

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



**"PREVALENCIA, FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS Y EVIDENCIA  
MOLECULAR DE RIQUETSIOSIS (*Rickettsia rickettsii*) EN PERROS DE SAN  
LUIS RÍO COLORADO, SONORA, MÉXICO"**

**TESIS:**

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

**PRESENTA:**

M.V.Z. EMMA ROSA MONTAÑO MÁRQUEZ

**DIRECTOR DE TESIS**

DR. LUIS TINOCO GRACIA

**ASESORES:**

DR. GILBERTO LOPEZ VALENCIA  
DR. ALBERTO BARRERAS SERRANO  
DRA. ALMA ROSSANA TAMAYO SOSA  
MC. RAMON VALENZUELA PADILLA

**MEXICALI, BAJA CALIFORNIA MEXICO**

**AGOSTO 2016**

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	pag.
1 Prevalencia de rickettsiosis en perros por zona en San Luis Río Colorado Son.....	28
2 Factores de riesgo asociados a la positividad a <i>R. rickettsii</i> en perros con propietario de la zona urbana.....	29
3. Magnitud de asociación entre los casos de garrapatas y la zona de origen de perros capturados.....	30
4. Prevalencia de rickettsiosis en garrapatas por zona en San Luis Río Colorado Son.....	30

## RESUMEN

Se realizó un estudio descriptivo seccional cruzado para estimar la prevalencia de riquetsiosis en el Municipio de San Luis Río Colorado, Sonora, el cual incluyó perros de tres diferentes procedencias: zona urbana con y sin propietario y la zona rural. La muestra fue colectada aleatoriamente sin reemplazo, en total fueron 246 perros pertenecientes a cada grupo. La presencia de *R. rickettsii* en perros fue a partir de los resultados de PCR en perros y en garrapatas, utilizando un fragmento del gen codificante de la citrato sintasa *gltA*. La prevalencia de riquetsiosis en perros con propietario de la zona urbana fue de 12.03%, en perros de la zona urbana en condición de calle fue de 17.44%, y en perros de la zona rural fue de 16.41%, La prevalencia de riquetsiosis en garrapatas de los perros de la zona urbana con propietario fue de 65.88%, en garrapatas de los perros de la zona urbana en condición de calle fue de 63.16%, y en garrapatas de perros de la zona rural fue del 46.24%, Los factores de riesgo asociados fueron perros con acceso con OR de 2.96, y viviendas que tenían escombro de 12.95. La asociación de riquetsiosis con la presencia de garrapatas fue significativa en las 3 poblaciones con un OR de 2.62. La identificación molecular de la bacteria mostró una similitud con *R. rickettsii* del 99% en las secuencias registradas en GenBank.

## ABSTRAC

A cross sectional descriptive study was conducted to estimate the prevalence of rickettsiosis in the municipality of San Luis Río Colorado, Sonora, which included dogs from three different origins: with and without owner and the rural area urban area. The sample was collected randomly without replacement, in total were 246 dogs belonging to each group. The presence of *r. rickettsii* in dogs was based on the results of PCR in dogs and ticks, using a fragment of the coding gene for citrate synthase *gltA*. The prevalence of rickettsiosis in dogs with owner of the urban area was 12.03% in dogs in the area urban condition of street was 17.44%, and in rural dogs was 16.41%, the prevalence of rickettsiosis in ticks from dogs from the urban area with owner was 65.88%, in ticks from dogs in the area urban condition of street was 63.16% , and in ticks from dogs of the countryside was the 46.24%, risk factors associated were dogs with 2.96 OR access, and housing which had 12.95 rubble. The Association of rickettsiosis with the presence of ticks was significant in 3 populations with an OR of 2.62. The molecular identification of the bacterium showed a similarity with *r. rickettsii* 99% recorded in GenBank sequences.

# CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	ii
AGRADECIMIENTOS ESPECIALES.....	iii
LISTA DE CUADROS .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES.....	2
JUSTIFICACION.....	3
OBJETIVOS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
RIQUETSIOSIS.....	5
Etiología.....	5
Patogénesis.....	6
Lesiones.....	6
Manifestaciones clínicas.....	7
Métodos de diagnóstico.....	7
Epidemiología.....	13
Importancia zoonótica.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
RESULTADOS .....	28
DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	34
ANEXO.....	36
LITERATURA CITADA.....	46



# INTRODUCCIÓN

Las riquetsiosis pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas transmitidas por garrapatas son causadas por bacterias intracelulares obligadas pertenecientes género *Rickettsia*. Esta enfermedad zoonótica es transmitida por garrapatas, la cual ha sido asociada a estas desde principios del siglo XX, (McNaught 1911, Ricketts 1909) y en los últimos 25 años, el alcance y la importancia de estas riquetsias asociada a las garrapatas han aumentado, debido a la estrecha relación entre animales domésticos y humanos, haciendo de este complejo de enfermedades un paradigma ideal para la comprensión de las infecciones emergentes y reemergentes, siendo considerada un problema de salud pública.

El diagnóstico temprano de la enfermedad, es importante para poder ofrecer un tratamiento oportuno, ya que es probable que se estén presentando casos de riquetsiosis en humanos y estos estén siendo sub-diagnosticados, por esto surge la inquietud de gobierno del municipio de San Luis Río Colorado Sonora por conocer la prevalencia de la enfermedad en perro, ya que estos actúan como centinelas.

Cabe destacar que la ciudad de San Luis Río Colorado Sonora colinda con los estados de Baja California México, y Arizona EEUU, donde se han presentado diversos casos de riquetsiosis tanto en perros como en humanos, Además de los casos registrados en el mismo estado (Hermosillo) por lo tanto el objetivo de este trabajo fue **estimar la prevalencia y factores de riesgo para riquetsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en perros y garrapatas del municipio de San Luis Río Colorado, Sonora.**

## ANTECEDENTES

La fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR) es causada por *Rickettsia rickettsii*, bacteria intracelular obligada, asociada a artrópodos y capaz de infectar a vertebrados, incluyendo los humanos, generalmente como huéspedes accidentales. Son organismo cortos, de forma cocobacilar, gram negativos de 0.8-2.0  $\mu\text{m}$  de longitud y 0.3-0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro (La Scola and Raoult, 1997).

En los Estados Unidos de América, los principales vectores de esta enfermedad son *Dermacentor andersoni* en las Montañas Rocosas, *Dermacentor variabilis*, en el este, en la costa Atlántica y en la costa oeste. En México, los principales vectores son *Rhipicephalus sanguineus* y *Amblyomma americanum*, así como en Centro y Sudamérica (La Scola and Raoult, 1997).

La mayoría de los perros (59.6%) de la ciudad de Mexicali, colindante de San Luis Río Colorado, Sonora, han sido parasitados por garrapatas, encontrándose únicamente *R. sanguineus* como vector (Tinoco-Gracia et al., 2009).

Los factores de riesgo en humanos asociados a este parasitismo incluyen tener perro, la presencia de perros infestados en el interior del domicilio y alto nivel de infestación del medio ambiente. (Dantas-Torres 2006)

Esta rickettsia causa una vasculitis, produciendo eritema o petequias. La vasculitis ocurrida en órganos, por ejemplo en el cerebro o pulmones pueden conllevar a complicaciones poniendo en peligro la vida de humanos (Silverman, 1984).

La FMMR es una enfermedad aguda con un periodo de incubación de 3-10 días, que inicia después de una mordedura de garrapata o de una exposición accidental en el laboratorio por inhalación con rickettsias. Los síntomas primarios de FMMR son muy inespecíficos; incluyen fiebre alta, dolor de cabeza severo y dolor muscular; pueden a menudo ser acompañados por náusea, vómito, dolor abdominal y tos (Eremeeva et al., 2001).

La mortalidad por esta enfermedad puede ser hasta 30% en pacientes no tratados a tiempo con antibióticos (Walker, 1995).

El pronto diagnóstico de esta enfermedad rickettsial es importante para ofrecer oportunamente el tratamiento con antibióticos eficaz. Tradicionalmente, el diagnóstico de esta enfermedad se basa en pruebas serológicas, de éstas, el análisis de microinmunofluorescencia indirecta ha resultado ser el más sensible y específico, pero generalmente no arroja resultados positivos en casos agudos. El cultivo bacteriano se puede utilizar para el diagnóstico, ya que es muy sensible, pero puede requerir hasta 60 días para dar un resultado positivo, limitando su utilidad clínica. Desde finales de los 80's, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que sirve para detectar el ácido nucleico rickettsial, ha estado disponible como un método de diagnóstico rápido y confiable. Los oligonucleótidos que se han utilizado para el diagnóstico de FMMR son para la amplificación de un segmento de los genes: 17-kDa, citrato sintasa (gltA) y OmpA de la rickettsia (Kim et al., 2006; Labruna et al., 2004; Stenos et al., 2005; Tzianabos et al., 1989).

## **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO GENERAL**

Considerando que los perros actúan como centinelas de rickettsiosis en humanos y en vista de la importancia zoonótica de esta enfermedad y a que se han presentado casos en humanos e incluso dos defunciones en San Luis Río Colorado, Sonora, el objetivo de este trabajo es estimar la prevalencia y medir su asociación a factores de riesgo para rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en perros del municipio de San Luis Río Colorado, Sonora.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar la prevalencia de rickettsiosis (*R. rickettsii*) en perro de San Luis Río Colorado, Sonora, y determinar los factores de riesgo asociados a su presencia. La presencia de *R. rickettsii* se estimara en perros a partir de los resultados obtenidos mediante el analisis de sangre de las muestras mediante PCR, En garrapatas será a través de PCR de sus tejidos (Belperron y Bockenstedt, 2001; Piesman et al., 2001).

Estimar la prevalencia de infestación por garrapatas en perros del Municipio de San Luis Río Colorado Sonora realizando Identificación taxonómica de las garrapatas que se encuentren en dicho perros, la cual se realizara bajo observación estereoscópica (Quiroz, 1999)

Diagnóstico de *R. rickettsii*, en las garrapatas encontradas, se llevará a cabo aplicando la técnica de PCR (Thomas et al., 2001).

## REVISION DE LITERATURA

### Definición de rickettsiosis

La rickettsiosis o fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR) es una enfermedad causada por *R. rickettsii*, bacteria gram negativa intracelular obligada con medidas de 0.8-2.0  $\mu\text{m}$  por 0.3-.05  $\mu\text{m}$ . Estas bacterias se relacionan a artrópodos, y son capaces de infectar a vertebrados, incluyendo los humanos, generalmente como huéspedes accidentales (La Scola y Raoult, 1997).

