



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

**Detección de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en
garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Amblyomma* sp. del ganado
bovino.**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable.

Presenta:

MVZ Karen Jiménez Soto.

Directora:

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú.

Co-Director:

Dr. Daniel Sokani Sánchez Montes.

Querétaro, Qro. a 18 de septiembre 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](#).



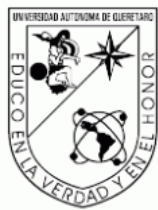
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

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



**Detección de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en garrapatas
Rhipicephalus sp. y *Amblyomma* sp. del ganado bovino.**

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

Presenta:

M.V.Z Karen Jiménez Soto

Dirigido por:

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú.

Co- Dirigido por:

Dr. Daniel Sokani Sánchez Montes

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú.
Presidente

Dr. Daniel Sokani Sánchez Montes
Secretario

Dra. Consuelo Almazán García
Vocal

Dr. Pablo Colunga Salas
Suplente

MSPAS. Aída Olguín Barrera
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

18 de septiembre 2026.

México.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo quiero dedicar a Mamá yiyi y mi abuelito Roberto quienes siempre me brindaron su amor y cariño a lo largo de los años.

También a mi Tut quien fue mi compañero, apoyo y soporte cuando me sentía sola.

AGRADECIMIENTOS

Con gran aprecio quiero agradecer a mis directores de tesis, la Dra. Gabriela Aguilar Tupacamú y al Dr. Daniel Sokani Sánchez Montes, quienes a lo largo de la maestría me brindaron su apoyo y guía en este proyecto.

Así mismo agradezco a mis asesores Dra. Consuelo Almazán García, Dr. Pablo Colunga Salas y MSPAS. Aída Olguín Barrera, quienes me guiaron y asesoraron durante el proceso de elaboración, del proyecto.

Del mismo modo también quisiera agradecer a SECIHTI, por brindarme los recursos para poder realizar esta investigación.

Quiero agradecer a MVZ Cecilia Gasca, MVZ Alejandro Aranda, MVZ Esmeralda Becerra, Dra. Gabriela Romina y el Dr. Javier Huerta, quienes me apoyaron y acompañaron durante el proceso de la elaboración del proyecto.

Por último, pero no menos importante a mis padres Ma. Concepción y Juan Ángel, mi hermana María Guadalupe, mi familia y amigos quienes siempre me brindaron su apoyo y un lugar donde alojarme cuando tenía que viajar por muestreos asociados al proyecto.

INDICE

	Página
Página	
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE FIGURAS	v
ÍNDICE CUADROS	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Garrapatas.....	3
2.2. <i>Rhipicephalus microplus</i>	4
2.2.1. Generalidades	4
2.2.2. Distribución en México	5
2.3. <i>Amblyomma</i> sp.....	6
2.3.1. Generalidades.....	6
2.3.2. Distribución en México.....	7
2.4. <i>Ehrlichia</i> sp.	9
2.4.1. Generalidades.....	9
2.4.2. Transmisión de <i>Ehrlichia</i> sp.	11
2.5. <i>Rickettsia</i> sp.....	12
2.5.1. Generalidades.	12
2.5.2. Transmisión de <i>Rickettsia</i> sp.	13
III. JUSTIFICACIÓN	15
IV. HIPÓTESIS.....	15
V. OBJETIVOS	15
5.1 Objetivo General	15
5.2 Objetivos Específicos	15
VI. MATERIAL Y METODOS	16
VII. RESULTADOS.....	20

VIII.	DISCUSION.....	24
IX.	CONCLUSIONES	27
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	28
XI.	ANEXO.....	34

ÍNDICE FIGURAS

Figura	Pagina
1.- Distribución de <i>Rhipicephalus microplus</i> en México	5
2.- Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus microplus</i>	6
3.- Distribución de <i>Amblyomma maculatum</i> en México.....	8
4.- Distribución de <i>Amblyomma mixtum</i> en México	8
5.- Principales Ecosistemas de México.....	12
6.- Ciclo biológico de <i>Rickettsia parkeri</i>	14
7.- Forma de la base del capitulo de las garrapatas duras.....	17
8.- Plano ventral de garrapatas machos de los generos <i>Ixodes</i> , <i>Rhipicephalus</i> y <i>Amblyomma longirostre</i>	17
9.- Orden de los pools de DNA de garrapatas de Querétaro, Veracruz, Tabasco y Chiapas.....	18
10.- Resultado PCR con gen <i>gltA</i> <i>Rickettsia</i> sp., por electroforesis en gel de agarosa.....	21
11.- Árbol filogenético de los resultados de las muestras positivas a <i>Rickettsia</i> sp.....	22
12.- Árbol filogenético de los resultados de las muestras positivas a <i>Ehrlichia</i> sp.....	23

ÍNDICE CUADROS

1.-	Primers utilizados para las PCR punto final de detección de agentes.....	19
2.-	Garrapatas según su género y su estadio de desarrollo.....	20

