

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS**



**CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA DE GARRAPATAS *Rhipicephalus sanguineus*, COLECTADAS DE PERROS EN LOS DIFERENTES MUNICIPIOS DE BAJA CALIFORNIA.**

**TESIS:**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**PRESENTA:**

**ROCIO ADILENE TORRES NUNGARAY**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**PhD. ALMA ROSSANA TAMAYO SOSA**

**MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

**JUNIO DEL 2024**

**Caracterización del microbioma de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* colectadas de perros en los diferentes municipios de Baja California. Tesis presentada por Rocío Adilene Torres Nungaray, como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el comité particular indicado:**

---

**Dra. Alma Rossana Tamayo Sosa**  
**Director de tesis**

---

**Dr. Alberto Barreras Serrano**  
**Asesor**

---

**Dr. Víctor Manuel Del Villar Pérez**  
**Asesor**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a mis padres Saúl Torres y Rocío Nungaray que siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir mis objetivos personales y académicos.

A la Dra. Alma Tamayo por su invaluable guía y apoyo durante el desarrollo de mi tesis. Su conocimiento, paciencia y dedicación han sido fundamentales para la culminación de este trabajo.

Al Dr. Alberto Barreras por su paciencia y disposición para atender mis dudas.

A mis compañeras de maestría, Jazmín, Keydi, Paola y Elizabeth. Gracias por su apoyo en los momentos de estrés.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a mi abuelo Filiberto Nungaray, quien fue una fuente inagotable de sabiduría, amor y fortaleza en mi vida. Aunque ya no está físicamente conmigo, su legado vive en cada uno de mis logros.

A mis queridos compañeros de 4 patas, laika y pablo por ser mis fieles acompañantes durante las largas noches de estudio.

## RESUMEN

*Rhipicephalus sanguineus* es la garrapata más común en los perros por su distribución mundial y su importancia reside en que actúa como vector de diversos patógenos de importancia veterinaria y para la salud pública. Además de patógenos las garrapatas alojan un grupo de microorganismos simbióticos que desecarmpañan funciones fundamentales en la sobrevivencia, reproducción, fisiología, nutrición y probablemente también con la capacidad vectorial. A todo este conjunto de microorganismos se les denomina microbioma, que además puede influenciar la sobrevivencia de patógenos dentro de las garrapatas y su transmisión, por lo que la caracterización del microbioma de *R. sanguineus* en áreas donde se conoce ser vector de patógenos y coinfecciones en humanos y animales, podría contribuir a la búsqueda de alternativas para el control del vector y prevenir la transmisión de patógenos. En el presente estudio se caracterizó el microbioma de *R. sanguineus* colectadas de perros de los diferentes municipios de Baja California mediante secuenciación de nueva generación. El microbioma de *R. sanguineus* estuvo dominado por bacterias, y las bacterias con mayor abundancia relativa fueron *Ehrlichia* y *Coxiella* con porcentajes mayores al 80%. Mientras que los hongos más abundantes fueron *Aspergillus*, *Mucor* y *Penicillium*, sin ninguna relevancia como constituyentes del microbioma de *R. sanguineus*. Además, se identificaron bacterias y hongos considerados contaminantes del medio ambiente y de la piel del huésped.

**Palabras clave:** *Rhipicephalus sanguineus*; microbioma; Baja California.

## ABSTRACT

*Rhipicephalus sanguineus* is the most common tick affecting dogs given its global distribution, and its importance resides in the fact that it acts as a vector for diverse pathogens with critical impacts in both veterinary science and public health. In addition to pathogens, ticks carry a group of symbiotic microorganisms that serve fundamental functions in the tick's survival, reproduction, physiology, nutrition, and possibly in their vectorial capacity. These diverse microorganisms together are termed the tick's microbiome. This microbiome can additionally influence the survival and transmission of pathogens by the ticks, and therefore the characterization of the microbiome of *R. sanguineus* in endemic areas where is the known vector of several pathogens, some found as coinfections affecting humans and animals, could contribute in the development of alternative tick control methods to help prevent the transmission of pathogens. In the present study the microbiome of *R. sanguineus* was characterized by using next generation sequencing on ticks collected from canines in the different municipalities of Baja California. The microbiome of *R. sanguineus* was comprised predominantly by bacteria, with the most abundant species being *Ehrlichia* and *Coxiella* with a relative majority of 80%. The most common fungal species were *Aspergillus*, *Mucor*, and *Penicillium*, though they were not significant constituents in the overall microbiome of *R. sanguineus*. Additionally, other bacterial and fungal species were identified as environmental contaminants and also from the skin of the host.

**Keywords:** *Rhipicephalus sanguineus*; microbiome; Baja California.

## CONTENIDO

	PÁGINA
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE CUADROS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
INTRODUCCION.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Generalidades de las garrapatas .....	3
Importancia médica y veterinaria de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	5
Microbioma de la garrapata .....	8
Endosimbiontes bacterianos.....	13
Técnicas utilizadas para la identificación del microbioma.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Tipo de estudio.....	18
Lugar del área de estudio.....	18
Origen de la información.....	18
Duración del estudio.....	18

Metodología.....	19
Colecta de garrapatas.....	19
Identificación morfológica de las garrapatas.....	19
Extracción de ADN.....	19
Análisis del microbioma.....	20
Variables generadas.....	21
Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSIONES.....	46
LITERATURA CITADA.....	47

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Taxonomía de <i>R. sanguineus</i> .....	4
2	Lista alfabética de patógenos que son transmitidos por garrapatas <i>R. sanguineus</i> .....	6
3	Filos y clases bacterianas identificadas.....	23
4	Ordenes bacterianos identificados.....	24
5	Familias bacterianas identificadas.....	24
6	Géneros y especies bacterianas identificados.....	25
7	Filos y clases de hongos identificados.....	26
8	Ordenes de hongos identificados.....	26
9	Familias de hongos identificados.....	27
10	Géneros y especies de hongos identificados.....	28
11	Abundancia relativa (%) de bacterias por municipio encontradas en garrapatas.....	29
12	Abundancia relativa (%) de hongos por municipio encontradas en garrapatas.....	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Principales vías para la adquisición del microbioma en garrapatas.....	9
2	Abundancia relativa (%) de bacterias por municipio encontradas en garrapatas.....	29
3	Bacterias en común entre Tijuana, Tecate y Mexicali.....	31
4	Bacterias en común entre Ensenada, San Quintín y San Felipe...	32
5	Abundancia relativa (%) de hongos por municipio encontradas en garrapatas.....	35
6	Hongos en común entre Ensenada, San Quintín y San Felipe.....	37
7	Hongos en común entre Tijuana, Tecate y Mexicali.....	38

## INTRODUCCIÓN

Las garrapatas son uno de los parásitos externos más comunes en los perros principalmente la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* por su distribución mundial y su importancia reside en que actúa como vector de diversos patógenos zoonóticos que causan enfermedades de importancia en salud pública que resultan en graves daños a la salud humana e incluso la muerte (Rodríguez-Vivas et al., 2019; Wang et. al., 2021; Wu-Chuang et al., 2021).

Además de ser portadoras de microorganismos patógenos también poseen microorganismos comensales y simbióticos (Quiroz-Castañeda et al., 2021), los que en su conjunto constituyen el microbioma (Hooper y Gordon, 2001; Korecka y Arulampalam, 2012).

Se ha descrito que el microbioma en las garrapatas está relacionado con diversos procesos biológicos, fisiológicos, reproductivos de importancia para la supervivencia de las garrapatas, pero también influyen en la adquisición, mantenimiento y transmisión de patógenos (Quiroz-Castañeda et al., 2021).

La garrapata *R. sanguineus* es la más prevalente en el Estado de Baja California en donde es vector de *R. rickettsii*, *E. canis*, *A. platys* y *A. phagocytophilum* (Tinoco et al., 2015).

Las medidas de control más empleadas siguen siendo los acaricidas químicos que tienen la desventaja de ser nocivos al medio ambiente, a los animales.

Además de provocar el desarrollo de resistencia en las garrapatas, por lo que es necesario buscar alternativas para su control (Obaid et al., 2022).

Estudios recientes plantean que los miembros no patógenos del microbioma de la garrapata también pueden interferir con la replicación y transmisión de patógenos, estos miembros no patógenos y patógenos pueden neutralizarse entre sí porque compiten directamente con recursos limitados, como lo son nutrientes o un tejido en particular (Bonnet et al., 2017).

**En base a lo anterior se planteó el siguiente objetivo: Caracterizar la composición del microbioma de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* de los municipios de Baja California.**

# REVISIÓN DE LITERATURA

## Generalidades

Existen alrededor de 900 especies diferentes de garrapatas, de las cuales la mayoría pertenecen a una de las 2 familias principales, Argasidae e ixodidae (Guglielmone et al., 2018).

La familia Argasidae se caracteriza por la falta de escudo; debido a esta característica son conocidas como garrapatas blandas, dentro de esta familia se encuentran los géneros: *Argas*, *Ornithodoros*, *Otobius* (Walker et al., 2003; Estrada-Peña 2015).

En cambio, la familia Ixodidae se caracteriza por la presencia de un escudo en la superficie dorsal. A menudo son conocidas como garrapatas duras debido a la superficie dura del escudo, dentro de esta familia se encuentran los géneros: *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus* (Walker et al., 2003; Estrada-Peña 2015).

*Rhipicephalus sanguineus*, conocida como la garrapata marrón del perro debido a que se alimenta principalmente de sangre de perros, es la garrapata ixódida más ampliamente distribuida a nivel mundial debido a su adaptabilidad a diferentes condiciones climáticas (Dantas-Torres, 2008; Gray et al., 2013; Dantas-Torres et al., 2015).

En el cuadro 1 se muestra la clasificación taxonómica de *Rhipicephalus sanguineus*.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *R. sanguineus*.

---

Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Subfilo	Chelicerata
Clase	Arachnida
Subclase	Acari
Orden	Parasitiformes
Suborden	Ixodida
Superfamilia	Ixodoidea
Familia	Ixodidae
Subfamilia	Rhipicephalinae
Género	<i>Rhipicephalus</i>
Especie	<i>R. sanguineus</i>

---

(Dantas-Torres, 2008).

*Rhipicephalus sanguineus* es altamente endófila lo que representa un riesgo para el ser humano, aunque también puede sobrevivir en ambientes al aire libre. Además, aunque es monotrófica, esta garrapata puede ocasionalmente alimentarse de otros huéspedes entre ellos los humanos, sobre todo cuando se convive con perros con alta densidad de garrapatas, lo que demuestra la capacidad de *R. sanguineus* para adoptar distintas estrategias de supervivencia, según sus necesidades. Quizás, estos rasgos hayan evolucionado a partir de su relación con el perro doméstico y su entorno compartido, siendo parte de la estrategia de supervivencia y perpetuación de la especie (Dantas-Torres, 2010).

### **Importancia médica y veterinaria de *Rhipicephalus sanguineus***

*Rhipicephalus sanguineus* es una plaga importante debido a su capacidad para transmitir agentes patógenos a los seres humanos y animales (Muller y Durden, 2002).

*Rhipicephalus sanguineus* es capaz de infestar perros en grandes cantidades y puede alimentarse de caninos en todas sus etapas del ciclo de vida. Puede causar en el perro dermatitis, prurito, estrés, respuestas alérgicas, anemia y alopecia, también es vector de diversos patógenos entre los que se encuentran *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia rickettsii*, *Coxiella burnetii*, *Anaplasma platys*, *Hepatozoon canis* (Dantas-Torres, 2008; Rodríguez- Vivas et al., 2019; Dantas-Torres et al., 2012), algunos de ellos con potencial zoonótico (Cuadro 2).

Cuadro 2. Lista alfabética de patógenos que son transmitidos por garrapatas *R. sanguineus*

Patógeno	Enfermedad asociada
<i>Anaplasma platys</i>	Trombocitopenia cíclica infecciosa canina
<i>Coxiella burnetii</i>	Fiebre Q
<i>Leishmania infantum</i>	Leishmaniasis visceral canina
<i>Rickettsia conorii</i>	Fiebre manchada mediterránea
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fiebre manchada de las montañas rocosas

(Dantas-Torres, 2008).

Durante el año 2008, se presentó un brote de fiebre maculosa de las Montañas Rocosas en Mexicali, Baja California, México y en 2015, la Secretaría de Salud de México declaró la epidemia como emergencia epidemiológica, que a partir de 2018 ha afectado aproximadamente a 4,000 personas (Tinoco-Gracia et al., 2015; Foley et al., 2019). En México los estados del norte son los más afectados, en el año 2022 Sonora tuvo 190 casos de Rickettsiosis, Chihuahua 119 y Baja California 77 (Secretaría de salud, 2023).

Durante el 2023 en Baja California más de 800 personas fueron revisadas por sospecha de contagio de rickettsiosis, de las cuales 111 resultaron positivos. El municipio con el mayor número de muertes por esta enfermedad fue Tijuana, con 22 casos, mientras en Mexicali se reportaron alrededor de 20 muertes (ISESALUD, 2023).