La incidencia de enfermedades causadas por rickettsias transmitida por garrapatas en el sureste de los Estados Unidos ha ido en aumento a través de la última década, y las expansiones de rango de especies de garrapatas y agentes infecciosos transmitidas por garrapatas, antiguos y recientes, se ha traducido en una mezcla de vectores y patógenos (Sheetz et al., 2014)

Las garrapatas son conocidas por transmitir agentes microbianos que causan enfermedades en los seres humanos y animales. Entre ellos se encuentran miembros de las rickettsiales orden alfa- Proteobacteria, que incluyen los géneros *Rickettsia* y *Ehrlichia* (Lo N et al., 2004).

Debido a seroprevalencias, mayores de 60% en áreas endémicas (Tinoco-Gracia et al., 2009a) la dificultad del diagnóstico clínico y la falta de una prueba diagnóstica sensible y específica ampliamente disponible durante la etapa aguda de la enfermedad, resulta potencialmente fatal (Sheetz et al., 2014). Así como a la falta de capacitación del personal de salud, ya que muchas veces no consideran la posibilidad de Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (FMMR) en pacientes que presentan cuadros febriles persistentes, diversas fallas sistémicas, y exposición a garrapatas (Walker, 2002)

## **Patogénesis**

El primer componente para que una riquétsia pueda ser patógena es que la bacteria tiene que ser transmitida a través de la mordedura de la garrapata (Parola et al., 2005). Esta riquétsia causa vasculitis, produciendo eritema o petequias. La vasculitis ocurrida en órganos, por ejemplo en el cerebro o pulmones pueden poner en peligro la vida de humanos (Silverman, 1984). La FMMR es una enfermedad aguda con un periodo de incubación de 3-10 días, que inicia después de una mordedura de garrapata o de una exposición accidental en el laboratorio por inhalación con riquétsias. Los síntomas primarios de FMMR son muy inespecíficos; incluyen fiebre alta, dolor de cabeza severo y dolor muscular; pueden a menudo ser acompañados por náusea, vómito, dolor abdominal y tos (Eremeeva et al., 2001).

La mortalidad por esta enfermedad puede ser hasta el 30% en pacientes no tratados a tiempo con antibióticos (Walker, 1995)

El diagnóstico temprano de esta enfermedad riquétsial es importante para ofrecer oportunamente el tratamiento con antibióticos eficaz (Alcantar-Curiel et al., 2014).

## **Lesiones**

Algunos casos raros se presentan sin una erupción cutánea, y se les conoce como "impecable". Este hecho es importante; aunque las tasas de mortalidad de FMMR, son bajas y varían generalmente de 0 % a 3 %, la ausencia de erupción cutánea por lo general conduce a un retraso en el diagnóstico y, por lo tanto, un aumento en las tasas de morbilidad y mortalidad. Necrosis de los dedos es una de las complicaciones de la FMMR, que en ocasiones se ha informado en la literatura. Sin embargo, hay muy pocos estudios con respecto a cambios morfológicos observados en las lesiones necróticas cutáneas, los

principales cambios morfológicos incluyen áreas de degeneración del colágeno en la dermis papilar, glándulas ecrinas (sudoríparas) necróticas y colágeno hipodérmica con un aspecto homogéneo manchada (Fernández et al., 2014).

### **Sintomatología**

Los síntomas primarios de FMMR en humanos son muy inespecíficos, incluyen fiebre alta, dolor de cabeza severo y dolor muscular; pueden a menudo ser acompañados por náusea, vómito, exantema, dolor abdominal, desórdenes respiratorios y coagulopatías (Eremeeva et al., 2001). Sin embargo estos hallazgos son difíciles de diferenciar de algunos que se presentan en las infecciones virales (Dirk y Elson, 2005). La mayoría de los pacientes no presenta la clásica triada que corresponde a fiebre, exantema e historia de mordedura de garrapata al inicio, frecuentemente el exantema aparece días después del inicio de la fiebre y puede volverse petequeal como lo reporta el Centro de control y prevención de enfermedades en Estados Unidos (CDC., 2003). El exantema característico que aparece al cuarto día, se inicia en muñecas y tobillo, se extiende a todo el cuerpo y tiende a desaparecer a medida que baja la fiebre, pero puede dejar manchas pigmentadas durante semanas, al principio de máculas rosas, que palidecen por presión y que en dos o tres días se tornan rojo oscuro o violáceas, estas lesiones posteriormente se convierten en lesiones petequeales. En cuadros más avanzados suele presentarse pulso débil, hipotensión y obnubilación. También hepatomegalia y sordera transitoria. Uno de los hallazgos característicos en el hemograma es plaquetas bajas, y con un periodo de convalecencia prolongada (Walker y Yu, 2005).

### **Métodos de diagnóstico**

El uso de herramientas moleculares durante los últimos 15 años ha llevado al descubrimiento de diferentes especies y genotipos de riquetsias, lo que sugiere

una revisión y reclasificación de *Rickettsia* spp. dentro de este grupos.(Labruna et al., 2007)

Una serie de metodologías de prueba están disponibles en el laboratorio clínico para ayudar en el diagnóstico, clasificación y manejo de las enfermedades transmitidas por garrapatas. Estos métodos incluyen la microscopía óptica para la detección de microorganismos en los tejidos o la sangre periférica, la medición de las respuestas de anticuerpos específicos, aislamiento en cultivo, y ensayos moleculares.

Dadas las diferencias en la distribución geográfica y la prevalencia de patógenos transmitidos por garrapatas, no ha sido posible aplicar un solo algoritmo de prueba que se puede utilizar universalmente para el diagnóstico de laboratorio de las infecciones transmitidas por garrapatas. Sin embargo, la consideración de las características de la enfermedad de una manera secuencial puede ayudar a estrechar el diagnóstico diferencial y efectivamente orientar el diagnóstico y el tratamiento de laboratorio ( [Swanson](#) 2006).

El diagnóstico de esta enfermedad es difícil de realizar en etapas tempranas. Actualmente se conocen métodos moleculares siendo estos los más confiables que usualmente se utilizan como pruebas confirmatorias. También existen las pruebas serológicas que son las más comúnmente utilizadas para estudios epidemiológicos de enfermedades rickettsiales dentro de éstas se destacan las siguientes: fijación de complemento, hemoaglutinación indirecta, aglutinación latex, ELISA, inmunoperoxidasa, ensayo de inmunoblot e inmunofluorescencia. El cultivo celular fue uno de los primeros métodos de diagnóstico, en la actualidad se realiza para otros fines de investigación, y el método de diagnóstico de elección dependerá del objetivo del mismo (Parola et al., 2001)

### ***Pruebas serológicas***

Para la mayoría de las infecciones transmitidas por garrapatas, el diagnóstico de laboratorio se hace a menudo por la detección de anticuerpos IgM

en muestras obtenidas durante la enfermedad aguda o mediante la observación de un aumento en los títulos de anticuerpos IgG entre las muestras agudas - y la fase de convalecencia tomadas de 10 a 14 días de diferencia. Una ventaja significativa de este enfoque es que las pruebas serológicas están ampliamente disponible. Cuando se busca la confirmación de laboratorio de una enfermedad transmitida por garrapatas, los profesionales sanitarios deben utilizar un laboratorio autorizado que emplee estricto control de calidad y con experiencia en pruebas de anticuerpos; dentro de estas se describen ELISA e IFA (Swanson et al., 2006). ELISA es útil para el diagnóstico de *Rickettsia* spp. y esta técnica es utilizada en estudios epidemiológicos (Kováčová y Kazár, 2000), se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción (Anaya et al., 2007).

Al igual que otras pruebas estas tienen ventajas y desventaja, como en el caso de ELISA que los anticuerpos pueden persistir durante intervalos variables después de que el patógeno se elimina inmunológicamente o terapéuticamente, es por esto que la serología no confirma infección activa o persistente en el paciente, lo cual es una desventaja de diagnóstico. Sin embargo, la serología se puede utilizar para confirmar de forma retrospectiva infección reciente, mediante la demostración de la seroconversión, pudiendo presentarse falsos positivos con esta prueba. Otra limitación es la disminución de la especificidad, debido a la reactividad cruzada de anticuerpos. Sin embargo, la reactividad cruzada entre *Anaplasma*, *Bartonella*, *Ehrlichia*, y géneros *Rickettsia* en perros parece ser muy poco probable, ya que los perros infectados experimentalmente, con estos patógenos desarrollan anticuerpos muy específicos que no tienen reacciones cruzadas entre los géneros. (Maggi et al., 2014)

IFA (Inmunofluorescencia indirecta) es la prueba “estándar de oro” de las pruebas serológicas, la más utilizada para el diagnóstico en humanos y animales desde los años 70 permite detectar anticuerpos IgG, IgM o ambas (Newhouse et al., 1979). Los anticuerpos de clase IgM pueden ser detectados a partir de la

primera semana de fase aguda de la enfermedad, a la tercera semana se observa el pico más alto de anticuerpos, estos disminuyen a la semana 16 y son detectables hasta la semana 33.

Los anticuerpos IgG son detectables a la primera semana pero con menor intensidad que los anticuerpos IgM, el pico más alto de anticuerpos IgG se observa a la semana 7 post infección y son detectables hasta la semana 33, en cambio ambos anticuerpos IgG e IgM juntos son detectables a la primera semana post-infección, el pico de anticuerpos se observa a las 2-4 semanas y son detectables hasta la semana 66 (Clements et al., 1983).

### **PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)**

Este método es considerado una herramienta con muchas ventajas ya que es rápida y eficaz para el diagnóstico y la identificación de las rickettsias en sangre, tejidos, biopsias de piel y hasta en garrapatas (Brouqui et al., 2004) Regnery propuso en 1991 la amplificación del gene que codifica para *OmpA*, lo que permite la diferenciación entre 9 rickettsias del grupo de las fiebres manchadas. (Regnery et al., 1991).

En 1994 Ermeeva utilizó una combinación de secuencias de *OmpA* y *OmpB* y, posteriormente, (Ermeeva et al., 1994) Labruna en el 2004 introduce el gen para la citrato sintetasa *glt A*, con esta metodología se hace un diagnóstico específico de *R. rickettsii* y además permite caracterizar e identificar molecularmente las cepas por secuenciación. Sin embargo este método de diagnóstico tiene algunas desventajas, la sensibilidad del PCR que es del 79% en sangre cuando se utilizan los iniciadores para el fragmento del gen *gltA*, puede ser reducida por varios factores como lo son: la presencia de inhibidores de la ADN polimerasa, degradación del ADN durante el transporte de la muestra y la terapia con antibióticos antes de tomar la muestra (Labruna et al., 2004). Además del

elevado riesgo de contaminación por la amplificación de productos de PCR anteriores que utilizaron el mismo iniciador (Pierre y Raoutl, 2004). La utilización del PCR puede ser una opción para confirmar el diagnóstico (Swanson et al., 2006).