RESUMEN

En la actualidad la exportación e importación de ganado bovino sigue aumentando y de este modo también va en aumento los agentes patógenos que se distribuyen de una región a otra, las bacterias pertenecientes a los géneros *Ehrlichia* sp. y *Rickettsia* sp. son de gran importancia en el área de salud, ya que estas afectan a distintos animales, tanto domésticos como silvestres, los vectores son las principales fuentes de transmisión de los agentes patógenos, por lo tanto es de suma importancia la detección y su estudio en el ganado bovino mexicano. Por lo tanto, el objetivo general del proyecto es identificar la presencia de *Ehrlichia* sp. y *Rickettsia* sp. en las garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Amblyomma* sp. recolectadas de los bovinos de zonas tropicales y templada de México. Para el proyecto se tomaron en consideración 4 estados del país (Veracruz, Querétaro, Tabasco y Chiapas), los cuales tienen una gran concentración de ganado bovino y siendo 3 de estos estados los que tienen las condiciones adecuadas para la proliferación de garrapatas y de agentes patógenos. Uno de los primeros casos registrados fue en 2010, se reportó ehrlichiosis en ganado bovino, la bacteria se aisló de una garrapata hembra *Rhipicephalus microplus* recolectada en Minas Gerais, Brasil, por lo que la nombraron *Ehrlichia minasensis* cepa UFMG-EV, mientras que en municipios de la zona centro y sur de Veracruz se recolectaron garrapatas de la especie *Amblyomma ovale* de perros, y se identificó la presencia de *Rickettsia parkeri*. Debido a estos antecedentes se plantean la hipótesis de que *Ehrlichia* sp. y *Rickettsia* sp. están presentes en las garrapatas recolectadas. Mediante la recolección sistemática y la identificación taxonómica de 432 garrapatas, combinadas con técnicas moleculares, se logró detectar por primera vez la presencia de *Ehrlichia minasensis* en el estado de Veracruz, así como *Rickettsia parkeri* y *Rickettsia amblyommatis* en garrapatas de bovinos en Tabasco. Estas evidencias amplían el conocimiento epidemiológico en México y evidencian la circulación de estos patógenos en zonas con condiciones bioclimáticas favorables para vectores. Los resultados resaltan la necesidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica mediante técnicas moleculares para identificar y controlar oportunamente estos agentes, reduciendo impactos económicos y riesgos a la salud pública.

Palabras clave: Bovinos, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma*.

ABSTRACT

Currently, the export and import of cattle continue to increase, and as a result, so does the spread of pathogenic agents from one region to another. Bacteria belonging to the genera *Ehrlichia* sp. and *Rickettsia* sp. are of great importance in the health field, as they affect various animals, both domestic and wild. Vectors are the main sources of transmission of these pathogenic agents; therefore, detection and study in Mexican cattle are of utmost importance. Thus, the general objective of the project is to identify the presence of *Ehrlichia* sp. and *Rickettsia* sp. in ticks of the genera *Rhipicephalus* sp. and *Amblyomma* sp. collected from cattle in the tropical and temperate zones of Mexico. Four states of the country (Veracruz, Querétaro, Tabasco, and Chiapas) were considered for the project, as they have a large concentration of cattle, and three of these states have suitable conditions for the proliferation of ticks and pathogenic agents. One of the first recorded cases was in 2010, when ehrlichiosis was reported in cattle; the bacterium was isolated from a female *Rhipicephalus microplus* tick collected in Minas Gerais, Brazil, which was named *Ehrlichia minasensis* strain UFMG-EV. Meanwhile, in municipalities in the central and southern regions of Veracruz, *Amblyomma ovale* ticks were collected from dogs, and the presence of *Rickettsia parkeri* was identified. Based on this background, the hypothesis is that *Ehrlichia* sp. and *Rickettsia* sp. are present in the collected ticks. Through systematic collection and taxonomic identification of 432 ticks, combined with molecular techniques, the presence of *Ehrlichia minasensis* was detected for the first time in the state of Veracruz, as well as *Rickettsia parkeri* and *Rickettsia amblyommatis* in ticks from cattle in Tabasco. These findings expand epidemiological knowledge in Mexico and demonstrate the circulation of these pathogens in areas with bioclimatic conditions favorable for vectors. The results highlight the need to strengthen epidemiological surveillance through molecular techniques to promptly identify and control these agents, reducing economic impacts and public health risks.

Keywords: Cattle, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma*.

I. INTRODUCCIÓN

Las garrapatas pertenecientes a la familia Ixodidae (garrapatas duras), son artrópodos ectoparásitos, los cuales se alimentan de sangre de diversos animales, e incluso de humanos, esto para completar su ciclo de vida, son señaladas como los principales vectores en la transmisión de enfermedades, siendo algunas de estas zoonóticas, la presencia de las garrapatas está determinada por la presencia de los hospederos y la movilización de estos (Cortes, 2010).

Un factor importante en la distribución de las garrapatas es el cambio climático, ya que estas son sensibles a los cambios en la humedad, temperatura y luz solar, esto afecta en su abundancia en el ambiente (Cortes, 2010), haciendo que las garrapatas puedan ser capaces de llegar a zonas donde no había presencia de estas (Beugnet, 2009).

Uno de los múltiples hospederos con los que cuentan las garrapatas es el ganado bovino, en el cual, el INEGI reporta que en agosto 2024 se obtuvo 146,189 cabezas de ganado a nivel nacional, las cuales son para producción de carne de consumo humano, por su parte la secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural, reporta que, los ganaderos de México, durante el ciclo 2022-2023, se comercializaron 901,754 cabezas de ganado en pie (De Agricultura y Desarrollo Rural, 2024).

La exportación e importación de ganado bovino sigue aumentando y de este modo también va en aumento los agentes patógenos que se distribuyen de una región a otra, en recientes estudios se han localizado *Ehrlichia minasensis* en ganado bóvido de Colombia, Brasil y Canadá (Aguilar *et al.*, 2019) b.

Las bacterias *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* son de gran importancia en el área de salud ya que estas afectan a distintos animales, tanto domésticos como silvestres, por lo tanto, es de suma importancia la detección y su estudio en México ya que no se tienen registros de la presencia de *E. minasensis*.

En 2004 se confirmó por primera vez una infección en humanos por *Rickettsia parkeri* (Herrick *et al.*, 2016), identificada en la zona norte del país, también en el estado de Veracruz (Sánchez-Montes *et al.*, 2019), estas siendo identificadas en garrapatas *Amblyomma ovale* recolectadas de perros, siendo esto de gran importancia por su cercanía de estos a los

humanos y a su uso también el sector ganadero se debe investigar si las garrapatas de los bovinos cuentan con este agente.