Las enfermedades que transmiten las garrapatas son uno de los grandes problemas de salud pública y veterinaria que existen a nivel mundial (Alonso-Díaz et al., 2006).

## **Microbioma de la garrapata**

Las garrapatas no solo son portadoras de microorganismos patógenos ya que un grupo diverso de microorganismos comensales y simbióticos también están presentes en ellas (Bonnet et al., 2017).

A este conjunto formado por los microorganismos patógenos, comensales y simbióticos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado se le conoce como microbioma (Korecka y Arulampalam, 2012). A diferencia de los patógenos, los microorganismos comensales y simbióticos pueden conferir múltiples efectos que pueden ser perjudiciales, neutrales o beneficiosos para las garrapatas, y pueden desempeñar varios roles en el estado físico, la adaptación nutricional, el desarrollo, la reproducción y la inmunidad de la garrapata (Bonnet et al., 2017).

La garrapata hembra adulta tiene la primera oportunidad de establecer el microbioma de su descendencia a través de la transmisión transovárica (Narasimhan et al., 2015; Narasimhan et al., 2021). Después de eso, la descendencia de la garrapata también puede adquirir microbios del medio ambiente y de la sangre del huésped que se alimente (Fig. 1). La entrada bacteriana en la garrapata es predominantemente a través de vías transováricas, orales o cuticulares (Narasimhan et al., 2015; Narasimhan et al., 2021).

Así mismo, en su interacción constante con los microbios presentes en el entorno, las garrapatas también se encuentran con patógenos (Narasimhan et al., 2015; Narasimhan et al., 2021).

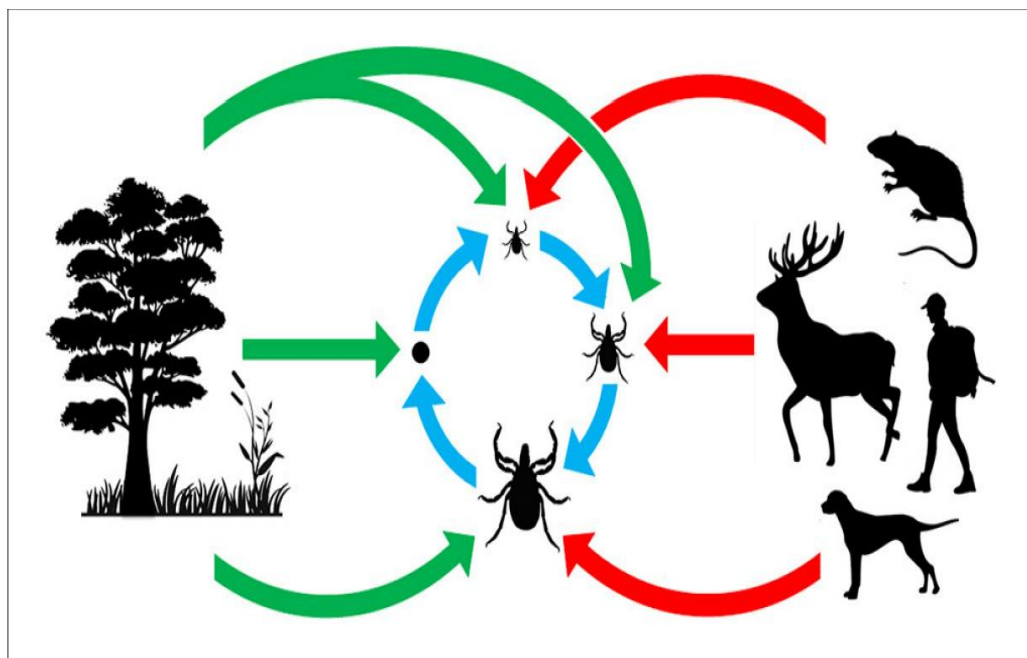


Fig. 1 Flechas rojas: patógenos de vertebrados adquiridos por picaduras de garrapatas; flechas azules: simbioses de garrapatas heredados de la madre adquiridos por transmisión transovárica y transestadial; flechas verdes: microorganismos adquiridos del medio ambiente (Bonnet et al., 2017).

La diversidad del microbioma puede afectar la transmisión de patógenos, sin embargo, los factores bióticos (animales y plantas) y abióticos (agua, suelo, temperatura que impulsan la diversidad del microbioma son todavía desconocidos (Swei y Kwan, 2017).

El microbioma de las garrapatas porta comunidades microbianas complejas que están dominadas en gran medida por microorganismos no patógenos (Bonnet et al., 2021). Se han identificado miembros de los géneros *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Enterobacter*, *Sphingobacterium*, *Pseudomonas*, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Coxiella* y *Francisella* en el microbioma (Narasimhan y Friking, 2015).

*Coxiella*, *Francisella* y *Rickettsia* que en medicina y veterinaria son reconocidas como bacterias patógenas para vertebrados, en realidad la mayoría de especies de estos géneros son parte del microbioma y cumplen funciones esenciales para la supervivencia de la garrapata (Bonnet et al., 2017).

Las garrapatas poseen una alimentación estricta a base de sangre por lo que su alimentación carece de muchos nutrientes esenciales y es probable que poblaciones microbianas que componen el microbioma aporten los nutrientes faltantes (Bonnet et al., 2017).

En un estudio realizado por Ben-Yosef et al., (2020) en donde se eliminó *Coxiella* (un componente del microbioma de *R. sanguineus*) mediante la administración del antibiótico ofloxacino, dio como resultado un retraso en el desarrollo de las ninfas y en estadios posteriores.

Otro caso similar fue descrito por Zhong et al., (2007), en donde ninfas repletas y hembras adultas de garrapatas *Amblyomma americanum* tratadas con tetraciclina mostraron una disminución del porcentaje de *Coxiella*, además, el peso de las ninfas y la capacidad de ovoposición fue menor que en las no tratadas, así como también se observó retraso en el tiempo de ovoposición en las garrapatas adultas tratadas.

Otro efecto que puede tener el microbioma en las garrapatas es sobre la adquisición, mantenimiento y transmisión de patógenos (Bonnet et al., 2017). Por ejemplo, se ha observado que el microbioma del intestino de la garrapata *Ixodes scapularis* favorece la supervivencia del patógeno *Borrelia burgdorferi*, En un estudio realizado por Narasimhan et al., (2014) manipularon el microbioma intestinal de *I. scapularis*. Los especímenes criados en condiciones estériles (es decir, evitando la contaminación de bacterias externas) mostraron un mayor peso de ingurgitación y una menor colonización de *Borrelia burgdorferi*, el agente causal de la enfermedad de Lyme, en comparación con las muestras normales.

Así mismo, en un estudio realizado por Neelakanta et al., (2010) observaron un aumento significativo en la expresión de un gen que codifica para una glicoproteína anticongelante denominada IAFGP por sus siglas en inglés "Ixodes antifreeze glycoprotein", cuando las garrapatas *Ixodes scapularis* estaban infectadas con *A. phagocytophilum*, lo cual se asoció con un aumento en la tolerancia al frío extremo y, consecuentemente, en la supervivencia de *I. scapularis*.

Además, un estudio realizado por René-Martellet et al., (2017) en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* provenientes de Francia, Senegal y Arizona encontraron que el microbioma bacteriano estaba constituido principalmente por los géneros, *Coxiella*, *Rickettsia* y *Bacillus* que representaron hasta el 99% de abundancia relativa total, independientemente de poseer genotipos diferentes, géneros y origen geográfico.

Por último, en un estudio realizado por An et al., (2022) se observó un cambio significativo en la composición del microbioma en garrapatas *R. sanguineus* sometidas a estrés por inanición durante 1, 2, 4 y 6 meses, y que estaba compuesto principalmente por los géneros: *Coxiella*, seguida de *Staphylococcus*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Pseudonocardia*, *Lactobacillus*, *Saccharopolyspora*, en donde la única bacteria simbiótica dominante fue *Coxiella spp* la cual disminuyó gradualmente con la prolongación del estrés por inanición.

Además, en el mismo estudio se evaluó el papel de *Coxiella* en el desarrollo y reproducción de *R. sanguineus* mediante la administración de ofloxacina, en donde se observó incremento en los tiempos de alimentación, reducción del peso de ingurgitación y la muerte de hembras adultas sin producir huevos.

## Endosimbiontes bacterianos

Dentro de los microorganismos que componen el microbioma de las garrapatas existe un grupo de bacterias que es único de ellos con los que mantienen una relación simbiótica, que reciben el nombre de endosimbiontes bacterianos (Lopes de Carvalho et al., 2016).

Los endosimbiontes de artrópodos generalmente se transmiten por vía materna, viven dentro de sus células y se cree que no son infecciosos para los vertebrados (Duron et al., 2015).

Todos los insectos que se alimentan de sangre dependen de endosimbiontes bacterianos para proporcionar vitaminas y cofactores necesarios para su supervivencia y que son escasos en la sangre (Smith et al., 2015).

Los mejores ejemplos de endosimbiontes en garrapatas se encuentran en los géneros *Rickettsia*, *Francisella* y *Coxiella*. El endosimbionte más frecuentemente reportado en garrapatas es CLE por sus siglas en inglés “*Coxiella* like endosymbiont” (endosimbionte similar a *Coxiella*) presente en el 60.5% de las especies de garrapatas, entre ellas *Haemaphysalis shimoga*, *H. lagrangei*, *Amblyomma americanum*, *Rhipicephalus sanguineus* y *Rhipicephalus microplus* (Bonnet et al., 2017; Duron et al., 2017; Nooroong et al., 2018).

Todos los genomas de *Coxiella* como endosimbionte estudiados hasta ahora se diferencian de las especies patógenas de *Coxiella* en que tienen un genoma reducido de tamaño debido a la ausencia de genes de virulencia.

Además, conservan algunas vías funcionales para sintetizar vitaminas B, consistentes con un papel de apoyo al huésped (Zhong et al., 2007; Gottlieb et al., 2015; Nardi et al., 2021).

Aunque en la investigación médica el género *Coxiella* se clasifica comúnmente como patógeno para los vertebrados, para las garrapatas actúan como endosimbiontes (Bonnet et al., 2017), que pueden proporcionar nutrientes esenciales ausentes de la fuente de alimento (Zhang et al., 2019). Aunque se carece de una comprensión completa de los mecanismos que hacen que los endosimbiontes promuevan la supervivencia y la fecundidad de las garrapatas (Grey et al., 2018).

Se cree que los endosimbiontes pertenecientes a los géneros de *Rickettsia* alteran la transmisión de otros patógenos rickettsiales, como se observa entre la prevalencia de infección de *R. rickettsii* (patógeno) y *R. peacockii* (simbionte) en *Dermacentor andersoni* a través de un mecanismo que implica la exclusión competitiva, se sugiere que los cambios celulares en los ovarios de garrapatas infectadas con *Rickettsia peacockii* dificultó la multiplicación y transmisión transovárica de *Rickettsia rickettsii*, la infección primaria (*Rickettsia peacockii*) fue responsable de la interferencia o el bloqueo de la infección secundaria (*Rickettsia rickettsii*) (Macaluso et al., 2002). Otros experimentos con *D. andersoni* mostraron además que la densidad de infección de *Anaplasma marginale* se correlacionaba negativamente con la densidad de infección de otro simbionte heredado por vía materna, *Rickettsia belli* (Gall et al., 2016).

Por lo antes mencionado los simbioses pueden ser herramientas útiles para interrumpir el ciclo infeccioso de los patógenos (Stewart y Bloom, 2020).

La alteración del microbioma del vector mediante la eliminación de bacterias clave puede alterar la homeostasis del microbioma de la garrapata lo que podría afectar al rendimiento de las garrapatas y también la capacidad vectorial (Mateos-Hernández et al., 2020).

Comprender las interacciones entre la garrapata y su microbioma es fundamental para desarrollar nuevas estrategias para su control y para prevenir la transmisión de patógenos a los animales y al hombre (Narasimhan y Friking, 2015).

### **Técnicas utilizadas para la identificación del microbioma**

Tradicionalmente, la identificación de patógenos transmitidos por garrapatas se ha llevado a cabo utilizando métodos basados en PCR que se basan en secuencias conocidas para el diseño de cebadores específicos (Cabezas-Cruz et al., 2018).

En estudios más recientes, se ha destacado la importancia de las coinfecciones y la evolución de los patógenos, lo cual impacta tanto en la transmisión de enfermedades como en la gravedad de las mismas. Se han empleado enfoques innovadores, como tecnologías de alto rendimiento, para detectar la presencia de múltiples patógenos (Cabezas-Cruz et al., 2018).

La secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing (NGS)) es un grupo de tecnologías diseñadas para secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN de forma masiva y en paralelo, permite la rápida identificación de microbios a partir de una gran cantidad de muestras. La presencia de genes marcadores estándar y bases de datos de referencia permite además una mejor resolución taxonómica, a menudo a nivel de género o especie. Los ARN ribosómicos de subunidades pequeñas se utilizan con frecuencia para lograr este objetivo, siendo el ARNr 16S el más común debido a la presencia de regiones conservadas y variables dentro del gen, lo que permite la creación de cebadores universales con amplicones únicos para cada especie (Couper y Swei, 2018).

Se pueden aplicar dos tipos de NGS para investigar microbiomas: la secuenciación de amplicones y la secuenciación shotgun (que incluye metagenómica y transcriptómica). Hay nueve regiones hipervariables (V1-V9) del gen bacteriano del ARN ribosómico 16S (16S) que pueden identificarse para identificar taxones bacterianos en estudios de NGS con amplicones 16S, y las regiones V1-V4 se han secuenciado con mayor frecuencia en garrapatas (Couper y Swei, 2018). Las regiones hipervariables de 16S están altamente conservadas entre especies, las regiones V1, V2, y V3 se utilizan ya que proporcionan la estimación más completa de las familias bacterias y la región V4 la mayor diversidad estimada (Sperling et al., 2017).

El uso de NGS para investigar microbiomas presenta ventajas significativas, como su capacidad para identificar más especies únicas que los métodos de cultivo tradicionales y la capacidad de realizar una secuenciación de múltiples muestras en comparación con los métodos no moleculares tradicionales, los cuales tienden a tener una sensibilidad limitada. Asimismo, supera a los enfoques moleculares convencionales ya que la NGS puede manejar eficientemente grandes cantidades de información permitiendo un análisis más detallado (Greay et al., 2018; Wensel et al., 2022).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Tipo de estudio**

Observacional, descriptivo, transversal.

### **Localización del área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Salud Pública Veterinaria del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, de la Universidad Autónoma de Baja California, localizado en el Km. 3.5 Carretera San Felipe. Fracc. Campestre Mexicali, Baja California. México.

### **Origen de la información**

Se colectaron garrapatas removidas de perros, en estadio adulto obtenidas de clínicas veterinarias y centros de control animal de seis municipios de Baja California: Ensenada, Tijuana, Tecate, Mexicali, San Felipe y San Quintín.

### **Duración del estudio**

El periodo de tiempo del estudio abarcó 12 meses, comenzando en agosto del 2022 y terminando en agosto del 2023.

## **Metodología**

### **Colecta de garrapatas**

Se colectaron 30 garrapatas de cada municipio. Las cuales se extrajeron manualmente de acuerdo a la técnica de Huygelen et al., (2017), en la cual se sujeta a la garrapata por sus piezas bucales con pinzas de punta roma lo más cerca de la piel del perro, tirando hacia afuera. Estas garrapatas fueron tomadas de cualquier región corporal de los perros, se transportaron en tubos falcon con etanol al 70% para su conservación hasta su utilización en el laboratorio.

### **Identificación morfológica de las garrapatas**

Las garrapatas colectadas fueron identificadas y clasificadas morfológicamente utilizando un estereoscopio marca Leica MZ125 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), siguiendo la guía descrita por Walker et al., (2003).

De las garrapatas identificadas como *Rhipicephalus sanguineus* se seleccionaron 10 adultas semirepletas de sexo indistinto de cada municipio.

### **Extracción de ADN**

Previamente a la extracción de ADN, las garrapatas fueron lavadas 3 veces con agua destilada y se colocaron 3 horas en agua destilada para remover completamente el etanol y los contaminantes del medio ambiente. Después fueron secadas sobre papel y posteriormente se colocaron dentro de un vial y se diseccionaron con un bisturí en forma de cruz en 4 partes.

Se realizó la extracción individual de cada una de las 10 garrapatas de cada municipio utilizando el kit comercial DNeasy Blood & Tissue QIAGEN, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se evaluó la presencia de ADN mediante electroforesis utilizando un gel de agarosa al 1%. El ADN se almacenó a -20°C hasta su utilización.

Posteriormente se hizo un *pool* de ADN de aproximadamente 150 microlitros por municipio para lo cual se tomaron 15 microlitros de ADN extraído de cada garrapata.

### **Análisis del microbioma**

Los pools de ADN fueron enviados al laboratorio Translational Medicine & Antimicrobial Resistance de la Western University of Health Sciences, en Pomona, California para su análisis mediante secuenciación de nueva generación por Zymo Research Corp.

Zymo Research Corp. realizó la preparación de la biblioteca de muestras y el análisis de datos para el perfil bacteriano y fúngico. Las bibliotecas se prepararon utilizando el kit de preparación de bibliotecas NGS Quick-16S (Cat. Nº D6400, Zymo Research Corp.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, con modificaciones menores.

Para el análisis bacteriano se seleccionó la región 16S rDNA V1-V3, y para el análisis fúngico se seleccionó la región ITS2. Las secuencias de los iniciadores empleados son propiedad del servicio MiDOG LLC (<https://www.midogtest.com>).

Las bibliotecas se secuenciaron utilizando un secuenciador Illumina HiSeq 1500 (Illumina, San Diego, California).

Para cuantificar los datos obtenidos se utilizó la abundancia relativa, la cual se refiere a la proporción de individuos de una especie en relación con el total de individuos de todas las especies presentes en un área determinada (Magurran, 2004). Para este estudio se calculó la abundancia relativa por cada municipio que incluyen bacterias y hongos y posteriormente se calculó de manera individual para bacterias y para hongos por municipio.

### **Variables generadas en este estudio**

Especie bacteriana en abundancia relativa.

Especie fúngica en abundancia relativa.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis descriptivo con valores de frecuencia expresados en porcentajes.

## RESULTADOS

### **Análisis del microbioma en los 6 municipios.**

En los 6 municipios se identificaron diferentes bacterias de 4 filos, 7 clases, 14 órdenes, 22 familias, 24 géneros y 27 especies (Cuadro 3 - Cuadro 6). A nivel de género las bacterias más abundantes fueron *Coxiella* y *Ehrlichia*.

En el reporte de hongos se identificaron 3 filo, 5 clases, 9 órdenes 11 familias 15 géneros y 22 especies (Cuadro 7 - Cuadro 10). A nivel de género el hongo más abundante fue *Cladosporium*.

### **Bacterias identificadas por municipio.**

*Coxiella mudrowiae* se identificó en 5 de los 6 municipios estudiados, siendo más abundante en el municipio de Tijuana (89%), y la única bacteria en común en esos municipios (Cuadro 11).

Además de *Coxiella mudrowiae*, *Ehrlichia canis* se identificó con un porcentaje por arriba del 80% en el municipio de San Felipe, siendo esta la única especie patógena reportada en los resultados (Cuadro 11).

Las demás bacterias fueron reportadas con porcentajes menores al 50%. *Psychrobacter arenosus* fue reportado solo en el municipio de Mexicali con 23% (Cuadro 11). *Rhodococcus sp.* y *Rhodococcus erythropolis* ambas especies se reportaron solo en los municipios de Tijuana y Tecate con porcentajes menores al 20% (Cuadro 11).

Cuadro 3. Filos y clases bacterianos identificados.

Filo	Clase
<i>Actinomycetota</i>	<i>Actinomycetia</i>
<i>Bacillota</i>	<i>Bacilli</i>
<i>Pseudomonadota</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Bacteroidota</i>	<i>Betaproteobacteria</i>
	<i>Alphaproteobacteria</i>
	<i>Flavobacteria</i>
	<i>Bacteroidia</i>

Cuadro 4. Ordenes bacterianos identificados.

Orden	
<i>Pseudomonadales</i>	<i>Geodermatophilales</i>
<i>Burkholderiales</i>	<i>Micrococcales</i>
<i>Hyphomicrobiales</i>	<i>Caulobacterales</i>
<i>Flavobacteriales</i>	<i>Rhodobacterales</i>
<i>Rickettsiales</i>	<i>Propionibacteriales</i>
<i>Mycobacteriales</i>	<i>Xanthomonadales</i>
<i>Bacillales</i>	<i>Legionellales</i>

Cuadro 5. Familias bacterianas identificadas.

Familias	
<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Dietziaceae</i>
<i>Bacillaceae</i>	<i>Anaplasmataceae</i>
<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Brucellaceae</i>
<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Alcaligenaceae</i>
<i>Nocardiaceae</i>	<i>Burkholderiales</i>
<i>Oxalobacteraceae</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Rhodobacteraceae</i>	<i>Moraxellaceae</i>
<i>Caulobacteraceae</i>	<i>Staphylococceae</i>
<i>Intrasporangiaceae</i>	<i>Micrococcaceae</i>
<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Enterococcaeae</i>
<i>Geodermatophilaceae</i>	<i>Bradyrhizobiaceae</i>

Cuadro 6. Géneros y especies bacterianos identificados.

Género	Especie	
<i>Coxiella</i>	<i>mudrowiae</i>	
<i>Psycrobacter</i>	<i>arenosus</i>	
<i>Staphylococcus</i>	<i>pseudoitermedius</i>	
<i>Kocuria</i>	<i>palustris</i>	<i>rosea</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>putida</i>	<i>stutzeri</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>xylooxidans</i>	
<i>Advenella</i>	<i>mimigardefordensis</i>	
<i>Bordetella</i>	<i>petrii</i>	
<i>Pseudochrobactrum</i>	<i>asaccharolyticum</i>	
<i>Ehrlichia</i>	<i>canis</i>	
<i>Dietzia</i>	<i>maris</i>	
<i>Geodermatophilus</i>	<i>poikilotrophus</i>	
<i>Salinimicrobium</i>	<i>solii</i>	
<i>Ornithinimicrobium</i>	<i>pekingense</i>	<i>kibberense</i>
<i>Brevundimonas</i>	<i>naejangsanensis-olei</i>	
<i>Rhodococcus</i>	<i>erythropolis</i>	
<i>Cutibacterium</i>	<i>acnes</i>	
<i>Stenotrophomonas</i>	<i>rhizophila</i>	
<i>Lysinibacillus</i>	<i>xylanilyticus</i>	
<i>Corynebacterium</i>	<i>xerosis</i>	
<i>Leucobacter</i>	<i>alluvii-chromiresi</i>	
<i>Enterococcus</i>	<i>faecium</i>	
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>elkanii-pachyrhizi-tropiciagri</i>	
<i>Paracoccus</i>	<i>aquimaris</i>	

Cuadro 7. Filos y clases de hongos identificados.

Filo	Clase
<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>
<i>Basidiomycota</i>	<i>Malasseziomycetes</i>
<i>Mucoromycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>
	<i>Sordariomycetes</i>
	<i>Tremellomycetes</i>

Cuadro 8. Ordenes de hongos identificados.

Orden
<i>Capnodiales</i>
<i>Pleosporales</i>
<i>Malasseziales</i>
<i>Eurotiales</i>
<i>Hypocreales</i>
<i>Sordariales</i>
<i>Filobasidiales</i>
<i>Mucorales</i>
<i>Erysiphales</i>

Cuadro 9. Familias de hongos identificadas.

---

Familia	
<i>Davidiellaceae</i>	<i>Nectriaceae</i>
<i>Pleosporaceae</i>	<i>Chaetomiaceae</i>
<i>Malasseziaceae</i>	<i>Didymellaceae</i>
<i>Trichocomaceae</i>	<i>Filobasidiaceae</i>
<i>Hypocreaceae</i>	<i>Mucoraceae</i>
<i>Coniochaetaceae</i>	

---

Cuadro 10. Géneros y especies de hongos identificados.

Género	Especie					
<i>Podosphaera</i>	<i>negeri</i>					
<i>Stemphylium</i>	<i>vesicarium</i>					
<i>Mucor</i>	<i>plumbeus</i>	<i>circinelloides</i>				
<i>Naganishia</i>	<i>albida</i>					
<i>Didymella</i>	<i>glomerata</i>					
<i>Fusarium</i>	<i>penzigii</i>	<i>nygamai-</i> <i>thapisinum</i>	<i>brachygibbosum</i>			
<i>Exserohilum</i>						
<i>Penicillium</i>	<i>brevicompactum</i> <i>-kongii</i>					
<i>Coniochaeta</i>	<i>polymorpha</i>					
<i>Aspergillus</i>	<i>flavus</i>					
<i>Malassezia</i>	<i>pachydermatis</i>					
<i>Curvularia</i>	<i>beasleyi-</i> <i>hawaiiensis</i>	<i>buchloes-</i> <i>spicifera-tsudae</i>				
<i>Alternaria</i>						
<i>Toxicocladosporium</i>	<i>rubrigenum</i>					
<i>Cladosporium</i>	<i>aphidis</i>	<i>dominicamun</i>	<i>lignícola-</i> <i>sphaerospermum</i>	<i>langeronii-</i> <i>psychrotol</i> <i>erans</i>	<i>halotolerans-</i> <i>sphaerospermu</i> <i>m</i>	<i>sphaerospermum</i>

Cuadro 11. Abundancia relativa (%) de bacterias por municipio.