La identificación de la bacteria en sangre de humanos es complicada por su limitado periodo de existencia, sin embargo en perros que están en contacto constante con los vectores es probable lograr la identificación debido a reinfecciones (Hidalgo et al., 2009).

### **Cultivo**

Este procedimiento se ha utilizado como método de diagnóstico desde hace muchos años, sin embargo, cuenta con algunas desventajas como el tiempo que se requiere para obtener los resultados y el difícil acceso a esta técnica ya que sólo laboratorios con un nivel 3 de bioseguridad y con personal altamente capacitado y con experiencia en el cultivo de bacterias del género *Rickettsia* son capaces de aislar la bacteria de especímenes clínicos y realizar los cultivos en células vivas (La Scola et al., 2009).

### **Vectores**

Las garrapatas *R. sanguineus* están ampliamente distribuidos en todo el mundo y son vectores de agentes patógenos, como *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* y *Rickettsia conorii*. La Literatura indica que el creciente número de casos de parasitismo en humanos por garrapatas de genero *R. sanguineus* puede ser más común de lo que se reconoce en realidad; aunado a esto el uso indiscriminado de acaricidas es un problema emergente en todo el mundo y ha llevado a la selección de cepas resistentes a acaricidas de garrapatas (Dantas-Torres, 2008).

Además de que los cambios climáticos, entre otros factores, pueden contribuir a la aparición de otras riquetsiosis o cambiar su distribución (Oteo y Portillo, 2012)

Numerosas enfermedades causadas por protozoarios, bacterias y virus son transmitidas por garrapatas. Existen 877 especies de garrapatas en todo el mundo, y requieren sangre de vertebrados para su supervivencia. Esta estrecha relación entre las garrapatas y huéspedes ha dado lugar a la aparición y mantenimiento de infecciones zoonóticas que puede causar enfermedad grave o muerte en personas y animales domésticos (Díaz, 2010)

Los meses de más actividad de *R. sanguineus* es al final de la primavera y durante el verano, la mayoría de los casos de FMMR se producen durante estos meses. Además, *R. sanguineus* vive en entornos domésticos, compartiendo espacio con perros, alojándose en espacios como perreras, patios y casas pero tiene relativamente baja afinidad por los seres humanos (Parola et al., 2005).

En México, los principales vectores son *R. sanguineus* y *Amblyomma americanum*, así como en Centro y Sudamérica (La Scola y Raoult, 1997). La garrapata *R. sanguineus* también conocida como la garrapata café del perro, es la garrapata mayormente distribuida en el mundo, parasita algunos mamíferos incluyendo humanos accidentalmente y puede transmitir algunas enfermedades como *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia rickettsii*, *Coxiella*, (Dantas-Torres, 2008)

Las garrapatas pueden ser utilizadas como herramientas epidemiológicas para la detección de la presencia de un patógeno en un área específica, mediante la identificación molecular de la bacteria por PCR, una vez obtenido el producto de PCR se realiza la secuenciación de un fragmento amplificado, el cual se compara con los ya existentes en los bancos de genes, si la similitud es del 100% entre la secuencia obtenida y la secuencia de una bacteria ya conocida la identificación es exitosa, si la secuencia obtenida es diferente a las secuencias disponibles en la base de datos, la bacteria probablemente corresponda a un nuevo género, por lo tanto debe ser aislada. Este método también se puede realizar en sangre y tejidos con el mismo fin (Parola y Raoult, 2001)

## Estudios epidemiológicos

En un estudio en la Cd. de Mexicali Baja California, se encontró que el 59.6% de los perros del estudio estaban parasitados por garrapatas, de las cuales el 100% fueron identificadas de acuerdo a su morfología como *R. sanguineus* (Tinoco-Gracia et al., 2009c).

En respuesta a un brote de la fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR) en Baja California a principios de 2009, se evaluaron los perros en dos refugios en el vecino condado de Imperial, California, encontrando (*Rhipicephalus sanguineus*), como vector, ectoparásito reconocido por transmitir FMMR, presente en 35 (30%) de los 116 perros muestreados, pero todas las garrapatas resultaron negativas a *Rickettsia rickettsii* por PCR (Fritz et al., 2012).

Desde 2003, dos comunidades en el este de Arizona han experimentado un brote sostenido (FMMR), causada por *R. rickettsii*, asociado con la transmisión por *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata marrón del perro; 70 casos humanos, incluyendo ocho muertes, se registraron en estas comunidades entre 2003 y 2008. En las comunidades afectadas, los anticuerpos contra rickettsias del grupo de la fiebre manchada estuvieron presentes en los perros antes de la notificación de los primeros casos en humanos, lo que sugiere que los perros puede servir como centinelas útiles para el riesgo humano de la FMMR en esta región. Durante 2005 y 2006, un estudio piloto se realizó en perros del centro de control de animales en el este de Arizona, ubicado a las afueras de la zona donde se habían confirmado casos humanos. Se detectaron anticuerpos a FMMR en 5.7 % (14 de 247) los perros evaluados fuera del área del brote FMMR. Los refugios de animales ubicados cerca de la zona del brote fueron significativamente más propensos a tener perros seropositivos que los que se encontraban separados geográficamente en otros condados ( $P = 0.01$ ). Además, los perros en condición de calle, fueron significativamente más propensos a ser positivos al antígeno que

los perros con propietario ( $P = 0.01$ ), lo que sugiere que el control de poblaciones de perros vagabundos debe ser considerada como un medio de limitar la transmisión SFGR en esta región. Los hallazgos de este estudio sugiere que existe el riesgo de infección al humano por FMMR (Demma et al., 2005) Se necesita una mayor vigilancia de las enfermedades humanas en la región (McQuiston et al., 2011)

Existen estudios donde se realizaron diagnósticos de la enfermedad en humanos y perros, la mayoría concluye en que los perros son centinelas importantes para la detección de riquetsiosis (Pinter et al., 2008)

Durante 2002 y 2004, 15 pacientes con fiebre de las Montañas Rocosas (FMR) se identificaron en una comunidad rural en Arizona donde la enfermedad no se había informado anteriormente. El brote se asoció con *R. Rickettsii* teniendo como vector a la garrapata marrón del perro (*R. sanguineus*), que anteriormente no había sido asociada con la transmisión de la FMR en los Estados Unidos. Se realizó un estudio por parte del CDC para conocer el grado de exposición a *R. rickettsii* en el área local a través de evaluaciones serológicas de niños y perros en 2003-2004, y en el suero canino desde 1996. Los anticuerpos a *R. rickettsii* (título  $\geq 32$ ) se detectaron en el 10% de los niños y el 70 % de los perros en la comunidad donde se presentó el brote y el 16% de los niños y el 57% de los perros en una comunidad vecina. En comparación, sólo el 5 % de las muestras caninas de 1996 tuvo anticuerpos a anti- *R. Rickettsii* (títulos  $\geq 32$ ). Estos resultados sugieren que la exposición a la FMMR se ha incrementado en los últimos 9 años, y que esta enfermedad puede ser ahora endémica en esta región.

### **Importancia zoonótica**

Entre 1984 y 2004, más de nueve especies de riquetsias se identificaron como agentes de riquetsiosis transmitidas por garrapatas en todo el mundo. Seis de estas especies originalmente fueron aisladas en garrapatas y años después en humanos. El ejemplo más reciente es *Rickettsia parkeri*, reconocida como un patógeno humano más de 60 años después de su aislamiento inicial de las

garrapatas. Se encontró asociación de *R. Felis* con las pulgas siendo esta patógena en humano, los estudios realizados en diversos géneros de garrapatas y las zoonosis transmitidas por pulgas descritos en los últimos 20 años, están centrados en el aspecto ecológico, epidemiológico y clínico (Parola et al., 2005).

### **Factores de riesgo**

El perro doméstico es el huésped principal de *R. sanguineus* en zonas urbanas y rurales pudiendo infestar a otras especies tanto domesticas como silvestres, incluyendo gatos, roedores, aves y ocasionalmente seres humanos, los son huéspedes fortuitos y no contribuyen a la propagación de la bacteria.

Los factores de riesgo en humanos asociados a esta parasitismo incluye la propiedad del perro, la presencia de perros infestados en el interior y de alto nivel de infestación del medio ambiente (Dantas-Torres et al., 2006).

La prevalencia e intensidad media de infestación por *R. sanguineus* en perros puede variar ampliamente, tanto geográfica y estacionalmente. En este sentido, se ha demostrado que *R. sanguineus* puede completar su ciclo biológico bajo diferentes condiciones de temperatura de (20-35 ° C) y la humedad relativa (35 - 95%) la capacidad de adaptación de la garrapata al medio ambiente y sus niveles de tolerancia a cambios de temperaturas es lo que le permite sobrevivir en zonas áridas (Koch y Tuck Marty, 1986). En áreas tropicales y subtropicales *R. sanguineus* prevalece durante todo el año siendo los meses de varano los de mayor actividad (Dantas Torres 2010).

El número de generaciones de *R. sanguineus* por año varia de una región a otra, pero en condiciones medioambientales favorables (temperatura, humedad relativa, y huésped disponible), esta puede completar de 3 a 4 generaciones por año(Silveira et al., 2009).

Estos y otros parámetros ecológicos "en el huésped" también pueden variar en función de diversos factores, como la población y el confinamiento (por ejemplo, la

densidad de población de perros y proporción de los perros tratados con ectoparasiticidas o repelentes de garrapatas dentro de una población e individual (por ejemplo, edad, raza, estado nutricional, y estilo de vida) (Dantas-Torres et al., 2009)

En un estudio en el sudeste de Brasil, la prevalencia e intensidad media fue mucho más alta entre los perros que viven en casas con patios cubiertos de hierba, en comparación con viven en apartamentos (Soares et al., 2006). En un estudio reciente llevado a cabo en la misma región, los perros fueron significativamente más infestados ( $P < 0.05$ ) con 8.96 % durante la estación seca y en época de lluvia fue 7.03 % (Silveira et al., 2009).