Debido a la importación del ganado bovino en México, se debe realizar una vigilancia epidemiológica exhaustiva para identificar un intercambio de agentes patógenos transmitidos por vectores (*Rhipicephalus microplus* y *Amblyomma* sp.), esto debido a que, en diversos países se han reportado la presencia de los agentes antes mencionados, sin embargo, en México solo se ha reportado *Rickettsia parkeri* la zona sur del estado de Veracruz.

Por lo anterior se decidió realizar esta investigación para verificar la presencia de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en bovinos y en las especies de garrapatas *Rhipicephalus microplus* y *Amblyomma* sp. de las zonas: tropical y templada de México, y poder determinar si son agentes presentes y que sea necesario investigar más sobre estos.

II. ANTECEDENTES

2.1. Garrapatas

Las garrapatas son artrópodos que pertenecen a la clase Arachnida, por lo tanto, tienen cercanía a las arañas y escorpiones, sin embargo, su cuerpo no tiene las características morfológicas de los insectos, ya que carece de las clásicas divisiones de cabeza, tórax y abdomen, siendo que su cuerpo se encuentra fusionado en una sola pieza (Estrada-Peña, 2015).

Estas presentan un linaje antiguo, ya que existen ejemplares encontrados de ámbar sepultado del periodo cetáceo (100 millones de años), en Birmania, (Petney *et al.*, 2011), actualmente las garrapatas presentes pertenecen al suborden Ixodida, en el cual se compone de 3 familias: Ixodidae o también llamadas garrapatas duras, Argasidae conocidas como garrapatas blandas, y Nuttalliellidae, de la cual solo se conoce una especie (*Nuttalliella namaqua*) esta familia es considerada como un eslabón perdido (Estrada-Peña, 2015).

Las garrapatas de la familia Ixodidae, han sido parásitos obligados desde hace 200 millones de años (Paleozoica tardía), siendo el género *Ixodes* el más primitivo, mientras que los géneros *Amblyomma* y *Hyalomma*, pertenecen al periodo cretácico, mientras que los géneros *Dermacentor* y *Rhipicephalus* aparecieron de hace 65 millones a 70 millones de años aproximadamente (Wall y Shearer, 2008).

En la actualidad estos artrópodos son capaces de regular su temperatura corporal según el ambiente en el que se encuentren, haciéndolos sensibles a los cambios en su entorno, como cambios de temperatura ambiental, humedad y luz solar, esto afecta de forma significativa su distribución y abundancia, disminuyendo o incrementando su capacidad vectorial, esto último siendo más relacionado a las garrapatas de la familia Ixodidae, ya que transmiten enfermedades, las cuales algunas son zoonóticas, provocando que estos agentes patógenos tengan una distribución distinta y más amplia (Cortés, 2010).

2.2. *Rhipicephalus microplus*

2.2.1. Generalidades

Las garrapatas de mayor importancia ganadera es la perteneciente al género *Rhipicephalus*, dentro de la familia Ixodidae, que agrupa a las garrapatas duras, siendo la especie *Rhipicephalus microplus*, antes conocida como *Boophilus microplus* (Alonso-Díaz y Fernández-Salas, 2022).

Este ectoparásito afecta mayormente a la industria de las zonas tropicales, actúa como un vector transmitiendo patógenos (Brossard y Wikel, 2004), La infestación por este ectoparásito se traduce en disminución de la ganancia de peso, reducción en la producción de leche y deterioro progresivo del animal, lo que repercute directamente en la rentabilidad de las explotaciones ganaderas (Kirby y Blackwood, 2021).

Algunos de los agentes patógenos que transmite son los responsables de enfermedades como la babesiosis y la anaplasmosis, que pueden provocar altas tasas de morbilidad y mortalidad en los rebaños, incrementando aún más las pérdidas económicas asociadas (Kirby y Blackwood, 2021), estas garrapatas son de un solo hospedador y presentan un ciclo de vida corto a comparación con otras especies, permitiendo que al año se tengan de cinco a seis generaciones, esto también depende de las condiciones climáticas (Estrada-Peñas *et al.*, 2022).

La eficacia de *R. microplus* como vector depende de diversas propiedades biológicas, como su capacidad de supervivencia, desarrollo y reproducción, así como la habilidad de los patógenos para desarrollarse dentro del vector, así mismo la plasticidad ecológica de la garrapata, contribuyen a su importancia epidemiológica en la transmisión de agentes patógenos entre animales domésticos, especialmente en sistemas de producción (Liu *et al.*, 2018).

Las garrapatas *R. microplus* pueden infestar a: búfalos, caballos, burros, perros, venados, borregos y cabras (Marques *et al.*, 2020).

2.2.2. Distribución en México

Los factores ambientales, como las condiciones climáticas y las variaciones estacionales, afectan la supervivencia y actividad de las garrapatas, así como la prevalencia de los patógenos que transportan. Cambios en el uso del suelo, la globalización del comercio y los desplazamientos de animales, así como el uso excesivo de acaricidas, pueden modificar el comportamiento de las garrapatas (Liu *et al.*, 2018).

La mayoría de las especies de garrapatas estudiadas residen en biomas de tipo neártico o paleártico, lo que implica una preferencia por regiones con climas templados y subtropicales. Estos biomas comprenden extensas áreas de América del Norte, Europa y Asia, donde predominan hábitats de bosques y pastizales, estos ambientes proporcionan las condiciones climáticas y la disponibilidad de hospedadores necesarias para el desarrollo y supervivencia de las garrapatas a lo largo de su ciclo de vida (Han y Yang, 2016), en la actualidad su distribución es mayor en las zonas con un clima cálido húmedo, en la República mexicana se observa una gran distribución, ya que cuenta con las condiciones ideales para su reproducción (Alonso-Díaz y Fernández-Salas, 2021), la presencia de *R. microplus* es amplia siendo únicamente los estados de Chihuahua, Sonora, Baja California, Baja California Sur, Tlaxcala y Ciudad de México los que se encuentran libres de esta garrapata (SENASICA, 2023).