Bacterias	Municipio					
	Mexicali	Tecate	Tijuana	Ensenada	San Quintín	San Felipe
<i>Coxiella mudrowiae</i>	40.31	0	89.61	87.54	2.96	10.33
<i>Psychrobacter arenosus</i>	23.10	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	20.38	0	2.15	2.24	37.64	0
<i>Rhodococcus sp.</i>	0	13.78	0.76	0	0	0
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	0	9.6	0.35	0	0	0
<i>Ehrlichia canis</i>	0	0	0	0	0	86.56
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	0	24.95	0	0	0	0
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0	6.05	0	0	0	0

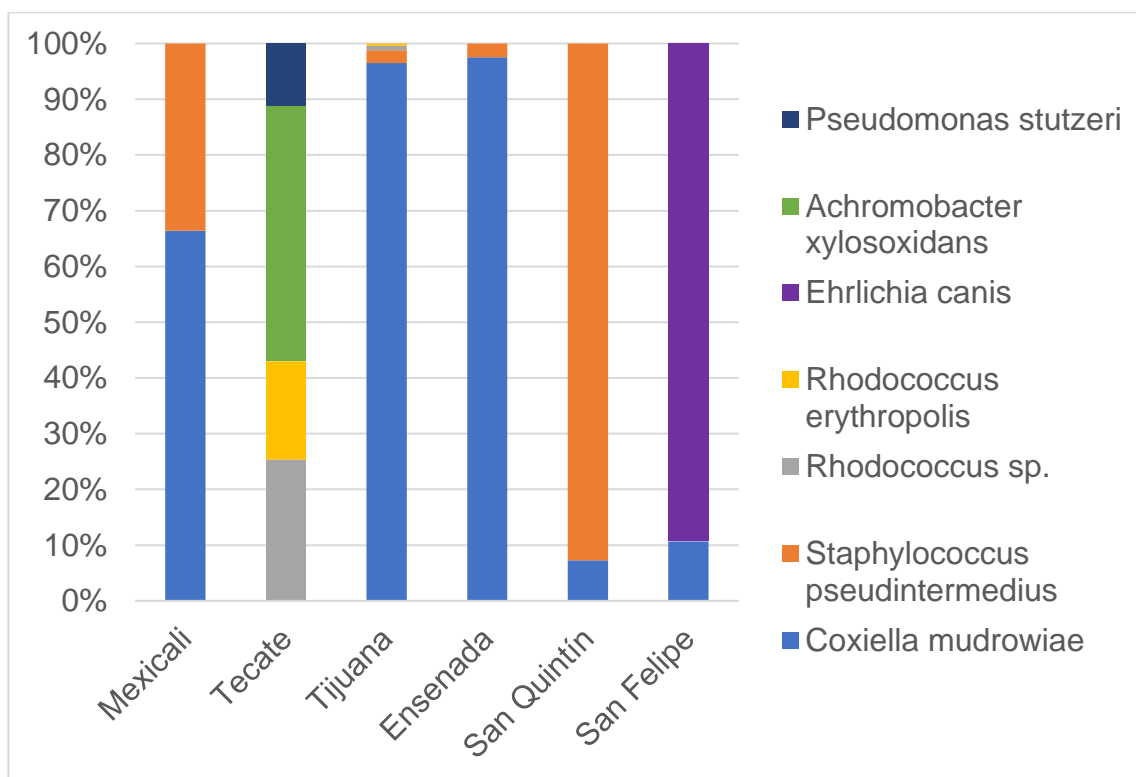


Fig. 2 Abundancia relativa (%) de bacterias por municipio.

*Achromobacter xylosoxidans* fue la bacteria más abundante en el municipio de Tecate con 25%, y solo estuvo presente en este municipio (Cuadro 11).

Las bacterias reportadas en porcentajes menores al 5% fueron: *Leucobacter alluvii-chromiirensis*, *Kocuria palustris*, *Kocuria rosea*, *Kocuria* sp., *Bradyrhizobium elkanii-pachyrhizi-tropiciagri*, *Psychrobacter* sp., *Gammaproteobacteria* sp., *Enterococcus faecium*, *Corynebacterium xerosis*, *Lysinibacillus xylanilyticus*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Cutibacterium acnes*, *Oxalobacteraceae* sp., *Paracoccus aquimaris*, *Brevundimonas naejangsanensis-olei*, *Ornithinimicrobium pekingense*, *Salinimicrobium soli*, *Geodermatophilus poikilotrophus*, *Dietzia maris*, *Flavobacteriaceae* sp., *Pseudochrobactrum asaccharolyticum*, *Bordetella petrii*, *Advenella mimigardefordensis* y *Pseudomonas putida*.

*Kocuria rosea* se reportó solo en los municipios de Ensenada y San Quintín, mientras que el género *Pseudomonas* solo estuvo presente en el municipio de Tecate.

El municipio de Tecate comparte menos especies en común con los otros municipios (Figura 3). Caso contrario el municipio de Ensenada comparte hasta 4 especies bacterianas con los municipios de Mexicali, Tijuana y San Quintín (Figura 4).

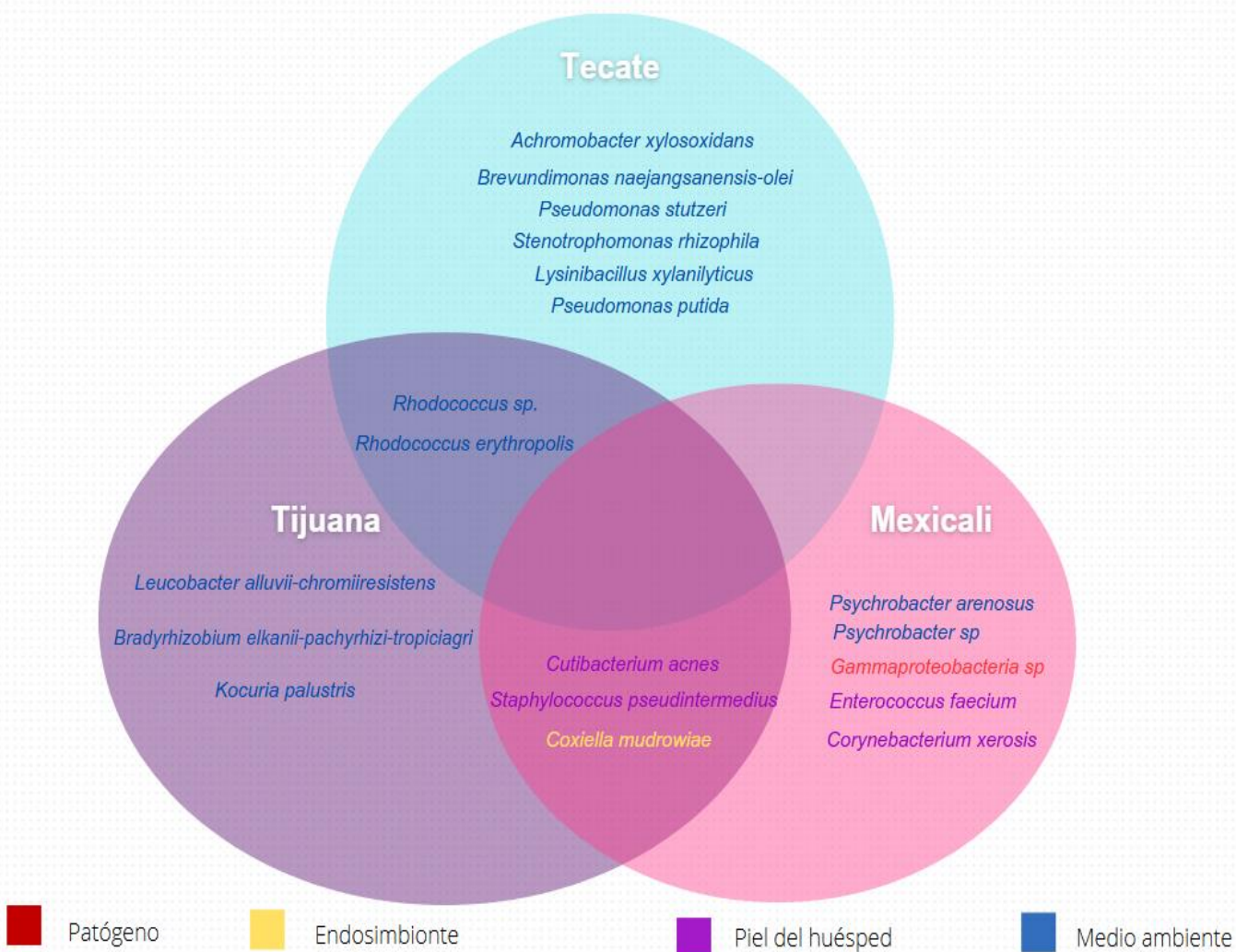


Fig. 3 Bacterias en común entre Tijuana, Tecate y Mexicali.

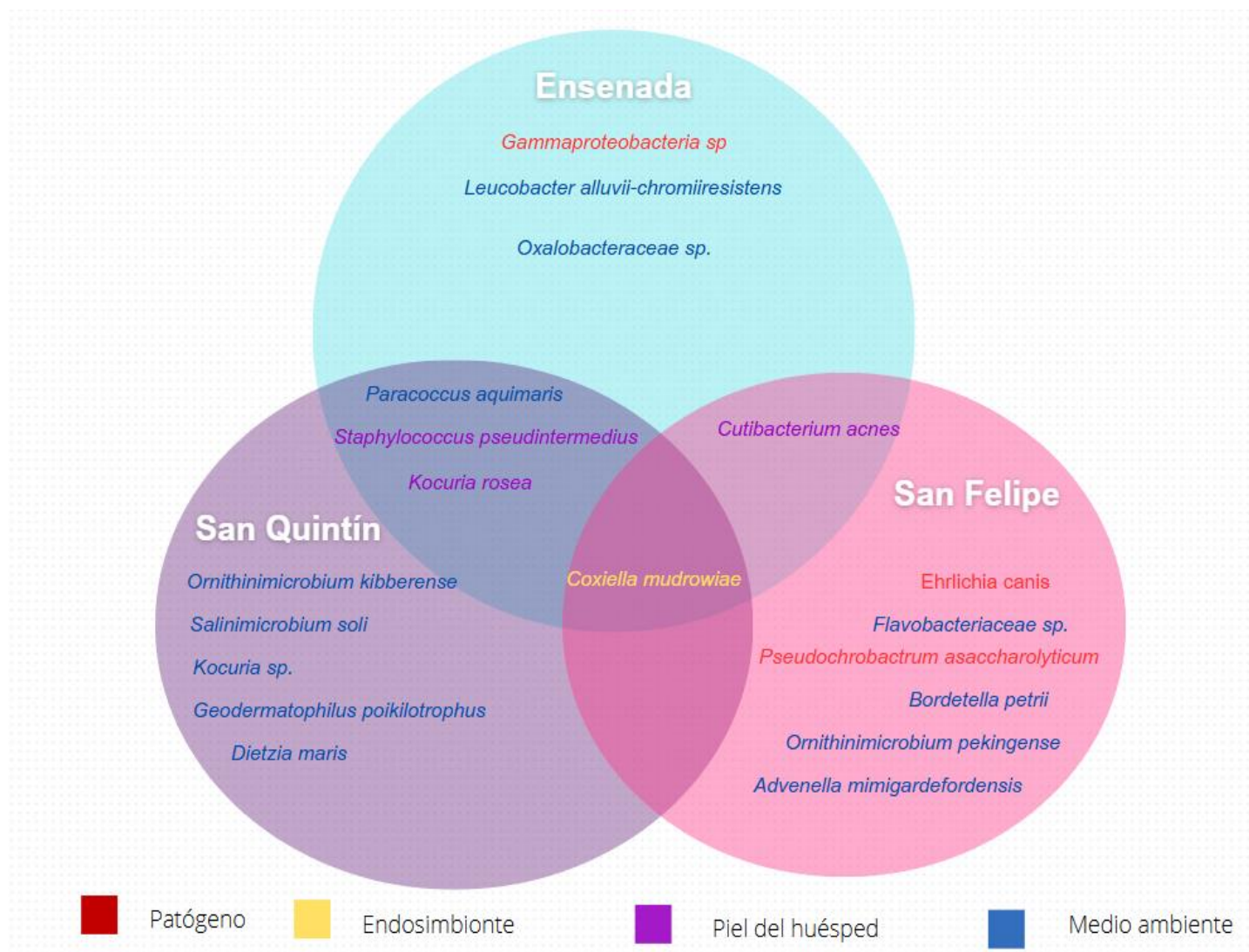


Fig. 4 Bacterias en común entre Ensenada, San Quintín y San Felipe.

Por otro lado, Tijuana, Ensenada y San Felipe son los municipios que muestran una mayor dominancia de especies bacterianas ya que las especies más abundantes se encuentran en un porcentaje mayor al 80%. En Mexicali, Tecate y San Quintín todas las bacterias presentes tienen porcentajes menores al 40.5%.

