caninos muestreados. La especie de garrapatas *A. mixtum* está presente mayormente en equino, encontrándose de igual manera en gran cantidad en ambos municipios.

La presencia local de *Rickettsia* spp se encontró en 6/28 muestras, representando un 21.4% en ambos municipios.

En el municipio de Achuapa se logró identificar *Rickettsia* spp en las garrapatas *R. Boophilus* (1/3), *A. mixtum* (1/3) y *D. nitens* (1/3).

El municipio de El Sauce se identificó *Rickettsia* spp en *R. Boophilus* (1/3) y *A. mixtum* (2/3).

XI. RECOMENDACIONES

1. Traspolar este tipo de estudio en diferentes regiones del país, en el que se identifiquen las garrapatas según géneros y especies.
2. Una vez que se tengan dichos datos realizar diferentes tipos de análisis para detección de *Rickettsia* en otras especies de garrapatas.
3. Realizar análisis a otros grupos de rickettsia como es el caso de *R. rickettsia*, *R. parkeri*, *R. massiliae* y *R. bellii*, que son las de mayor frecuencia en las Américas.
4. Creación de un repositorio de las principales garrapatas que se encuentran distribuidos en las distintas zonas del país.

XII. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez V, B. R. (2003). Abundancia relativa de *Amblyomma* spp. (Acari: Ixodidae) en bovinos (*Bos taurus* y *B. indicus*) de Costa Rica. *Rev Biol Trop.* , 51(2):435–43.
- Álvarez, V. H. (2007). FASE NO PARASÍTICA DE *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) EN CONDICIONES AMBIENTALES Y DE LABORATORIO EN COSTA RICA. (Spanish). Non-parasitic phase *Boophilus microplus* (Acari Ixodidae). *Universidad de Costa Rica*, 31(2):49–56.
- Barba Evi José Roberto. (2009). Fiebre manchada de las Montañas Rocosas. *Revista Mexicana Patología Clínica*, 16.
- Barbieri Amalia R. M., R. L. (2012). *Rickettsia bellii* infecting *Amblyomma sabanerae* ticks in El Salvador. El Salvador: Pathogens and Global Health VOL. 106 NO. 3.
- Barros-Battesti DM. Onofrio VC, A. M. (2009). Comments on the validity of *Haemaphysalis cinnabarina* KOCH, 1844 (acari: Ixodidae), A taxon known solely by the type specimens from Northern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* , 17(1):53–5.
- Bermúdez C. Sergio E., Z. A. (2011). Rickettsial infection in domestic mammals and their ectoparasites in El Valle de Antón, Coclé, Panamá. *Veterinary Parasitology (2011)*, 134-138.
- Bermúdez S., M. B. (2015). First records of *Ixodes boliviensis* Neumann, 1904 and *Dermacentor dissimilis* Cooley, 1947 (Ixodida: Ixodidae) as parasites of domestic mammals in Nicaragua. *Systematic & Applied Acarology*, 20(4).

- Bermúdez, S., & Miranda R., e. a. (2012). *Detección de Rickettsia sp. en ectoparásitos de animales domésticos y silvestres de la Reserva Natural Privada Cerro Chucantí y comunidades aledañas, Panamá (2007-2010)*. Panamá: Biomédica, vol. 32, núm. 2.
- Bernabeu-Wittel W, S. (2005). "Enfermedades producidas por rickettsias". . *Enf Infecc Microbiol Clin* ; 23(3): 163-172.
- Bowman, D. (2011). *Parasitología para Veterinarios*. New York: ELSEVIER, 11th.
- Brenner DJ, K. N. (2005). *Manual of systematic Bacteriology* . edition, Athens, GA, 96 pp.
- Chun CW, Z. L. (2008). Molecular detection of spotted fever group Rickettsia in Dermacentor silvarum from a forest area of Northeastern China. *Med Entomol* , 45 (4).
- Cordero del Campillo, M. (2000). *Parasitología veterinaria*. . Madrid, España. : Mc. Graw-Hill interamericana. 1ra. Impresión. .
- Dantas TF. (2007). Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infect Dis*, 7: 724-732.
- (2008-2009). *Detección Molecular de Rickettsia sp. en garrapatas de la familia Ixodidae (acari: ixodida) en Córdoba. Colombia*.
- Domínguez L., T. S. (2007). *Garrapatas (Ixodida: Ixodidae) de Panamá central, con énfasis en su potencial rol como transmisores de rickettsiales*. Panamá.