Figura 1. Distribución de *Rhipicephalus microplus* en México (SENASICA, 2023).

El ciclo biológico de las garrapatas *R. microplus*, puede ser de 65 días, en condiciones de laboratorio se menciona que necesita una temperatura de 28° C y una humedad del 80%, las larvas están de manera libre aproximadamente 3 días, su siguiente muda la realizan alrededor del día 7 en el mismo sitio donde se alimenta, al día 14 pasan a su fase adulta, para el día 18 se encuentra semi-repletas y las hembras comienzan a aparearse con los machos, para el día 20 se encuentran repletas (fase no parasitaria), pasa un promedio de 21 días hasta la eclosión de los huevos (Alonso-Díaz y Fernández-Salas, 2021).

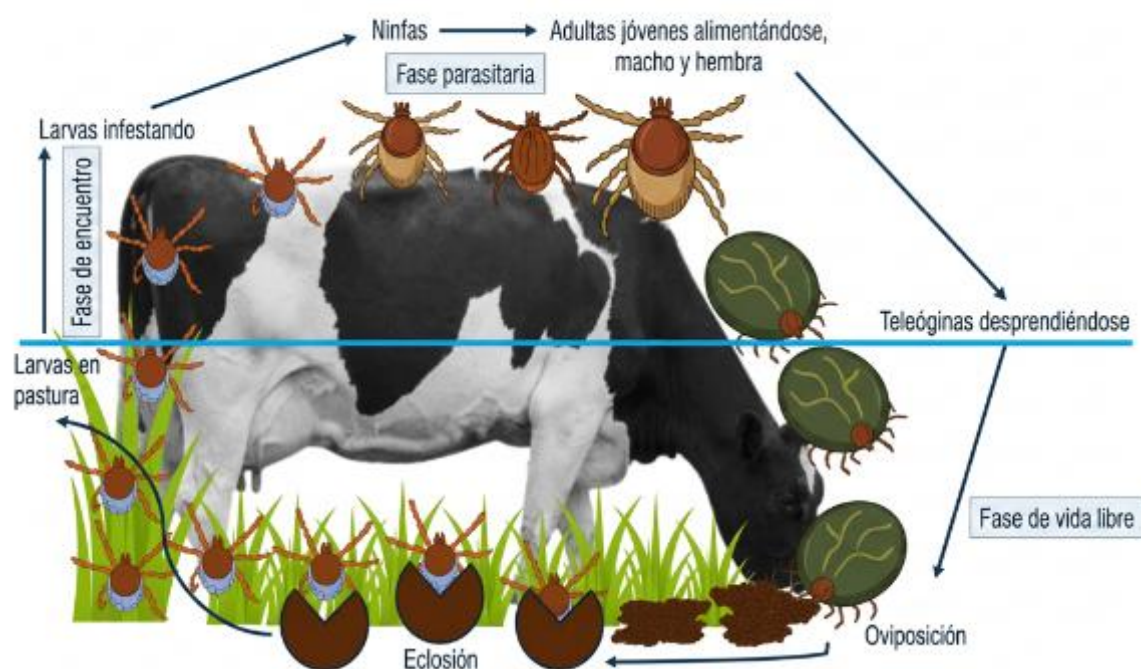


Figura 2. Ciclo biológico de *Rhipicephalus microplus* (Alonso-Díaz y Fernández-Salas, 2021).

2.3. *Amblyomma* sp.

2.3.1. Generalidades

Las garrapatas del género *Amblyomma* constituyen un grupo diverso de ectoparásitos pertenecientes a la familia Ixodidae, comúnmente conocidas como garrapatas duras, es uno de los grupos más diversos, con múltiples especies que parasitan una amplia variedad de hospedadores, incluidos aves, reptiles, anfibios y mamíferos (Miller *et al.*, 2014), al ser ectoparásitos hematófagos son capaces de transmitir agentes patógenos (bacterias, virus,

protozoarios, helmitos), en el continente Americano, una de las más comunes que causa problemas en la producción ganadera y en la salud pública, es la garrapata de la especie *Amblyomma cajennense* (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2019).

La identificación taxonómica de las garrapatas del género *Amblyomma* se ha basado tradicionalmente en características morfológicas observadas en ejemplares adultos. Sin embargo, la morfología puede ser insuficiente para delimitar especies, especialmente ante la presencia de especies muy parecidas (Miller *et al.*, 2014).

La estructura poblacional de las garrapatas y su capacidad para mantener ciclos enzoóticos de agentes patógenos están influenciadas por factores ecológicos y estacionales. Además, la presencia de múltiples hospedadores en un mismo territorio puede aumentar la complejidad de los ciclos de transmisión, lo que dificulta la predicción y el control de los brotes epidemiológicos (Kolokoltsov, 2022).

En Panamá, se utilizaron secuencias de códigos de ADN para la identificación de larvas y ninfas de garrapatas recolectadas de aves silvestres. Este estudio permitió detectar la presencia de diversas especies, resaltando: *A. dissimile* y *A. ovale*, se identificó un caso inusual, siendo el segundo registro mundial de *A. dissimile*, parasitando un ave silvestre *Coccyzus minor*, esta especie de garrapata generalmente es asociada a reptiles y anuros (Miller *et al.*, 2014).

Su gran distribución se debe a que se ha adaptado a distintos nichos ecológicos, ya que puede estar en climas semi-áridos y subtropicales (Estrada-Peña *et al.*, 2004), en los animales es capaz de transmitir *Anaplasma marginale* mientras que a los humanos les puede transmitir *Rickettsia rickettsii*, es por esto que esta especie de garrapata es de mayor importancia en medicina veterinaria (Aguilar-Domínguez *et al.*, 2019).