### **Hongos identificados por municipio.**

*Cladosporium sp.*, fue el género más abundante en el municipio de Ensenada con un 53% y se observó en 5 de los 6 municipios (Cuadro 12). Además, se reportaron 7 especies diferentes de *Cladosporium*, 6 de esas especies estuvieron presentes en San Quintín. Así mismo, *Alternaria sp.* fue reportado en 5 de 6 municipios excepto en Mexicali, obteniendo el mayor porcentaje en San Felipe con 40%.

Los hongos identificados en porcentajes menores al 5% fueron: *Cladosporium dominicanum*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Toxicocladosporium rubrigenum*, *Pleosporales sp.*, *Ascomycota sp.*, *Hypocreales sp.*, *Coniochaeta polymorpha*, *Penicillium brevicompactum-kongii*, *Fusarium nygamai-thapisinum*, *Chateomiaceae*, *Didymella glomerata*, *Sordariomycetes*, *Naganishia albida*, *Mucor circinelloides*, *Stemphylium vesicarium* y *Podospaera negerii*.

*Mucor plumbeus* y *Mucor circinelloides* estuvieron presentes únicamente en el municipio de Tecate. El género *Curvularia* solo se obtuvo en Mexicali y Tijuana.

Cuadro 12. Abundancia relativa (%) de hongos por municipio.

Hongos	Municipio					
	Mexicali	Tecate	Tijuana	Ensenada	San Quintín	San Felipe
<i>Cladosporium sp.</i>	4.79	0	17.99	53	16.51	5.71
<i>Cladosporium aphidis</i>	0	0	0	10.39	3.77	0
<i>Cladosporium halotolerans-sphaerospermum</i>	0	0	0	2.14	37.64	0
<i>Cladosporium lignícola-sphaerospermum</i>	0	0	0	1.82	33.49	0
<i>Cladosporium langeronii-psychrotolerans</i>	0	0	0	0	16.51	0
<i>Alternaria sp</i>	0	3.19	10.43	15.52	9.91	40
<i>Curvularia beasleyi-hawaiiensis</i>	37.23	0	10.79	0	0	0
<i>Curvularia buchloes-spicifera-tsudae</i>	12.77	0	8.27	0	0	0
<i>Malassezia pachydermatis</i>	8.27	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	6.91	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp.</i>	0	18.16	16.55	0	0	0
<i>Exserohilum sp.</i>	0	0	14.39	0	0	0
<i>Fusarium brachygibbosum</i>	0	0	0	0	0	9.05
<i>Fusarium sp.</i>	0	16.26	0	0	0	0
<i>Fusarium penzigii</i>	0	15.47	0	0	0	0
(f) <i>Hypocreaceae sp.</i>	0	8.85	0	0	0	0
<i>Mucor plumbeus</i>	0	26.41	0	0	0	0

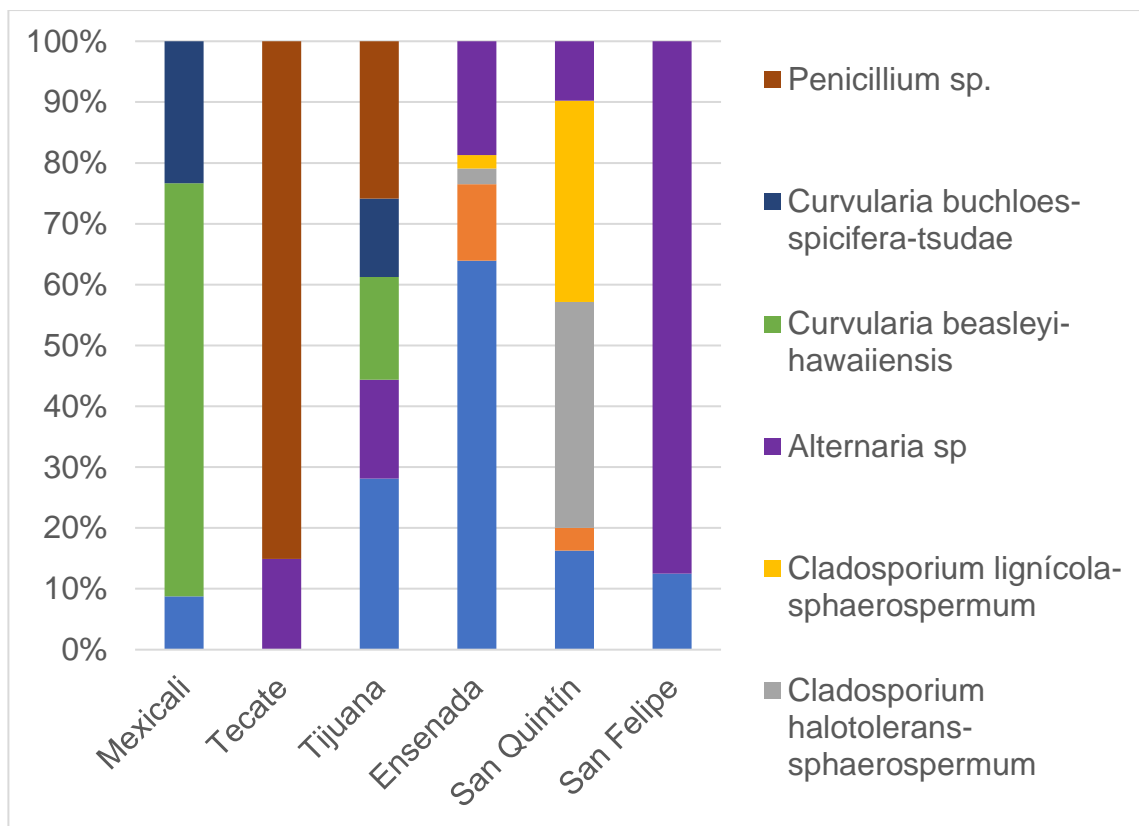


Fig. 5 Abundancia relativa (%) de hongos por municipio.

Se identificaron 4 especies diferentes de *Fusarium*, 2 de ellas presentes en Tecate (*Fusarium sp.* y *Fusarium penzigii*) (Cuadro 12).

Los porcentajes de hongos identificados en todos los municipios fueron menores al 60%, además no se identificó ninguna especie patógena. Ensenada fue el municipio que más especies tenía en común con otros municipios (Figura 6). Tecate no tuvo especies en común con Mexicali (Figura 7).

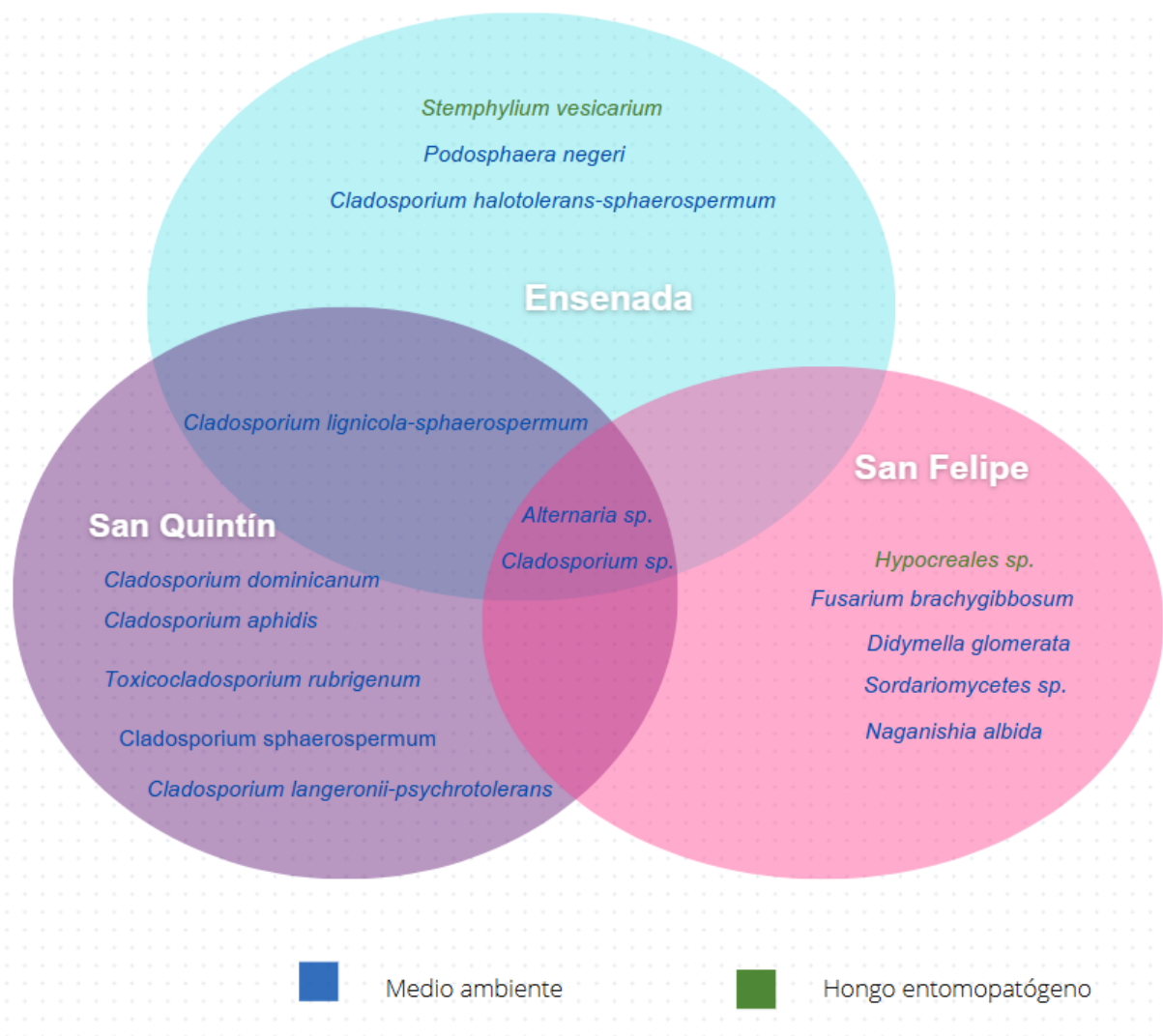


Fig. 6 Hongos en común entre Ensenada, San Quintín y San Felipe.

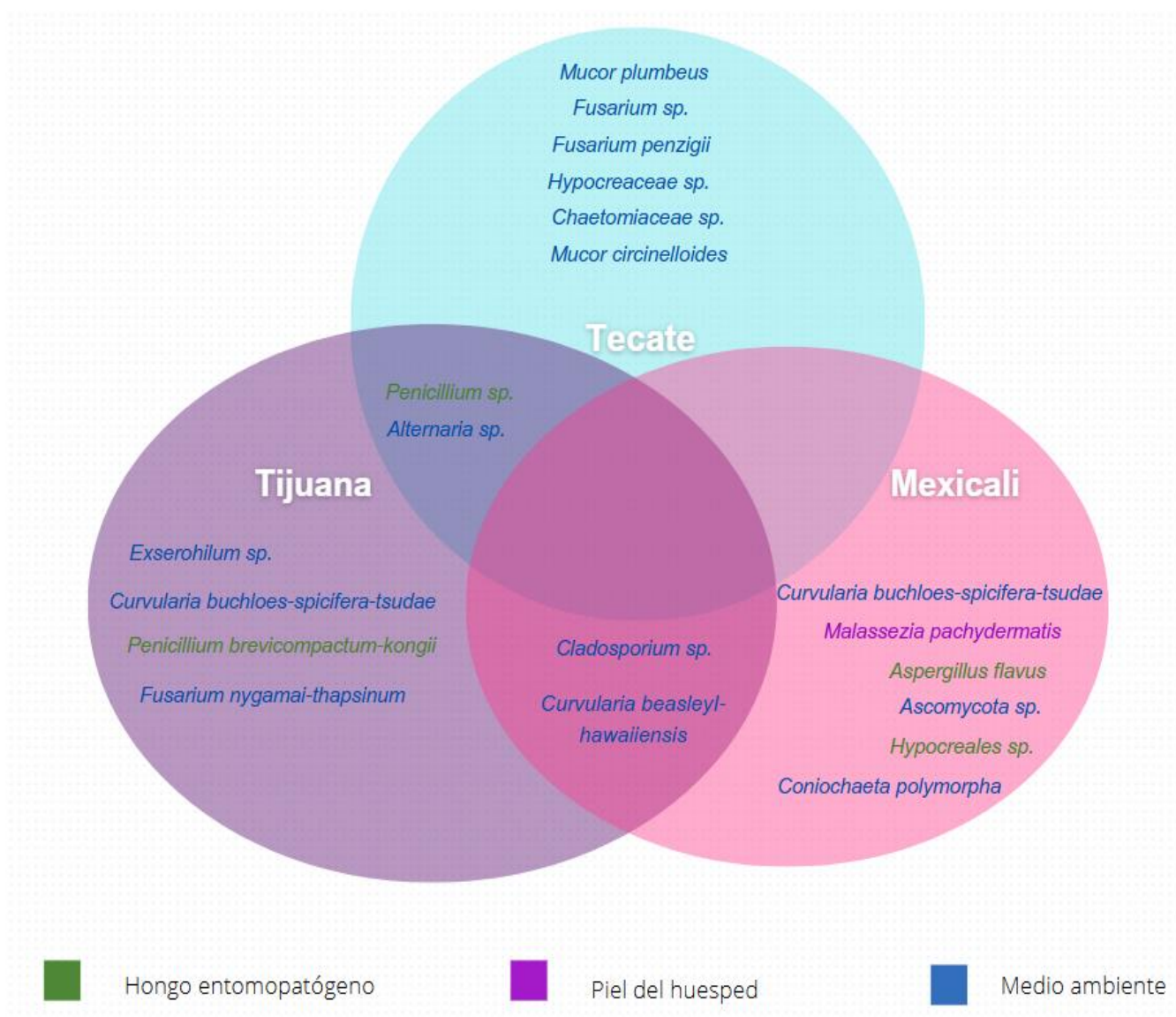


Fig. 7 Hongos en común entre Tecate, Tijuana y Mexicali.