- Dumitrache MO, G. C. (2012). Hard ticks (Ixodidae) in Romania: Surveillance, host associations, and possible risks for tick-borne diseases. *Parasitol Res.* , 110(5):2067–70.
- Faccioli, V. (2011). Garrapatas (Acari: Ixodidae y Argasidae) De La Colección De Invertebrados Del Museo Provincial De Ciencias Naturales Florentino Ameghino. *Mus Prov Ciencias Nat "Florentino Ameghino."*, 25:34.
- Fernández S.P. (2003). *Garrapatas que parasitan a las personas en Castilla y León, determinación por Serología de su parasitismo y detección Molecular de los patógenos que albergan.* TESIS DOCTORAL UNIVERSIDAD DE SALAMANCA FACULTAD DE BIOLOGÍA.
- Fleta-Zaragozano, J. (2002). "Rickettsiosis transmitidas por piojos, pulgas y ácaros". *Medicina Integral*, 39: 147-152.
- Guglielmone A A, N. S. (2005). Argasidae Y DE LOS GÉNEROS Dermacentor , Haemaphysalis , Ixodes y Rhipicephalus (Ixodidae) DE LA ARGENTINA : DISTRIBUCIÓN. *Ria.*, 34(2):123–41.
- Guglielmone, a. A., & nava, s. (Diciembre 2006). *Las garrapatas argentinas del género amblyomma (acari: ixodidae): distribución y hospedadores.* . argentina: *Ria*, 35 (3): 133-153. *Inta.* .
- Guglielmone, e. a. (2003.). Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. *International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-2).* Atalanta, Houten: The Netherlands.
- Hidalgo M., F.-M. A. (2013). *Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: Avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el*

Diagnóstico. Bogotá, D.C., Colombia y Texas, USA: Biomédica 2013;33(Supl.1):161-78.

- Hun L., C. X. (2008). Molecular Charracterizacion of Rickettsia rickettsii isolated from human samples and from the rabbit tick haemaphysalis leporispalustris collected at different geographpic zones in Costa Rica. *Trop Med Hyg*, 79: 899-902.
- INETER, D. G. (2012 ©). *Clima de Nicaragua*. Obtenido de <https://servmet.ineter.gob.ni//Meteorologia/climadenicaragua.php>: <https://servmet.ineter.gob.ni//Meteorologia/climadenicaragua.php>
- José M. Venzal, S. N. (2011). *El género Rickettsia como agente de zoonosis en el Cono Sur de Sudamérica* . . Rev Med Urug ; 27: 98-106.
- Kostman JR. (1996). Laboratory diagnosis of Rickettsial Disease. *Clinica Dermatologica*, 14: 301-306.
- Labruna M., e. a. (2011). *Rickettsiosis en america latina, el caribe, España y Potugal*. Córdoba: Rev. MVZ.
- Labruna, M. (2009). *Ecology of Rickettsia in sauth america annals of the New Yourk*.
- Manzano Román ., D. M. (2012.). Garrapatas : Características anatómicas, epidemiológicas y ciclo vital. Detalles de la influencia de las garrapatas sobre la producción y sanidad animal. *Parasitol Anim Inst Recur Nat y Agrobiol Salamanca.*, 1–8.
- Medina S. A., F. S. (2013). *Identificación y caracterización de Rickettsia Sp. y sus posibles artrópodos vectores en el estado de Nuevo León y Veracruz, México*. Nueve León.: tesis doctiral universidad nacionalde Nuevo Leon.