2.3.2. Distribución en México

Su distribución en el continente americano es desde el sur de Texas al norte de Argentina (Estrada-Peña *et al.*, 2004), en México se encuentra estrechamente relacionada con las regiones consideradas endémicas para diversas enfermedades transmitidas por vectores en la región sur del país, abarcando los estados de Jalisco, Oaxaca, Veracruz, Guerrero, Morelos,

Puebla, Hidalgo y Tabasco, esto se atribuye a factores ecológicos y climáticos favorables para su desarrollo, así como a la coexistencia con hospedadores silvestres y domésticos que facilitan su ciclo de vida (Monasterio *et al.*, 2018).

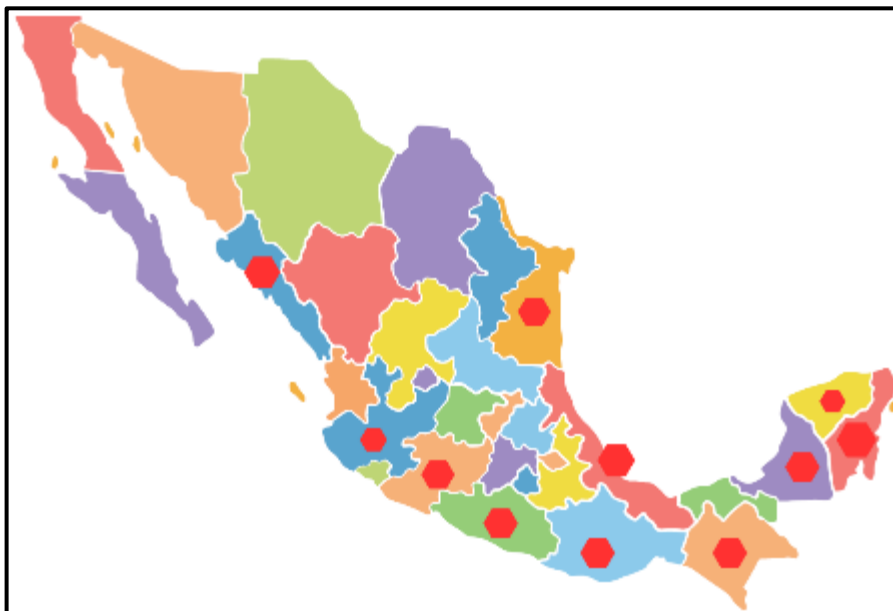


Figura 3. Distribución de *Amblyomma maculatum* en México (Ugalde-Villanueva, 2022).



Figura 4. Distribución de *Amblyomma mixtum* en México (Ugalde-Villanueva, 2022).

El ciclo de vida de las garrapatas del género *Amblyomma*, al igual que otras garrapatas ixódidas, se caracteriza por una sucesión de cuatro etapas principales: huevo, larva, ninfa y adulto, las larvas emergen de los huevos y deben encontrar un hospedero adecuado para alimentarse, posteriormente, bajan del hospedero 1 y realizar su muda a ninfas, las cuales buscaran un nuevo hospedero para alimentarse y completar su desarrollo hacia la fase adulta. En la etapa adulta, las hembras necesitan alimentarse nuevamente, generalmente en un tercer hospedero, para poder reproducirse y poner huevos, tras la oviposición, las hembras adultas mueren. Este proceso puede durar varios años dependiendo de las condiciones ambientales y la disponibilidad de hospederos, en condiciones óptimas puede completarse en aproximadamente dos años (Monasterio *et al.*, 2018).

Estas garrapatas al igual que las *R. microplus*, están siendo localizadas en climas tropicales y húmedos del país, aunque aún no son tan abundantes como las garrapatas ya establecidas en estas zonas, están demostrando su gran adaptabilidad, también compitiendo por los nichos ecológicos.

2.4. *Ehrlichia* sp.

2.4.1. Generalidades.

La Ehrlichiosis es una enfermedad transmitida por garrapatas, pertenece al género de *Ehrlichia*, es una alphaproteobacteria gram-negativa intracelular obligatoria (Aguiar *et al.*, 2019a), residen en vacuolas dentro de las células hospedadoras eucariotas (Tatarinova *et al.*, 2015), pertenece al orden Rickettsiales, familia *Anaplasmataceae*, género *Ehrlichia* (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016). Estas bacterias comparten características taxonómicas y biológicas con otros géneros de la misma familia, como *Anaplasma* y *Neorickettsia*, diferenciándose de otras por su modo de vida intracelular y su falta de citoplasma teñible (Tatarinova *et al.*, 2015).

Entre las especies más comunes que afectan a los animales son *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii* que afectan a los caninos, *Ehrlichia ruminantium* a los rumiantes y *Ehrlichia muris* a ratones (Aguiar *et al.*, 2019b), siendo *Ehrlichia minasensis* propagada en caninos y bovinos, causando manifestaciones clínicas en los animales

infectados (Li *et al.*, 2019), los roedores pueden actuar como reservorios principales durante las fases juveniles del vector (Ferrerri *et al.*, 2016).

En 2010 se reportó ehrlichiosis en ganado bovino, se asoció que la enfermedad era causada por la bacteria *Ehrlichia ruminantium* (Aguiar *et al.*, 2019b), posterior a esto se identificó que era una especie de *Ehrlichia* estrechamente relacionada con *E. canis*, siendo que esta infecta al ganado bovino y ciervos (Gajadhar *et al.*, 2010), el aislamiento, cultivo in vitro y caracterización molecular de este agente se logró cuando la bacteria se aisló de una garrapata hembra *Rhipicephalus microplus* recolectada en Minas Gerais, Brasil, por lo que la nombraron *Ehrlichia minasensis* cepa UFMG-EV (Cabezas-Cruz *et al.*, 2016).

