



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

**Identificación de *Babesia caballi* en *Amblyomma mixtum* como
vector de Piroplasmosis equina.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

M.V.Z. Esmeralda Becerra Guevara

Dirigido por:

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito

Querétaro, Qro. A 15 de marzo de 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable



Identificación de *Babesia caballi* en *Amblyomma mixtum* como vector de Piroplasmosis equina.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

M.V.Z. Esmeralda Becerra Guevara

Dirigido por:

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito

Presidente

M. en C. Mariano Hernández Gil

Secretario

Dr. Diego Josimar Hernández Silva

Vocal

M. en C. Elizabeth Salinas Estrella

Vocal

M.S.P.A.S. Roberto Ilwikatzin Guerrero Solorio

Vocal

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Marzo, 2026
México

RESUMEN

La piroplasmosis equina (PE) es una enfermedad de los équidos, incluidos caballos, burros, mulas y cebras; causada por los protozoarios intraeritrocíticos *Babesia caballi*, *Theileria equi* y, la más recientemente descrita, *Theileria haneyi*. Esta enfermedad es transmitida por diversas especies de garrapatas ixodidas. El ciclo de vida de estos parásitos comprende etapas de desarrollo en la garrapata. Estas incluyen el desarrollo sexual, llamado gametogonia, que ocurre dentro del intestino de la garrapata y la fase asexual, llamado esporogonia, que se lleva a cabo en las glándulas salivales de la garrapata. Este proceso es esencial para que una garrapata sea considerada un vector competente. Para conocer si la garrapata *Amblyomma mixtum* funge como vector para *Babesia caballi* se desarrolló el presente estudio donde se llevó a cabo un muestreo en Vega de Alatorre, Veracruz, para la obtención de garrapatas *A. mixtum*. Una vez obtenidas e identificadas taxonómicamente, se separaron en grupos de 20 garrapatas semi repletas y 8 repletas. Las garrapatas semi repletas fueron disectadas para la obtención de glándulas salivales y ovarios. Se extrajo ADN el cual fue utilizado para la identificación de material genético de *B. caballi* por medio de PCR anidada (nPCR). Las garrapatas repletas se mantuvieron en incubadora con ambiente controlado durante 2 semanas, para la obtención de huevos. Los huevos se mantuvieron en incubación bajo ambiente controlado durante 7 semanas, para la obtención de larvas. Una vez eclosionadas, las larvas obtenidas fueron utilizadas para la extracción de ADN, posteriormente, éste fue utilizado para la detección de material genético de *B. caballi* por medio de nPCR. Los resultados obtenidos fueron negativos en todos los experimentos realizados. En conclusión, las garrapatas *A. mixtum* analizadas que se encuentra en Vega de Alatorre, Veracruz parasitando équidos no contiene material genético de *B. caballi* en los órganos necesarios para la transmisión de este agente. Este trabajo plantea la necesidad de desarrollar un estudio con una infección controlada, utilizando la misma técnica de detección de material genético en glándula salival y ovarios para determinar si *A. mixtum* es un vector competente.

Palabras clave: Piroplasmosis equina, *Amblyomma mixtum*, *Babesia caballi*, competencia vectorial, garrapatas, glándula salival, ovarios, esporogonia, transmisión.

ABSTRACT

Equine Piroplasmosis (EP) is a disease affecting equids, including horses, donkeys, mules, and zebras. It is caused by intraerythrocytic protozoa *Babesia caballi*, *Theileria equi*, and the more recently described *Theileria haneyi*. These parasites are transmitted by various species of ixodid ticks. The life cycle of these parasites includes developmental stages in the tick. These stages include sexual development, known as gametogony, which occurs within the tick's intestine, and the asexual phase, known as sporogony, which takes place in the tick's salivary glands. This process is essential for a tick to be considered a competent vector. In order to find out if the *Amblyomma mixtum* tick acts as a vector for *Babesia caballi*, this study was developed in Vega de Alatorre, Veracruz, where specimens of *A. mixtum* were collected. Once obtained and taxonomically identified, ticks were separated in groups of 20 semi-engorged and 8 fully engorged ticks. The semi-engorged ticks were dissected to extract salivary glands and ovaries. The DNA was obtained and used to identify *B. caballi* genetic material via nested PCR (nPCR). Fully engorged ticks were maintained in an incubator under controlled conditions for two weeks to obtain eggs. These eggs were kept under controlled conditions for seven weeks to obtain larvae. Once hatched, the larvae were used for DNA extraction, subsequently, were used for detection of *B. caballi* genetic material via nPCR. The results obtained were negative in all assays performed. In conclusion, the *A. mixtum* ticks analyzed which are found in Vega de Alatorre, Veracruz parasitizing equids do not contain *B. caballi* genetic material in the organs necessary for pathogen transmission. However, this research project raises the need to develop a controlled infection study utilizing the same genetic material detection technique in salivary glands and ovaries to determine if *A. mixtum* is a vector competence.

Keywords: Equine piroplasmosis, *Amblyomma mixtum*, *Babesia caballi*, vector competence, ticks, salivary gland, ovaries, sporogony, transmission.

DEDICATORIAS

A mi familia; Dina, Manuel, Rubi, Manuel Francisco, Gabriela, Matías, Santiago y Loany, las personas que siempre me han acompañado en las buenas y en las malas, apoyándome en cada reto y meta que me propongo. Son el ancla que me mantiene con los pies en la tierra, pero también son las alas que me impulsan a volar.

A David; el hombre que siempre me motiva a superarme y me inspira a ser mi mejor versión. Quien no me ha soltado en cada paso que doy. Mi mejor amigo, mi compañero, mi amor.

A Montse; mi mejor amiga, ese ángel que me cuida desde el cielo. Cada logro es tuyo también.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Querétaro y la Facultad de Ciencias Naturales por permitirme cursar mis estudios de Maestría.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias, Tecnologías e Innovación (CONAHCTI), antes Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca que me proporcionó la cual me permitió realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Juan Joel Mosqueda, director de tesis, por aceptarme como su tesista y apoyar el desarrollo de mi proyecto, por la libertad brindada para la propuesta de ideas y por la oportunidad de desarrollarme en un área académica nueva.

A mi comité tutorial; el M. en C. Mariano Hernández Gil, el Dr. Diego Josimar Hernández Silva, la M. en C. Elizabeth Salinas Estrella y el M.S.P.A.S. Roberto Ilwikatzin Guerrero Solorio, por su disponibilidad y apoyo. Por su tiempo y críticas constructivas.

Al Laboratorio de Inmunología y Vacunas UAQ, así como a todos sus miembros, por brindarme un espacio para llevar a cabo la fase experimental de mi proyecto y por todo el apoyo y asesoría brindada en estos dos años.

A los compañeros, ahora grandes amigos, que conocí durante mi estancia en la maestría los cuales me ayudaron a hacer de esta experiencia algo único.

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iiv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ANEXOS	ii
x	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Competencia vectorial en las Enfermedades transmitidas por vectores.....	3
2.2. Garrapatas Ixódidas	5
2.2.1. Género <i>Amblyomma</i>	6
2.2.2. <i>Amblyomma mixtum</i>	7
2.3. Piroplasmosis equina	12
2.3.1. Etiología de la enfermedad.....	12
2.3.2. <i>Babesia caballi</i>	12
2.3.2.1. Ciclo biológico	13
2.3.3. Patogenia y signos clínicos.....	16
2.3.4. Pruebas diagnósticas para piroplasmosis equina	18
2.3.4.1. Frotis sanguíneo.....	18
2.3.4.2. Inmunofluorescencia indirecta	18

2.3.4.3. Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima	19
2.3.4.4. Reacción en Cadena de la Polimerasa	19
2.3.5. Tratamiento y prevención.....	20
2.4. Epidemiología de <i>Babesia caballi</i>	21
2.4.1. Distribución.....	22
2.5. Impacto de la piroplasmosis equina	22
III. JUSTIFICACIÓN	25
IV. HIPÓTESIS	25
V. OBJETIVOS	26
5.1. Objetivo general.....	266
5.2. Objetivos específicos.....	266
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	277
6.1. Estrategia experimental	277
6.2. Muestreo	288
6.2.2. Identificación taxonómica	288
6.2.3. Evaluación biológica tansovárica en <i>Amblyomma mixtum</i>	29
6.2.4. Detección de <i>B. caballi</i> en tejidos	30
6.2.5. Detección de <i>B. caballi</i> en huevos y larvas	31
6.2.6. Ensayo <i>in silico</i> para <i>Babesia caballi</i>	31
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
VIII. CONCLUSIONES	39
IX. BIBLIOGRAFÍA	40
X. ANEXOS	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Oligonucleótidos cebadores para PCR anidada de <i>B. caballi</i>	30
2	Frecuencia y porcentaje de garrapatas identificadas por género.....	32
3	Evaluación de muestras de glándulas y ovarios de <i>A. mixtum</i> semi repletas.....	34
4	Evaluación de ADN de huevos y larvas de <i>A. mixtum</i> con 10 días de edad.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Vista dorsal de especímenes de <i>Amblyomma mixtum</i> en microscopio estereoscópico.....	8
2	Macho de <i>Amblyomma mixtum</i> en microscopía electrónica.....	9
3	Hembra de <i>Amblyomma mixtum</i> en microscopía electrónica.....	9
4	Ciclo de vida de garrapatas de tres hospedantes.....	11
5	Ciclo biológico de <i>Babesia caballi</i>	14
6	Distribución mundial de équidos.....	23
7	Representación esquemática de la estrategia experimental para la detección de <i>B. caballi</i> en glándula salival y ovarios de <i>A. mixtum</i>	27
8	Porcentaje de garrapatas colectadas por región anatómica.....	33
9	Detección de <i>B. caballi</i> en glándula salival y ovarios de <i>A. mixtum</i>	36
10	Detección de <i>B. caballi</i> en larvas de <i>A. mixtum</i>	36
11	Dinámica evolutiva de <i>Babesia caballi</i> en el mundo.....	38

ANEXOS

Anexo		Página
I	Protocolo de la reacción externa de PCR para <i>B. caballi</i>	57
II	Protocolo de la reacción interna de PCR para <i>B. caballi</i>	57
III	Identificación taxonómica por estadios para <i>Amblyomma mixtum</i>	58
IV	Frecuencia y porcentaje de garrapatas localizadas en équidos.....	60

I. INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina (PE) es una enfermedad de los équidos, incluidos caballos, burros, mulas y cebras, causada por los protozoarios intraeritrocíticos *Babesia caballi*, *Theileria equi* (Rothschild, 2013) y, recientemente también *Theileria haneyi* (Mège *et al.*, 2025). Para completar su ciclo de vida, estos parásitos deben atravesar una serie compleja de eventos de desarrollo, incluido el desarrollo de la etapa sexual que se lleva a cabo en una garrapata (Wise *et al.*, 2013; Scoles & Ueti, 2015). Estos protozoarios tienen diferencias biológicas, pero causan sinologías similares, tienen ciclos de vida y vectores similares (Rothschild, 2013; Wise *et al.*, 2013).

La enfermedad genera un cuadro clínico agudo caracterizado por fiebre, hiporexia o anorexia, taquicardia, taquipnea, estreñimiento seguido de diarrea, petequias, esplenomegalia, trombocitopenia y anemia hemolítica que conduce a hemoglobinuria e ictericia (Zobba *et al.*, 2008; Sumbria *et al.*, 2014). Los animales que sobreviven la infección aguda desarrollan una infección persistente de por vida, sin signos clínicos evidentes y pueden servir como reservorio para la transmisión mecánica y biológica por garrapatas (Shaly, 2022; Gupta *et al.*, 2026).

La PE es endémica en regiones tropicales y subtropicales. Se ha reportado en diversos estados de la república mexicana, pero no se ha determinado qué especies de garrapatas presentes en estos estados actúan como vectores de los protozoarios causantes (Traub-Dargatz *et al.*, 2010; Almazán *et al.*, 2022).

Los mecanismos de transmisión de *B. caballi*, pueden ser de forma mecánica la cual involucra fómites contaminados con sangre, incluidas agujas hipodérmicas, instrumental quirúrgico e instrumental odontológico. En cambio, la transmisión biológica se efectúa por garrapatas, de las cuales diversas especies han sido mencionadas vectores del agente causal, pero actualmente solamente *Dermacentor nitens* es reconocida como el principal vector de piroplasmosis equina en América (Rothschild, 2013; Almazán *et al.*, 2022; Estrella *et al.*, 2022).

En relación a la etiología de *B. caballi*, este hemoparásito atraviesa un ciclo de desarrollo dentro de las garrapatas que comienza con la infección de las células intestinales a partir de la ingestión de eritrocitos infectados durante su alimentación en el equino hospedante, el cual concluye con su replicación en las glándulas salivales y su expulsión en la saliva cuando la garrapata se alimenta en un nuevo équido susceptible (Díaz-Sánchez *et al.*, 2020; Salinas-Estrella *et al.*, 2022; García-Carrasco *et al.*, 2025). Ante dicha dinámica biológica las garrapatas actuarán como los hospedantes definitivos de *B. caballi*, ya que el parásito debe pasar por un desarrollo sexual en ellas para completar su ciclo biológico, y los équidos fungirán como hospedante intermediarios (Rothschild, 2013). Debido a esta estrecha asociación vector-hospedante solo unas pocas especies de garrapatas son consideradas vectores competentes de la piroplasmosis (Rothschild, 2013; Salinas-Estrella *et al.*, 2022).

La capacidad vectorial de las especies de garrapatas presentes en México para *B. caballi* no ha sido bien definida (Almazán *et al.*, 2022; Aguilar-Meraz *et al.*, 2026), sin embargo, los reportes de la enfermedad en zonas donde antes no se tenía registro, justifican la realización de estudios sobre el papel de otras especies de garrapatas como posibles vectores competentes. Una de las especies consideradas como potencial vector es *Amblyomma mixtum*, la cual está ampliamente distribuida en América (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021), y desempeña un rol eco-epidemiológico clave en el sector salud, ya que es un ectoparásito con prevalencia en équidos y actúa como vector de múltiples patógenos tanto en medicina humana como veterinaria, por ello, es necesario evaluar su competencia como vector de *B. caballi*, uno de los agentes causantes de PE (Rothschild, 2013).

II. ANTECEDENTES

2.1. Competencia vectorial en las Enfermedades transmitidas por vectores

Las enfermedades transmitidas por vectores (VBD, por sus siglas en inglés) son todas aquellas que se transmiten por medio de un hospedante intermedio al que se le conoce como “vector” (Andrade Ochoa *et al.*, 2017). Estas VBD constituyen un complejo problema en la salud humana y animal en todo el mundo, sobre todo en áreas donde las condiciones ambientales favorecen la supervivencia de los vectores (De Garine-Wichatitsky, 2000; Quintero Gil *et al.*, 2010). Las VBD representan más del 17% de todas las enfermedades infecciosas existentes, siendo responsables de pérdidas económicas considerables a nivel mundial (OMS, 2020).

Los vectores son organismos vivos que pueden transmitir agentes infecciosos entre individuos, tanto humanos como animales. Muchos de estos vectores son artrópodos hematófagos que ingieren a los microorganismos patógenos junto con la sangre de su hospedante y posteriormente lo transmiten a uno nuevo (OMS, 2020). El criterio necesario para considerar a una especie como vector es su capacidad de transmitir a un agente infeccioso en condiciones de campo (Quintero Gil *et al.*, 2010). Por lo tanto, el éxito en la diseminación de las VBD está dado por la capacidad y la competencia vectorial (Chen *et al.*, 2024).

La capacidad vectorial es la habilidad de una especie para transmitir un patógeno; comprende factores extrínsecos o ecológicos y factores intrínsecos relacionados con la genética del vector (Rodríguez *et al.*, 2004; Quintero Gil *et al.*, 2010). Mientras que la competencia vectorial es la habilidad de un vector de infectarse por un agente patógeno y de transmitirlo a un hospedante susceptible generando así enfermedad (Chen *et al.*, 2024). La competencia vectorial está constituida por factores intrínsecos determinados por las bases genéticas del vector que dan lugar a la susceptibilidad a la infección, la permisibilidad para el desarrollo del patógeno y la eficiencia en la transmisión (Quintero Gil *et al.*, 2010; Sánchez-Casiano *et al.*, 2020). Hablando en particular de los artrópodos hematófagos la

capacidad del agente patógeno de infectar, replicarse y diseminarse desde el intestino del vector hasta las glándulas salivales de éste, son éste el rol clave que determina la competencia vectorial (Kazimírová & Štibrániová, 2013; Chen *et al.*, 2024;).