- Mercado Uribe, M. C. (2010). Rickettsiosis. Historia y actualidades. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología.*, vol. 30, núm. 1,.
- Muñoz LE., C. M. (2001). Estado actual del conocimiento de las garrapatas (Acari: Ixodida) asociadas a *Canis familiaris L. Gayana. familiaris L. Gayana.*, 65(2):193–210.
- Novakova, b. M. (2015). Rickettsial infections in ticks from reptiles, birds and humans in Honduras. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6.
- Ogrzewalska C., M. &. (2019). *DETECCIÓN MOLECULAR DE Rickettsia bellii EN Amblyomma rotundatum Koch 1884 (IXODIDA: IXODIDAE) RECOLECTADA DE Rhinella marina L., 1758 (ANURA: BUFONIDAE) EN PANAMÁ.* Panamá: Tecnociencia, Vol. 21, N°1.
- Ogrzewalska M, L. I. (2015). *Bacteria of the genus Rickettsia in ticks (Acari: Ixodidae) collected from birds in Costa Rica.* Costa Rica: Ticks and Tick-borne Diseases.
- Pacheco-Solano Katherine, B.-G. A. (2019). Exposure of dogs to *Rickettsia* spp. in Costa Rica: Risk factors for PCR-positive ectoparasites and seropositivity. *Parasite Epidemiology and Control*, 9.
- Peniche-Lara G., D.-R. K.-s.-C. (2014). *Identificación de Rickettsia spp. en garrapatas Cajennense parasitando bovinos en ranchos de Eatado de Yucatán.* Yucatán: revista.medicina.uady.mx , Ciencia y Humanismo en la Salud , Vol. 1, No 1, pp. 23-27.
- Quintero Vélez, J. C. (2012). Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas Scientiarum*, Vol. 17 N° 1: 82-99.

- Quiroz, R. (2000). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. 5ta ed.
- Ramirez H. (2014). *Identificación Molecular y análisis de la relación filogenética de especies de Rickettsias presentes en Garrapatas provenientes de tres regiones de Colombia*. Bogota, Colombia.
- Reller Megan E., C. I., & al., e. (2016). First Identification and Description of Rickettsioses and Q Fever as Causes of Acute Febrile Illness in Nicaragua. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 17.
- Sanfeliu Isabel, P. I. (2008). Rickettsia en nuestro entorno. *Jano*, 4, 1689.
- Santos-Silva MM., B. L. (2011). The hard-tick fauna of mainland Portugal (Acari: Ixodidae): An update on geographical distribution and known associations with hosts and pathogens. *Exp Appl Acarol*, 55(1):85–121.
- Shaw, R. D. (1970). Control de garrapatas del ganado vacuno. *Publicación de Cooper.*, 66 p.
- Souza C. E., C. L. (2016). High Seroprevalence for Rickettsia rickettsii in Equines Suggests Risk of Human Infection in Silent Areas for the Brazilian Spotted Fever. *PLOS ONE*, 9.
- Springer Andrea, M. V. (2018). Detection of Rickettsia monacensis and Rickettsia amblyommatis in ticks collected from dogs in Costa Rica and Nicaragua. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 9.
- Urquhart, G. M. (2001). *Parasitología Veterinaria*. Zaragoza, 2nd ed. ACRIBIA ;: Blackwell Science Ltd; .
- Valbuena G, F. H. (2002). *Mechanisms of immunity against rickettsiae. New perspectives and opportunities offered by unusual intracellular parasites*. Microbes and Infection ; 4(6):625-633.

- Víctor Álvarez C., R. B. (2007). *Adultos y ninfas de la garrapata amblyomma cajennense abricius (acari: ixodidae) en equinos y bovinos.* . Agronomía Costarricense 31(1): 61-69. ISSN: 0377-9424.
- Wall R, S. D. (2008.). *Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control. Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control.*, 55 - 81 p.

XIII. ANEXOS

Tabla 7. Distribución de especies de garrapatas por comunidad y hospedero

			Boophilus	Mixtum	Nitens	Sanguineus		
El Campamento	Especie	Bovino	Recuento	197	6	2	66	271
			% del total	44.6%	1.4%	0.5%	14.9%	61.3%
	Hospedero	Canino	Recuento	26	4	22	36	88
			% del total	5.9%	0.9%	5.0%	8.1%	19.9%
	Equino	Equino	Recuento	31	13	38	1	83
			% del total	7.0%	2.9%	8.6%	0.2%	18.8%
	Total	Total	Recuento	254	23	62	103	442
			% del total	57.5%	5.2%	14.0%	23.3%	100.0%
El condadillo	Especie	Bovino	Recuento	59				59
			% del total	100.0%				100.0%
	Total	Total	Recuento	59				59
			% del total	100.0%				100.0%
EL Consuelo	Especie	Bovino	Recuento	29	14	1	11	55
			% del total	15.8%	7.6%	0.5%	6.0%	29.9%
	Hospedero	Canino	Recuento	0	51	3	1	55
			% del total	0.0%	27.7%	1.6%	0.5%	29.9%
	Equino	Equino	Recuento	0	42	32	0	74
			% del total	0.0%	22.8%	17.4%	0.0%	40.2%
	Total	Total	Recuento	29	107	36	12	184
			% del total	15.8%	58.2%	19.6%	6.5%	100.0%
La Calera	Especie	Bovino	Recuento	32	8	0	9	49
			% del total	51.6%	12.9%	0.0%	14.5%	79.0%
	Hospedero	Canino	Recuento	0	0	6	4	10
			% del total	0.0%	0.0%	9.7%	6.5%	16.1%
	Equino	Equino	Recuento	0	2	1	0	3
			% del total	0.0%	3.2%	1.6%	0.0%	4.8%
	Total	Total	Recuento	32	10	7	13	62
			% del total	51.6%	16.1%	11.3%	21.0%	100.0%
Las palmas	Especie	Bovino	Recuento	139		0	11	150
			% del total	80.3%		0.0%	6.4%	86.7%
	Hospedero	Canino	Recuento	0		0	5	5
			% del total	0.0%		0.0%	2.9%	2.9%
	Equino	Equino	Recuento	0		16	2	18
			% del total	0.0%		8.9%	1.1%	10.0%