## DISCUSIÓN

En este estudio se identificaron especies bacterianas asociadas a las garrapatas como *Ehrlichia canis* que es causante de la ehrlichiosis monocítica canina, la cual se reconoce como una enfermedad infecciosa importante en los perros que induce cambios clínicos y hematológicos (Ferrolo et al., 2016). *E. canis* solo se identificó en las muestras procedentes del municipio de San Felipe en un porcentaje mayor al 80%. Únicamente el linaje tropical de *Rhipicephalus sanguineus* es vector de *Ehrlichia canis* (Moraes-Filho et al. 2015). Sustentado por Sanches et al., (2018) en *R. sanguineus* de linaje templado fue negativa la presencia de *E. canis*. Aunque el linaje de *R. sanguineus* no fue determinado en el presente estudio Almazán et al., (2023) reporto que *R. sanguineus* de Mexicali pertenecen al linaje tropical.

*Coxiella mudrowiae* fue la especie más predominante reportándose en 5 municipios este resultado coincide con lo reportado por Lalzar et al., (2014) el cual identificó al género *Coxiella* comprendiendo más del 80% de la comunidad bacteriana presente en ovarios y en túbulos de malphigi de hembras y machos de *Rhipicephalus sanguineus*. Esto sugiere que cumple un papel importante en la biología de la garrapata, ya que la presencia de *Coxiella* en los ovarios asegura la transmisión transovárica de la bacteria y proporciona nutrientes esenciales para el desarrollo ovárico (Zhang et al., 2022), y una posible función en el metabolismo del nitrógeno debido a que los túbulos de malphigi son los responsables de la eliminación de desechos nitrogenados (Sonenshine y Roe, 2013).

Así mismo la especie *Coxiella mudrowiae* ha sido previamente identificada en garrapatas *Rhipicephalus turanicus* como endosimbionte por Gottlieb et al., (2015). Este hallazgo fue corroborado por Cotes-Perdomo et al., (2020) el cual reportó la presencia de la especie *Coxiella mudrowiae* en especímenes de *Rhipicephalus sanguineus* de la región caribe de Colombia, la cual está filogenéticamente relacionada con endosimbiontes. *Coxiella mudrowiae* es considerado como un endosimbionte por Tsemenzi et al., (2018) ya que posee un genoma sin genes de virulencia y su genoma cuenta con genes para la síntesis de vitamina B1, B2, B3, B6 y B8 que están ausentes en la estricta dieta a base de sangre que poseen estos artrópodos y que son esenciales para los organismos eucariotas dado que la vitamina B es esencial para el crecimiento y desarrollo celular y participa también en el metabolismo energético (Hodosi et al., 2022).

A pesar de que se colectaron garrapatas de la misma especie y del mismo estadio, en ninguno de los municipios se reportó *Coxiella mudrowiae* en las mismas proporciones. Este hallazgo se puede deber a que *Coxiella* se presenta en una mayor proporción en las garrapatas hembra que en los machos (Broophy et al., 2022), ya que los ovarios contienen el mayor porcentaje de *Coxiella* (Lalzar et al., 2014), debido a que se transmite por vía materna a los ovocitos en desarrollo (Cibichakravarthy et al., 2022). Y debido a que en el presente estudio no se determinó el sexo de las garrapatas colectadas en cada municipio, pudiera ser que en los municipios con mayores porcentajes de *Coxiella mudrowiae* las garrapatas incluidas en el estudio hayan sido en su mayoría hembras y los de

menores porcentajes hayan sido machos esto se relaciona con los hallazgos de Rene-Martellet et al., (2017) quien identificó diferencias en la composición del microbioma de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de distintos linajes, determinó que el linaje tropical estaba asociado con el género *Coxiella* mientras que el género *Rickettsia* prevaleció en garrapatas de linaje templado, a su vez los machos estaban asociados con el género *Bacillus*. Lo que coincide con los hallazgos de este estudio en donde *R. sanguineus* al parecer pertenece al linaje tropical, aunque el sexo de las garrapatas analizadas fue indistinto.

De la misma manera que Krawczyk et al., (2022) observo diferencias en las proporciones de bacterias en *Ixodes ricinus* pertenecientes a los géneros *Rickettsia*, *Midichloria* y *Rickettsiella* de 6 sitios geográficos distintos, además ningún género bacteriano estuvo presente en todas las garrapatas analizadas. Además de que, contrario a lo observado en el presente estudio en donde *Coxiella mudrowiae* se identificó en 5 de los 6 municipios estudiados, *I. ricinus* posee un microbioma variable y ningún endosimbionte bacteriano estuvo presente en el 100% de la población, esto debido a factores como distintos hábitats con una disponibilidad diferente de huéspedes, diferentes bacterias ambientales y asociadas a la piel del huésped que afectan los porcentajes de endosimbiontes.

Con excepción de *Coxiella* y *Ehrlichia* las demás bacterias reportadas fueron identificadas como bacterias de origen ambiental o relacionadas con la piel de vertebrados, las cuales no son reconocidas como patógenos.

Además, en ningún municipio se reportaron las mismas especies bacterianas, existieron diferencias en la conformación del microbioma por municipio.

Así mismo Thapa et al., (2019) identificaron diferencias en el microbioma de garrapatas de *Ixodes scapularis* de acuerdo con el sexo, en donde las garrapatas macho tuvieron un microbioma bacteriano más diverso en comparación con las garrapatas hembra, sin embargo, en este estudio se utilizaron garrapatas de sexo indistinto. De la misma manera Thapa et al., (2018) identificó diferencias en el microbioma de *Ixodes scapularis* de acuerdo con la temperatura ambiental, lo cual pudiera relacionarse con la variabilidad en la abundancia microbiana obtenida en el presente estudio ya que las condiciones ambientales son muy distintas en los 6 municipios de donde se obtuvieron las garrapatas analizadas, por lo que la temperatura ambiental puede afectar la composición del microbioma.

En los municipios de Baja California el clima varía desde mediterráneo en la zona costera hasta árido y seco en la zona del valle interior. En Mexicali se han registrado grandes contrastes térmicos, con temperaturas tan altas como 50°C y en los meses más fríos una temperatura de 12° C, el municipio de Tijuana tiene una temperatura anual entre 9° C y 26° C. Tecate tiene una temperatura media anual de 23°C. Ensenada tiene una temperatura que llega a alcanzar los 25° C, y moderadamente fría, que baja hasta 10° C. San Felipe tiene una temperatura media anual de 24° C y San Quintín una temperatura media anual de 25.5° C (INEGI, 2017).

Las garrapatas de este estudio fueron recolectadas en diferentes meses del año, y de acuerdo a Lalzar et al., (2012) reportaron que el microbioma de garrapatas *R. sanguineus* mostraba diferencias en su composición de acuerdo a la estación del año de recolección, lo cual pudiera explicar en parte la variabilidad en la composición de los microbiomas encontrados en los distintos municipios.

Las bacterias asociadas a la piel del huésped fueron *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Psychrobacter* (László y Lázló, 2014; Portillo et al., 2019; Sakurada 2012; Maldonado-Ruiz et al., 2021; Lagier et al., 2016). Estas bacterias son adquiridas durante la alimentación de la garrapata y se desconoce si son contaminantes o si están genuinamente asociados con el microbioma de la garrapata.

Las bacterias asociadas con el medio ambiente fueron *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Leucobacter*, *Bradyrhizobium*, *Lysinibacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paracoccus*, *Brevundimonas*, *Ornithinimicrobium*, *Salinimicrobium*, *Geodermatophilus*, *Dietzia*, *Bordetella*, *Advenella* (Kim et al., 2018; Saati-Santamaría et al., 2022; Sun et al., 2018; Satsuma et al., 2013; Zeng et al., 2023; Wang et al., 2018; Kim et al., 2015; Huo et al., 2019; Bachran et al., 2019), y no tienen ninguna función en la biología o supervivencia de la garrapata.

Algunos autores reportan que las bacterias patógenas, ambientales y asociadas a la piel del huésped, son muy abundantes y variadas y se le atribuye a la ubicación geográfica y el entorno circundante (Andreotti et al., 2011;

Narasimhan y Frikring, 2015; Hodosi et al., 2022), lo cual coincide con los resultados de este estudio en donde las garrpatas analizadas provenían de distintos entornos geográficos.

De la misma manera, Fryxell et al., (2016) identificaron diferencias en la estructura del microbioma de *Amblyomma americanum* en estadio adulto de diferentes sitios geográficos atribuidas al hábitat ya que las garrpatas pasan la mayor parte de su ciclo de vida fuera del huésped, teniendo la oportunidad de adquirir microorganismos presentes en el medio ambientales, lo cual coincide con el ciclo biológico de *R. sanguineus* en el que el 95% de su vida la pasa en el ambiente y solo accede al huésped a alimentarse por pocos días en cada uno de sus 3 estadios.

En cuanto a los géneros de hongos *Cladosporium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Fusarium*, *Didymella*, *Naganishia*, *Stemphylium*, *Podosphaera* encontrados en este estudio, han sido previamente reportados en el medio ambiente (Salvatore et al., 2021; Dettman y Eggertson, 2021; Iturrieta-González et al., 2020; Coronado et al., 2021; Tan et al., 2022).

Mientras que *Malassezia pachydermatis*, es una levadura presente de manera normal en la piel del perro y con menor frecuencia puede actuar como patógeno cuando existen alteraciones en los mecanismos físicos, químicos o inmunológicos de la piel de los perros (Ortiz et al., 2013).

Así mismo, fueron identificados algunos hongos clasificados como entomopatógenos, *Mucor* y *Penicillium*, similar a lo reportado por Greengarten et

al., (2011) en garrapatas *Ixodes scapularis*. El término entomopatógenos se refiere a los microorganismos capaces de causar una enfermedad al insecto plaga, conduciéndolo a su muerte después de un corto período de incubación (García y González, 2013). Los hongos entomopatógenos invaden las garrapatas en el suelo y la hojarasca donde tiene lugar el desarrollo de las garrapatas.

De la misma manera, *Aspergillus flavus* fue identificado en Mexicali, y esta especie ha sido reportada como un hongo entomopatógeno en garrapatas *Rhipicephalus microplus* por Miranda-Miranda et al., (2011), quienes observaron que aproximadamente el 6% de las hembras repletas de *R. microplus* recolectadas en ganado estaban infectadas y causaban una enfermedad fúngica natural con alta mortalidad para las garrapatas.

Se ha establecido que la capacidad de los hongos para infectar a las garrapatas es específica de cada especie y depende en gran medida de factores climáticos/ambientales como la temperatura y la humedad relativa (Bonnet et al., 2021).

## CONCLUSIONES

La composición del microbioma de *Rhipicephalus sanguineus* de los distintos municipios del Estado de Baja California estuvo conformado por una alta variabilidad de bacterias y hongos, muchos de ellos componentes normales del suelo, piel del huésped, plantas y solo una especie bacteriana patógena.

Se identificó la especie bacteriana *Coxiella burnetii* como un potencial endosimbionte de *R. sanguineus* de esta región del país. Es necesario realizar más estudios para confirmar su papel como endosimbionte de *R. sanguineus* de esta región.

Los hongos identificados en este estudio fueron contaminantes provenientes del medio ambiente, piel del huésped, y solo uno de ellos, *Aspergillus flavus*, identificado como entomopatógeno, por lo que se requieren más estudios para determinar su papel sobre *R. sanguineus*.

La constitución bacteriana y fúngica de *R. sanguineus* fue muy variable entre las garrapatas de los distintos municipios, así como las proporciones de hongos y bacterias fueron muy diferentes en cada uno de ellos.