El manejo de cualquier VBD se basa en gran medida en el control de los vectores. Para ello es necesario comprender la distribución del vector y así poder mejorar la planificación de las estrategias de control (De Garine-Wichatitsky, 2000). Hasta este punto se ha establecido que las garrapatas son artrópodos, parásitos, hematófagos consideradas vectores con gran impacto (Khan *et al.*, 2021), tanto el sector de salud humana y animal, así como en el sector socioeconómico de diversas naciones (Boulanger *et al.*, 2019). Durante su alimentación son capaces de transmitir, mediante su saliva, agentes patógenos causantes de diversas enfermedades (Brites-Neto *et al.*, 2015; Vivas *et al.*, 2019). Las VBD tienen repercusiones serias en salud pública y animal en todo el mundo, causando pérdidas económicas importantes dadas por los costos directos asociados con las muertes y la reducción en la productividad de los animales afectados; así como por los costos indirectos, resultado de los programas de control de ectoparásitos y tratamientos farmacológicos (Gerem & Hadush, 2016; Almazan *et al.*, 2018).

Las enfermedades transmitidas por vectores en los equinos (EVBD, por sus siglas en inglés) son generadas por diversos agentes patógenos, los cuales son transmitidos por múltiples artrópodos. La piroplasmosis equina (PE) es considerada la EVBD transmitida por garrapatas, más importante en regiones con clima tropical, subtropical y templado (Díaz-Sánchez *et al.*, 2020).

La presencia de vectores competentes es un componente crítico en la epidemiología de la PE. Se han enumerado 33 especies de garrapatas de la familia Ixodidae implicadas como vectores causantes de la enfermedad (Scoles & Ueti, 2015). Entre los factores biológicos asociados al alto potencial vectorial se encuentran: su ciclo de vida, las propiedades de su saliva y el proceso de digestión de la sangre ingerida de su hospedante (Márquez-Jiménez *et al.*, 2005).

2.2. Garrapatas Ixóidas

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos obligados considerados como el segundo grupo de artrópodos de mayor importancia debido a que actúan como vectores de una amplia variedad de microorganismos patógenos causantes de enfermedades infecciosas de importancia en salud humana y animal (Márquez-Jiménez *et al.*, 2005; Bursali *et al.*, 2012; Muñoz *et al.*, 2017; Guglielmone *et al.*, 2023).

La garrapatas de la familia Ixodidae, comprende un grupo de garrapatas también denominadas como “garrapatas duras”, las cuales son muy abundantes y tienen una amplia distribución a nivel mundial (Fedonyuk *et al.*, 2019). Se han descrito diferentes aspectos biológicos de estas garrapatas relacionados con su clasificación taxonómica, sus formas de alimentación, los procesos de ovoposición de acuerdo con la especie, factores de resistencia y las estrategias de búsqueda de sus hospedantes. Igualmente, se han descrito las diferencias biológicas entre sus ciclos de vida dependiendo del número de hospedantes (Brites-Neto *et al.*, 2015; Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016; Muñoz *et al.*, 2017; Guglielmone *et al.*, 2023), los cuales pueden ir de uno hasta tres hospedantes distintos y etapas de vida libre en el medio ambiente (Barros-Battesti *et al.*, 2024).

Esta familia de ectoparásitos cuenta con 19 géneros (Orlova *et al.*, 2023), siendo los géneros *Ixodes*, *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Dermacentor*, y *Rhipicephalus* en los cuales se han reportado mayor cantidad de especies, sin embargo dentro de esta familia se han descrito un total de 900 especies (Márquez-Jiménez *et al.*, 2005; Guglielmone *et al.*, 2010; Brites-Neto *et al.*, 2015; Orlova *et al.*, 2023), las cuales se encuentran distribuidas en áreas tropicales, subtropicales y zonas templadas, siendo las primeras dos regiones las que presentan una mayor diversidad de géneros y especies (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016; Guglielmone *et al.*, 2023).

2.2.1. Género *Amblyomma*

El género *Amblyomma* (Kock, 1844) se encuentra distribuido en todos los continentes, excepto en la Antártida. Actualmente se han descrito 106 especies dentro de este género, de las cuales la mitad se encuentran en el continente americano (Brites-Neto *et al.*, 2015; Guglielmone *et al.*, 2010; Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011). Las especies de este género parasitan una gran variedad de hospedantes, encontrándose en mamíferos, aves, anfibios y reptiles (Norval, 1975; Barros-Battesti *et al.*, 2024).

En México se han reportado 26 especies pertenecientes a este género, localizadas en 30 de los 32 estados de la República (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021). Las especies de este género han sido reconocidas como vectores de diversos patógenos de alta importancia en salud pública y veterinaria (Labruna *et al.*, 2003; Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011).

De la amplia variedad de especies, el complejo *Amblyomma cajennense* es considerado el de mayor importancia y está integrado por 6 especies (Acevedo-Gutiérrez *et al.*, 2021; Cotes-Perdomo *et al.*, 2023): *Amblyomma tonelliae*, asociada a las zonas secas del centro-norte de Argentina hasta Bolivia y Paraguay (Nava *et al.*, 2014); *Amblyomma interandinum*, reportada en el norte de Perú (Nava *et al.*, 2011, 2014); *Amblyomma patinoi*, reportada en el oriente de Colombia (Nava *et al.*, 2014); *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844), presente desde Texas, EE. UU. hasta las Islas del Caribe y oeste de Ecuador (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021); *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888), distribuida desde las zonas húmedas del norte de Argentina, hasta las regiones contiguas de Bolivia y Paraguay, así como en los estados costeros y centro-occidentales de Brasil (de Paula *et al.*, 2022); y finalmente, *Amblyomma cajennense sensu stricto* (Fabricius, 1787), identificada en la Guyana Francesa, Surinam, Guyana, Venezuela y Brasil (Guglielmone *et al.*, 2020; Acevedo-Gutiérrez *et al.*, 2021). Dentro de esta clasificación, es importante resaltar que el complejo *Amblyomma cajennense* considera dos agrupaciones principales, *Amblyomma cajennense sensu stricto* la cual presenta una distribución en la región amazónica y otras zonas de Sudamérica, y considerada *Amblyomma cajennense* propiamente; en cambio *Amblyomma cajennense sensu lato*, engloba al conjunto de las especies del complejo y por ende su distribución se extiende

desde la región sur de Norteamérica, regiones de Centroamérica y el norte de Sudamérica (Acevedo-Gutiérrez *et al.*, 2021).

Las distintas especies del complejo *A. cajennense* han sido capaces de adaptarse a diferentes condiciones climáticas, ampliando así su distribución. En relación a su aspecto eco-epidemiológico diversas especies de este grupo presentan ciclos biológicos de tres hospedantes, con una baja especificidad en ellos y que en su mayoría son mamíferos. Donde los équidos actúan como algunos de sus hospedantes principales (Estrada-Peña *et al.*, 2004; Brites-Neto *et al.*, 2015).

2.2.2. *Amblyomma mixtum*

Amblyomma mixtum fue descrita por Koch en 1844 y es considerada como la segunda especie de garrapata con mayor importancia médica en México al estar implicada como vector de múltiples patógenos (Nava *et al.*, 2014; Almazán *et al.*, 2016), tanto en salud humana como animal (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021).

Presenta una amplia distribución en el continente americano, desde el sur de Texas y Florida, hasta regiones del norte de Sudamérica (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021). Se ha reportado en zonas con altitudes de 1 a 1000 msnm, con temperaturas que van de los 13 a los 26°C, encontrándose en diversos estados costeros del Golfo de México y el Océano Pacífico (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021). Entre las zonas enzoóticas, la frontera de México con Guatemala y Belice, así como algunas regiones de Centroamérica y Colombia, son catalogadas como áreas de nueva invasión (Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011; Almazán *et al.*, 2016; Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021). En México, ha sido encontrada en los estados de Chiapas, Chihuahua, Durango, Hidalgo, Morelos, Oaxaca, Quintana Roo, Tampico y Veracruz parasitando diferentes équidos (Nava *et al.*, 2014; Castillo-Martínez *et al.*, 2020; Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021).

A. mixtum produce altas infestaciones en sus hospedantes y, por su comportamiento biológico, se le considera como un vector potencial de múltiples enfermedades de animales

y humanos. Se ha reportado que esta garrapata parasita hasta un total de 13 especies distintas de hospedantes, entre los que se encuentran caninos, caprinos, ovinos, bovinos, equinos, osos hormigueros, cocodrilos, pecarís, tortugas de caja, ciervos rojos, venados cola blanca y humanos (Almazán *et al.*, 2016; Vivas *et al.*, 2019; Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021).

2.2.2.1. Clasificación taxonómica

En relación a sus características taxonómicas, *A. mixtum* es una garrapata ornamentada de piezas bucales largas (Rodríguez Vivas *et al.*, 2022), con un marcado dimorfismo sexual (Figura 1), así como características morfológicas específicas que permiten su identificación, las cuales se ilustran y describen en las figuras 2 y 3 (Nava *et al.*, 2014).



Figura 1. Vista dorsal de especímenes de *Amblyomma mixtum* vistos en microscopio estereoscópico. (A) Macho; (B) Hembra¹.

¹ Fotografía A y B obtenida por **Becerra-Guevara, E. (2024)** en las instalaciones del Laboratorio de Inmunología y Vacunas de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro

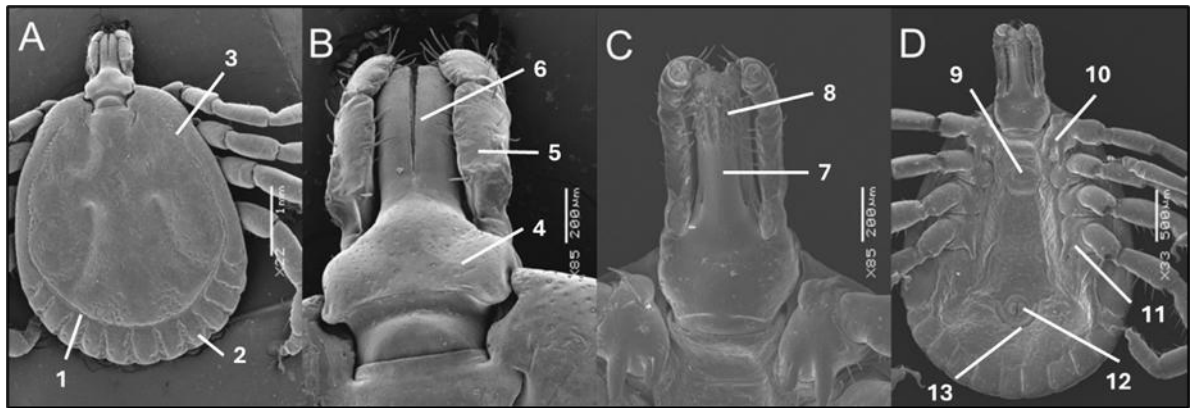


Figura 2. Macho de *Amblyomma mixtum* en microscopia electrónica.

(A) Vista dorsal: 1) Surco marginal completo delimitando todos los festones, 2) Festones, 3) Ojos planos; (B) Vista dorsal del capítulo: 4) Base del capítulo rectangular, 5) Palpos, 6) Quelíceros; (C) Vista ventral del capítulo: 7) Hipostoma, 8) Fórmula dental 3/3 en 4-5 filas; (D) vista ventral: 9) Abertura genital a nivel de la coxa II en forma de U, 10) Coxa I con espolón externo largo e interno corto, 11) Coxa IV con espolón largo, recto e interno que no alcanza el nivel del ano, 12) Orificio anal, 13) Surco anal en forma de U².

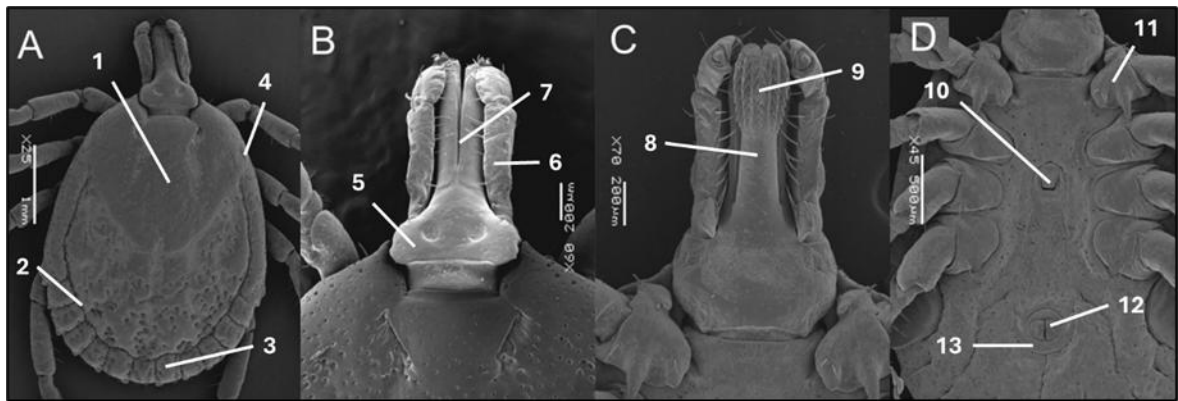


Figura 3. Hembra de *Amblyomma mixtum* en microscopia electrónica.

(A) Vista dorsal: 1) Escudo, 2) Surco marginal completo delimitando todos los festones, 3) Festones, 4) Ojos planos; (B) Vista dorsal del capítulo: 5) Base del capítulo rectangular, 6) Palpos, 7) Quelíceros; (C) Vista ventral del capítulo: 8) Hipostoma, 9) Fórmula dental 3/3 en 4-5 filas; (D) vista ventral: 10) Abertura genital, 11) Coxa I con espolón externo largo e interno corto, 12) Orificio anal, 13) Surco anal en forma de U².

2.2.2.2. Ciclo biológico

Como todas las especies del género *Amblyomma*, *A. mixtum* es una garrapata de tres hospedadores (Barros-Battesti *et al.*, 2024). En la figura 4 se esquematiza el ciclo biológico de las garrapatas, el cual comienza con la eclosión de los huevos previamente ovopositados en un sitio húmedo y protegido, el tiempo que tardan en eclosionar es de aproximadamente

² Figura 2 y 3 fueron elaboradas a partir de imágenes tomadas de (Nava *et al.*, 2014).

5 a 7 semanas. Posteriormente, las larvas que emergen de los huevos pasan por un proceso de maduración que tarda 15 días para ser aptas para alimentarse de sangre, durante este período se mueven en la vegetación donde permanecen hasta alcanzar a su primer hospedante (Almazán *et al.*, 2016). Las larvas maduras suben a su hospedante y se alimentan durante 4 a 6 días (Olegário *et al.*, 2011; Piña *et al.*, 2017) una vez repletas, se desprenden del animal y caen al suelo donde se lleva a cabo la primera muda. La muda de larva repleta a ninfa tarda de 14 a 23 días (Olegário *et al.*, 2011; Almazán *et al.*, 2016; Piña *et al.*, 2017). Las ninfas en el suelo buscan un segundo hospedante para alimentarse durante 4 a 5 días, una vez repletas se desprenden y caen nuevamente al suelo para llevar a cabo su segunda muda. La muda de ninfa repleta a adulta tarda de 12 a 23 días y en esta etapa es donde ocurre la diferenciación sexual (hembras y machos) (Olegário *et al.*, 2011; Almazán *et al.*, 2016; Piña *et al.*, 2017). Las adultas suben a un tercer hospedante donde se alimentan y copulan. La cópula estimula a las hembras a repletarse y, una vez repletas, se desprenden del hospedante y caen al suelo donde buscan un lugar idóneo para la ovoposición. El período de ovoposición dura de 1 a 2 semanas, una vez terminado, la hembra muere. Los machos continúan unos días más sobre el hospedante y después mueren (Almazán *et al.*, 2016; Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016; Rodríguez Vivas *et al.*, 2022). El número de huevos en la ovoposición varía de acuerdo con el hospedante que se estuvo parasitando, esto en relación también al volumen de sangre ingerida, en el caso particular de los equinos esta especie de ectoparásitos pueden producir hasta 4,174 larvas (Olegário *et al.*, 2011).