No es raro ver perros con una sola garrapata y otros con cientos de garrapatas incluso estando en la misma jaula. Esto sugiere que la carga de garrapatas también puede estar influenciada por factores de riesgo del individuo, en este caso el perro, como la edad y la raza. De hecho, la carga de garrapatas es más alta en perros jóvenes menores a 1 año (73.6%) en comparación con el (50.0%) en adultos mayores a 1 año (Tinoco-Gracia et al., 2009b)

Aunque la prevalencia de la infestación es a menudo mayor entre los machos que en las hembras, (Silveira et al., 2009) no se sabe si esto es una susceptibilidad relacionada con el género o la cuestión de la exposición. Por otra parte, algunas razas (por ejemplo, cocker Inglés y cocker spaniels) son aparentemente más susceptibles que otras, Otros estudios sugieren que la garrapata presenta patrones de comportamiento distintos, a la exposición de diferentes razas de perros, además la garrapata puede orientarse por feromonas y por la producción de CO<sub>2</sub>, pero aun con estos antecedentes el comportamiento de ataque de *R. sanguineus* sigue siendo incierto (Louly et al., 2010).

Estudios recientes han demostrado que las garrapatas del genero *R. sanguineus* cuando se expone a altas temperaturas son más propensas a morder seres humano esto sugiere que el calentamiento global podría afectar la población de *R. sanguineus* en todo el mundo y, en consecuencia, la epidemiología de ciertas infecciones transmitidas por garrapatas (Parola et al., 2008) Esta observación sugiere que el riesgo de parasitismo humano por *R. sanguineus* podría aumentar en las zonas que experimentan veranos largos y cálidos, en consecuencia, aumenta el riesgo de transmisión de agentes zoonóticos (por ejemplo, *Rickettsia Conorii* y *Rickettsia rickettsii*). (Dantas-Torres, 2010)

## **MATERIALES Y METODOS**

El presente estudio descriptivo seccional cruzado, se desarrolló en el Municipio de San Luis Río Colorado, Sonora, el cual incluyó perros de 3 diferentes procedencias: a) los que tienen propietario de la zona urbana; b) los de condición calle de la zona urbana, y c) los de la zona rural. La duración del estudio fue de 6 meses, del 15 de junio del 2014 al 15 de enero del 2015. Se aplicó un muestreo simple aleatorio con asignación proporcional a la densidad de población por colonia a cada una de las procedencias. La toma de muestras de garrapatas y de sangre de los perros se realizó por personal de Servicio Médicos Municipales de San Luis Río Colorado previa capacitación, y los análisis de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Salud Pública Veterinaria del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California. (LSPV-IICV-UABC)

Una vez recibidas las muestras de sangre y garrapatas se procedió a la identificación molecular de *R. rickettsii*, de acuerdo los protocolos previamente descritos (Labruna et al., 2004) también fueron evaluados los factores de riesgo ambientales, y físicos del perro, en asociación con los casos positivos en este estudio.

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Fueron incluidos en el estudio los perros de al menos un mes de edad, de cualquier sexo, pelaje o raza, así como las garrapatas colectadas de los animales muestreados.

## CRITERIOS DE EXCLUSION:

Fueron excluidas las muestras de sangre con cantidad insuficiente.

## CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA:

La muestra fue colectada aleatoriamente sin reemplazo. El valor de  $p$  está incluido dentro de  $1.96 [p(1-p)/n]^{1/2}$  para  $\pi$ , entonces, el tamaño de muestra ( $n$ ) se obtuvo de aplicar la fórmula:

$$n = \pi (1 - \pi) \left[ \frac{Z}{d} \right]^2 \quad (\text{Scheafer et al., 1987})$$

donde:

$n$  = tamaño de muestra, resultando 246 por cada zona.

$\pi$  = estimador 20 % de estudio piloto en Mexicali (In press)

$Z = 1.96$

$d = 5 \%$

## **METODOLOGÍA:**

El proyecto de investigación incluyó el análisis de a) 256 perros con propietario de la zona urbana; b) 268 perros de condición calle de la zona urbana, y c) 266 perros de la zona rural, del municipio de San Luis Río Colorado, Sonora. Bajo el criterio de que existen al menos 1 perro por cada 6 habitantes (Flores-Ibarra y Estrella-Valenzuela, 2004) se partió de la densidad de población por colonia (Municipio de SLRCS) y en base al criterio anterior se determinó la cantidad de perros a muestrear de la siguiente manera:

a) Perros con propietario de la zona urbana

<b>NOMBRE DE LA COLONIA</b>	<b>No. DE HABITANTES</b>	<b>No. DE PERROS CON PROPIETARIO</b>
Comercial	4379	7
Residencias	7687	12
Burócrata	9282	14
10 de abril	6021	9
Colonia nueva	8788	14
Progreso	6117	10
Campestre	8691	14
Aviación	5099	8

Aeropuerto	7138	11
Libertad	5878	9
Mezquite	7682	12
Reforma	10869	17
Bosque	5218	8
La grullita	3506	5
México	6907	11
Altar	7871	12
Industrial	4505	7
Federal	9224	14
Jalisco	10369	16
Sonora	8239	13
Ruiz Cortines	4791	7
Cuauhtémoc	3483	5
La meza	3969	6
Campamento	2341	4
<hr/>		
TOTAL POR COLONIA	158054	246

b) Perros de condición calle de la zona urbana

NOMBRE DE LA COLONIA	No. DE HABITANTES	No. DE PERROS EN CONDICIÓN CALLE
Comercial	4379	7
Residencias	7687	12
Burócrata	9282	14
10 de abril	6021	9
Colonia nueva	8788	14
Progreso	6117	10
Campestre	8691	14
Aviación	5099	8
Aeropuerto	7138	11
Libertad	5878	9
Mezquite	7682	12
Reforma	10869	17
Bosque	5218	8
La grullita	3506	5
México	6907	11
Altar	7871	12
Industrial	4505	7
Federal	9224	14

Jalisco	10369	16
Sonora	8239	13
Ruiz Cortines	4791	7
Cuauhtémoc	3483	5
La meza	3969	6
Campamento	2341	4
<hr/>		
TOTAL POR COLONIA	158054	246

c) Perros de la zona rural

<b>POBLADO</b>	<b>No. DE HABITANTES</b>	<b>No. DE PERROS</b>
Luis B. Sánchez	5560	68
Golfo de Santa Clara	3967	48
Ejido Islita	1825	22
Ej. Nuevo Michoacán	1425	17
Ejido Lagunitas	1019	12
Ejido Independencia	772	9

Ejido Mesa Rica	497	6
Ejido Mesa Rica II	489	6
Ejido Río Norte	409	5
Ej. El Fronterizo	324	4
Poblado El Barrote	286	4
Ej. Emiliano Zapata	282	3
Poblado Cheque 8	226	3
Poblado Guadalupe	177	2
Resto de Localidades	3033	37
<hr/>		
	20291	246

Los muestreos de sangre y garrapatas en conjunto con la aplicación de los cuestionarios epidemiológicos, se realizó sin reemplazo al azar de individuos por cada grupo para estimar la prevalencia y para evaluar los factores de riesgo.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por personal del centro de control animal del municipio de San Luis Rio Colorado Sonora. A cada perro se le colectó 4 ml de sangre por punción de la vena cefálica después de la asepsia del área con alcohol isopropílico, de los cuales 2 ml. Fueron colocados en un tubo Vacutainer<sup>®</sup> con EDTA de 4 ml. La colecta de las garrapatas fue de al menos una por perro, en caso de que tuvieran. Se realizó siguiendo los procedimientos previamente descritos (Farley, 1996; Lyon y Restifo, 2000) Los tubos recolectores estériles de 10 ml con tapadera hermética, se sometieron a congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  y fueron

transportados al Laboratorio de Salud Pública Veterinaria del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, para realizar su identificación taxonómica bajo observación estereoscópica (Quiroz, 1999) y el diagnóstico de rickettsiosis, el cual se llevó a cabo aplicando la técnica de PCR (Thomas et al., 2001).

Con el propósito de conocer la afinidad de las garrapatas hacia alguna región corporal del perro y sugerir estrategias de manejos de tratamientos preventivo para esto se incluyó en el cuestionario un esquema en donde se registró la localización en las distintas regiones corporales del perro:

- 1.- Cara.
- 2.- Orejas.
- 3.- Cuello.
- 4.- Dorso.
- 5.- Extremidades (espacios interdigitales).
- 6.- Abdomen.

Durante los muestreos, se aplicó el cuestionario a los propietarios de los perros atendidos. Para los perros de los centros de control animal se incluyó información sobre sexo (macho, hembra), edad ( $\leq 1$  año,  $> 2$  años), talla (chico, mediano, grande) y pelaje (corto, mediando, largo).

#### DIAGNOSTICO:

La presencia de *R. rickettsii* en perros fue a partir de los resultados obtenidos mediante PCR analizando las muestras sanguíneas con EDTA. En garrapatas fue a través de PCR de sus tejidos (Belperron y Bockenstedt, 2001; Piesman et al., 2001).

Para el Diagnóstico por PCR se utilizó un fragmento del gen codificante de la citrato sintasa *gltA* (Labruna et al., 2004). El producto del PCR de (*gltA*= con un tamaño de 401 pares de bases (pb), con los siguientes iniciadores:

CS- 78 GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT

CS- 323 GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT

Las condiciones de la reacción de PCR fueron las siguientes: Un ciclo a 95°C por 5 min, 40 ciclos a 95°C por 15 s, 52 por 30 s y 72 por 30 s, y finalmente un ciclo a 72°C por 7 minutos.

Los productos de amplificación de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5% en solución amortiguadora TAE (tris-acetato EDTA 1X) conteniendo GR Safe®, sustituto de bromuro de etidio. Para prevenir la contaminación de las muestras, las preparaciones, la extracción del ADN, la amplificación y detección de productos de PCR se realizaron en diferentes áreas de laboratorio (Chang et al., 2000).

El 10% de las muestras que resultaron positivas se les secuenció el producto del PCR, de 401 pares de bases que corresponden al gen *gltA* obteniendo una homología con Rr del 99%

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Fue diseñada una base de datos en un programa EXCEL (Microsoft) para la captura y manejo de información generada en este proyecto. La base de datos fue integrado por tablas con la siguiente información: 1) resultados de los análisis diagnósticos; y 2) resultados de los cuestionarios epidemiológicos.