## LITERATURA CITADA

- Alonso-Díaz M. A., R. I. Rodríguez-Vivas, H. Fragosa-Sánchez y R. Rosario-Cruz. 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch. Med. Vet. 38 (2): 105-113.
- Almazán C., G. Reyes, L. Tinoco-Gracia, V. H. González-Álvarez, Z. Zajac, J. Kulisz, A. Wozniak, A. Cabezas and J. Mosqueda. 2023. Morphological and molecular identification of the brown dog tick in Mexico. Veterinary parasitology. 44: 1-12.
- An, L., B. Bhowmick, D. Liang, P. Suo, C. Liao, J. Zhao and Q. Han. 2022. The microbiota changes of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* under starvation stress. Frontiers in physiology, 13: 932130.
- Alonso-Díaz M. A., R. I. Rodríguez-Vivas, H. Fragosa-Sánchez y R. Rosario-Cruz. 2006. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. Arch. Med. Vet. 38 (2): 105-113.
- Andreotti R., A. A. Pérez de León, S. E. Dowd, F. D. Guerrero, K. G. Bendele, G. A. Scoles. 2011. Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* through tag-encoded pyrosequencing. BMC microbiology. 11(6): 1-11.
- Bachran, M., S. Kluge, M. Lopez-Fernandez, A. Cherkouk. 2019. Microbial diversity in an arid, naturally saline environment. Microbial ecology. 78:494-505.
- Ben-Yosef, M., A. Rot, Mahagna, M., E. Kapri, A. Behar, and Y. Gottlieb. 2020. *Coxiella*-Like Endosymbiont of *Rhipicephalus sanguineus* is required for physiological processes during ontogeny. Frontiers in microbiology. 11: 493.
- Bonnet S. I., F. Binetruy, A. M. Hernández-Jarguín and O. Duron. 2017. The tick microbiome: Why non-pathogenic microorganisms matter in tick biology and pathogen transmission. Front. Cell. Infect. Microbiol. 7: 1-14.
- Bonnet S. I., T. Blisnick, C. A. Khoury and J. Guillot. 2021. Of fungi and ticks: Morphological and molecular characterization of fungal contaminants of a laboratory-reared *Ixodes ricinus* colony. 12: 1-6.
- Broophy M., K. R. Walker, J. E. Adamson and A. Ravenscraft. 2022. Tropical and Temperate Lineages of *Rhipicephalus sanguineus* s.l. Ticks (Acari: Ixodidae) Host Different Strains of *Coxiella*-like Endosymbionts. Journal of medical entomology. 59 (6): 2022-2029.
- Cabezas-Cruz, A., T. Pollet, A. Estrada-Pena, E. Allain, S.I. Bonnet and S. Moutailler, 2018. Handling the microbial complexity associated to ticks.. In: Abubakar, M., Perera, P.K., Ticks and Tick-Borne Pathogens. IntechOpen, London.in: <https://www.intechopen.com/chapters/63526>.

- Cibichakravarthy B., J. A. Oses-Prieto, M. Ben-Yosef, A. L. Burlingame, T. L. Karr and Y. Gottlieb. 2022. Comparative proteomics of *Coxiella* like endosymbionts (CLEs) in the Symbiotic organs of *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Microbiology spectrum*. 10(1):1-11.
- Coronado, L., X. Q. Zhang, D. Dorta, N. Escala, L. Pineda, G. Michelle, E. del Olmo, C. Y. Wang, Y. C. Gu, C. L. Shao and C. Spadafora. 2021. Semisynthesis, Antiplasmodial Activity, and Mechanism of Action Studies of Isocoumarin Derivatives. *J. Nat. Prod.* 84(5): 1434-1441.
- Cotes-Perdomo, A. P., A. Oviedo, and L. R. Castro. 2020. Molecular detection of pathogens in ticks associated with domestic animals from the Colombian Caribbean region. *Experimental & applied acarology*. 82(1):137–150.
- Couper L. and A. Swei. 2018. Tick Microbiome Characterization by Next-Generation 16S rRNA Amplicon Sequencing. *J. Vis. Exp.* 138: 1-10.
- Dantas-Torres F. 2008. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary parasitology*. 152: 173-185.
- Dantas-Torres F. 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & vectors*. 3 (26): 1-11.
- Dantas-Torres F., B. B. Chomel and D. Otranto. 2012. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in parasitology*. 28(10): 437-446.
- Dantas-Torres, F., and D. Otranto. 2015. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. *Veterinary parasitology*. 208(1): 9–13.
- Dettman, J. R. and Q. Eggertson. 2021. Phylogenomic analyses of alternaria section alternaria: A high-resolution, genome-wide study of lineage sorting and gene tree discordance. *Mycologia*. 113 (6): 1218-1232.
- Duron O., V. Noël, K. D. McCoy, M. Bonazzi, K. Sidi-Boumedine, O. Morel, F. Vavre, L. Zenner, E. Jourdain, P. Durand, C. Arnathau, F. Renaud, J. Trape, A. S. Biguezoton, J. Cremaschi, M. Dietrich, E. Léger, A. Appelgren, M. Dupraz, E. Gómez-Díaz, G. Diatta, G. Dayo, H. Adakal, S. Zoungrana, L. Vial and C. Chevillon. 2015. The recent evolution of a maternally-inherited endosymbiont of ticks led to the emergence of the Q fever pathogen, *Coxiella burnetii*. *PLOS Pathogens*. 11(5):1-23.
- Duron, O., F. Binetruy, V. Noël, J. Cremaschi, K.D. McCoy, C. Arnathau, O. Plantard, J. Goolsby, A. A. Pérez de León, D. J. A Heylen, A.R. Van Oosten, Y. Gottlieb, G. Baneth, A. A. Guglielmone, A. Estrada-Peña, M. N. Opara, L. Zenner, F. Vavre and C. Chevillon. 2017. Evolutionary changes

- in symbiont community structure in ticks. *Molecular ecology*, 26(11): 2905–2921.
- Estrada-Peña, A. 2015. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*.34(1): 53–65.
- Ferrolho J., J. Simpson, P. Hawes, E. Zweygarth and L. Bell-Sakyi. 2016. Growth of *Ehrlichia canis*, the causative agent of canine monocytic ehrlichiosis, in vector and non-vector ixodid tick cell lines. *Ticks and tick-borne diseases*. 7:631-637.
- Foley, J., L. Tinoco-Gracia, M. Rodríguez-Lomelí, J. Estrada-Guzmán, M. Fierro, E. Mattar-López, A. Peterson, E. Pascoe, Y. Gonzalez, S. Hori-Oshima, P. A. Armstrong, G. López, M. Jacome-Ibarra, C. D. Paddock and O. E. Zazueta. 2019. Unbiased assessment of abundance of *rhhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks, canine exposure to spotted fever group *rickettsia*, and risk factors in Mexicali, México. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 101(1): 22–32.
- Fryxell, R. T., and J. M. DeBruyn. 2016. The microbiome of ehrlichia-infected and uninfected lone star ticks (*Amblyomma americanum*). *Plos one*.11(1): 0146651.
- Gall, C. A., K. E. Reif, G. A. Scoles, K. L. Mason, M. Mousel, S. M. Noh and K. A. Brayton. 2016. The bacterial microbiome of *Dermacentor andersoni* ticks influences pathogen susceptibility. *The ISME Journal*, 10(8): 1846-1855.
- García-Gutiérrez, C. y M. B. González-Maldonado. 2013. Síntesis sobre el uso de bioinsecticidas y otros agentes de control biológico de plagas en México. *Vedalia*. 14 (1): 35-42.
- Gottlieb, Y., Lalzar, I., and Klasson, L. 2015. Distinctive genome reduction rates revealed by genomic analyses of two coxiella-like endosymbionts in ticks. *Genome biology and evolution*. 7(6):1779–1796.
- Gray, J., F. Dantas-Torres, A. Estrada-Peña and M. Levin. 2013. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks and tick-borne diseases*. 4(3): 171-180.
- Greay, L. T., A. W. Gofton, A. Papparini, U. M. Ryan, C. L. Oskam and P. J. Irwin. 2018. Recent insights into the tick microbiome gained through next-generation sequencing. *Parasit Vectors*. 11(12): 1-14.
- Greengarten, P. J., A. R. Tuininga, S. U. Morath, R. C. Falco, H. Norelus and T. J. Daniels. 2011. Occurrence of soil- and tick-borne fungi and related virulence tests for pathogenicity to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*, 48(2): 337–344.
- Guglielmone A. A. and R. G. Robbins. 2018. *Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) Parasitizing Humans*. 1st ed. Springer. Cham, Suiza. p. 1-7.

- Hodosi, R., M. Kazimirova, and K. Soltys. 2022. What do we know about the microbiome of *I. ricinus*? *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 12: 1-17.
- Hooper L. V. and J. I. Gordon. 2001. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*. 292: 1115-1118.
- Huo, Y., J. P. Kang, J. C. Ahn, D. U. Yang and D. C. Yang. 2019. *Ornithinimicrobium panacihumi* sp. nov., Antagonistic Bacteria Against Root Rot Fungal Pathogens, Isolated from Cultivated Ginseng Soil. *Curr Microbiol*. 76: 22–28.
- Huygelen, V., V. Borra, E. De Buck and P. Vandekerckhove. 2017. Effective methods for tick removal: A systematic review. *Journal of evidence-based medicine*, 10(3): 177–188.
- INEGI. 2017. Anuario Estadístico y Geográfico de Baja California. Instituto Nacional de estadística y geografía, México, DF. P. 423.
- ISESALUD. 2023. Situación epidemiológica de la Rickettsiosis en Baja California.
- Iturrieta-González, I., J. Gené, N. Wiederhold and D. García. 2020. Three new *curvularia* species from clinical and environment sources. *MycKeys*. 68: 1-21.
- Kim, K. and S. S. Lee. 2015. *Paracoccus aquimaris* sp. nov. Isolated from seawater. *Antonie van Leeuwenhoek*. 108: 871-877.
- Kim D., K. Y. Choi, M. Yoo, G. J. Zylstra and E. Kim. 2018. Biotechnological potential of *Rhodococcus* Biodegradative pathways. *J. Microbiol. Biotechnol*. 28(7): 1037-1051.
- Korecka, A., and V. Arulampalam. 2012. The gut microbiome: scourge, sentinel or spectator?. *Journal of oral microbiology*. 4: 10.3402.
- Krawczyk, A. I., L. Röttjers, M. Fonville, K. Takumi, W. Takken, K. Faust, and H. Sprong. 2022. Quantitative microbial population study reveals geographical differences in bacterial symbionts of *Ixodes ricinus*. *Microbiome*. 10(1): 120.
- Lagier, J. C., S. Khelaifia, M. T. Alou, S. Ndongo, N. Dione, P. Hugon, A. Caputo, F. Cadoret, S. I. Traore, E. H. Seck, G. Dubourg, G. Durand, G. Mourembou, E. Guilhot, A. Togo, S. Bellali, D. Bachar, N. Cassir, F. Bittar, J. Delerce, M. Mailhe, D. Ricaboni, M. Bilen, N. P. Nieko, N. M. Badiane, C. Valles, D. Mouelhi, K. Diop, M. Million, D. Musso, J. Abrahao, E. I. Azhar, F. Bibi, M. Yassir, A. Diallo, C. Sokhna, F. Djossou, V. Vitton, C. Robert, J. M. Rolain, B. La Scola, P. E. Fournier, A. Lévassieur and D. Raoult. 2016. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nature Microbiology*. 16203(1): 1-8.

- Lalzar I., S. Harrus, K. Y. Mumcuoglu and Y. Gottlieb. 2012. Composition and seasonal variation of *Rhipicephalus turanicus* and *Rhipicephalus sanguineus* bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (12): 4110-4116.
- Lalzar, I., Y. Friedmann and Y. Gottlieb. 2014. Tissue tropism and vertical transmission of *Coxiella* in *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus turanicus* ticks. *Environmental microbiology*. 16(12): 3657–3668.
- László E. and M. László. 2014. Cultivable internal bacterial flora of ticks isolated in Hungary. *Exp Appl Acarol*. 63: 107-122.
- Lopes de Carvalho I., A. Toledo, C. L. Carvalho, J. F. Barandika, L. B. Respicio-Kingry, C. García-Amil, A. L. García-Pérez, A. S. Olmeda, L. Zé-Zé, J. M. Petersen, P. Anda, M. S. Nuncio and R. Escudero. 2016. *Francisella* species in ticks and animals, Iberian Peninsula. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 7(1): 159-165.
- Macaluso K. R., D. E. Sonenshine, S. M. Ceraul and A. F. Azad. 2002. Rickettsial Infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) Inhibits Transovarial Transmission of a Second Rickettsia. *Journal of medical entomology*. 39 (6): 809-813.
- Magurran A. E. 2004. *Measuring biological diversity*. 1st ed. Blackwell publishing. UK.p. 21-22.
- Maldonado-Ruiz, L. P., Neupane, S., Park, Y., and Zurek, L. 2021. The bacterial community of the lone star tick (*Amblyomma americanum*). *Parasites & vectors*, 14(1): 49.
- Mateos-Hernández L., D. Obregón, J. Maye, J. Borneres, N. Versille, J. de la Fuente, A. Estrada-Peña, A. Hodzic, L. Simo and A. Cabezas-Cruz. 2020. Anti-Tick microbiota vaccine impacts *Ixodes ricinus* performance during Feeding. *Vaccines*, 8(4): 2-17.
- Miranda-Miranda, E., Cossio-Bayugar, R., Martínez-Ibañez, F., Casasanero-Orduña, R., & Folch-Mallol, J. (2012). Natural occurrence of lethal aspergillosis in the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari:Ixodidae). *Parasitology*, 139(2), 259–263.
- Moraes-Filho J., F. S. Krawczak, F. B. Costa, J. F. Soares and M. B. Labruna. 2015. Comparative evaluation of the vector competence of four South American populations of the *Rhipicephalus sanguineus* group for the bacterium *Ehrlichia canis*, the agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. *PLoS ONE* 10(9):1-16.
- Muller G. R. and L. A. Durden. 2002. *Medical and veterinary entomology*. Elsevier Science, USA.