En vida libre las fases de larva y ninfa se pueden observar sobre el ganado entre los meses de abril y septiembre predominando así, en primavera e invierno. Las garrapatas adultas se pueden encontrar sobre el ganado durante todo el año, con baja abundancia en primavera y mayor abundancia en verano (Labruna *et al.*, 2009). Al tener períodos de ovoposición de 1 a 2 semanas y períodos medios de incubación de huevos de 5 a 7 semanas, *A. mixtum* presenta dos ciclos biológicos por año (Labruna *et al.*, 2003; Nava *et al.*, 2011; Almazán *et al.*, 2016). En cambio, el ciclo biológico de *A. mixtum* en condiciones controladas es de 133 a 193 días (Nava *et al.*, 2011).

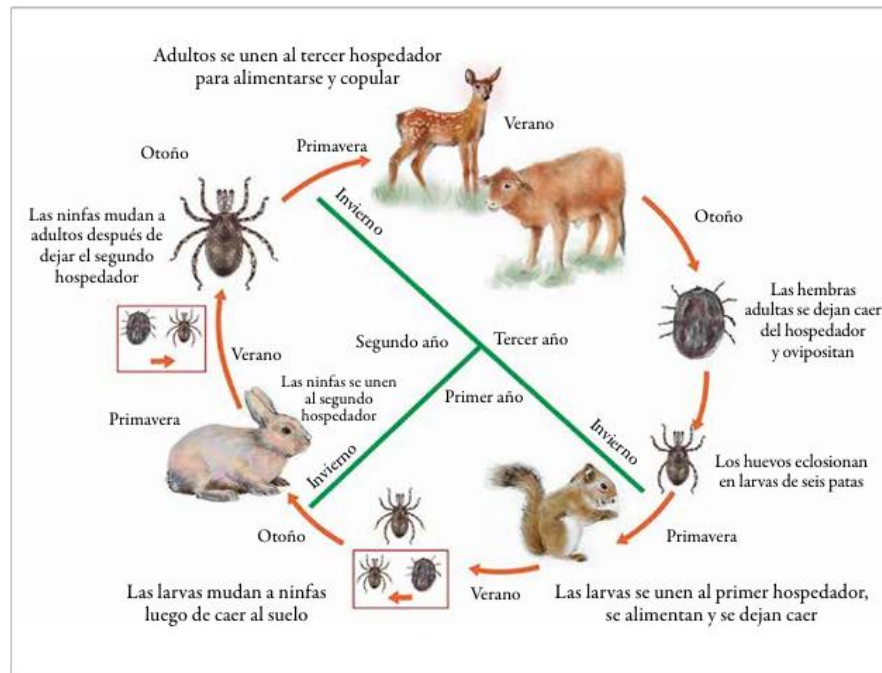


Figura 4. Ciclo de vida de garrapatas de tres hospedantes (Almazán *et al.*, 2016).

Dentro de las particularidades del ciclo biológico de esta especie, se tiene que para el caso particular de las larvas o ninfas estas no se han reportado en vegetación alta, lo que explicaría su presencia en mamíferos pequeños y aves, mientras que las garrapatas adultas se han reportado en vegetación que va de 30 a 40cm por encima del nivel del suelo, lo que explicaría su presencia más comúnmente en mamíferos medianos y grandes (Labruna *et al.*, 2009; Nava *et al.*, 2011).

A. mixtum ha sido identificada como vector de múltiples agentes patógenos como *Rickettsia rickettsi* en Argentina, Brasil, Colombia, Panamá y México; y *Rickettsia amblyommii* en Costa Rica y Panamá (Labruna *et al.*, 2011). Dado su impacto económico en el sector agropecuario y su importancia en salud humana y animal, el control de garrapatas en animales domésticos se basa principalmente en el uso de acaricidas (Rodríguez Vivas *et al.*, 2022). Sin embargo, existe poca información sobre la eficacia de los acaricidas en el control de *A. mixtum*. Por lo que, debido a su amplia distribución y su diversidad al parasitar diversos hospedantes silvestres y domésticos, es necesario ampliar el conocimiento sobre su ecología y competencia vectorial, para así, diseñar programas de control óptimos.

2.3. Piroplasmosis equina

2.3.1. Etiología de la enfermedad

La PE es una enfermedad que afecta caballos, asnos, mulas y cebras. Es una de las EVBD más importantes en todo el mundo siendo responsable de graves pérdidas económicas para la industria equina. Es causada por los parásitos *Babesia caballi* y *Theileria equi* a nivel global (Rothschild, 2013) y en la región de las Américas, se ha descrito recientemente a *Theileria haneyi* (Mège *et al.*, 2025). Es transmitida a los équidos mediante la mordedura de garrapatas ixódidas que actúan como vector biológico (Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Onyiche *et al.*, 2019; Dirks *et al.*, 2021; OMSA, 2021).

La enfermedad puede progresar de forma variable generando cuadros clínicos muy diferentes que pueden ser agudos, subagudos o crónicos. Los animales infectados llegan a ser portadores de estos agentes durante períodos prolongados, incluso de por vida, lo que los convierte en un riesgo de diseminación de la enfermedad (Brüning, 1996; Dirks *et al.*, 2021; OMSA, 2021).

2.3.2. *Babesia caballi*

Con base a la morfología, el grupo de hemoprotozoarios denominados babesias se clasifican en dos grupos: las babesias pequeñas (<2.5 μm) conformado por *B. bovis*, *B. gibsoni*, *B. microti*, *B. rodhaini*, entre otros; y las babesias grandes (2.5–5.0 μm), que incluyen a *B. bigemina*, *B. caballi*, *B. canis*, entre otros. Estos parásitos piriformes se encuentran unidos por los extremos puntiagudos, lo cual propicia la formación de un ángulo entre ellos dentro de los eritrocitos, por ejemplo en el caso de *B. caballi* forman un ángulo agudo, a diferencia de *B. bovis* donde forman un ángulo obtuso (Laha *et al.*, 2015; Zachary, 2017). La distribución geográfica es muy divergente entre las especies, siendo las regiones tropicales y subtropicales donde presentan una mayor prevalencia; por ejemplo, la babesiosis bovina y la piroplasmosis equina son enzoóticas de diversas regiones de África, Medio Oriente, centro y sur de América, el Caribe y Europa (Zachary, 2017).

En el caso particular de los équidos existen dos especies de hemoprotozoarios que los afectan, *Theileria equi* (anteriormente denominada como *B. equi*) (Borges *et al.*, 2014) considerada más patógena y de mayor extensión geográfica; y *B. caballi*, la cual es más prevalente en países del sur del Africa (Chhabra *et al.*, 2012), región en donde se identificó por primera vez en 1912, donde se nombró inicialmente como *Piroplasma caballi*, siendo posteriormente reclasificada al género *Babesia* (Scoles & Ueti, 2015). Dentro de la morfología particular de las babesias presentes en equinos, *B. caballi* aparece como par piriforme dentro de los eritrocitos y mide entre 2,5 y 4 μm de longitud, a diferencia *T. equi* que presenta un desarrollo preeritrocítico y un tamaño de 2.0 μm (Laha *et al.*, 2015). En el ciclo biológico de *B. caballi*, los merozoítos aparecen dentro de los eritrocitos como cuerpos basófilos piriformes. Estos dos grandes cuerpos se unen en sus extremos posteriores dando lugar a las estructuras visibles en los frotis de sangre infectada con *B. caballi* (Onyiche *et al.*, 2019; Salinas-Estrella *et al.*, 2022).

2.3.2.1. Ciclo biológico

El ciclo de vida de *B. caballi* consta de tres fases de replicación, dos fases asexuales y una sexual, de las cuales una se lleva a cabo en el hospedante (equino) y dos en el vector (garrapata) (Figura 5). La primera fase asexual se denomina merogonia, se lleva a cabo en los eritrocitos del equino donde inicia la división celular. La fase sexual conocida como gametogonia, se desarrolla en el intestino medio de la garrapata, seguida de una segunda fase asexual designada como esporogonia, presente en las glándulas salivales de la garrapata (Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Onyiche *et al.*, 2019; Dirks *et al.*, 2021; Salinas-Estrella *et al.*, 2022).

Al momento que la garrapata ingiere la sangre infectada del equino, se presenta la destrucción de los eritrocitos promoviendo la liberación de las formas intracelulares (merozoítos) en el lumen del intestino de la garrapata. Durante las primeras 24 horas post-ingestión se observan esquizontes inmaduros dentro de células del epitelio intestinal, transcurrido ese tiempo a las 48 y 72 horas post- ingestión se visualizan los cigotos maduros

los cuales dan origen a los esquizontes a través del mecanismo de fisión múltiple donde pueden llegar a producirse hasta 200 formas individuales de esquizontes.

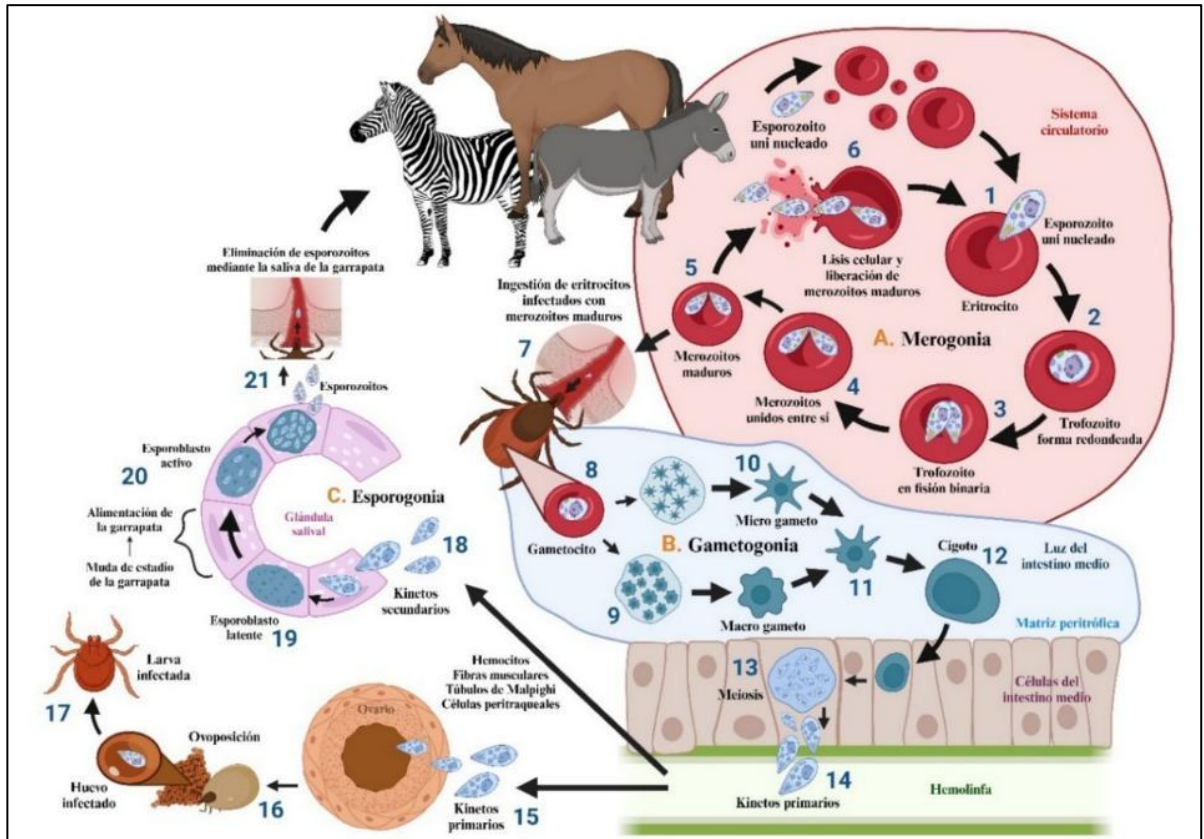


Figura 5. Ciclo biológico de *Babesia caballi*.

(A) Merogonia: Se lleva a cabo en el sistema circulatorio del équido. 1) Cada esporozoito infecta un eritrocito, 2) Una vez en el eritrocito, el esporozoito cambia a trofozoito con forma circular, 3) El trofozoito se divide por fisión binaria dando lugar a los merozoitos, 4) Los merozoitos se unen en pares por el extremo apical, 5) Los merozoitos maduros se multiplican dentro del eritrocito, 6) Causan lisis celular y son liberados al sistema circulatorio, continúan infectando otros eritrocitos. 7) Al alimentarse de un équido portador, la garrapata ingiere eritrocitos infectados con merozoitos maduros; (B) Gametogonia: Se lleva a cabo en la luz del intestino medio de la garrapata. 8) Los merozoitos se convierten en gametocitos, 9 y 10) Los gametocitos se multiplican y diferencian en microgametos y macrogametos, 11 y 12) Los gametos se fusionan dando lugar a un cigoto, 13) El cigoto penetra las células de intestino medio y se multiplica por meiosis dando lugar a kinetos primarios, 14) Los kinetos primarios se liberan y viajan por hemolinfa a diferentes órganos, incluidos los ovarios y las glándulas salivales. 15) Los kinetos primarios penetran en las células de los ovarios, 16) Durante la generación de huevos los kinetos primarios los infectan, 17) Las larvas eclosionadas de estos huevos nacen ya infectadas; (C) Esporogonia: Se lleva a cabo en las glándulas salivales de la garrapata. 18) Los kinetos secundarios penetran las células de las glándulas salivales, 19) Se multiplican y forman un esporoblasto que se mantiene latente, 20)

Durante la alimentación de la garrapata, el esporoblasto se activa, 21) La garrapata escupe su saliva y los esporozoítos son liberados al torrente sanguíneo del équido³.

Transcurridos de 3 a 4 días estas formas son liberadas y migran del lumen hasta el epitelio intestinal, posteriormente lo atraviesan y migran a través de la hemolinfa llegando a ovarios y glándula salival. En los ovarios penetran los óvulos antes de que se forme la cubierta de quitina. Posteriormente, cuando se desarrolla el embrión invaden sus células intestinales, repitiéndose el ciclo dado en la garrapata hembra. A las 48 y 72 horas persisten parásitos dentro de la garrapata después de la destrucción masiva de los parásitos ingeridos (Smith, 1978).

La transmisión de las especies de *Babesia* en las garrapatas duras puede ser: transovárica y transestadial. En la transmisión transovárica las garrapatas adultas se infectan con el parásito y lo transmiten a su progenie a través de los huevos. Dicha transmisión permite a las garrapatas permanecer infectadas e infectivas por varias generaciones sin tener que alimentarse nuevamente de un hospedante infectado (Young & Morzaria, 1986; Schwint *et al.*, 2008; Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016). En las garrapatas la infección primaria ocurre en el estadio adulto, donde el parásito transmitido de forma transovárica necesariamente debe desarrollar una transmisión transestadial (Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016; Rodrigues *et al.*, 2017).

El segundo mecanismo de transmisión sería la transmisión transestadial la cual se puede desarrollar a partir de larvas eclosionadas de hembras adultas infectadas, las cuales ya nacen infectadas, y también a partir de larvas o ninfas que se infectan al ingerir sangre de un hospedante infectado. Dicha dinámica ecológica propicia que el patógeno se mueva del estadio de larva a ninfa, y de ninfa a adulta, donde los adultos actuarán como vectores responsables de la transmisión hacia un nuevo hospedante susceptible por medio de la eliminación de esporozoitos infectivos en la saliva. Las garrapatas que transmiten la *Babesia* exclusivamente de forma transestadial, resuelven la infección de forma desconocida y

³ Se consultaron las siguientes fuentes para elaborar la figura 5 (Díaz-Sánchez *et al.*, 2020; Salinas-Estrella *et al.*, 2022; García-Carrasco *et al.*, 2025).

requieren de una nueva alimentación a partir de un hospedante infectado para infectarse y poder transmitir al parásito (Young & Morzaria, 1986; Polanco-Echeverry & Ríos-Osorio, 2016).

Diversas especies de los géneros *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus* han sido confirmados como vectores competentes para la PE. Estudios recientes muestran que otros géneros como *Ixodes*, *Haemaphysalis* y *Amblyomma* pueden ser capaces de transmitir biológicamente los parásitos causantes de PE en condiciones tanto naturales como experimentales (Schwint *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2017; Onyiche *et al.*, 2019). En la garrapata *Dermacentor nitens* se han detectado ciclos sucesivos de *B. caballi* en el intestino y otros órganos de cada fase de desarrollo (larva, ninfa y adulta), promoviendo una infección persistente en el vector y no de infecciones nuevas (Holbrook *et al.*, 1968). Lo anterior puede tener gran importancia al hablar de control de la enfermedad ya que, aunque las garrapatas no ingieran sangre infectada, la infección permanece en ellas generación tras generación, pudiendo así diseminar al parásito durante mucho tiempo (Smith, 1978). Estos estudios muestran que las ninfas y larvas transmiten al parásito y que la ninfa o adulta de la misma generación que efectuó la infección puede volver a infectarse (Roby *et al.*, 1964; Anthony *et al.*, 1970).