			% del total	0.0%		9.2%	1.2%	10.4%
	Total		Recuento	139		16	18	173
			% del total	80.3%		9.2%	10.4%	100.0%
Los tololos	Especie	Bovino	Recuento	277	2	0	16	295
			% del total	71.6%	0.5%	0.0%	4.1%	76.2%
	Hospedero	Canino	Recuento	6	1	0	42	49
			% del total	1.6%	0.3%	0.0%	10.9%	12.7%
	Equino	Recuento	31	0	11	1	43	
		% del total	8.0%	0.0%	2.8%	0.3%	11.1%	
	Total	Recuento	314	3	11	59	387	
		% del total	81.1%	0.8%	2.8%	15.2%	100.0%	
Piedras Gordas	Especie	Bovino	Recuento	39	2	0	9	50
			% del total	24.7%	1.3%	0.0%	5.7%	31.6%
	Hospedero	Canino	Recuento	7	1	26	0	34
			% del total	4.4%	0.6%	16.5%	0.0%	21.5%
	Equino	Recuento	9	1	64	0	74	
		% del total	5.7%	0.6%	40.5%	0.0%	46.8%	
	Total	Recuento	55	4	90	9	158	
		% del total	34.8%	2.5%	57.0%	5.7%	100.0%	
Sabana Grande	Especie	Bovino	Recuento	224	0	0	7	231
			% del total	57.1%	0.0%	0.0%	1.8%	58.9%
	Hospedero	Canino	Recuento	3	0	0	43	46
			% del total	0.8%	0.0%	0.0%	11.0%	11.7%
	Equino	Recuento	27	4	73	11	115	
		% del total	6.9%	1.0%	18.6%	2.8%	29.3%	
	Total	Recuento	254	4	73	61	392	
		% del total	64.8%	1.0%	18.6%	15.6%	100.0%	
san cayetano	Especie	Bovino	Recuento	69		0	32	101
			% del total	67.6%		0.0%	31.4%	99.0%
	Hospedero	Canino	Recuento	0		1	0	1
			% del total	0.0%		1.0%	0.0%	1.0%
	Total	Recuento	69		1	32	102	
		% del total	67.6%		1.0%	31.4%	100.0%	
Total	Especie	Bovino	Recuento	1065	32	3	161	1261
			% del total	54.4%	1.6%	0.2%	8.2%	64.4%
	Hospedero	Canino	Recuento	42	57	58	131	288
			% del total	2.1%	2.9%	3.0%	6.7%	14.7%

	Equino	Recuento	98	62	235	15	410
		% del total	5.0%	3.2%	12.0%	0.8%	20.9%
Total		Recuento	1205	151	296	307	1959
		% del total	61.5%	7.7%	15.1%	15.7%	100.0%

Tabla 8. Resultado del aislamiento de *Rickettsia* spp., mediante la PCR en los Municipios de estudio.

Municipio	Achuapa		Resultado		Total
			positivo	negativo	
		Recuento	3	9	12
		% del total	10.7%	32.1%	42.9%
	Sauce	Recuento	3	13	16
		% del total	10.7%	46.4%	57.1%
Total		Recuento	6	22	28
		% del total	21.4%	78.6%	100.0%

Tabla 9. Resultado del aislamiento de *Rickettsia* spp., mediante la PCR en las especies de garrapatas de las comarcas en estudio.