Al medio oeste de Brasil, se reportó en una clínica que causa ehrlichiosis en terneros de ganado doble propósito, el cual fue infectado experimentalmente (Aguiar *et al.*, 2014), posteriormente, se logró aislar, secuenciar y caracterizar la cepa Cuiabá de *E. minasensis* de un bovino naturalmente infectado, proveniente de un hato con infestación crónica de garrapatas *Rhipicephalus microplus* cerca de Cuiabá, Brasil (Aguiar *et al.*, 2019b).

La relevancia clínica de *Ehrlichia* sp. radica en su capacidad para causar enfermedades febriles agudas, que pueden complicarse en individuos inmunocomprometidos o no tratados oportunamente, por esto vigilancia de la seroprevalencia en animales domésticos, permite inferir el riesgo de exposición en humanos y, por ende, anticipar la aparición de manifestaciones clínicas en poblaciones humanas expuestas a estos vectores (Self *et al.*, 2018).

La sinología clínica reportada en bovinos infectados por *E. minasensis* incluyeron; fiebre y depresión, en la necropsia se observan los ganglios linfáticos mesentéricos agrandados e inflamados, sin ninguna otra lesión macroscópica, en el examen patológico se observan las mórulas en el citoplasma de células mononucleares (Aguiar *et al.*, 2019b). Esta bacteria ha sido encontrada no solo en las garrapatas *Rhipicephalus microplus*, sino también en *Amblyomma* spp. (Iweriebor *et al.*, 2017), por lo tanto, su distribución geográfica es amplia ya que la podemos localizar en Canadá, Brasil, Croacia (Aguiar *et al.*, 2019b), Etiopía, Francia, Israel, Pakistán, Sudáfrica, China (Li *et al.*, 2019).

El diagnóstico serológico constituye uno de los métodos más utilizados para la detección de enfermedades transmitidas por garrapatas, la sensibilidad de las pruebas serológicas en las fases tempranas de la infección es limitada, situándose entre el 40% y el 60%, lo que puede conducir a resultados falsos negativos. Por este motivo, la serología solo se recomienda en ausencia de manifestaciones clínicas características, por la baja sensibilidad de estas pruebas en fases tempranas es importante realizar una evaluación clínica cuidadosa y la necesidad de métodos diagnósticos complementarios en casos ambiguos (Hossain *et al.*, 2021).

2.4.2. Transmisión de *Ehrlichia* sp.

La ehrlichiosis es transmitida mediante un vector, las cuales son garrapatas del género *Rhipicephalus spp.* y *Amblyomma spp.*, estas se convierten en su hospedero, almacenándose en las glándulas salivales de la garrapata, mas no es transmitida de manera transovárica a la descendencia de las garrapatas, infectan al animal mediante la saliva contaminada al alimentarse de este, sin importar el estadio en que se encuentre la garrapata (Saito y Walker, 2016).

También se da la transmisión por co-alimentación o no sistémica se produce cuando una garrapata adquiere el patógeno al alimentarse simultáneamente junto a otras garrapatas infectadas en el mismo hospedador, sin que sea necesaria una infección sistémica, es breve o de baja intensidad (Ferrerri *et al.*, 2016). El periodo de incubación es de 8 a 20 días, en este tiempo se multiplican en el citoplasma de células mononucleares, y continua con la infestación (Saito y Walker, 2016).

La transmisión de estos patógenos suele ser vertical en sus hospederos, la transferencia horizontal entre hospedadores ha sido la más común, esta plasticidad en los mecanismos de transmisión y adaptación intracelular contribuye a la capacidad de *Ehrlichia* sp. para infectar una amplia gama de hospedadores y establecer infecciones persistentes (Koutsovoulos *et al.*, 2014).

2.5. *Rickettsia* sp.

2.5.1. Generalidades.

Es una bacteria gram-negativa, intracelular obligada (Harris *et al.*, 2018), son pequeñas (0.2 a 0.5 μm), se tiñen débilmente con la tinción de Gram (Mateus-Anzola *et al.*, 2020). Estas especies de *Rickettsia* se encuentran predominantemente en biomas neárticos o paleárticos, habitando principalmente ambientes de bosques y pastizales, los cuales se encuentran en el centro y norte del país, como se muestra en la figura 5. Diversas especies de garrapatas han sido identificadas como posibles vectores de enfermedades, aunque no todas son reconocidas actualmente por la comunidad de salud pública como vectores zoonóticos de importancia (Han y Yang, 2016).



Figura 5. Principales Ecosistemas de México (CONABIO, 2014).

El género *Rickettsia* está compuesto por 35 especies, que a su vez se divide en 5 grupos, siendo el grupo de fiebres maculosas (SFG) al cual pertenecen las especies: *Rickettsia conorii*, *R. massiliae*, *R. parkeri* y *R. rickettsii*, y el grupo de tifo (TG) siendo solo las especies: *R. prowazekii* y *R. typhi* (Sánchez-Montes *et al.*, 2021) las que causan enfermedades febriles, transmitida comúnmente por las garrapatas del género *Amblyomma* sp. (Herrick *et al.*, 2016).

Rickettsia rickettsii era considerada como la única rickettsiosis transmitida por garrapatas que se tenía conocimiento que causaba enfermedad en humanos, pero en la actualidad se

conocen otras especies que están provocando la presencia de signos clínicos en humanos (Abarca y Oteo, 2014).

Rickettsia parkeri es un patógeno emergente, transmitida a los humanos por varias especies de garrapatas, las cuales son; *Amblyomma spp.*, *Ixodes scapularis*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor parumapertus* y *Dermacentor variabilis* (Sánchez *et al.*, 2018).