2.3.3. Patogenia y signos clínicos

El período de incubación aproximadamente es de 12-19 días para *T. equi* y de 10-30 días para *B. caballi* (Cantú-Martínez *et al.*, 2012), presentándose cuadros clínicos agudos, subagudos o crónicos en los hospedantes, y cuadros asintomáticos en hospedantes presentes en las regiones endémicas. Los signos clínicos de la PE son inespecíficos y dependen del cuadro que ésta genere, por lo que puede ser confundida con otra enfermedad o pasar inadvertida, por ello, es indispensable contar con una historia clínica completa del paciente para su correcto diagnóstico (Onyiche *et al.*, 2019; OMSA, 2021).

En el cuadro agudo se presenta fiebre que supera los 40°C, hiporexia, depresión, aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, mucosas congestionadas, ictericia,

hemoglobinuria, sudoración, distensión abdominal y heces fecales pequeñas y secas. En caballos adultos se han descrito cuadros que llevan a la muerte del animal (Scheidemann *et al.*, 2003; Adam *et al.*, 2016; OMSA, 2021; Salinas-Estrella *et al.*, 2022). En el cuadro subagudo presenta fiebre intermitente, inapetencia, pérdida de peso, coloración de mucosas pálidas o ictericas con o sin presencia de petequias o equimosis. También se ha observado afectación gastrointestinal como cólicos seguidos de diarrea (Onyiche *et al.*, 2019; OMSA, 2021). Y en relación al cuadro crónico puede haber hiporexia intermitente, fiebre transitoria, pérdida de masa corporal, baja en el rendimiento deportivo o baja tolerancia al trabajo. Se puede presentar esplenomegalia palpable al examen rectal (Hailat *et al.*, 1997; Takeet *et al.*, 2009; Ueti *et al.*, 2012; Wise *et al.*, 2013; Onyiche *et al.*, 2019; Salinas-Estrella *et al.*, 2022).

Los burros suelen manifestar la forma crónica de PE más que los caballos, en cambio los signos clínicos en los potros son inespecíficos, pudiendo desarrollar debilidad y disminución de la lactancia. También se han notificado casos de aborto y muerte neonatal después de infecciones intrauterinas (Onyiche *et al.*, 2019).

Al ser un parásito intraeritrocítico, promueve la destrucción mecánica de los eritrocitos por liberación de los parásitos al torrente sanguíneo dando lugar a una anemia hemolítica. La presencia de los parásitos en sangre genera activación del sistema inmune que también puede dar lugar a una anemia hemolítica inmunomediada (Dirks *et al.*, 2021). El desarrollo de la vasculitis provoca el secuestro de plaquetas en el sistema vascular conduciendo a una trombocitopenia. En cuadros agudos, también pueden producirse neutropenia, linfopenia, aumento de las concentraciones séricas de amiloide A (SAA) y fibrinógeno, reducción de las concentraciones séricas de hierro y aumento de las concentraciones de bilirrubina y de la actividad de la γ -glutamyltransferasa (Ambawat *et al.*, 1999; Zobba *et al.*, 2008; Wise *et al.*, 2013; Tirosh-Levy *et al.*, 2020); mientras que en los cuadros crónicos los animales suelen mostrar leucocitosis (Camino Gutiérrez, 2022). Sin embargo, cuando los animales infectados por *B. caballi* no reciben tratamiento el patógeno puede eliminarse después de 12 a 42 meses (Zobba *et al.*, 2008; OMSA, 2021).

2.3.4. Pruebas diagnósticas para piroplasmosis equina

El diagnóstico de la PE es importante para la identificación de animales portadores asintomáticos, especialmente antes de su movilización a zonas no endémicas. Y para identificar a la piroplasmosis en animales clínicamente enfermos, (Brüning, 1996; Tirosh-Levy *et al.*, 2020), existen varias pruebas diagnósticas para la detección de *B. caballi* como, pruebas sanguíneas, serológicas y moleculares.

2.3.4.1. Frotis sanguíneo

Es una de las técnicas disponibles para la identificación de parásitos dentro de los eritrocitos. Para los ensayo de frotis sanguíneos se deben emplear muestras de sangre con anticoagulante (EDTA) la cual se extiende en un porta objetos para poder ser teñida con Giemsa y mediante una evaluación microscópica determinar los parámetros morfológicos del parásito como forma, ubicación y tamaño (Malekifard *et al.*, 2014). Esta prueba resulta de gran utilidad durante la fase aguda de la infección. La sensibilidad de este método es baja y puede dar resultados falsos negativos en casos crónicos, cuando las cargas parasitarias son bajas (1 a 10 parásitos por μL o $< 1\%$ eritrocitos infectados) (Onyiche *et al.*, 2019; Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

2.3.4.2. Inmunofluorescencia indirecta

La prueba de IFI cuenta con una alta especificidad (90-95%) y llega a ser complementaria cuando los resultados obtenidos por otras pruebas serológicas no son concluyentes. El principio de esta prueba se basa en permitir la detección y localización de antígenos en diferentes tipos de tejidos mediante la aplicación de anticuerpos específicos. El método de IFI se aplica después de ver realizado la fijación y extracción del antígeno, este se someterá a dos períodos de incubación, el primero donde el anticuerpo primario (muestra) se une al epítopo en cuestión, y posteriormente se adiciona un anticuerpo secundario marcado con un fluoróforo el cual reconoce y une al anticuerpo primario, dicha molécula deberá ser sometida a un evento de excitación para emitir luz y determinar la positividad de la muestra

(Im *et al.*, 2019; Tijani *et al.*, 2024). En ensayos de IFI para *B. caballi* una muestra se considera positiva a una dilución igual o superior a 1:80. Los sueros de prueba deben diluirse para aumentar la especificidad, sin embargo, la IFI requiere mucho tiempo, es muy subjetiva, especialmente en la interpretación de la fluorescencia, y requiere una gran cantidad de antígeno (Onyiche *et al.*, 2019; Salinas-Estrella *et al.*, 2022).

2.3.4.3. Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima

Para la detección de anticuerpos específicos de *B. caballi* se emplea la prueba de cELISA indirecta cuantitativa como método de elección para identificar animales portadores con infección crónica. Cuando se diagnostican animales de forma individual hay que tener en cuenta que los anticuerpos pueden persistir en el suero sanguíneo hasta dos años después de la eliminación del patógeno (Ybañez *et al.*, 2018; Onyiche *et al.*, 2019; Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Dirks *et al.*, 2021). Antes de importar équidos de regiones endémicas, se recomienda o incluso se llega a requerir un cELISA para poder movilizarlos, sobre todo si se pretende movilizar a una zona que se considera libre de la enfermedad (Dirks *et al.*, 2021). Una variante de este ensayo molecular que se realiza para el diagnóstico de la PE, es la PCR anidada, aplicada en realizar dos ciclos de amplificación mediante el uso de dos conjuntos diferentes de cebadores llegando a ser útil para detectar bajas cargas parasitarias o muestras de ADN degradado (Leal *et al.*, 2011; Cortés *et al.*, 2019;)

2.3.4.4. Reacción en Cadena de la Polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utiliza para la detección de los patógenos causantes de la PE, al ser más sensible (>90%) y específica (>95%) que otro método, también es una prueba que favorece para el diagnóstico de animales con infección crónica por PE. Se ha utilizado ampliamente en entornos de investigación para la detección de infecciones por *B. caballi* en équidos y vectores (garrapatas). Por lo tanto, se considera un complemento de la microscopía y la serología (Onyiche *et al.*, 2019; González Jiménez *et al.*, 2021). Mediante la aplicación de esta prueba, *B. caballi* puede ser detectado dentro de los ocho a doce días posteriores a la infección (Dirks *et al.*, 2021; Camino Gutiérrez, 2022;).

Actualmente ninguno de los métodos ha demostrado ser confiable para la detección de caballos con infección crónica. Por lo tanto, se recomienda el uso de más de un método de detección de portadores asintomáticos (Brüning, 1996; Tirosh-Levy *et al.*, 2020)

2.3.5. Tratamiento y prevención

El tratamiento de los équidos con PE permite reducir los signos clínicos y la tasa de letalidad. Algunos fármacos han demostrado una eficacia considerable en la eliminación de las infecciones por *B. caballi*. Sin embargo, la eliminación de estos patógenos no tiene un impacto considerable, especialmente en los países endémicos, ya que la inmunidad de por vida se confiere con una infección crónica pero subclínica (Brüning, 1996; Onyiche *et al.*, 2019).

El tratamiento más utilizado es el dipropionato de imidocarb, del cual la dosis para infecciones por *B. caballi* es de 2mg/kg cada 24hrs vía intramuscular hasta completar dos aplicaciones (Onyiche *et al.*, 2019; Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Dirks *et al.*, 2021). El tratamiento se considera exitoso en la eliminación de estos patógenos si tres pruebas de PCR consecutivas, cada una con un mes de diferencia, arrojan resultados negativos. Sin embargo, dado que los piroplasmas pueden secuestrarse en el bazo y persistir allí, incluso las pruebas de PCR negativas repetidas no permiten descartar por completo el estado de portador (Dirks *et al.*, 2021; Ahedor *et al.*, 2023).

Actualmente no se cuenta con vacuna contra la piroplasmosis equina. El control de la enfermedad se basa en la combinación de terapias farmacológicas, control de vectores y transporte restringido de caballos infectados (Tirosh-Levy *et al.*, 2020). Las estrategias de manejo y control de la enfermedad dependen de la zona donde ésta se encuentra. En zonas endémicas el control se basa en tratamientos farmacológicos orientados a la disminución de signos clínicos en infecciones agudas. Recomendándose el uso estratégico de acaricidas para reducir, pero no eliminar, la exposición a las garrapatas, con el objetivo de fomentar el transporte de animales sin signos clínicos (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

En zonas no endémicas, como Estados Unidos, Japón y Australia, se niega la entrada y exportación de caballos seropositivos, poniendo inclusive en cuarentena o realizando la matanza de cualquier animal positivo dentro del país. Los animales movilizados de zonas endémicas a zonas no endémicas requieren, además de cuarentena, tratamientos acaricidas para prevenir la distribución de garrapatas vectores (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

2.4. Epidemiología de *Babesia caballi*

Numerosos estudios fueron realizados por el parasitólogo alemán Profesor Karl Enigk a principios de la década de 1940, quien describió la epidemiología y biología de la enfermedad. Enigk fue uno de los primeros investigadores en intentar enumerar 11 especies de garrapatas como vectores de *B. caballi*, destacando los géneros *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus*. Aunque el trabajo de Enigk representó un logro importante, cambios en la nomenclatura algunas especies descritas en su trabajo ya no son válidos, debido a esto a menudo no está claro que especies de garrapatas están implicadas (Schwint *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2017).

La prevalencia de *B. caballi* no aumenta con la edad y es mayor en animales jóvenes (Tirosh-Levy *et al.*, 2020), en México durante el año 2022 se reportó una seroprevalencia del 55.7% para *B. caballi* entre los estados de Chiapas, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco y Yucatán (Salinas-Estrella *et al.*, 2022). Alva-Trujillo *et al.* en un estudio en 2018 mostró una seroprevalencia del 84.3% para piroplasmosis equina en tres regiones del estado de Veracruz, dividiéndose en 74.4% para *T. equi*, 57.4% para *B. caballi* y 47.5% para infecciones mixtas (*B. caballi* y *T. equi*) lo cual fue confirmado mediante la prueba de cELISA (Alva-Trujillo *et al.*, 2018). En estudios anteriores como el realizado por Cantú-Martínez *et al.* en 2012 determinó mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) una seroprevalencia de piroplasmosis equina del 61.7% en caballos de Nuevo León con diferentes funciones zootécnicas, donde el 45.2% de *T. equi* y 27.4% de *B. caballi* (Cantú-Martínez *et al.*, 2012).

2.4.1. Distribución

La PE tiene una distribución global, aunque en muchos países solo ocurre esporádicamente. Es endémica en las regiones tropicales y subtropicales donde se sabe que existen las garrapatas vectores, estableciendo su presencia en Asia, América del Sur, América Central, África, sur de Europa y algunas partes del sur de los Estados Unidos (Onyiche *et al.*, 2019; Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Dirks *et al.*, 2021).

B. caballi está distribuida en zonas tropicales y subtropicales, siendo endémica de Brasil, Sudáfrica, Turquía y China. Y en el caso particular de Europa, se conocen infecciones en diversos países, especialmente en España, Portugal, Francia, Grecia, Bélgica e Italia (Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Dirks *et al.*, 2021). La distribución de las garrapatas vectoriales puede ser un factor para determinar si la PE es endémica en una zona, es decir, si ocurre de forma regular, esporádica o no ocurre en absoluto (Dirks *et al.*, 2021).

2.5. Impacto de la piroplasmosis equina

La población mundial de équidos domésticos era de aproximadamente 112 millones en 2013, pero muchos équidos domésticos se concentran en países en desarrollo, donde se utilizan ampliamente como animales de trabajo (Figura 6) (Brooke, 2022). Alrededor del 23% de la población de équidos domésticos reside en el continente africano, donde muchos se encuentran muy cerca de reservorios de vida silvestre (Gilbert *et al.*, 2018, 2022; Brooke, 2022).

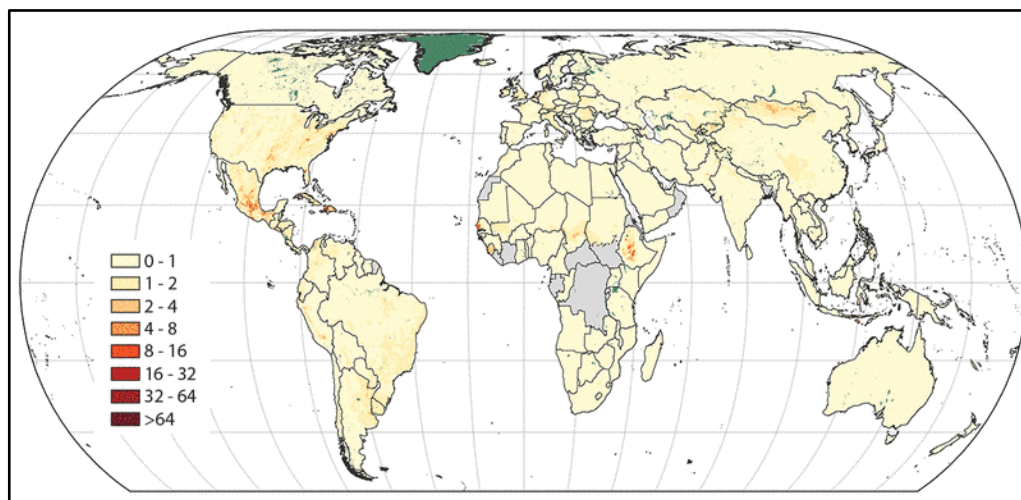


Figura 6. Distribución mundial de équidos.

Mapa de modelo dasimétrico que ejemplifica la distribución mundial de equinos por kilómetro cuadrado (Gilbert et al., 2022).

La PE presenta una distribución global, estimándose que aproximadamente el 90% de la población mundial de equinos domésticos vive en zonas endémicas de la enfermedad (Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Mendoza *et al.*, 2024). En donde las tasas de infección con uno o ambos parásitos a menudo superan el 60% o más del 90% en ciertas regiones (Mendoza *et al.*, 2024; Gupta *et al.*, 2026). Sin embargo, la mayoría de los equinos infectados cursan cuadros crónicos sin presentar algún signo de enfermedad clínica. El desplazamiento de estos animales portadores clínicamente sanos a regiones con garrapatas vectores competentes, puede ser una fuente de infección para poblaciones de caballos no expuestos, siendo esta dinámica eco-epidemiológica la base en la propagación de la enfermedad (Scoles & Ueti, 2015; Tirosh-Levy *et al.*, 2020; Camino Gutiérrez, 2022;).