La prevalencia se obtuvo a partir de la fórmula de Daniel (2002):

$$\text{prevalencia} = \frac{\text{número de reactivos positivos}}{\text{número total en el grupo}} \times 100$$

Se generó el estimador de prevalencia para perros de la zona urbana con propietario, perros de la zona urbana sin propietario y para perros de la zona rural

La hipótesis de igualdad de valores de prevalencia entre grupos de estudio se probó utilizando el estadístico chi-cuadrada, declarando significancia a un valor de ( $P < 0.05$ ).

La hipótesis de asociación de los factores de riesgo a los casos positivo a *R.rickettsii* se resolvió a partir de tablas de contingencia 2X2 con el estadístico OR (razón de momios). Adicionalmente se expresa el estimador OR con un intervalo de confianza al 95%, donde para declararse significativo el factor de riesgo el valor del límite inferior debe de ser igual o mayor de uno (Gordis 2005).

El manejo de la base de datos, el cálculo de los estimadores de prevalencia, la construcción de tablas de contingencia 2X2 y la evaluación de los factores de riesgo se realizó utilizando el paquete estadístico SAS.

## RESULTADOS

La estimación de prevalencia de rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) para cada una de las zonas fue como sigue: perros con propietario de la zona urbana fue de 12.03% (32/266), en perros de la zona urbana en condición de calle de 17.44% (47/268), y para perros de la zona rural fue de 16.41% (42/256), Sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prevalencia de rickettsiosis en perros por zona en San Luis Río Colorado Son.

<b>ZONA</b>	<b>Rr +</b>	<b>Rr -</b>	<b>TOTAL</b>	<b>PREVALENCIA</b>
Rural	42	214	256	16.41 <sup>a</sup>
Urbana calle	47	221	268	17.44 <sup>a</sup>
Urbana C/Propietario	32	234	266	12.03 <sup>a</sup>

Letras iguales en la columna, no difieren ( $P > 0.05$ )

**Rr+** = *R. rickettsii* positivo **Rr-** = *R. rickettsii* negativo

De los factores de riesgo evaluados los que mostraron asociación con la positividad a *R. rickettsii*, fueron: perros que salen a la calle presentaron casi 3 veces más probabilidad en comparación a perros que se mantienen en casa. También, los perros que habitan en áreas con escombros presentaron 13 veces más probabilidad de resultar positivos a *R. rickettsii*, que aquellos que habitan en áreas libres de escombros. Los demás factores evaluados como sexo, raza, talla, edad, y pelaje, no mostraron asociación con rickettsiosis ( $P > 0.05$ ).

Además, independientemente de la zona de procedencia, la asociación de rickettsiosis con la presencia de garrapatas en el perro resultó con asociación a *R. rickettsii*, ( $P < .05$ ), con un OR= 2.62 (IC95% 1.19 – 5.73).

Cuadro 2. Factores de riesgo asociados a la positividad a *R. rickettsii* en perros con propietario de la zona urbana.

VARIABLE	OR	IC 95%
Perros que salen a la calle	2.96	1.15-6.95
Presencia de escombros en Hábitat del perro	12.95	3.88-43.7

Sin embargo en el análisis por regiones del cuerpo del perro la presencia en: cara, dorso, y dedos, no mostraron asociación ( $P > 0.05$ ) con los casos positivos a rickettsiosis, No así en la región del cuello y orejas las cuales mostraron valores de 3.19 (IC95% 1.27-7.98) y de 2.91 (IC95% 1.31- 6.42), respectivamente.

Aun cuando se ha demostrado que la tenencia responsable de mascotas puede actuar como factor de protección, los resultados mostraron que el uso de correa, collar, baños, vacunas, visitas al veterinario, no actuaron significativamente.

Las evidencias confirman la existencia de *R. rickettsii* en perros y garrapatas en San Luis Río Colorado, Sonora donde se registró *R. sanguineus* como único vector en los perros afectados.

La infestación por garrapatas en los perros de la zona urbana con propietario fue de 63.92% (IC 95% 58.03% - 69.81%) perros de la zona urbana en condición de calle 38.12% (IC95% 31.75- 44.49) perros de la zona rural 16.6% (IC95% 12.05 - 21.14) (Cuadro

Cuadro 3. Magnitud de asociación entre los casos de garrapatas y la zona de origen de perros capturados.

Zona	Con Garrapatas	Sin Garrapatas	TOTAL	%
Urbana	163	92	255	63.92
Urbana calle	85	138	223	38.12
Rural	43	216	259	16.6

La prevalencia de *R. rickettsii* en garrapatas de los perros infectados de la zona urbana con propietario fue de 64.29% (45/70), en garrapatas de los perros de la zona urbana en condición de calle fue de 70.37% (38/54), y en garrapatas de perros de la zona rural fue del 53.85% (14/26) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Prevalencia de rickettsiosis en garrapatas por zona en San Luis Río Colorado Son.

ZONA	G. Rr +	GRr -	TOTAL	PREVALENCIA
Rural	14	12	26	53.85%
Urbana calle	38	16	54	70.37 %
Urbana C/Propietario	45	25	70	64.29%

**G.Rr+ = Garrapatas positivas a *R. rickettsii* G.Rr- =Garrapatas positivas *R. rickettsii* negativo**

## DISCUSIONES

La prevalencia de riquetsiosis en San Luis Río Colorado Sonora, fue alta comparada con los resultados obtenidos en Arizona entre el 2002 y 2004 donde se presentó una prevalencia baja de *Rickettsia rickettsii*, donde se encontró como único vector a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, esto puede ser debido a que las condiciones climáticas cálidas y secas, no permiten la presencia de *Dermacentor variabilis* y *D. andersoni*, principales vectores de *Rickettsia rickettsii* en Estados Unidos (Eremeeva et al., 2006). En un estudio realizado en Mexicali en 2009 en los meses de verano, se estimó la prevalencia de riquetsiosis (*Rickettsia rickettsii*) donde la seroprevalencia ajustada fue de 73.9%, estos resultados demuestran que la riquetsiosis ocasionada por *R. rickettsii* puede ser endémica y es un riesgo potencial para la infección en perros y humanos en esta región (Romano-Osuna et al., 2009).

En este estudio, los perros positivos a *Rickettsia rickettsii* tenían historial de garrapatas identificándose a *Rhipicephalus sanguineus* como único vector, datos que coinciden con los registrados en Arizona en el 2002, la amplia distribución *Rhipicephalus sanguineus* y la asociación a los casos de riquetsiosis, hace que se considere como transmisor de *Rickettsia rickettsii* en esta zona (Demma et al., 2005).

Resultados similares se registraron en Mexicali, donde un gran porcentaje de los perros (59.6%) de la ciudad estaban parasitados por garrapatas, encontrándose solamente *R. sanguineus* como vector (Tinoco-Gracia et al., 2009c), siendo estas ciudades vecinas al Municipio de San Luis Río Colorado Sonora con condiciones medio ambientales similares. *R. sanguineus* es considerada como transmisora de *R. rickettsii* (La Scola y Raoult, 1997), lo que indica una potencial amenaza para la salud pública si no se considera a las

riquetsiosis como una enfermedad de importancia y se integra a los diagnósticos de exclusión de las enfermedades febriles (Peniche-Lara et al., 2015).

Las condiciones ecológicas, de sanidad, de cultura, y costumbres, así como la presencia de reservorios y vectores potenciales de las distintas especies de *Rickettsia* presentes, hacen del territorio mexicano un nicho ecológico adecuado para el ciclo de transmisión de la enfermedad (Zavala-Castro et al., 2006). En México el principal vector es *R. sanguineus*, (Bustamante y Varela, 1947) el cual tiene una amplia distribución mundial, teniendo como huésped al perro, pudiendo tener otros huéspedes incluyendo ocasionalmente al hombre (Dantas-Torres, 2010).

Se sabe que los parámetros ecológicos en el huésped también pueden variar en función de diversos factores, como la población y el confinamiento, y factores del huésped como son edad, raza, sexo, estado nutricional, y estilo de vida (Dantas Torres 2004), aunque en este estudio no presentaron asociación significativa.

De acuerdo a los resultados, es necesario que futuros programas de prevención y control de *R. rickettsii* deben de contemplar la tenencia responsable de la mascota ya que los perros callejeros presentaron más probabilidad de ser detectados como enfermos (OR=2.96), además de considerar programas permanentes de retiro de escombro ya que la acumulación de éste favoreció la positividad a *R. rickettsii*. (OR= 12.95), así como la presencia de garrapatas en los perros de las tres poblaciones muestreadas (OR = 2.62).

La presencia de *R. rickettsii* fue más alta en garrapatas de la zona urbana (67.3%), mientras que en la zona rural fue menor (53.8%), el comportamiento de estos artrópodos se debe a su biodiversidad ya pueden estar presente en poblaciones rurales, suburbanas y grandes ciudades, teniendo un comportamiento cosmopolita (Rodríguez-Viva et al., 2016). Se recomienda no subestimar la presencia de la garrapata café del perro en esta región, y se tienen que redoblar esfuerzos para el control del vector y prevención de la enfermedad. Lo mejor es

mantenerse alejado de las zonas de riesgo (Dantas Torres 2004), lo cual resulta casi imposible cuando se trata de una zona endémica, por lo tanto lo más recomendable es la vigilancia entomológica (CENAPRECE), ya que las garrapatas pueden ser utilizadas como herramientas epidemiológicas para la detección de la presencia de un patógeno en un área específica, (Parola et al., 2005). La infestación por garrapata café del perro es un problema de salud pública (Dantas-Torres, 2010), por lo tanto son necesarias las acciones en conjunto tanto del gobierno, las instituciones, y la comunidad en general para contrarrestar el vector y por ende la enfermedad.

Se considera que estudios adicionales basados en esta información, pudiera permitir establecer asociación con otras enfermedades transmitidas por garrapatas.

## CONCLUSIONES

La prevalencia de riquetsiosis en perros de San Luis Rio Colorado, Sonora, que participaron en este estudio, diagnosticados por PCR fue: zona urbana con propietario 12.03% zona urbana sin propietario 17.44% zona rural 16.41% Lo cual es indicador de un problema y refleja la necesidad de establecer acciones directas para el control y erradicación del vector *R. sanguineus*.

La infestación por garrapatas en perros de la zona urbana fue

Se localizó *R. sanguineus* como único vector de *Rickettsia rickettsii* en los perros muestreados en San Luis Rio Colorado Sonora.

Los factores asociados a riquetsiosis, fueron la presencia de garrapatas, acceso a la calle, y la presencia de escombros en el hábitat del perro, por lo que se hace necesario establecer acciones de control al entorno ambiental de las mascotas.