En 2004 se confirmó por primera vez la infección de *R. parkeri* en humanos (Herrick *et al.*, 2016), actualmente se tiene registro de su presencia en 8 países de América los cuales son; Estados Unidos (Norte), Belice (Centro), Colombia, Perú, Brasil, Bolivia, Uruguay y Argentina (Sur) (Sánchez *et al.*, 2018).

Se ha identificado *R. parkeri* en estados de Estados Unidos colindantes con México, pero no se contaba con registros de presencia de esta en el país, hasta el 2018, que se identificó *R. parkeri* en garrapatas *Dermacentor parumapertus* de Chihuahua y Sonora, poco después se identificó el ADN de *R. parkeri* en garrapatas *Amblyomma maculatum* en el norte de Sonora (Sánchez *et al.*, 2018), en municipios de la zona centro y sur de Veracruz se recolectaron garrapatas de la especie *Amblyomma ovale* de perros, y se identificó la presencia de *R. parkeri* (Sánchez-Montes *et al.*, 2019).

Las manifestaciones clínicas de la infección por *Rickettsia* sp. en animales pueden variar considerablemente dependiendo de la especie animal afectada y del agente rickettsial, los signos clínicos más frecuentes incluyen fiebre, letargia, anorexia y, en casos más graves, hemorragias cutáneas o en mucosas, esto debido a vasculitis y daño endotelial. En perros y gatos, pueden observarse además signos neurológicos, artritis y alteraciones hematológicas, como trombocitopenia y anemia. En animales de producción, la infección puede manifestarse con disminución del rendimiento productivo, abortos y mortalidad. La presentación clínica puede ser aguda o subaguda, y en algunos casos subclínica (Maselena y Hasan, 2012).

2.5.2. Transmisión de *Rickettsia* sp.

Las rickettsias pueden transmitirse de una garrapata a otra de manera horizontal, es cuando una garrapata se alimenta de un animal enfermo con alguna de las especies de *Rickettsias* patógenas, manteniendo la infección a través de los diferentes estadios de

desarrollo (transestadial), una vez que el agente patógeno ingresa a la garrapata se aloja en las glándulas salivales y en los ovarios, de esta manera es capaz de transmitir el agente patógeno a su descendencia siendo esta la transmisión vertical (Harris *et al.*, 2018). Una tercera forma de infección entre artrópodos es por co-alimentación o no sistémica, cuando distintos vectores (garrapatas, pulgas, piojos y ácaros) se alimentan del mismo hospedero, en un sitio muy cercano entre ambos, esto puede suceder incluso si el hospedero aún no cuenta con carga bacteriana en su sistema (Sánchez-Montes *et al.*, 2021).



Figura 6. Transmisión de *Rickettsia parkeri*, (Harris *et al.*, 2018 y Sánchez-Montes *et al.*, 2021).

III. JUSTIFICACIÓN

La investigación sobre la presencia de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en garrapatas que parasitan al ganado bovino es de relevancia para la salud animal y pública. Estos agentes al ser bacterias pertenecientes al grupo de patógenos transmitidos por vectores, pueden causar enfermedades graves tanto en animales como en humanos.

El ganado bovino representa no solo una fuente fundamental de alimento y economía para muchas comunidades, sino que también puede actuar como reservorio para estos patógenos, facilitando su diseminación a través de las garrapatas.

Es por esto que la detección temprana y precisa de estos agentes infecciosos en garrapatas es esencial para diseñar estrategias efectivas de control y prevención que reduzcan el riesgo de transmisión.

IV. HIPÓTESIS

Las garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Amblyomma* sp. que parasitan al ganado bovino son portadoras de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri*, representando un riesgo significativo para la salud animal.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Identificar la presencia de *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en las garrapatas *Rhipicephalus* sp. y *Amblyomma* sp. que parasitan al ganado de las zonas tropical y templada de México.

5.2 Objetivos Específicos

- Identificar morfológicamente las garrapatas colectadas de los bovinos en las zonas de estudio.
- Detectar mediante PCR la presencia de los agentes *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en las garrapatas colectadas.

VI. MATERIAL Y METODOS

6.1 Sitio de muestreo y tamaño de muestra

Para el presente estudio se tomaron en consideración los estados de Chiapas, Querétaro, Tabasco y Veracruz, los bovinos debían contar con la presencia de garrapatas para ser parte del muestreo, estos fueron manejados usando técnicas de manejo del “Manual de sujeción, derribo e incorporación en especies mayores”, Sección III, pagina 83-89 (Estrada-McDermott *et all*, 2020), estas técnicas dependieron del temperamento de los bovinos y las instalaciones de cada unidad de producción.

Para el retiro de las garrapatas se comenzó revisando al bovino en el siguiente orden: rostro, orejas, cuello, tórax, miembros anteriores, abdomen y miembros posteriores, al removerse se colocaron en frascos de recolección adaptados para que estas llegaran vivas al laboratorio, estos frascos fueron rotulados con el número del bovino y del estado de donde fueron tomadas, se retiraron un mínimo de 25 garrapatas.

6.2 Identificación Taxonómica.

Las garrapatas recolectadas se lavaron con una solución de cloruro de benzalconio al 10%, sumergiéndolas en esta durante 10min, posterior a esto se enjuagaron y fueron identificadas mediante claves taxonómicas ya establecidas en el libro “Ticks of the Southern Cone of America” (Nava *et all.*, 2019, Estrada-Peña, 2015, Lado *et all.*, 2018), para ser colocadas de manera individual en tubos eppendorf de 1.5 ml estériles con 1 ml de etanol al 70%, los cuales fueron rotulados con el número del bovino, la especie y sexo de la garrapata, y el estado del que provienen.