Comarca				Especie				Total
				Boophilus	Mixtum	Nitens	Sanguineus	
El campamento	Resultado negativo	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
EL Consuelo	Resultado positivo	Recuento	1	0	0	0	1	
		% del total	25.0%	0.0%	0.0%	0.0%	25.0%	
	negativo	Recuento	0	1	1	1	3	
		% del total	0.0%	25.0%	25.0%	25.0%	75.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
La Calera	Resultado negativo	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	

	Total		Recuento	1	1	1	1	4
			% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%
Las palmas	Resultado	positivo	Recuento	1	0	0	0	1
			% del total	25.0%	0.0%	0.0%	0.0%	25.0%
	negativo	Recuento	0	1	1	1	3	
		% del total	0.0%	25.0%	25.0%	25.0%	75.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
Los tololos	Resultado	positivo	Recuento	0	1	0	0	1
			% del total	0.0%	25.0%	0.0%	0.0%	25.0%
	negativo	Recuento	1	0	1	1	3	
		% del total	25.0%	0.0%	25.0%	25.0%	75.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
Piedras gordas	Resultado	positivo	Recuento	0	1	1	0	2
			% del total	0.0%	25.0%	25.0%	0.0%	50.0%
	negativo	Recuento	1	0	0	1	2	
		% del total	25.0%	0.0%	0.0%	25.0%	50.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
sabana grande	Resultado	positivo	Recuento	0	1	0	0	1
			% del total	0.0%	25.0%	0.0%	0.0%	25.0%
	negativo	Recuento	1	0	1	1	3	
		% del total	25.0%	0.0%	25.0%	25.0%	75.0%	
	Total	Recuento	1	1	1	1	4	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	
Total	Resultado	positivo	Recuento	2	3	1	0	6
			% del total	7.1%	10.7%	3.6%	0.0%	21.4%
	negativo	Recuento	5	4	6	7	22	
		% del total	17.9%	14.3%	21.4%	25.0%	78.6%	
	Total	Recuento	7	7	7	7	28	
		% del total	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	100.0%	

Imagen 1. Colecta de garrapatas



Imagen 2. Identificación taxonómica

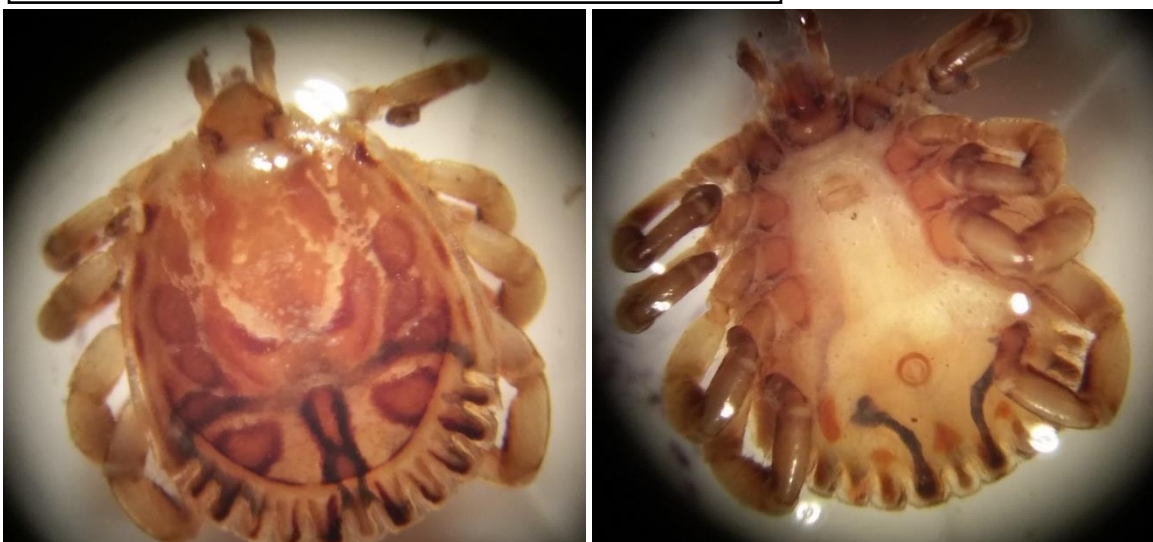


Imagen 3. Amplificación de las muestras