## IMPLICACIONES

Considerando el riesgo zoonótico de esta enfermedad, y la evidencia molecular de la presencia de rickettsiosis en garrapatas, es importante sea incluida en los diagnósticos diferenciales en enfermedades febriles en humanos, así como implementar medidas preventivas para el control del vector.

Bajo la sospecha de que *R. sanguineus* pudiera estar coinfectado con otras enfermedades rickettsiales, es necesario descartar asociaciones entre agentes patógenos.

## ANEXOS

### ENFERMEDADES ZONÓTICAS TRANSMITIDAS POR GARRAPATAS

#### PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO

#### CUESTIONARIO - PERROS CON PROPIETARIO

1. Fecha: (día/mes/año)	
2. Nombre del propietario:	
3. Colonia:	
4. Teléfono:	
5. Ocupación:	
6. Correo electrónico:	
7. Nombre del perro:	
8. Edad:	
9. Sexo:	
10. Talla: (chico, mediano, grande)	
11. Pelaje: (corto, mediano, largo)	
12. Raza:	
13. ¿Cómo adquirió la mascota?	Comprado ( ) Regalado ( )
14. ¿El patio de la casa es de:	Cemento ( ) Tierra ( ) Ambos( )
15. ¿Entran y/o salen perros de su casa a la calle?	Sí ( ) No ( )
16. ¿Con qué frecuencia fumiga su casa?	( ) # veces al año Nunca ( )
17. ¿Con qué frecuencia limpia su patio?	( ) # veces al año Nunca ( )
18. ¿En el patio tiene escombros, muebles arrumbados, cachivaches y/o tiradero?	Mucho ( ) Poco ( ) Nada ( )

19. Cantidad y sexo de sus perros	Machos ( ) Hembras ( ) Indique cantidad por cada sexo
20. ¿Su perro ha tenido garrapatas?	Si ( ) No ( )
1. Emaciación (mala condición física):	Si ( ) No ( )
2. Depresión:	Si ( ) No ( )
3. Claudicación o cojera	Si ( ) No ( )
21. ¿Con qué frecuencia baña con garrapaticida a su perro?	#veces al año ( )
22. ¿Con qué frecuencia desparasita contra garrapatas a su perro?	#veces al año ( )
23. ¿Dónde vive su perro?	Dentro de casa ( ) En el patio ( ) En la casa y el patio ( )
24. ¿Con qué frecuencia pasea a su perro?	#veces al año ( ) Nunca ( )
25. ¿Utiliza collar y correa cuando pasea su perro?	Siempre ( ) A veces ( ) Nunca ( )
26. ¿Qué tipo de alimento le da a su perro?	Casero ( ) Comercial ( ) Ambos ( )
27. ¿Lleva a su(s) perro(s) al MVZ?	Si ( ) No ( )
28. ¿Qué tan importante es llevar a su mascota al MVZ?	Nada importante ( ) Poco importante ( ) Muy importante ( )
29. ¿Vacuna a su mascota contra la rabia?	Si ( ) No ( )
30. ¿Vacuna a su mascota contra otras enfermedades?	Si ( ) No ( ) Ej. Moquillo, parvovirus, etc. No sabe ( )

**NOMBRE DEL ENCUESTADOR:** \_\_\_\_\_

**NUMERO DE MUESTREO:** .

## LOCALIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GARRAPATAS

Señalar en el esquema las regiones donde se localizaron las garrapatas.

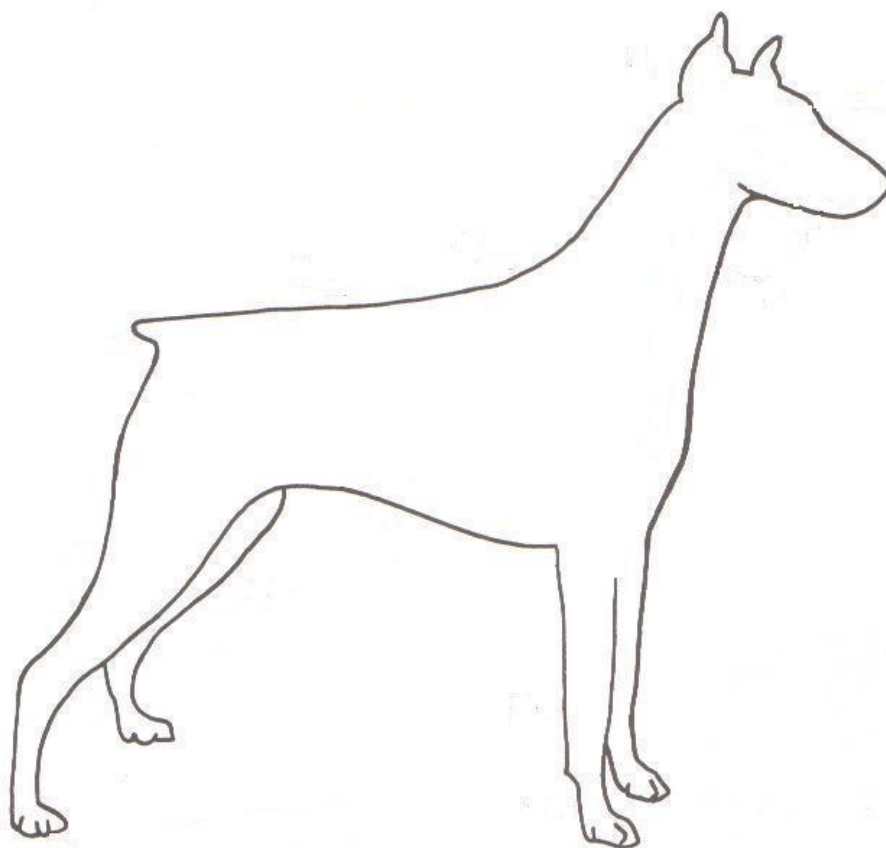
Definir la intensidad de infestación general:

( ) Nula = 0

( ) Leve = 1-10

( ) Moderada = 11-30

( ) Intensa = > 30



ENFERMEDADES ZONÓTICAS TRANSMITIDAS POR GARRAPATAS

CUESTIONARIO - PERROS DE CCONDICIÓN CALLE

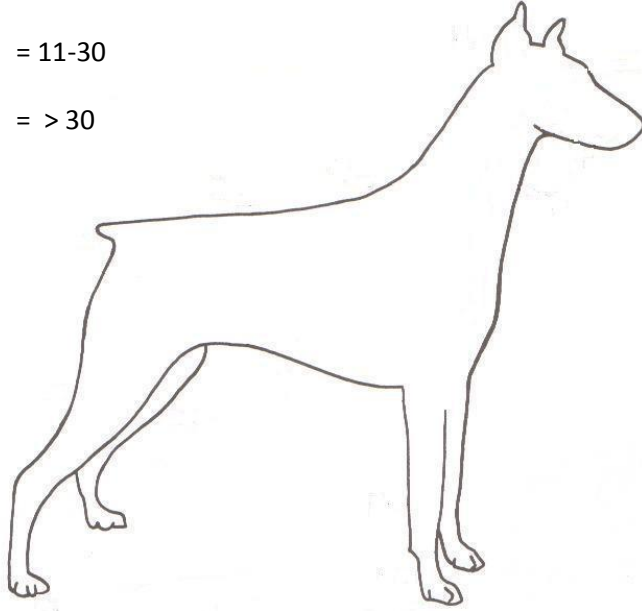
1. Fecha:	
2. Procedencia (Colonia):	
3. Edad:	
4. Sexo:	
5. Talla: (chico, mediano, grande)	
6. Pelaje: (corto, mediano, largo)	
7. Color:	
8. Raza:	
9. Señas particulares:	
10. Emaciación (mala condición física):	Si ( ) No ( )
11. Depresión:	Si ( ) No ( )
12. Claudicación o cojera	Si ( ) No ( )

## LOCALIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE GARRAPATAS

Señalar con puntitos en el esquema las regiones donde se localizaron las garrapatas.

Marcar la intensidad de infestación general:

- Nula= 0
- Leve= 1-10
- Moderada = 11-30
- Intensa = > 30



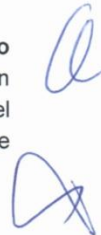
**NÚMERO DE MUESTREO:**

CONVENIO ESPECÍFICO DE COLABORACIÓN ACADÉMICA, CIENTÍFICA TECNOLÓGICA Y CULTURAL, QUE CELEBRAN POR UNA PARTE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA, EN LO SUCESIVO "LA UABC", REPRESENTADA POR SU VICERRECTOR CAMPUS-MEXICALI DR. MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ ROMERO; Y POR OTRA PARTE, EL XXVI H. AYUNTAMIENTO DE SAN LUIS RÍO COLORADO SONORA, A QUIEN EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARÁ "EL AYUNTAMIENTO", REPRESENTADO EN ESTE ACTO POR EL C. LIC. LEONARDO ARTURO GUILLÉN MEDINA Y EL C. LIC. MARTÍN ORTEGA VÉLEZ, PRESIDENTE MUNICIPAL Y SECRETARIO DE ESTE XXVI H. AYUNTAMIENTO DE SAN LUIS RÍO COLORADO, SONORA, AL TENOR DE LAS DECLARACIONES Y CLÁUSULAS SIGUIENTES:

#### DECLARACIONES:

##### I.- Declara "LA UABC":

- I.1. Que es una institución de servicio público, descentralizada de la administración del Estado, dotada de plena capacidad jurídica de conformidad con lo estipulado en el artículo 1° de su Ley Orgánica publicada el 28 de febrero de 1957 en el Periódico Oficial del Gobierno del Estado, la cual tiene entre sus fines proporcionar educación superior para formar profesionales, fomentar y llevar a cabo investigación científica y extender los beneficios de la cultura.
- I.2. Que su representación legal recae originariamente en el Rector, Dr. Felipe Cuamea Velázquez, conforme lo dispuesto en los artículos 25 de su Ley Orgánica y 68 del Estatuto General, teniendo conforme a la fracción I del artículo 72 del propio Estatuto, facultades para delegarla.
- I.3. Que el Dr. Miguel Ángel Martínez Romero, en su carácter de Vicerrector, Campus-Mexicali, se encuentra facultado para suscribir el presente instrumento, conforme a lo previsto en el Acuerdo por el que se delegan en diversas autoridades y funcionarios la representación legal de la Universidad, para la realización de actos jurídicos que se indican, suscrito por el Rector el 21 de enero del 2004, y publicado en la Gaceta Universitaria No. 114 del 31 de enero del 2004.
- I.4. Que dentro de su estructura orgánica-administrativa se encuentra el Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, el cual cuenta con infraestructura y recursos necesarios para el cumplimiento del objeto del presente instrumento, misma que conoce los términos de referencia donde se describen en forma detallada los trabajos que requieren.