En todo el mundo, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) rastrea los casos de piroplasmosis equina, estableciendo que solo Australia, Canadá, Gran Bretaña, Irlanda, Japón, Nueva Zelanda y, hasta hace poco, Estados Unidos se encuentran con un estatus zoosanitario libre de PE (Ristic, 2018; WOAHA & WAHIS, 2023). Aunque la PE es considerada de gran importancia en regiones donde los équidos todavía son una fuente significativa de fuerza de trabajo, la importancia económica primaria se encuentra en el movimiento internacional de caballos para el comercio y la participación en eventos deportivos internacionales (Rothschild, 2013; Timoney, 2000). Por esto, los países con

estatus libre de PE restringen la entrada de équidos infectados basados en el dictamen de pruebas serológicas, medida aplicada en diversos países endémicos con el objetivo de prevenir la introducción de cepas diversas y posiblemente más virulentas (Axt *et al.*, 2024; Mendoza *et al.*, 2024). Sin embargo, el aumento del movimiento internacional de caballos, el desarrollo de poblaciones de garrapatas con mayor resistencia a los acaricidas químicos y los cambios climáticos y de uso de suelo son factores (Onyiche *et al.*, 2019; Coultous *et al.*, 2023), que en conjunto con la mala gestión de la población equina, incluida la atención veterinaria inadecuada, la mala nutrición y el exceso de trabajo (Scoles & Ueti, 2015) pueden exacerbar el efecto de la infección y aumentar el riesgo de propagación de estos parásitos a regiones que anteriormente estaban libres.

III. JUSTIFICACIÓN

La piroplasmosis equina es una enfermedad de reporte obligatorio, distribuida mundialmente. Los protozoos causantes de la enfermedad son transmitidos por diversas especies de garrapatas Ixodidas. Al no existir vacuna, su prevención se basa en el control de vectores.

Amblyomma mixtum es una garrapata con amplia distribución que va desde Estados Unidos hasta Ecuador; en México es reconocida como la segunda especie de garrapata con mayor importancia médica ya que es vector de múltiples patógenos. Al ser una garrapata de tres hospedantes se ha encontrado parasitando diversos mamíferos, entre ellos los équidos, por lo tanto, es necesario determinar si *A. mixtum* tiene capacidad como vector biológico de *B. caballi*, uno de los protozoarios causantes de la piroplasmosis equina, para encaminar de forma adecuada las estrategias de control.

IV. HIPÓTESIS

La garrapata *Amblyomma mixtum* es vector biológico de *Babesia caballi*.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar la presencia de *Babesia caballi* en garrapatas *Ambyomma mixtum* que parasitan équidos mediante su detección molecular en órganos clave y progenie.

5.2. Objetivos específicos

- 5.2.1. Determinar el porcentaje y distribución de parasitosis por *A. mixtum* en équidos.
- 5.2.2. Determinar la presencia de *B. caballi* en glándulas salivales y ovarios de *A. mixtum*.
- 5.2.3. Determinar la presencia de *B. caballi* en larvas de *A. mixtum*.
- 5.2.4. Evaluar el rol evolutivo de *B. caballi* con relación a la dinámica ecológica de *A. mixtum*.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales por medio del dictamen 127FCN2023.

6.1. Estrategia experimental

El proyecto experimental se estructuró en 4 etapas principales: i) Etapa biológica: consistió en el muestreo de poblaciones de équidos en regiones tropicales de México para la captura de los potenciales vectores biológicos del agente patógeno; ii) Etapa taxonómica: destinada a identificar las especies de vectores que parasitan a las poblaciones muestreadas; iii) Etapa ovo-molecular: dirigida a determinar la presencia de *B. caballi* en las larvas eclosionadas a partir de la ovoposición de las hembras ingurgitadas; y iv) Etapa vector-molecular: orientada a la disección de órganos clave implicados en la transmisión de *B. caballi* para confirmar su presencia en dichos órganos y dilucidar su posible rol en la transmisión del patógeno (Figura 7).

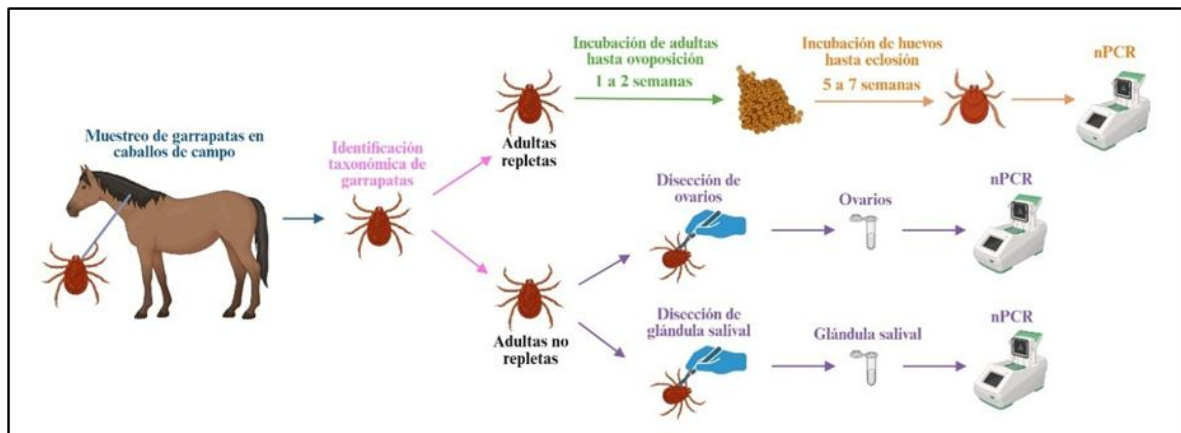


Figura 7. Representación esquemática de la estrategia experimental para la detección de *B. caballi* en glándula salival y ovarios de *A. mixtum*⁴.

⁴Figura diseñada por Becerra-Guevara, E. (2024) de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

6.2.1. Muestreo

Durante el mes de octubre de 2024 se realizó un muestreo en la comunidad de Vega de Alatorre, Veracruz (20°01'42''N 96°38'51''O). Se muestrearon un total de 20 equinos pertenecientes a diferentes ranchos cuyo fin zootécnico es el arreo de ganado en potrero. Se considero el período de octubre para el muestro debido a que es una época del año donde se pueden encontrar estadios adultos e inmaduros de garrapatas en poblaciones animales de los trópicos (Labruna *et al.*, 2009; Sundstrom *et al.*, 2021). Se realizó una inspección cráneo-caudal de todos los equinos de donde se obtuvieron especímenes de diferentes regiones anatómicas, estableciendo como fijo muestras de orejas, cara, cuello, tórax, axilas, abdomen, ingle y región perianal. Se estableció coleccionar un número de 30 especímenes de garrapatas por animal muestreado con el objetivo de poder estimar parámetros estadísticamente significativos y sus tendencias (Hertzog, 2008).

Finalizado el muestro las garrapatas se lavaron empleando una solución de benzal al 5% con el objetivo de eliminar el exceso de restos biológicos (pelo, tierra, etc.), y antes de ser depositadas en frascos con algodón humedecido, se secaron para evitar el crecimiento de hongos (Estrella *et al.*, 2022). Las garrapatas coleccionadas se depositaron en frascos para facilitar su identificación, conservación, y transporte (Gulley & Johnson, 2021).

6.2.2. Identificación taxonómica

Se realizó la identificación taxonómica de los especímenes coleccionados, mediante claves descritas por Guzmán-Cornejo *et al.* (2011), Nava *et al.* (2019), y Sonenshine *et al.*, (2013). Se dividieron los especímenes y se seleccionaron solo aquellos identificados como género *Amblyomma*, los cuales se enviaron al Laboratorio de Inmunología y Vacunas (LINVAS) ubicado en la Facultad de Ciencias Naturales campus Juriquilla, para efectuar una segunda identificación taxonómica, y confirmar la especie de los especímenes seleccionados. Con base en las características encontradas en los especímenes se conservaron aquellos identificados como *Amblyomma mixtum* (Rodríguez Mallón *et al.*, 2023).

Para la evaluación de significancia estadística de la identificación y colección de las muestras se realizaron dos categorizaciones, la primera fue con base en los géneros de garrapatas colectadas (*Amblyomma*, *Dermacentor*, y *Rhipicephalus*), y la segunda en relación con los sitios de localización de las garrapatas en los equinos para la cual se dividieron en 8 regiones anatómicas, denominadas como abdomen, axilas, cara, cuello, ingle, orejas, región perianal, y tórax. Los estadísticos descriptivos se determinaron con la aplicación de una prueba de chi cuadrada con un valor de significancia de $\alpha=0.05$ con el objetivo de determinar la asociación estadísticamente significativa entre género de garrapata y sitio de fijación anatómica en los equinos.

6.2.3. Evaluación biológica transovárica en *Amblyomma mixtum*

Las garrapatas adultas repletas fueron colocadas en la incubadora, donde se mantuvieron en condiciones de 28-29°C, una humedad relativa del 80-90% durante un período de 7-14 días hasta su ovoposición (Ueti *et al.*, 2003), transcurrido el período de ovoposición, los huevos se depositaron en viales de forma individual, y se retiraron las hembras post-ovoposición para extracción de ADN (Reifenberger *et al.*, 2022).

En el caso de las adultas semi-repletas, fueron empleadas para disección, con el objetivo de realizar la colección e identificación de sus glándulas salivales y ovarios (Patton *et al.*, 2012; Tidwell *et al.*, 2021), los cuales fueron lavados con solución de buffer fosfato salino (PBS) estéril y colocados en tubos estériles de 5mL.

Para la extracción de ADN de los tejidos obtenidos se empleó el kit el DNeasy Blood & Tissue (Qiagen) (Reifenberger *et al.*, 2022). Al finalizar el proceso de extracción del material genómico, se realizó su cuantificación a través del NanoDrop (García-Alegría *et al.*, 2020). Al obtener concentraciones y cumplir con estándares adecuados de pureza el ADN, establecidos en un valor > 2.0 para la relación 260/280 nm y >2.2 para la relación 260/230 nm (Jones *et al.*, 2020), las muestras se coloraron en tubos estériles de 1.5mL para poder ser almacenado a -20°C.

6.2.4. Detección de *B. caballi* en tejidos

El ADN obtenido de los tejidos disectados de las garrapatas fue empleado para realizar la detección molecular de *B. caballi* mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa anidada (nPCR) utilizando el protocolo descrito por (Schwint *et al.*, 2008) para amplificar del gen *rap-1* con algunas modificaciones (Cuadro 1) (Niu *et al.*, 2014; Mahmoud *et al.*, 2016).

La reacción externa se preparó en un volumen final de 12.5µl, consistente en 1µl de ADN, 0.5µl de cada cebador (rap-1E FW y rap-1E RV), 6.25µl del Dream Taq Green Master Mix y 4.25µl de agua grado biología molecular (Bhoora *et al.*, 2010; Niu *et al.*, 2014; Mahmoud *et al.*, 2016), sometiendo la reacción a condiciones específicas en el termociclador (Anexo I) (Bhoora *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Oligonucleótidos cebadores para PCR anidada de *B. caballi*.

REACCIÓN EXTERNA		
Identificación	Secuencia (5'-3')	Amplificación
rap-1E FW*	GATTACTTGTCGGCTGTGTCT	Fragmento de 375 pb* del nt* 314 al 688
rap-1E RV*	CGCAAGTTCTCAATGTCAG	
REACCIÓN INTERNA		
rap-1I FW	GCTAAGTACCAACCGCTGA	Fragmento de 222 pb del nt 467 al 688
rap-1I RV	CGCAAGTTCTCAATGTCAG	

*FW=Forward, RV=Reverse, pb=pares de bases, nt=nucleótido

La reacción interna (anidada) también se preparó un volumen final de 12.5µl que contenían 1µl del producto de la reacción externa, 0.5µl de cada cebador (rap-1I FW y rap-1I RV), 6.25µl de Dream Taq Green Master Mix y 4.25µl de agua grado biología molecular (Anexo II) (Bhoora *et al.*, 2010). Finalmente, los productos de nPCR se sometieron a una electroforesis en gel de agarosa al 2%, migrando a 85V durante 60 minutos en una cámara de electroforesis con buffer TAE 1X (Voytas, 2000). Para verificar amplificación correcta del

producto genómico de *B. caballi* como control positivo se empleó el DNA obtenido de un raspado de una muestra de frotis sanguíneo positivo a *B. caballi* y el control negativo fue agua de grado biología molecular.

6.2.5. Detección de *B. caballi* en huevos y larvas

Se tomó un porcentaje de los huevos obtenidos de las garrapatas adultas para realizar la extracción de ADN empleando el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen) (Reifenberger *et al.*, 2022), se evaluó la concentración del ADN extraído mediante el NanoDrop (García-Alegría *et al.*, 2020) almacenando el producto obtenido en tubos de 1.5mL a -20°C. Por otro lado, el porcentaje restante de huevos fueron pesados y almacenados en viales, para ser mantenidos en una incubadora bajo las condiciones de temperatura de 28-29°C, y humedad relativa del 80-90% durante un período de 5-7 semanas hasta su eclosión (Ueti *et al.*, 2003). Una vez que las larvas eclosionaron, se realizó la extracción (Reifenberger *et al.*, 2022) y cuantificación (García-Alegría *et al.*, 2020) del ADN de las larvas eclosionadas. Finalmente se realizó la detección de *B. caballi* en huevos y larvas mediante el protocolo de nPCR previamente descrito.

6.2.6. Ensayo *in silico* para *Babesia caballi*

Al aplicar los ensayos moleculares, se realizó un diseño experimental complementario mediante un análisis filogenético para plantear la relación entre divergencia evolutiva del parásito y la dinámica ecológica del vector. Para el análisis evolutivo se emplearon un total de 75 secuencias del gen *rap-1* de *B. caballi* (disponibles en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) las cuales fueron alineadas (Kumar *et al.*, 2018). La dinámica evolutiva fue inferida usando el método de Cadenas de Markov Monte Carlo para estimar el rango de sustitución, el cual se corrió a 100 millones de generaciones con un muestreo cada 1,000 para permitir la convergencia entre los parámetros (Hicks *et al.*, 2019). En el modelo de las tasas evolutivas se aplicó la distribución Gamma (4 categorías, (+G, parámetro = 0.3580)). El análisis estadístico del árbol se realizó con un bootstrap de 1,000 iteraciones y configurado en FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 20 equinos muestreados (12 machos y 8 hembras) tenían edades entre 4 a 6 años. Se colectaron un total de 600 garrapatas (n=30 especímenes/equino), los cuales fueron categorizados en género a partir de las claves propuestas por (Guzmán-Cornejo *et al.*, 2011;; Sonenshine *et al.*, 2013; Nava *et al.*, 2019); dichas claves proporcionaron información para identificar los estadios del género *Amblyomma* (Anexo III). Al categorizar las garrapatas se realizó un registro con base a su frecuencia por género (Cuadro 2), como también el porcentaje de distribución de las garrapatas en relación a la fijación por región anatómica en los 20 equinos muestreados de los dos ranchos (Anexo IV), dicha

Cuadro 2. Frecuencia y porcentaje de garrapatas identificadas por género.

Género	Frecuencia	%
<i>Amblyomma sp</i>	197	32.83
<i>Dermacentor sp</i>	138	23
<i>Rhipicephalus sp</i>	265	44.17
TOTAL	600	100

Con base a la frecuencia de especies identificadas en los équidos, se observó que los géneros con mayor presencia fueron *Amblyomma sp* y *Rhipicephalus sp*, lo cual concuerda con un estudio realizado por (González-Cerón *et al.*, 2009) quienes identificaron que las especies de *Amblyomma cajennense* y *Boophilus microplus* en el ganado bovino también presentan competencia vectorial de poder infestar a équidos por efecto de actividades ganaderas; dicha conclusión concuerda con lo observado ya que las dos poblaciones de equinos muestreados de diferentes ranchos contaban con el fin zootécnico de arreo de ganado.

Evaluando la frecuencia de distribución de las garrapatas sobre los equinos (Figura 8), se observó que las poblaciones de *Amblyomma* se encontraron con mayor disposición en

el cuello ($x^2=43.7334$, $gl=1$, $P<0.00001$)⁵, axilas ($x^2=1.6399$, $gl=1$, $P<0.00001$), e ingle ($x^2=2.1823$, $gl=1$, $P<0.00001$); lo cual concuerda con lo descrito por (Sundstrom *et al.*, 2021) quienes encontraron que las garrapatas adultas tienen predilección por la ingle, ninfas por cuello y pecho, y larvas por cuello y miembros; sin embargo, con el muestreo realizado encontramos que las garrapatas *Amblyomma* tienen mayor predilección de encontrarse en el cuello que en otras regiones. En cambio, en el género *Dermacentor* se observó con mayor predilección en las orejas ($x^2=44.5598$, $gl=1$, $P<0.00001$) de los équidos en relación a otras regiones, lo cual coincide con los sitios anatómicos donde ha sido reportado la presencia de esta garrapata sobre los hospedantes (Townsend, 1893), a pesar de que también se han identificado especímenes adultos en el pecho y axilas, y las ninfas y larvas en el tórax (Sundstrom *et al.*, 2021), en los equinos muestreados se limitaron solamente a las orejas. Y finalmente, *Rhipicephalus* tuvo como sitios de predilección la región torácica ($x^2=17.5574$, $gl=1$, $P<0.00001$) e inguinal ($x^2=16.1481$, $gl=1$, $P<0.00001$), lo cual coincide con lo descrito por (Tirosh-Levy *et al.*, 2018) quienes establecieron que estos especímenes tienden a colectarse de la región inguinal de los équidos, aunque también han sido localizados en la región pre-femoral y perianal (Ali *et al.*, 2014).