- Narasimhan S., N. Rajeevan, L. Liu, Y. O. Zhao, J. Heisig, J. Pan, R. Eppler-Epstein, K. DePonte, D. Fish and E. Fikrig. 2014. Gut Microbiota of the Tick Vector *Ixodes scapularis* Modulate Colonization of the Lyme Disease Spirochete. *Cell host & microbe*. 15:58-71.
- Narasimhan S., and E. Fikrig. 2015. Tick microbiome: the force within. *Trends in parasitology*.31(7): 315-323.
- Narasimhan S., A. Swei, S. Abouneameh, U. Pal, J. H. F. Pedra and E. Fikrig. 2021. Grappling with the tick microbiome. *Trends in parasitology*. 37(8):722-733.
- Nardi, T., E. Olivieri, E. Kariuki, D. Sasser and M. Castelli. 2021. Sequence of a Coxiella Endosymbiont of the Tick *Amblyomma nuttalli* Suggests a Pattern of Convergent Genome Reduction in the Coxiella Genus. *Genome biology and evolution*. 13(1):253.
- Neelakanta, G., H. Sultana, D. Fish, J. F. Anderson and E. Fikrig. 2010. *Anaplasma phagocytophilum* induces *Ixodes scapularis* ticks to express an antifreeze glycoprotein gene that enhances their survival in the cold. *The Journal of clinical investigation*.120(9): 3179–3190.
- Nooroong P., W. Trinachartvanit, V. Baimai and A. Achantaring. 2018. Phylogenetic studies of bacteria (*Rickettsia*, *Coxiella*, and *Anaplasma*) in *Amblyomma* and *Dermacentor* ticks in Thailand and their co-infection. *Ticks and tick-borne diseases*. 9: 963-971.
- Obaid M. K., N. Islam, A. Alouffi, A. Z. Khan, I. Jr. da Silva Vaz, T. Tanaka, A. Ali. 2022. Acaricides Resistance in Ticks: Selection, Diagnosis, Mechanisms, and Mitigation. *Front Cell Infect Microbiol*. 12:1-20.
- Ortiz, G., M. C. Martínez, A. J. Carrillo-Muñoz y M. J. Payá. 2013. Producción de fosfolipasa y proteinasa en cepas de *Malassezia pachydermatis* aisladas de perros con otitis y sin otitis. *Revista Iberoamericana de micología*. 30 (4): 235-238.
- Portillo, A., Palomar, A. M., de Toro, M., Santibáñez, S., Santibáñez, P. and Oteo, J. A. (2019). Exploring the bacteriome in anthropophilic ticks: To investigate the vectors for diagnosis. *PloS one*, 14:3.
- Quiroz-Castañeda R., H. Aguilar-Díaz, E. Castro-Saines, R. Hernández-Ortiz and I.G-Santoyo. 2021. Avance en el estudio del microbioma de garrapatas: una visión hologenómica en busca de nuevas estrategias para su control. *Revista del Centro de Investigación de la Universidad La Salle*. 14(56):123-136.
- René-Martellet, M., Minard, G., Massot, R., Tran Van, V., Valiente Moro, C., Chabanne, L., and Mavingui, P. 2017. Bacterial microbiota associated with

- Rhipicephalus sanguineus* (s.l.) ticks from France, Senegal and Arizona. *Parasites & vectors*. 10(1): 416.
- Rodríguez V. R. I., M. M. Ojeda C., M. E. Bolio G., J. A. Rosado A. 2019. Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrociencia*. 12 (1): 19-26.
- Saati-Santamaría Z., R. Baroncelli, R. Rivas and P. García-Fraile. 2022. Comparative genomics of the genus *Pseudomonas* reveals host- and environment-specific evolution. *Microbiology spectrum*. 10(6): 1-15.
- Sakurada, A. 2012. *Achromobacter xylosoxidans*. *Revista chilena de infectología*. 29(4): 453-454.
- Salvatore, M. M., A. Andolfi and R. Nicoletti. 2021. The genus *Cladosporium*: A rich source of diverse and bioactive natural compounds. *Molecules*. 26: 1-45.
- Sanches G. S., J. Couto, R. Silva-Pedrosa, J. Ferrolho, A. S. Santos, M. M. Santos-Silva, S. Antunes and A. Domingos. 2018. Molecular heterogeneity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and screening for *Ehrlichia canis* in mainland Portugal. *Ticks and tick-borne diseases*. 9(6):1383-1390.
- Satsuma K., M. Masuda and K. Sato. 2013. A role of *Bradyrhizobium elkanii* and closely related strains in the degradation of methoxychlor in soil and Surface water environments. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 77(11):2222-2227.
- Secretaría de salud pública. 2023. Informe epidemiológico semanal de rickettsiosis, Sonora 2022.
- Smith A. T., T. Driscoll, J. J. Gillespie and R. Raghavan. 2015. A *Coxiella*-like endosymbiont is a potential vitamin source for lone star tick. *Genome Biol Evol*. 7(3): 831-838.
- Sonenshine, D. E., and R. M. Roe. 2014. *Biology of ticks volume 2 (Vol. 2)*. Oxford University Press, USA.
- Sperling J. L., K. L. Silva-Brandao, M. M. Brandao, V. K. Lloyd, S. Dang, C. S. Davis, F. A. H. Sperling and K. E. Magor. 2017. Comparison of bacterial 16S rRNA variable regions for microbiome surveys of ticks. *Ticks and tick-borne diseases*. 8:453-461.
- Sun L., D. Pan, X. Wu, E. Yang, R. Hua and Q. Li. 2018. *Leucobacter triazinivorans* sp. nov., a s-triazine herbicide prometryn-degrading bacterium isolated from sludge. *Int. J. Syst Evol Microbio*. 68:204-210.
- Stewart E. P. and M. E. Bloom. 2020. Sharing the ride: *Ixodes scapularis* symbionts and their interactions. *Front Cell infect Microbiol*. 10(142): 1-12.
- Swei A. and J. Y. Kwan. 2017. Tick microbiome and pathogen acquisition altered by host blood meal. *The ISME journal*. 11:813-816.

- Tan, Y. P., S. L. Bishop-Hurley, R. G. Shivas, D. A. Cowan, G. Maggs-Kölling, S. S. N. Maharachchikumbura, U. Pinruan, K. L. Bransgrove, S. De la Peña-Lastra, E. Larsson, T. Lebel, S. Mahadevakumar, A. Mateos, E. R. Osieck, A. Rigueiro-Rodriguez, S. Sommai, K. Ajithkumar, A. Akulov, F. E. Anderson, F. Arenas, S. Balashov, A. Bañares, D. K. Berger, M. V. Bianchinotti, S. Bien, P. Bilanski, A. G. Boxshall, M. Bradshaw, J. Broadbridge, F. J. S. Calaca, C. Campos-Quiroz, J. Carrasco-Fernandez, J. F. Castro, S. Chaimongkol, S. Chandranayaka, Y. Chen, D. Comben, J. D. W. Dearnaley, A. S. Ferreira-Sá, K. Dhileepan, M. L. Diaz, P. K. Divakar, S. Xavier-Santos, A. Fernandez-Bravo, J. Gené, F. E. Guardia, M. Guerra, S. Gunaseelan, J. Houbraken, K. Janik-Superson, R. Jankowiak, M. Jeppson, Z. Jurjevic, M. Kaliyaperumal, L. A. Kelly, K. Kezo, A. N. Khalid, P. Khamsuntorn, D. Kidanemariam, M. Kiran, E. Lacey, G.J. Langer, L. V. Lopez-Llorca, J. J. Luangsa-ard, P. Lueangjaroenkit, H. T. Lumbsch, J. G. Maciá-Vicente, L. S. Mamatha, T. S. Marney, J. E. Marqués-Gálvez, A. Morte, A. Naseer, A. Navarro-Ródenas, O. Oyedele, S. Peters, S. Piskorski, L. Quijada, G. H. Ramirez, K. Raja, A. Razzaq, V. J. Rico, A. Rodriguez, M. Ruszkiewicz-Michalska, R. M. Sánchez, C. Santelices, A. S. Savitha, M. Serrano, L. Leonardo-Silva, H. Solheim, S. Somrithipol, M. Y. Sreenivasa, H. Stepniewska, D. Strapagiel, T. Taylor, D. Torres-García, J. Vauras, M. Villareal, C. M. Visagie, M. Wolkowycki, W. Yingkunchao, E. Zopora, J. Z. Groenewald, P. M. Crous. 2022. Fungal planet description sheets: 1436-1477. *Persoonia – Molecular Phylogeny and evolution of fungi*. 49: 261-350.
- Thapa S., Y. Zhang and M. S. Allen. 2018. Effects of temperature on bacterial microbiome composition in *Ixodes scapularis* ticks. *Microbiology open*. 8 (5): 1-13.
- Thapa S., Y. Zhang and M. S. Allen. 2019. Bacterial microbiomes of *Ixodes scapularis* ticks collected from Massachusetts and Texas, USA. *BMC microbiology*. 19: 138.
- Tinoco-Gracia L., M. Jácome-Ibarra, R.E. Mattar-López, C. A. Flores-Dueñas, J. A. Guzmán-Trejo, P.J. Gómez-Castellanos, A. Escárcega-Ávila, y E.R. Montaña-Márquez. 2015. Actualidad de la riquetsiosis en México. *Revista Biomédica Supl* 1:19-24.
- Tsementzi, D., J. Castro Gordillo, M. Mahagna, Y. Gottlieb and K. T. Konstantinidis. 2018. Comparison of closely related, uncultivated *Coxiella* tick endosymbiont population genomes reveals clues about the mechanisms of symbiosis. *Environmental microbiology*. 20(5): 1751–1764.
- Walker, A.R., A. Bouattour, J. L. Camicas, A. Estrada-Peña, I.G. Horak, A. A Latif, R. G. Pegram and P. M. Preston. 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. *Bioscience Reports*, Edinburgh Scotland,U.K. P. 202-205.

- Wang, Y., T. He, Z. Shen and C. Wu. 2018. Antimicrobial Resistance in *Stenotrophomonas* spp. *Microbiol Spectrum*. 6(1): 1-14.
- Wang S., X. Hua and L. Cui. 2021. Characterization of microbiota diversity of engorged ticks collected from dogs in China. *J Vet Sci*. 22(3): 1-14.
- Wensel C. R., J. L. Pluznick, S. L. Salzberg and C. L. Sears. 2022. Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. *The journal of clinical investigation*. 132(7): 1-12.
- Wu Chuang, A., A. Hodzic, L. Mateos-Hernández, A. Estrada-Peña, D. Obregón, A. and Cabezas-Cruz. 2021. Current debates and advances in tick microbiome research. *Current Research in Parasitology and Vector-Borne Diseases* 1: 2-11.
- Zeng Z., W. Yue, C. Kined, B. Raciheon, J. Liu and X. Chen. 2023. Effect of *Lysinibacillus* isolated from environment on probiotic properties and gut microbiota in mice. *Ecotoxicology and environmental safety*. 258: 1-14.
- Zhang Y.K. and J. Z. Liu. 2019. Maternally inherited symbiotic bacteria in ticks: incidence and biological importance. *Systematic and applied acarology*. 24(1): 158-179.
- Zhang X., S. Li, K. Chen, C. Yang, X. Zhou, J. Liu and Y. Zhang. 2022. Growth dynamics and tissue localization of a *Coxiella*-like endosymbiont in the tick *Haemaphysalis longicornis*. *Ticks and tick-borne diseases*. 13: 1-8.
- Zhong, J., A. Jasinskas, A., and A. G. Barbour. 2007. Antibiotic treatment of the tick vector *Amblyomma americanum* reduced reproductive fitness. *PloS one*, 2(5): 1-7.