- 1.5. Que tiene su domicilio legal en el Edificio de Vicerrectoría Campus-Mexicali, ubicado en Blvd. Benito Juárez, sin número, Código Postal 21280, Mexicali, Baja California, México.

## II. Declara "EL AYUNTAMIENTO":

- 1.- Que está constituido e instalado mediante Sesión Solemne de Cabildo, celebrada el día dieciséis de septiembre del año 2012.
- 2.- Que como Entidad Pública, está investido de personalidad jurídica y patrimonio propio, es administrado por un Ayuntamiento de elección popular, cuyas decisiones deben ser ejecutadas y comunicadas por el Presidente Municipal y refrendadas para su validez por el Secretario del Ayuntamiento.
- 3.-Que conforme lo dispone la Fracción V artículo 64 de la Ley de Gobierno y Administración Municipal, el **C. Lic. Leonardo Arturo Guillén Medina**, en su calidad de Presidente Municipal de esta Ciudad de San Luis Río Colorado, cuenta con las facultades suficientes para suscribir el presente contrato en representación del Ayuntamiento y que de acuerdo a la Fracción VII del artículo 89 de la Ley de Gobierno y Administración Municipal dispone del refrendo del Secretario del Ayuntamiento.
- 4.- Que tiene establecido su domicilio en la Av. Juárez y calle Cuarta, Col. Comercial, C.P. 83449, en San Luis Río Colorado, Sonora, mismo que señala para los fines y efectos legales de este contrato.
- 5.- Que su registro federal de contribuyentes en la Secretaría de Hacienda y Crédito Público es: **MSL-390916-V33**.

## III. DECLARAN LAS PARTES:

**ÚNICA.-** Ambas partes manifiestan que es su voluntad celebrar el presente convenio, y se reconocen mutuamente la personalidad con la que intervienen, con el único propósito de fomentar y aprovechar la cooperación académica, científica y tecnológica a través del intercambio de experiencias con el fin de mejorar la educación de los estudiantes y éstos a su vez coadyuven al desarrollo de la comunidad.

Hechas las anteriores declaraciones, ambas partes se sujetan a las siguientes:

UASC  
OFICINA DEL  
ABOGADO GENERAL  
  
REVISADO

65



## CLÁUSULAS:

Este convenio tiene por objeto la colaboración entre las partes con el fin de desarrollar proyectos de vinculación con valor en créditos y prácticas profesionales para alumnos de "LA UABC".

**SEGUNDA:** "LA UABC" se compromete a:

- a) Difundir entre los estudiantes la realización de estancias de aprendizaje y prácticas profesionales de acuerdo a la carga académica descrita en su plan de estudio correspondiente, que será aplicable en "EL AYUNTAMIENTO" a cada alumno participante.
- b) Presentar los candidatos idóneos para desarrollar las actividades descritas en el inciso anterior.

**TERCERA:** "EL AYUNTAMIENTO" se compromete a:

- a) Proporcionar las herramientas para la infraestructura necesaria para desarrollar lo estipulado en el presente instrumento.
- b) Periódicamente comunicar el número de plazas que tenga disponibles para estancias de aprendizaje y prácticas profesionales, indicando los programas a realizar, lugar donde se llevará a cabo y el perfil profesional que deberá reunir el participante.
- c) Asignar a cada alumno un supervisor responsable, el cual proporcionará la asesoría y los recursos necesarios para el buen desempeño de su estancia, de conformidad con las actividades registradas.
- d) Proporcionar la mayor seguridad posible a los alumnos participantes, con el fin de prevenir riesgos que afecten su integridad física, de tal forma que si el área en que se asigne es de alto riesgo, se le proporcione la información adecuada y necesaria.
- e) Comunicar por escrito a "LA UABC" las faltas injustificadas y las conductas indisciplinadas de los alumnos participantes, con el fin de que se tomen las medidas disciplinarias pertinentes.
- f) Al concluir la estancia, cada estudiante elaborará un informe detallado de las actividades realizadas, mismo que se ajustará a los lineamientos que establece "LA UABC" y será avalado por el responsable y supervisor de "EL AYUNTAMIENTO" quienes otorgarán las calificaciones correspondientes a su desempeño.

UABC  
OFICINA DEL  
ABOGADO GENERAL  
REVISTADO

4/5

- g) Por cada estudiante, "EL AYUNTAMIENTO" se compromete a documentar y formalizar las materias que serán asignadas y registradas de común acuerdo con "LA UABC", debiendo dejar constancia por escrito, que formarán parte integrante del presente convenio, hasta su total evaluación y acreditación, de conformidad con "LA UABC".
- h) "EL AYUNTAMIENTO" se compromete a informar mensualmente a "LA UABC" el desempeño y avances a los contenidos temáticos y prácticas de los laboratorios, talleres o acciones de campo, de acuerdo con lo establecido en el Plan de Estudios de la correspondiente carrera de los estudiantes participantes, a fin de garantizar el cabal aprovechamiento de la estancia y su respectiva acreditación o aprobación, según sea el caso.

**CUARTA:** "LAS PARTES" no serán responsables de los daños que se llagarán a causar por caso fortuito o fuerza mayor.

**QUINTA:** Las partes establecen que los alumnos participantes de "LA UABC" que realicen su estancia al amparo de este convenio, continuarán en forma absoluta bajo la dirección y dependencia de "LA UABC", por lo que su intervención no originará relación de carácter laboral con "EL AYUNTAMIENTO".

**SEXTA:** Acuerdan las partes que la vigencia del presente convenio empieza a partir de su firma y será por tiempo indefinido, pudiendo concluir a voluntad de las partes previo aviso por escrito entregado con quince días de anticipación, pudiendo ser extendido hasta la finalización del semestre, sin perjuicio del cumplimiento de los programas en curso.

**SÉPTIMA:** En caso de ser necesaria alguna modificación durante la vigencia del presente convenio, las partes de común acuerdo podrán realizarla, siempre y cuando dicha modificación se presente por escrito, debidamente firmada de conformidad por los representantes legales y pase a constituir un anexo de este convenio.

**OCTAVA:** Las partes manifiestan que el presente convenio es producto de la buena fe, por lo que realizarán todas las acciones posibles para su debido cumplimiento. En caso de presentarse alguna discrepancia sobre su interpretación o cumplimiento lo resolverán de mutuo consentimiento entre ellas.

**NOVENA:** "LAS PARTES" guardarán confidencialidad respecto de las actividades materia de este convenio.

No obstante lo anterior, en caso de no llegar a algún acuerdo, las partes se someten expresamente a la jurisdicción de los tribunales de la ciudad de Mexicali, Baja California, renunciando al fuero que pudiera corresponderles en razón de su domicilio presente o futuro o por cualquier otra causa.

UABC  
OFICINA DEL  
ABOGADO GENERAL  
REVISADO

db



Leído que fue el presente convenio y sabedoras las partes de su contenido y alcance legal lo firman por triplicado en la ciudad de San Luis Río Colorado, Sonora a los 31 días del mes de octubre del año dos mil trece.

POR "LA UABC"  
VICERRECTOR CAMPUS MEXICALI

POR "EL AYUNTAMIENTO"  
PRESIDENTE MUNICIPAL

  
DR. MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ  
ROMERO

  
LIC. LEONARDO ARTURO GUILLÉN  
MEDINA

TESTIGOS

  
DR. TOMÁS B. RENTERÍA EVANGELISTA  
DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INV.  
EN CIENCIAS VETERINARIAS

  
LIC. MARTÍN ORTEGA VÉLEZ  
SECRETARIO DEL AYUNTAMIENTO

  
M.I. ARILÍ CÁRDENAS ROBLES  
JEFA DEL DEPTO. DE FORMACIÓN  
PROFESIONAL Y VINCULACIÓN  
UNIVERSITARIA

UNIVERSIDAD ALICORNONA  
DE BAJA CALIFORNIA



OFICINA DEL  
ABOGADO GENERAL

  
REVISADO

35

## LITERATURA CITADA

- BSK-H complete medium SIGMA.
- Alcantar-Curiel, M.D., Garcia-Torres, L.F., Gonzalez-Chavez, M.I., Morfin-Otero, R., Gayosso-Vazquez, C., Jarillo-Quijada, M.D., Fernandez-Vazquez, J.L., Giono-Cerezo, S., Rodriguez-Noriega, E., Santos-Preciado, J.I., 2014. Molecular mechanisms associated with nosocomial carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Mexico. *Arch Med Res* 45, 553-560.
- Anaya, E., Morón, C., Arias, P., Chauca, J., Román, R., 2007. Serodiagnóstico de rickettsiosis por ELISA e Inmunofluorescencia IFI IgM. . Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Centro de Informacion y Documentación Científica.
- Belperron, A.A., Bockenstedt, L.K., 2001. Natural antibody affects survival of the spirochete *Borrelia burgdorferi* within feeding ticks. *Infect Immun* 69, 6456-6462.
- Brouqui, P., Bacellar, F., Baranton, G., Birtles, R.J., Bjoersdorff, A., Blanco, J.R., Caruso, G., Cinco, M., Fournier, P.E., Francavilla, E., Jensenius, M., Kazar, J., Laferl, H., Lakos, A., Lotric Furlan, S., Maurin, M., Oteo, J.A., Parola, P., Perez-Eid, C., Peter, O., Postic, D., Raoult, D., Tellez, A., Tselentis, Y., Wilske, B., 2004. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect* 10, 1108-1132.
- Bustamante, M.E., Varela, G., 1947. Distribucion de las rickettsias en México. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 8, 3-14.
- Clements, M.L., Dumler, J.S., Fiset, P., Wisseman, C.L., Jr, Snyder, M.J., Levine, M.M., 1983. Serodiagnosis of Rocky Mountain Spotted Fever: Comparison of IgM and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assays and Indirect Fluorescent Antibody Test. *The Journal of Infectious Disease* 148, 876-880.
- Chang, Y.F., Novosol, V., McDonough, S.P., Chang, C.F., Jacobson, R.H., Divers, T., Quimby, F.W., Shin, S., Lein, D.H., 2000. Experimental Infection of Ponies with *Borrelia burgdorferi* by Exposure to Ixodid Ticks. *Vet Pathol* 37, 68-76.
- Dantas-Torres, F., 2008. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Vet Parasitol* 152, 173-185.
- Dantas-Torres, F., 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & Vectors* 3, 26.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L.A., Brandao-Filho, S.P., 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 39, 64-67.
- Dantas-Torres, F., Melo, M.F., Figueredo, L.A., Brandao-Filho, S.P., 2009. Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of Sao Vicente Ferrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 18, 75-77.
- Demma, L.J., Traeger, M.S., Nicholson, W.L., Paddock, C.D., Blau, D.M., Eremeeva, M.E., Dasch, G.A., Levin, M.L., Singleton, J., Jr., Zaki, S.R., Cheek, J.E., Swerdlow, D.L., McQuiston, J.H., 2005. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. *N Engl J Med* 353, 587-594.
- Díaz, J.H., 2010. Ticks, including tick paralysis, In Mandell G. L., Bennett J. E., Dolin R. (eds.), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, PA, 3649–3662 pp.
- Eremeeva, M., Balayeva, N., Raoult, D., 1994. Purification of rickettsial cultures contaminated by mycoplasmas. *Acta virologica* 38, 231-233.