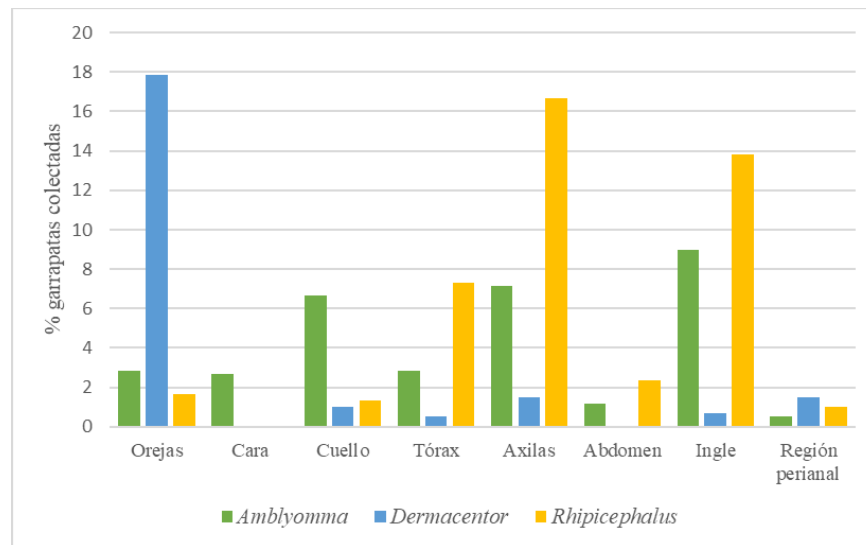


Figura 8. Porcentaje de garrapatas colectadas por región anatómica.

⁵ x^2 = Valor de la prueba de Chi cuadrada, gl =grados de libertad, P = valor estadístico para aceptar o rechazar la hipótesis nula

De los ensayos ovo-vector molecular realizados a los especímenes de *A. mixtum* se obtuvieron las siguientes evaluaciones de la concentración de ADN extraído de las glándulas salivales (GS), ovario (Ov), larvas (Lv) y huevos (Hv) (Cuadro 3 y 4).

Cuadro 3. Evaluación de muestras de glándulas y ovarios de *A. mixtum* semi-repletas.

Muestra	Concentración (ng/ μ L)	260/280	260/230
CV01 GS ¹	14.3	1.55	1.35
CV01 Ov ²	9.53	2.14	0.44
YV03 GS ³	18.3	1.5	3.23
YV03 Ov ⁴	4.2	1.76	-0.03

¹CV01 GS=Caballo Vega 01 Glándulas salivales, ²CV01 Ov= Caballo Vega 01 Ovarios, ³YV03 GS=Yegua Vega 03 Glándulas salivales, ⁴YV04 Ov=Yegua Vega 04 Ovarios.

Cuadro 4. Evaluación de ADN de huevos y larvas de *A. mixtum* con 10 días de edad.

Muestra	Concentración (ng/ μ L)	260/280	260/230
CV06 Hv ¹	4.3	1.74	-1.64
CV06 Lv ²	2.7	1.38	0.16
CV08 Hv ³	14.26	1.24	2.03
CV08 Lv ⁴	18.46	1.76	0.23

¹CV06 Hv=Caballo Vega 06 huevos, ²CV06 Lv=Caballo Vega 06 Larvas, ³CV08 Hv=Caballo Vega 08 Huevos, ⁴CV08 Lv =Caballo Vega 08 Larvas.

Dentro de las medidas de absorbancia de 260/280 se ha establecido que un rango igual a 1.8 es aceptable para la pureza de ADN, y entre 2.0 a 2.2 para la relación 260/230 (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016; Brajkovic *et al.*, 2018). Sin embargo, en los rangos de pureza de la extracción de ácidos nucleicos de garrapatas (Jones *et al.*, 2020) estableció que deben ser valor > 2.0 y >2.2 , respectivamente. Al analizar los valores obtenidos del proceso de extracción de DNA, se observa que 4 muestras obtenidas a partir del kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen) presentan valores aceptables libres de contaminantes y el resto desarrollo contaminación por proteínas y alcoholes con base a los valores establecidos por (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016; Brajkovic *et al.*, 2018), quienes indicaron que valores ≤ 1.6 indican contaminación por estos compuestos.

En cambio, con el rango 260/230 todas las muestras mostraron contaminación por compuestos biológicos (lípidos, proteínas, carbohidratos) (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016;

Brajkovic *et al.*, 2018), y una muestra (YV03 GS) presentó contaminación por sales, lo cual proporciona información en diseñar modificaciones en protocolos de extracción para obtener muestras libres de contaminantes. Al evaluar ambas relaciones de absorbancia en conjunto con el rendimiento de ácidos nucleídos (2.7 a 18.46 ng/μL), todas las muestras presentaron bajos niveles de pureza y rendimiento de ADN. Sin embargo, el estudio realizado por Jones *et al.* (2020) donde evaluaron diversos métodos de extracción de ADN al determinar la pureza en muestras de garrapatas concluyeron que muestras con bajo rendimiento al ser sometidas a ensayos moleculares (PCR) son viables para realizar productos de amplificación, aunque pueden desarrollar fragmentación o barrido de la banda. Con base a lo descrito en dicho experimento se plantea que las muestras empleadas en el ensayo fueron viables para la obtención de productos de amplificación, con la limitante de que las muestras positivas presentaran barrido de la banda en el gel de agarosa.

En las pruebas de nPCR se evaluaron las amplificaciones obtenidas a partir del ADN extraído de las larvas, así como de los órganos (glándulas salivales y ovarios) de los especímenes adultos *A. mixtum* (Figura 9 y 10). En la figura 9 se observan las amplificaciones obtenidas a partir del ADN de glándula salival y ovario agrupados e identificados por garrapata. El control positivo muestra una banda de amplificación entre 200 y 300 pares de bases (pb), lo que concuerda con la amplificación esperada para el gen rap-1 que es de 222pb (Schwint *et al.*, 2008). Se observa que ninguna muestra generó una banda de amplificación esperada a nivel del control positivo, así como el control negativo tampoco generó ninguna banda. Por lo tanto, se determina que no se encontró material genético de *B. caballi* en glándula salivales y ovarios de los especímenes muestreados.

En la figura 10 se observan las amplificaciones obtenidas a partir del ADN de larvas identificadas por garrapata de la que fueron obtenidas. De igual forma que en los geles para los órganos, el control positivo muestra una banda de amplificación entre 200 y 300pb, lo que concuerda con la amplificación esperada para el gen rap-1 (Schwint *et al.*, 2008). Se observa que ninguna muestra generó una banda de amplificación esperada a nivel del control positivo, pero si generando bandas a niveles superiores a las 400pb, lo que concuerda con lo

descrito por Jones *et al.* (2020) al generar un barrido. En este caso el control negativo tampoco generó ninguna banda. Con esta información se determinó que no se encontró material genético de *B. caballi* en las larvas eclosionadas de los huevos de los especímenes muestreados.

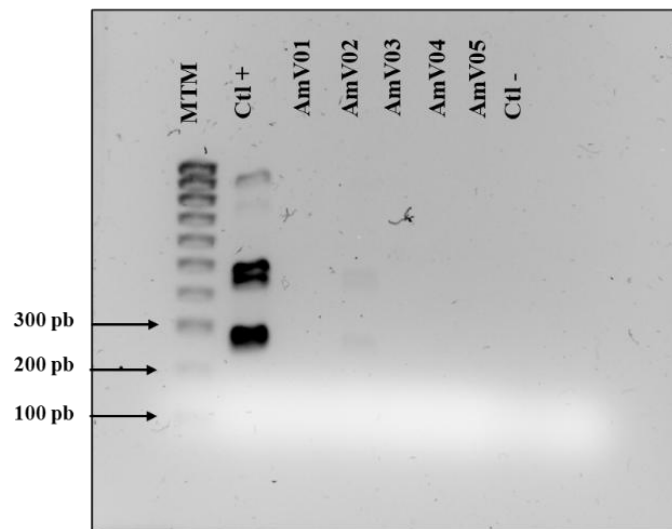


Figura 9. Detección de *B. caballi* en glándula salival y ovarios de *A. mixtum*

Visualizado por electroforesis en gel de agarosa al 2%. 1) MTM 100pb= Marcador de talla molecular 100 pares de bases, 2) Ctl+= Control positivo, 3) AmV01= *Amblyomma mixtum* Vega 01, 4) AmV02= *Amblyomma mixtum* Vega 02, 5) AmV03= *Amblyomma mixtum* Vega 03, 6) AmV04= *Amblyomma mixtum* Vega 04, 7) AmV05= *Amblyomma mixtum* Vega 05, 8) Ctl- =Control negativo.

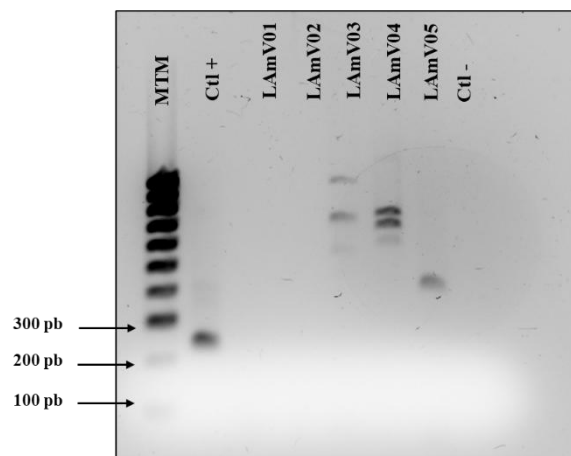


Figura 10. Detección de *B. caballi* en larvas de *A. mixtum*.

Visualizado por electroforesis en gel de agarosa al 2%. 1) MTM 100pb= Marcador de talla molecular 100 pares de bases, 2) Ctl+= Control positivo, 3) LAmV01= Larvas de *Amblyomma mixtum* Vega 01, 4) LAmV02= Larvas de *Amblyomma mixtum* Vega 02, 5) LAmV03= Larvas de *Amblyomma mixtum* Vega 03, 6) LAmV04= Larvas de *Amblyomma mixtum* Vega 04, 7) LAmV05= Larvas de *Amblyomma mixtum* Vega 05, 8) Ctl- =Control negativo.

A partir del ensayo molecular, se concluye que la especie *A. mixtum* no participa como un vector competente en el ciclo biológico de transmisión de *B. caballi*. Lo cual concuerda con lo descrito por Scoles *et al.* (2011) donde diferentes especies de garrapatas han actuado como vectores de *T. equi*, pero solamente el género *Dermacentor* se ha relacionado en la transmisión de *B. caballi* (Estrella *et al.*, 2022; Salinas-Estrella *et al.*, 2022). Sin embargo, el rol de *A. mixtum* aún no se ha esclarecido y debido a su amplia distribución a nivel mundial (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021), es necesario estudios complementarios bajo condiciones controladas para determinar la competencia vectorial.

Para denotar la importancia del rol eco-evolutivo del parásito en relación con la dinámica ecológica del vector, se realizó un análisis filogenético del gen *rap-1* de *B. caballi* en el cual se aprecia que el parásito presenta una marcada divergencia evolutiva, del cual se han generado dos clados principales el asiático y el africano (Figura 11). Para el caso del clado africano, este promovió la formación del linaje europeo y del asiático occidental; en cambio, el clado asiático ha mostrado un mayor flujo evolutivo ya que se presentan los linajes americanos (norteamericano, sudamericano y central) como asiáticos (oriental y sudeste-oriental). Con esta divergencia evolutiva se observa que la distribución de *B. caballi* (Ristic, 2018) está relacionada con la circulación de linajes dentro de las regiones endémicas.

Con esta información podemos inferir que *A. mixtum*, al estar distribuida desde el sur de Texas y Florida, hasta regiones del norte de Sudamérica (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2021) puede tener relación con los linajes norteamericano, sudamericano y central de *B. caballi*.

El control y diseño de estrategias inmunológicas contra el agente también deben de ser orientadas en determinar la verdadera competencia vectorial de los géneros de garrapatas circulantes en cada región, en especial aquellos que presentan tanto amplia distribución como ciclos biológicos de tres hospedantes (claves en la diseminación de cepas y promoción de divergencia evolutiva del agente causal) como es el caso de *A. mixtum*.

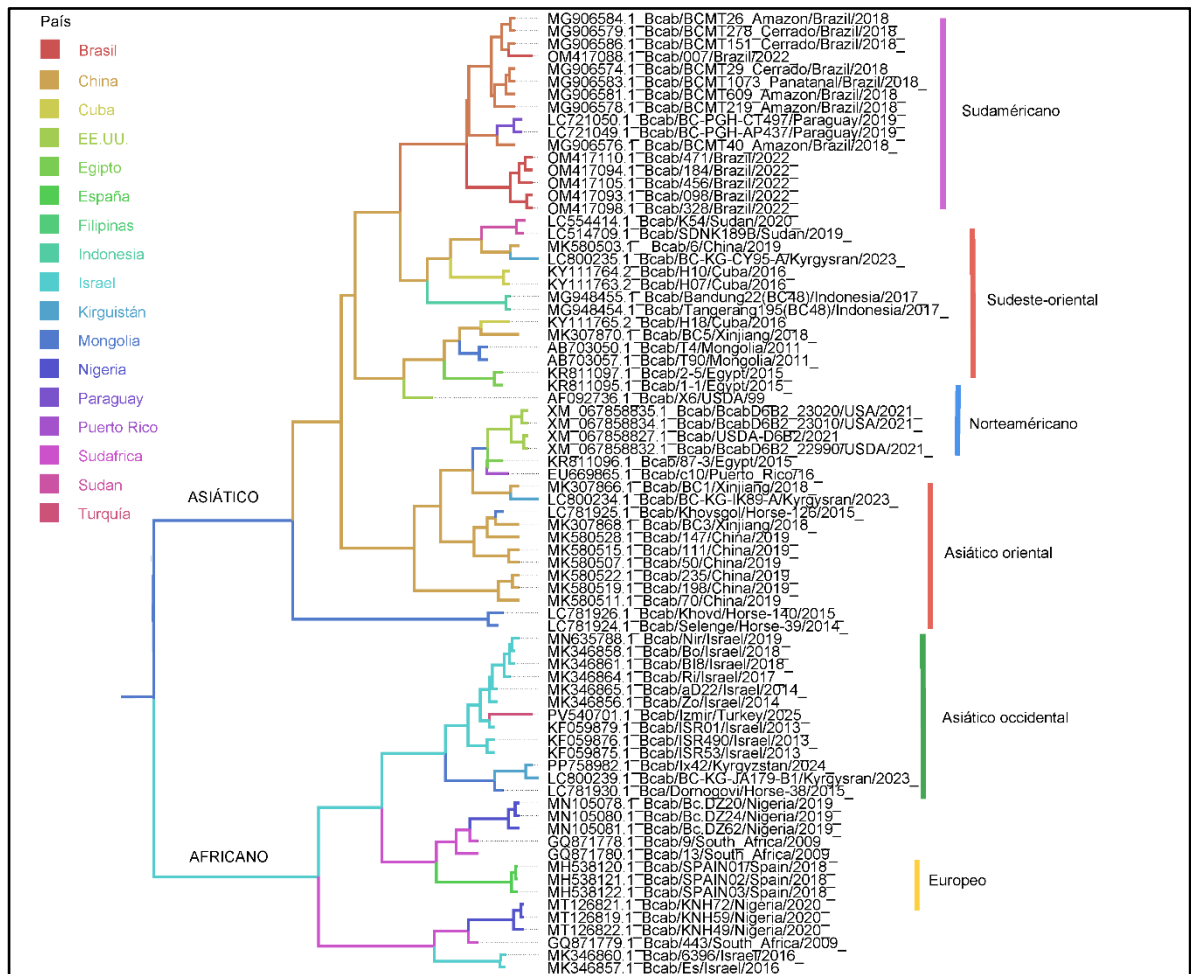


Figura 11. Dinámica evolutiva de *Babesia caballi* en el mundo.

La construcción de un análisis filogenético a partir de 75 secuencias del gen de la proteína rap-1 de *B. caballi* se generó empleando el método de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) aplicando el modelo de GTR + G. El árbol se visualizó en el programa FigTree v1.4.4, donde las ramas indican flujo evolutivo de las cepas con relación a la región geográfica, demostrado que los múltiples linajes evolutivos de *B. caballi* tiene su origen africano y asiático.

VIII. CONCLUSIONES

El muestreo realizado determinó que el sitio de predilección para encontrar esta especie (*A. mixtum*) sobre los équidos es el cuello, pero también pueden localizarse en la región axilar e inguinal a pesar de no existir una asociación estadísticamente significativa. Lo que puede ser usado como referencia para estrategias de muestreo posteriores.

Los resultados obtenidos no refutan la hipótesis que *A. mixtum* es vector biológico de *B. caballi*. Pero podrían indicar que a diferencia de *D. nitens*, vector ya confirmado para *B. caballi*, no son capaces de transmitir al parásito durante varias generaciones por lo cual las garrapatas *A. mixtum* de campo que parasitan équidos de trabajo no contienen material genético de *B. caballi* en los órganos necesarios para su transmisión.

Sin embargo, es necesario llevar a cabo una infección controlada de las garrapatas e identificar ADN del agente bajo los mismos protocolos utilizados en este estudio para determinar su capacidad como vector biológico. Ya que como se pudo observar tanto la dinámica eco-epidemiológica como la evolutiva se deben desempeñar a la par para entender la competencia vectorial del agente y determinar el rol clave de vectores en la dispersión del agente y establecer medidas estratégicas en el control contra el agente y el vector.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo-Gutiérrez, L. Y., Paternina, L. E., Labruna, M. B., & Rodas, J. D. (2021). Presence of two species of the *Amblyomma cajennense* complex (Acari: Ixodidae) and probable zones of sympatry in northwestern Colombia. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*(6), 101815.
- Adam, M., Pikalo, J., Snyder, A., Steinrigl, A., Koeller, G., & Schusser, G. (2016). Equine Piroplasmosis – a case of severe *Babesia caballi* infection associated with acute renal failure. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, *130*, 113–118.
- Aguilar-Domínguez, M., Moo-Llanes, D. A., Sánchez-Montes, S., Becker, I., Feria-Arroyo, T. P., de León, A. P., & Romero-Salas, D. (2021). Potential distribution of *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844) in climate change scenarios in the Americas. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*(6), 101812.
- Aguilar-Meraz, P., Sánchez-Montes, S., Montes de Oca-Aguilar, A. C., Olivares-Calles, K. J., Grostieta, E., Miranda Caballero, C. I., Cabrera-Núñez, A., Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., & Aguilar-Domínguez, M. (2026). First detection of *Babesia* spp. In *Amblyomma mixtum* from Veracruz, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, *58*(1), 16.
- Ahedor, B., Sivakumar, T., Valinotti, M. F. R., Otgonsuren, D., Yokoyama, N., & Acosta, T. J. (2023). PCR detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in apparently healthy horses in Paraguay. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, *39*, 100835.
- Ali, A., Suzan, D., Al-azizz, A., & Afrah, A. (2014). Detection of Ectoparasites Between Domesticated Animals in Basrah City/Southern Iraq. *Journal of International Academic Research for Multidisciplinary*, *2*(7), 2320–5083.

- Almazán, C., Scimeca, R. C., Reichard, M. V., & Mosqueda, J. (2022). Babesiosis and theileriosis in North America. *Pathogens*, *11*(2), 168.
- Almazan, C., Tipacamu, G. A., Rodriguez, S., Mosqueda, J., & Perez de Leon, A. (2018). Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production. *Frontiers in Bioscience*, *23*(8), 1535–1551.
- Almazán, C., Torres-Torres, A., Torres-Rodríguez, L., Soberanes-Céspedes, N., & Ortiz-Estrada, M. (2016). Aspectos biológicos de *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844) en el noreste de México. *Quehacer Científico en Chiapas*, *11*(2), 10–19.
- Alva-Trujillo, M., Estrada-Coates, A. T., Muñoz-Melgarejo, S., Canales-Rubio, M., López-Guerrero, A., & Galván-Leal y Martínez, R. (2018). Seroprevalencia de prioplasmosis en équidos de tres regiones en el estado de Veracruz. *Agrociencia*, *52*, 47–53.
- Ambawat, H. K., Malhotra, D. V., Kumar, S., & Dhar, S. (1999). Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in *Babesia equi* infection experimentally produced in donkeys. *Veterinary Parasitology*, *85*(4), 319–324.
- Andrade Ochoa, S., Rivera Chavira, B. E., Chacón Vargas, K. F., & Sánchez Torres, L. E. (2017). Enfermedades transmitidas por vectores y cambio climático. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (72), 118–128.
- Anthony, D. W., Johnson, A. J., & Holbrook, A. A. (1970). Some effects of parasitism by *Babesia caballi* on the tropical horse tick, *Dermacentor* (= *Anocentor*) *nitens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, *15*(1), 113–117.
- Axt, C. W., Springer, A., Strube, C., Jung, C., Naucke, T. J., Müller, E., & Schäfer, I. (2024). Molecular and serological detection of vector-borne pathogens responsible for equine piroplasmosis in Europe between 2008 and 2021. *Microorganisms*, *12*(4), 816.

- Barros-Battesti, D., Castilho, V., & Dantas-Torres, F. (2024). Acari (Order): Ticks. *Concepts in Animal Parasitology*. Zea Books, Lincoln, NEBR, USA, 798–835.
- Bhoora, R., Quan, M., Zweygarth, E., Guthrie, A. J., Prinsloo, S. A., & Collins, N. E. (2010). Sequence heterogeneity in the gene encoding the rhoptry-associated protein-1 (RAP-1) of *Babesia caballi* isolates from South Africa. *Veterinary parasitology*, 169(3–4), 279–288.
- Borges, A. S., Mair, T., Pasval, I., Saulez, M. N., Tennent-Brown, B. S., & van Eps, A. W. (2014). Emergency Diseases Outside the Continental United States. En *Equine Emergencies* (pp. 656–686). W.B. Saunders.
- Boulangier, N., Boyer, P., Talagrand-Reboul, E., & Hansmann, Y. (2019). Ticks and tick-borne diseases. *Médecine et Maladies Infectieuses, Maladie de Lyme*, 49(2), 87–97.
- Brajkovic, V., Duvnjak, I., Ferenčaković, M., Špehar, M., Raguž, N., Lukić, B., Curik, I., & Cubric-Curik, V. (2018). The effect of DNA quality on the sequencing success of cattle. *Journal of Central European Agriculture*, 19(4), 804–809.
- Brites-Neto, J., Duarte, K. M. R., & Martins, T. F. (2015). Tick-borne infections in human and animal population worldwide. *Veterinary World*, 8(3), 301–315.
- Brüning, A. (1996). Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. *The British Veterinary Journal*, 152(2), 139–151.
- Bursali, A., Keskin, A., & Tekin, S. (2012). A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. *Experimental & Applied Acarology*, 57(1), 91–104.
- Camino Gutiérrez, E. (2022). *Estrategias para la prevención y el control de Theileria equi y Babesiacaballi en la población de équidos de España*.

- Cantú-Martínez, M. A., Segura-Correa, J. C., Silva-Páez, M. L., Avalos-Ramírez, R., & Wagner, G. G. (2012). Prevalence of antibodies to *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from northeastern Mexico. *The Journal of Parasitology*, *98*(4), 869–870.
- Castillo-Martínez, A., Cueto-Medina, S. M., Rodríguez, S. H., Salinas-Ramírez, N., Romero-Santos, R. D., Martínez-Patricio, G., García-López, E., Castillo-Martínez, A., Cueto-Medina, S. M., Rodríguez, S. H., Salinas-Ramírez, N., Romero-Santos, R. D., Martínez-Patricio, G., & García-López, E. (2020). *Amblyomma mixtum* Koch (Acari: Ixodidae) en ambientes peridomésticos de la Región Otomí-Tepehua, Hidalgo, México. *Revista chilena de entomología*, *46*(4), 661–669.
- Chen, L., Tan, Z., Kong, P., Zhou, Y., & Zhou, L. (2024). Impact of vector richness on the risk of vector-borne disease: The role of vector competence. *Ecology and Evolution*, *14*(3), e11082.
- Chhabra, S., Ranjan, R., Uppal, S., & Singla, L. (2012). Transplacental transmission of *Babesia equi* (*Theileria equi*) from carrier mares to foals. *Journal of Parasitic Diseases*, *36*(1), 31–33.
- Cortés, M. M., Fernandez-Garcia, J., & Martínez-Estéllez, M. H. (2019). A multinested PCR for detection of the equine piroplasmids *Babesia caballi* and *Theileria equi*. *Ticks and tick-borne diseases*, *10*(2), 305–313.
- Cotes-Perdomo, A. P., Nava, S., Castro, L. R., Rivera-Paéz, F. A., Cortés-Vecino, J. A., & Uribe, J. E. (2023). Phylogenetic relationships of the *Amblyomma cajennense* complex (Acari: Ixodidae) at mitogenomic resolution. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *14*(3), 102125.

- Coultous, R. M., Sutton, D. G., & Boden, L. A. (2023). A risk assessment of equine piroplasmosis entry, exposure and consequences in the UK. *Equine veterinary journal*, *55*(2), 282–294.
- De Garine-Wichatitsky, M. (2000). Assessing infestation risk by vectors. Spatial and temporal distribution of African ticks at the scale of a landscape. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *916*, 222–232.
- de Paula, L., Nascimento, R., Franco, A., Szabó, M., Labruna, M., Monteiro, C., & Krawczak, F. (2022). Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum*: A review. *Parasites & Vectors*, *15*.
- Díaz-Sánchez, A. A., Roblejo-Arias, L., Marrero-Perera, R., Corona-González, B., Díaz-Sánchez, A. A., Roblejo-Arias, L., Marrero-Perera, R., & Corona-González, B. (2020). Piroplasmosis equina. *Revista de Salud Animal*, *42*(1).
- Dirks, E., Werner, G., Schwarz, B., Trübenbach, L., Schwendenwein, I., Joachim, A., & Cavalleri, J.-M. (2021). Die equine Piroplasmose im deutschsprachigen Raum – eine unterdiagnostizierte Krankheit? *Der Praktische Tierarzt*, *102*.
- Estrada-Peña, A., Bouattour, A., J-L, C., & Walker, A. (2004). *Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region. A Guide to Identification of Species*. University of Zaragoza.
- Estrella, E. S., Cárdenas, M. E. C., Torre, J. F. P. de la, Bayúgar, R. C., & Camarillo, S. D. R. (2022). Morfología, Incubación, y Oviposición in Vitro de la Garrapata *Dermacentor albipictus*1. *Southwestern Entomologist*, *47*(2), 471–480.
- Fedonyuk, L., Pryvrotska, I., & Rujytska, O. (2019). Ecological features, distribution and epidemiological significance of family ixodidae ticks. *Scientific Horizons*, *11*(22), 121–129.
- García-Alegría, A. M., Anduro-Corona, I., Pérez-Martínez, C. J., Guadalupe Corella-Madueño, M. A., Rascón-Durán, M. L., & Astiazaran-García, H. (2020). Quantification of

DNA through the NanoDrop spectrophotometer: Methodological validation using standard reference material and Sprague Dawley rat and human DNA. *International journal of analytical chemistry*, 2020(1), 8896738.

García-Carrasco, J.-M., Crowder, D. W., Poh, K. C., Mosqueda, J., Ueti, M. W., & Gutierrez-Illan, J. (2025). Linking tick and wildlife host distributions to map risk of tick-borne diseases. *Parasites & Vectors*, 18(1), 472.

Gerem, B., & Hadush, A. (2016). Review on the Impact of Ticks on Livestock Health and Productivity. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 6(22).

Gilbert, M., Cinardi, G., Da Re, D., Wint, W. G. R., Wisser, D., & Robinson, T. P. (2022). *Global horses distribution in 2015 (5 minutes of arc)* Hardcard Dataverse

Gilbert, M., Nicolas, G., Cinardi, G., Van Boeckel, T. P., Vanwambeke, S. O., Wint, G. R. W., & Robinson, T. P. (2018). Global distribution data for cattle, buffaloes, horses, sheep, goats, pigs, chickens and ducks in 2010. *Scientific Data*, 5(1), 180227.

González Jiménez, I. M., Castro Castro, F. F., Angarita Alonso, F. J., & Rivera Calderón, L. G. (2021). Utilización de PCR para la identificación de Piroplasmosis equina en un criadero de Jamundí (Colombia). *RIAA*, 12(1), 2.

González-Cerón, F., Becerril-Pérez, C. M., Torres-Hernández, G., & Díaz-Rivera, P. (2009). Garrapatas que infestan regiones corporales del bovino criollo lechero tropical en Veracruz. *Agrociencia*, 43(1).

Guglielmone, A. A., Nava, S., & Robbins, R. G. (2023). Geographic distribution of the hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) of the world by countries and territories. *Zootaxa*, 5251(1), 1–274.

- Guglielmone, A. A., Petney, T. N., & Robbins, R. G. (2020). Ixodidae (Acari: Ixodoidea): descriptions and redescriptions of all known species from 1758 to December 31, 2019. *Zootaxa*, 4871(1), zootaxa.4871.1.1.
- Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D., Petney, T., Estrada-Peña, A., Horak, I., Shao, R. F., & Barker, S. (2010). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. *Experimental and Applied Acarology*, 28, 27–54.
- Gulley, M. M., & Johnson, T. L. (2021). Methods for collecting and preserving ticks. *Journal of Medical Entomology*, 58(3), 1235–1245.
- Gupta, K. K., Gupta, N., Kumar, S., Srivastava, M., & Kumar, P. (2026). Equine piroplasmiasis: An emerging tick-borne threat to equine health. *Tropical Animal Health and Production*, 58(1), 29.
- Guzmán-Cornejo, C., Robbins, R., Guglielmone, A., Montiel, G., & Pérez, T. (2011). The *Amblyomma* (Acari: Ixodida: Ixodidae) of Mexico: Identification Keys, Distribution and Hosts. *Zootaxa*, 16–38.
- Hailat, N., Lafi, S., Al-Darraji, A., & Al-Ani, F. (1997). Equine babesiosis associated with strenuous exercise: Clinical and pathological studies in Jordan. *Veterinary parasitology*, 69(1–2), 1–8.
- Hertzog, M. A. (2008). Considerations in determining sample size for pilot studies. *Research in Nursing & Health*, 31(2), 180–191.
- Hicks, J. T., Dimitrov, K. M., Afonso, C. L., Ramey, A. M., & Bahl, J. (2019). Global phylodynamic analysis of avian paramyxovirus-1 provides evidence of inter-host transmission and intercontinental spatial diffusion. *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 108.

- Holbrook, A. A., Anthony, D. W., & Johnson, A. J. (1968). Observations on the Development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the Tropical Horse Tick *Dermacentor nitens* Neumann. *The Journal of Protozoology*, *15*(2), 391–396.
- Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P., & Yong, W. H. (2019). An introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *1897*, 299–311.
- Jones, A. M., Van de Wyngaerde, M. T., Machtinger, E. T., Rajotte, E. G., & Baker, T. C. (2020). Choice of Laboratory Tissue Homogenizers Matters When Recovering Nucleic Acid From Medically Important Ticks. *Journal of Medical Entomology*, *57*(4), 1221–1227.
- Kazimírová, M., & Štibrániová, I. (2013). Tick salivary compounds: Their role in modulation of host defences and pathogen transmission. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *3*, 43.
- Khan, B. A., Imran, M., & Yousaf, S. (2021). Biology and ecology of ticks of medical and veterinary importance. *Veterinary Pathobiology & Public health*, *36*.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, *35*(6), 1547.
- Labruna, M. B., Amaku, M., Metzner, J. A., Pinter, A., & Ferreira, F. (2003). Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. *Journal of Medical Entomology*, *40*(2), 170–178.
- Labruna, M. B., Mattar V, S., Nava, S., Bermudez, S., Venzal, J. M., Dolz, G., Katia, A., Romero, L., de Sousa, R., Oteo, J., & Zavala-Castro, J. (2011). Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Revista MVZ Córdoba*, *16*(2), 2435–2457.