- Eremeeva, M.E., Dasch, G.A., Silverman, D.J., 2001. Quantitative Analyses of Variations in the Injury of Endothelial Cells Elicited by 11 Isolates of *Rickettsia rickettsii*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 8, 788-796.
- Eremeeva, M.E., Oliveira, A., Robinson, J.B., Ribakova, N., Tokarevich, N.K., Dasch, G.A., 2006. Prevalence of bacterial agents in Ixodes persulcatus ticks from the Vologda Province of Russia. Ann N Y Acad Sci 1078, 291-298.
- Farley, D., 1996. Fighting Fleas and Ticks. Preventing Tick-Borne Disease. FDA Consumer magazine.
- Flores-Ibarra, M., Estrella-Valenzuela, G., 2004. Canine ecology and socioeconomic factors associated with dogs unvaccinated against rabies in a Mexican city across the US-Mexico border. Prev Vet Med 62, 79-87.
- Fritz, C., Kriner, P., Garcia, D., Padgett, K., Espinosa, A., Chase, R., Hu, R., Messenger, S., 2012. Tick infestation and spotted-fever group Rickettsia in shelter dogs, California, 2009. Zoonoses Public Health 59, 4-7.
- Hidalgo, M., Vesga, J.F., Lizarazo, D., Valbuena, G., 2009. A Survey of Antibodies against Rickettsia rickettsii and Ehrlichia chafeensis in Domestic Animals from a Rural Area of Colombia. Am J Trop Med Hyg 80, 1029-1030.
- Koch, H.G., Tuck Marty, D., 1986. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. Annals of the Entomological Society of America 79, 11-14.
- Kováčová, E., Kazár, J., 2000. Rickettsial diseases and their serological diagnosis. Clin. Lab. 46, 239-245.
- La Scola, B., Bechah, Y., Lepidi, H., Raoult, D., 2009. Prediction of rickettsial skin eschars in humans using an experimental guinea pig model. Microb Pathog 47, 128-133.
- La Scola, B., Raoult, D., 1997. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. J. Clin. Microbiol. 35, 2715-2727.
- Labruna, M., McBride, J., Bouyer, D., Camargo, L., Camargo, E., Walker, D., 2004. Molecular evidence for a spotted fever group Rickettsia species in the tick Amblyomma longirostre in Brazil. J Med Entomol 41, 533-537.
- Labruna, M.B., Pacheco, R.C., Richtzenhain, L.J., Szabo, M.P.J., 2007. Isolation of Rickettsia rhipicephali and Rickettsia bellii from Haemaphysalis juxtakochi Ticks in the State of Sao Paulo, Brazil. Appl. Envir. Microbiol. 73, 869-873.
- Louly, C.C.B., Soares, S.F., da Nóbrega Silveira, D., Guimarães, M.S., Borges, L.M.F., 2010. Differences in the behavior of Rhipicephalus sanguineus tested against resistant and susceptible dogs. Experimental and Applied Acarology 51, 353-362.
- Lyon, W.F., Restifo, R.A., 2000. Ticks. Tick removal. . Ohio State University Extension Fact Sheet Entomology, HYG 2073-2098.
- Maggi, R.G., Birkenheuer, A.J., Hegarty, B.C., Bradley, J.M., Levy, M.G., Breitschwerdt, E.B., 2014. Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. Parasites & Vectors 7, 127-127.
- McQuiston, J.H., Guerra, M.A., Watts, M.R., Lawaczeck, E., Levy, C., Nicholson, W.L., Adjemian, J., Swerdlow, D.L., 2011. Evidence of exposure to spotted fever group rickettsiae among Arizona dogs outside a previously documented outbreak area. Zoonoses Public Health. 58, 85-92. doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01300.x.
- Oteo, J.A., Portillo, A., 2012. Tick-borne rickettsioses in Europe. Ticks and Tick-borne Diseases 3, 271-278.
- Parola, P., Fenollar, F., Badiaga, S., Brouqui, P., Raoult, D., 2001. First documentation of Rickettsia conorii infection (strain Indian tick typhus) in a Traveler. Emerg Infect Dis 7, 909-910.

- Parola, P., Paddock, C.D., Raoult, D., 2005. Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. *Clin. Microbiol. Rev.* 18, 719-756.
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clin Microbiol Infect* 7, 80-83.
- Parola, P., Socolovschi, C., Jeanjean, L., Bitam, I., Fournier, P.E., Sotto, A., Labauge, P., Raoult, D., 2008. Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. *PLoS Negl Trop Dis* 2, e338.
- Peniche-Lara, G., Perez-Osorio, C., Dzul-Rosado, K.R., Zavala-Castro, J., 2015. Rickettsiosis: Enfermedad Re-Emergente en México. *Ciencia y Humanismo en la Salud Vol. 2,* 76-84.
- Piesman, J., Schneider, B.S., Zeidner, N.S., 2001. Use of quantitative PCR to measure density of *Borrelia burgdorferi* in the midgut and salivary glands of feeding tick vectors. *J Clin Microbiol* 39, 4145-4148.
- Pinter, A., Horta, M., Pacheco, R., Moraes-Filho, J., Labruna, M., 2008. Serosurvey of Rickettsia spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of Sao Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica* 24, 247-252.
- Quiroz, H., 1999. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. Ixódidos, Vol I, 1ra Edition. Editorial Limusa, México, D.F., 876 p.
- Regnery, R.L., Spruill, C.L., Plikaytis, B.D., 1991. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J. Bacteriol.* 173, 1576-1589.
- Rodríguez-Viva, R.I., Ojeda-Chia, M.M., Trinidad-Martínez, I., Reyes-Novelo, E., Esteve-Gassent, M.D., A.A, P.d.L., 2016. Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology* 215, 106-113.
- Romano-Osuna, M., Tinoco-Gracia, L., Hori-Oshima, S., Medina-Basulto, G., Renteria-Evangelista, T., Barreras Serrano, A., López-Valencia, G., García-Prieto, B.J., 2009. Prevalencia de rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en perros asociada al sexo, talla, edad y pelaje de la zona rural de Mexicali, Baja California, México. In: Segundo Congreso Latinoamericano de Patología Clínica Veterinaria, México, D.F.
- Scheafer, R.L., Mendenhall, W., Ott, L., 1987. Elementos de muestreo. Grupo editorial Iberoamericana, México, D.F., 39-76 pp.
- Sheetz, N., Wilson, B., Benedict, J., Huffman, E., Lawton, A., Travers, M., Nadolny, P., Young, S., Given, K., Florin, L., 2014. Evaluating Source Data Verification as a Quality Control Measure in Clinical Trials. *Drug Information Journal* 48, 671-680.
- Silveira, J., Passos, L., Ribeiro, M., 2009. Population dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. *Vet Parasitol* 161, 270-275.
- Soares, A.O., Souza, A.D., Feliciano, E.A., Rodrigues, A.F., D'Agosto, M., Daemon, E., 2006. [Evaluation of ectoparasites and hemoparasites in dogs kept in apartments and houses with yards in the city of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil]. *Rev Bras Parasitol Vet* 15, 13-16.
- Swanson, S.J., Neitzel, D., Reed, K.D., Belongia, E.A., 2006. Coinfections Acquired from *Ixodes* Ticks. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 708-727.
- Thomas, V., Anguita, J., Barthold, S.W., Fikrig, E., 2001. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. *Infect Immun* 69, 3359-3371.
- Tinoco-Gracia, L., Hori-Oshima, S., Medina-Basulto, G., Renteria-Evangelista, T., Barreras-Serrano, A., López-Valencia, G., Cueto-González, S.A., Romano-Osuna, M., García-Prieto, B.J., 2009a. Prevalencia de rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en perros asociada al grado de marginalidad en la zona urbana de Mexicali, B.C. In: XIV Congreso Veterinario de León.

- Tinoco-Gracia, L., Hori-Oshima, S., Medina-Basulto, G., Renteria-Evangelista, T., Barreras Serrano, A., López-Valencia, G., Cueto-González, S.A., Romano-Osuna, M., García-Prieto, B.J., 2009b. Prevalencia y factores de riesgo de rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en perros en la zona urbana de Mexicali, B.C. In: X Congreso Internacional COMVEPE BC-IICV.UABC., Tijuana, B.C., México.
- Tinoco-Gracia, L., Quiroz, H., Quintero, M.M.T., Rentería-Evangelista, T., González-Medina, Y., Barreras Serrano, A., Hori-Oshima, S., Moro, M., Vinasco, J., 2009c. Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* ticks on dogs in a region on the Mexico-USA border. *Vet Rec.* 164, 59-61.
- Walker, D.H., 1995. Rocky Mountain spotted fever: a seasonal alert. *Clin Infect Dis* 20, 1111-1117.
- Walker, D.H., 2002. *Rickettsia rickettsii*: as virulent as ever. *Am J Trop Med Hyg* 66, 448-449.
- Walker, D.H., Yu, X.J., 2005. Progress in rickettsial genome analysis from pioneering of *Rickettsia prowazekii* to the recent *Rickettsia typhi*. *Ann N Y Acad Sci* 1063, 13-25.
- Zavala-Castro, J.E., Zavala-Velazquez, J.E., Walker, D.H., Ruiz Arcila, E.E., Laviada-Molina, H., Olano, J.P., Ruiz-Sosa, J.A., Small, M.A., Dzúl-Rosado, K.R., 2006. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatan, Mexico. *Emerg Infect Dis* 12, 672-674.