- Labruna, M. B., Terassini, F. A., & Camargo, L. M. A. (2009). Notes on population dynamics of *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) in Brazil. *The Journal of Parasitology*, *95*(4), 1016–1018.
- Laha, R., Das, M., & Sen, A. (2015). Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview. *Tropical parasitology*, *5*(2), 94–100.
- Leal, D. C., Madruga, C. R., Matos, P. F. de, Souza, B. M. da S., & Franke, C. R. (2011). Evaluation of PCR and multiplex PCR in relation to nested PCR for diagnosing *Theileria equi*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *31*(7), 575–578.
- Lucena-Aguilar, G., Sánchez-López, A. M., Barberán-Aceituno, C., Carrillo-Ávila, J. A., López-Guerrero, J. A., & Aguilar-Quesada, R. (2016). DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation and Biobanking*, *14*(4), 264–270.
- Mahmoud, M. S., El-Ezz, N. T. A., Abdel-Shafy, S., Nassar, S. A., El Namaky, A. H., Khalil, W. K., Knowles, D., Kappmeyer, L., Silva, M. G., & Suarez, C. E. (2016). Assessment of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in equine populations in Egypt by molecular, serological and hematological approaches. *Parasites & vectors*, *9*(1), 260.
- Malekifard, F., Tavassoli, M., Yakhchali, M., & Darvishzadeh, R. (2014). Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. *Veterinary Research Forum : an International Quarterly Journal*, *5*(2), 129–133.
- Márquez-Jiménez, F. J., Hidalgo-Pontiveros, A., Contreras-Chova, F., Jesús Rodríguez-Liébana, J., & Ángel Muniain-Ezcurra, M. (2005). Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como

transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(2), 94–102.

Mège, M., Bonsergent, C., Viry, L., Dhune, M., Lecollinet, S., & Malandrin, L. (2025). Genetic diversity of equine piroplasmosis agents in Guadeloupe (Caribbeans): First report of *Theileria haneyi*, evaluation of diagnostic tools and impact of horse movement. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 16(6), 102547.

Mendoza, F. J., Pérez-Écija, A., Kappmeyer, L. S., Suarez, C. E., & Bastos, R. G. (2024). New insights in the diagnosis and treatment of equine piroplasmosis: Pitfalls, idiosyncrasies, and myths. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1459989.

Muñoz, V. C., Segura, C. J. A., Molina, G. L. P., & Gutiérrez, B. L. A. (2017). *Enfermedades transmitidas por garrapatas* (Primera). Escuela de Ciencias de la Salud. Facultad de Medicina.

Nava, S., Beati, L., Labruna, M. B., Cáceres, A. G., Mangold, A. J., & Guglielmone, A. A. (2014). Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5(3), 252–276.

Nava, S., Mangold, A. J., Mastropaolo, M., Venzal, J. M., Fracassi, N., & Guglielmone, A. A. (2011). Seasonal dynamics and hosts of *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 181(2–4), 301–308.

- Nava, S., Mangold, A. J., Simonato, G. E., Puntin, E., & Sproat, M. C. (2019). *Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina*. (Primera). Ediciones INTA.
- Niu, Q., Valentin, C., Bonsergent, C., & Malandrin, L. (2014). Strong conservation of rhoptry-associated-protein-1 (RAP-1) locus organization and sequence among Babesia isolates infecting sheep from China (Babesia motasi-like phylogenetic group). *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 21–32.
- Norval, R. (1975). Studies on the ecology of Amblyomma marmoreum Koch 1844 (Acarina: Ixodidae). *The Journal of Parasitology*, 737–742.
- Olegário, M. M. M., Gerardi, M., Tsuruta, S. A., & Szabó, M. P. J. (2011). Life cycle of the tick *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) and suitability of domestic hosts under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 179(1), 203–208.
- Onyiche, T. E., Sukanuma, K., Igarashi, I., Yokoyama, N., Xuan, X., & Thekisoe, O. (2019). A Review on Equine Piroplasmiasis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(10), 1736.
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Enfermedades transmitidas por vectores*. OMS. Enfermedades transmitidas por vectores.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2021). Sección 3.6—Capítulo 3.6.7 Piroplasmiasis equina. En *Manual Terrestre—Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres*. Organización Mundial de Sanidad Animal. Disponible en línea: <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/>

- Orlova, M. V., Doronin, I. V., Doronina, M. A., & Anisimov, N. V. (2023). A Review of Ixodid Ticks (Acari: Ixodidae) Associated with *Lacerta* spp. (Reptilia: Lacertidae) from the Caucasus and Adjacent Territory. *Diversity*, *15*(9).
- Patton, T. G., Dietrich, G., Brandt, K., Dolan, M. C., Piesman, J., & Gilmore Jr, R. D. (2012). Saliva, salivary gland, and hemolymph collection from *Ixodes scapularis* ticks. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (60), 3894.
- Piña, F. T. B., da Silva Rodrigues, V., de Oliveira Souza Higa, L., Garcia, M. V., Barros, J. C., de León, A. A. P., & Andreotti, R. (2017). Life cycle of *Amblyomma mixtum* (Acari: Ixodidae) parasitizing different hosts under laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology*, *73*(2), 257–267.
- Polanco-Echeverry, D. N., & Ríos-Osorio, L. A. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, *17*(1), 81–95.
- Quintero Gil, D. C., Osorio Benítez, J. E., & Martínez-Gutiérrez, M. (2010). Competencia vectorial: Consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue. *Iatreia*, *23*(2), 137–145.
- Reifenberger, G. C., Thomas, B. A., & Rhodes, D. V. (2022). Comparison of DNA extraction and amplification techniques for use with engorged hard-bodied ticks. *Microorganisms*, *10*(6), 1254.
- Ristic, M. (2018). *Babesiosis of domestic animals and man*. CRC Press.
- Roby, T. O., Anthony, D. W., Thornton, C. W., & Holbrook, A. A. (1964). THE HEREDITARY TRANSMISSION OF BABESIA CABALLI IN THE TROPICAL HORSE TICK, DERMACENTOR NITENS NEUMANN. *American Journal of Veterinary Research*, *25*, 494–499.

- Rodrigues, V. da S., Garcia, M. V., Cruz, B. C., Maciel, W. G., Zimmermann, N. P., Koller, W. W., Barros, J. C., & Andreotti, R. (2017). Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8(3), 379–384.
- Rodríguez, C. S., Crocco, L. B., & Nattero, J. (2004). Competencia vectorial de *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae): patrón de alimentación y excreción. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 63(1–2), 11–16.
- Rodríguez Mallón, A., Encinosa Guzmán, P. E., Fuentes Castillo, A., Rodríguez Fernández, R., Fernández Alonso, Y., García Martínez, Y., Bello Soto, Y., Cano Argüelles, A. L., Estrada García, M. P., Méndez Mellor, L., Aliaga Ramos, D., Díaz García, A., Fernández Cuétara, C., Ledesma Bravo, F. L., Silva Guirado, J. Á., González Alfaro, Y., Rodríguez Mallón, A., Encinosa Guzmán, P. E., Fuentes Castillo, A., ... González Alfaro, Y. (2023). Clasificación taxonómica precisa de aislamientos cubanos de garrapatas del complejo *Rhipicephalus microplus* y *Amblyomma cajennense*. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 13(1).
- Rodriguez Vivas, R. I., Ojeda-Chi, M., Ojeda-Robertos, N., & Rossanet, K. (2022). La garrapata *Amblyomma parvum* como vector potencial de patógenos en animales y seres humanos. *Bioagrociencias*, 15, 1–9. <https://doi.org/10.56369/BAC.4163>
- Rothschild, C. M. (2013). Equine piroplasmiasis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(7), 497–508.
- Salinas-Estrella, E., Ueti, M. W., Lobanov, V. A., Castillo-Payró, E., Lizcano-Mata, A., Badilla, C., Martínez-Ibáñez, F., & Mosqueda, J. (2022). Serological and molecular detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Mexico: A prospective study. *PloS One*, 17(3), e0264998.

- Sánchez-Casiano, N., Cime-Castillo, J., Ovilla-Muñoz, M., Ramírez-Arroyo, J., González-Acosta, C., Moreno-García, M., Correa-Morales, F., & Pando-Robles, V. (2020). Experimental infection and vector competence of Zika virus in *Aedes aegypti* mosquitoes from Acapulco, Guerrero, Mexico. *Salud Publica De Mexico*, *62*(2), 203–210.
- Scheidemann, W., Liebisch, G., Liebisch, A., & Budde, K. (2003). Equine Piroplasmose-Fallbericht einer akuten Infektion mit *Theileria equi* (syn. *Babesia equi*) in Deutschland. *Pferdeheilkunde*, *19*(1), 16–20.
- Schwint, O. N., Knowles, D. P., Ueti, M. W., Kappmeyer, L. S., & Scoles, G. A. (2008). Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a susceptible equine host. *Journal of Medical Entomology*, *45*(6), 1152–1155.
- Scoles, G., & Ueti, M. (2015). Vector Ecology of Equine Piroplasmosis*. *Annual review of entomology*, *60*, 561–580.
- Shaly, S. (2022). *Parasites of equine piroplasmosis and its potential tick vectors in Israel*.
- Smith, R. D. (1978). Ciclo biológico de *Babesia* en la garrapata. *Ciclo biológico de Babesia en la garrapata*, *2*.
- Sonenshine, D. E., Roe, R. M., & Roe, R. (2013). External and internal anatomy of ticks. *Biology of ticks*, *1*, 74–98.
- Sumbria, D., Moudgil, A. D., & Singla, L. D. (2014). Equine piroplasmosis: Current status. *Veterinaria*, *1*(1), 9–14.
- Sundstrom, K. D., Lineberry, M. W., Grant, A. N., Duncan, K. T., Ientile, M. M., & Little, S. E. (2021). Equine attachment site preferences and seasonality of common North American

- ticks: *Amblyomma americanum*, *Dermacentor albipictus*, and *Ixodes scapularis*. *Parasites & Vectors*, 14(1), 404.
- Takeet, M., Adeleye, A., Adebayo, O., & Akande, F. (2009). Haematology and serum biochemical alteration in stress induced equine theileriosis. A case report. *Science World Journal*, 4(2).
- The Brooke Hospital for Animals. (2022). *Working equids in numbers: Why data matters for policy*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en línea: <https://www.fao.org/agroecology/database/detail/en/c/1473377/>
- Tidwell, J. P., Treviño, D. E., Thomas, D. B., Mitchell III, R. D., Heerman, M. C., de León, A. P., & Lohmeyer, K. H. (2021). Pictorial dissection guide and internal anatomy of the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini). *Ticks and Tick-borne Diseases*, 12(3), 101685.
- Tijani, M. K., Svensson, J., Adlerborn, P., Danielsson, L., Teleka, A., Lövmär, M. L., Lindgren, P.-E., Forsberg, P., & Persson, K. E. M. (2024). How to Detect Antibodies Against *Babesia divergens* in Human Blood Samples. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(2), ofae028.
- Timoney, P. J. (2000). Factors influencing the international spread of equine diseases. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 16(3), 537–551.
- Tirosh-Levy, S., Gottlieb, Y., Apanaskevich, D. A., Mumcuoglu, K. Y., & Steinman, A. (2018). Species distribution and seasonal dynamics of equine tick infestation in two Mediterranean climate niches in Israel. *Parasites & vectors*, 11(1), 546.

- Tirosh-Levy, S., Gottlieb, Y., Fry, L. M., Knowles, D. P., & Steinman, A. (2020). Twenty Years of Equine Piroplasmosis Research: Global Distribution, Molecular Diagnosis, and Phylogeny. *Pathogens*, 9(11).
- Townsend, C. T. (1893). Ticks in the Ears of Horses. *Journal of the New York Entomological Society*, 1(2), 49–52.
- Traub-Dargatz, J., Bischoff, B., James, A., & Freier, J. (2010). *A literature review of equine piroplasmosis*.
- Ueti, M. W., Mealey, R. H., Kappmeyer, L. S., White, S. N., Kumpula-McWhirter, N., Pelzel, A. M., Grause, J. F., Bunn, T. O., Schwartz, A., Traub-Dargatz, J. L., Hendrickson, A., Espy, B., Guthrie, A. J., Fowler, W. K., & Knowles, D. P. (2012). Re-emergence of the apicomplexan *Theileria equi* in the United States: Elimination of persistent infection and transmission risk. *PloS One*, 7(9), e44713.
- Vivas, R. I. R., Chi, M. O., González, M. B., & Aguilar, J. A. R. (2019). Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrociencias*, 12(1).
- Voytas, D. (2000). Agarose gel electrophoresis. *Current protocols in molecular biology*, 51(1), 2–5.
- Wise, L. n., Kappmeyer, L. s., Mealey, R. h., & Knowles, D. p. (2013). Review of Equine Piroplasmosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), 1334–1346.
- WOAH, & WAHIS. (2023). *WAHIS: World Animal Health Information System*. Disponible en línea: <https://wahis.woah.org/#/home>
- Ybañez, A. P., Ybañez, R. H. D., Talle, M. G., Arreglo, R. M. T., Geens, M. J. C., Villas III, J. G. I., Villar, S. R., Laruga, C. L., Cao, S., & Moumouni, F. P. A. (2018). Serological and

molecular detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Philippine horses. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(5), 1125–1128.

Young, A. S., & Morzaria, S. P. (1986). Biology of babesia. *Parasitology Today*, 2(8), 211–219.

Zachary, J. (2017). Chapter 13: Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. *Pathologic Basis of Veterinary Disease. 6a ed. Saint. Louis (Missouri): Elsevier*, 724–804.

Zobba, R., Ardu, M., Niccolini, S., Chessa, B., Manna, L., Cocco, R., & Pinna Parpaglia, M. L. (2008). Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmiasis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(5), 301–308.

X. ANEXOS

Anexo I. Protocolo de la reacción externa de PCR para *B. caballi*

Ciclos	Temperatura	Tiempo
	95°C	5 minutos
25 ciclos	95°C	20 segundos
	60°C	20 segundos
	72°C	20 segundos
Extensión	72°C	5 minutos
	4°C	∞

Anexo II. Protocolo de la reacción interna de PCR para *B. caballi*

Ciclos	Temperatura	Tiempo
	95°C	5 minutos
25 ciclos	95°C	5 segundos
	60°C	5 segundos
	72°C	5 segundos
Extensión	72°C	5 minutos
	4°C	∞

Anexo III. Identificación taxonómica por estadios para *Amblyomma mixtum*



Panel A muestra la vista dorsal de una garrapata adulta hembra, panel B ejemplifica vista dorsal de una hembra adulta⁶



La fotografía ejemplifica la vista dorsal y ventral de una garrapata adulta macho⁴

⁶ Fotografía obtenida por **Becerra-Guevara, E. (2024)** en las instalaciones del Laboratorio de Inmunología y Vacunas de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro



Panel A muestra vista dorsal de *A. mixtum* en estadio de ninfa, el panel B es la vista ventral del estadio de ninfa, y finalmente el panel B muestra la vista dorsal del estadio larvario de *A. mixtum*⁷

⁷ Fotografía obtenida por **Becerra-Guevara, E. (2024)** en las instalaciones del Laboratorio de Inmunología y Vacunas de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro

Anexo IV. Frecuencia y porcentaje de garrapatas localizadas en équidos.

Región	Garrapatas	%	<i>Amblyomma</i>	%T*	%R*	<i>Dermacentor</i>	%T	%R	<i>Rhipicephalus</i>	%T	%R
Orejas	134	22.33	17	2.83	12.69	107	17.83	79.85	10	1.67	7.46
Cara	16	2.67	16	2.67	100	0	0	0	0	0	.
Cuello	54	9	40	6.67	74.07	6	1	11.11	8	1.33	14.81
Tórax	64	10.67	17	2.83	26.56	3	0.5	4.69	44	7.33	68.75
Axilas	152	25.33	43	7.17	28.29	9	1.5	5.92	100	16.67	65.79
Abdomen	21	3.50	7	1.17	33.33	0	0	0	14	2.33	66.67
Ingle	141	23.50	54	9	38.30	4	0.67	2.84	83	13.83	58.87
Región perianal	18	3	3	0.5	16.67	9	1.5	50	6	1	33.33
TOTAL	600	100	197	32.83		138	23		265	44.17	

%T=Porcentaje total, %R=Porcentaje por región anatómica en relación al total identificado