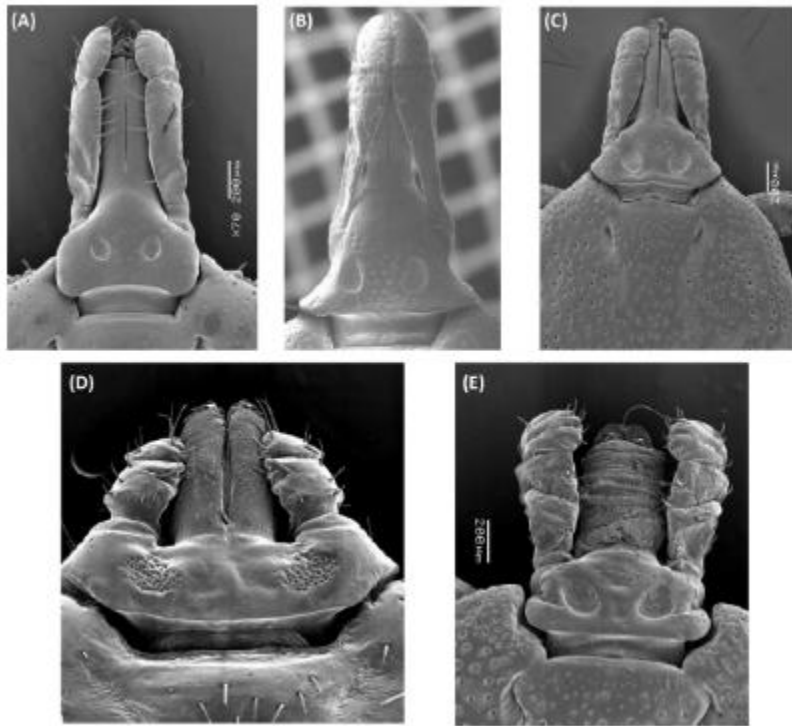


Figura 7. Forma de la base del capitulo de las garrapatas duras, A) sub-rectangular, B) triangular, D) hexagonal y E) rectangular, imagen tomada del libro “Ticks of the Southern Cone of America” (Nava *et al.*, 2019).

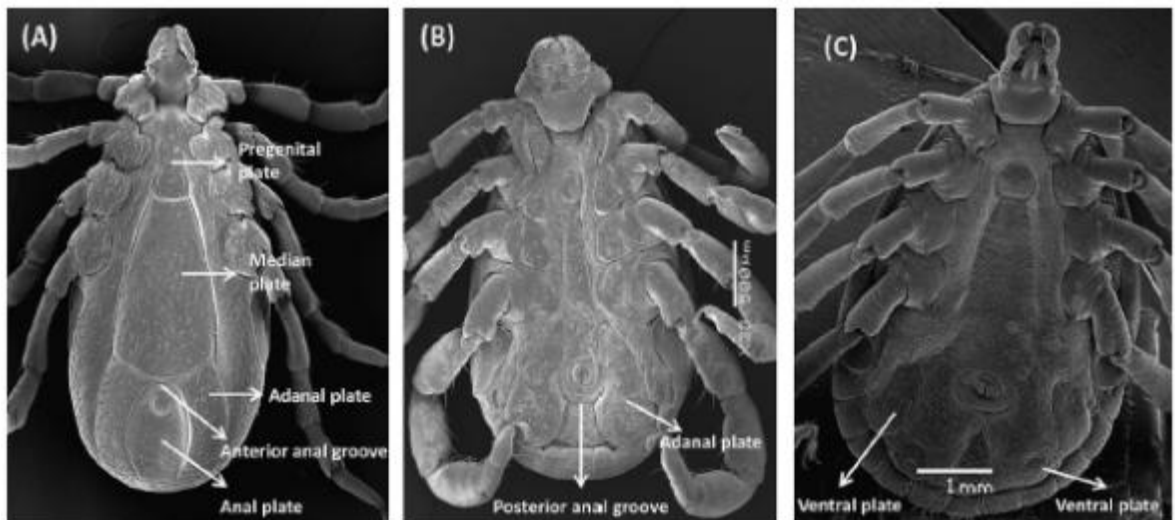


Figura 8. Plano ventral de garrapatas machos de los géneros A) *Ixodes*, B) *Rhipicephalus* y D) *Amblyomma longirostre*, imagen tomada del libro “Ticks of the Southern Cone of America” (Nava *et al.*, 2019).

6.3 Pruebas moleculares.

Para la extracción de DNA, se tomó una por una de las garrapatas en una superficie desinfectada y se realizó un corte en el idiosoma, entre la abertura anal y el espiráculo, fueron colocadas en un tubo eppendorf estéril, del mismo modo se rotulo con los datos antes mencionados, se empleó una resina quelante (Chelex®), la cual se preparó al 10% con agua libre de nucleasas, a cada muestra se le agrego 500 µL y se dejó incubando por 48 hrs a una temperatura de 56° C. (ANEXO 1).

Se organizaron por grupos de 5 extracciones de DNA para elaborar los pools, estos se llevaron a la campana de flujo, para evitar la contaminación de estas, en una microplaca, como se muestra en la **Figura 8**, se comenzó en la columna 1A y en forma descendente, se agregaron 20 µL de cada extracción, cada pocito termino con un total de 100 µL, al terminar se llevó a cabo la PCR tiempo real, los controles positivos que se emplearon fueron donados por el Centro de Medicina Tropical.

Placa 40 Garrap. Karen Quert/Ver/Tabsc/Chiap 20-NOV-2024												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1980.1	5228.6	3.25	7.11	8.2	2	12.7	19.9	54.4	Ch-1	Ch-42	Ch-82
	1980.2	1319.1	3.26	7.12	8.3	3.2	13.2	19.10	54.5	Ch-2	Ch-43	Ch-83
	1980.3	1319.2	3.27	7.13	8.6	3.3	13.5	19.11	54.5	Ch-3	Ch-44	Ch-84
	1980.4	1319.3	3.28	7.14	8.10	3.5	13.7	19.12	54.7	Ch-4	Ch-45	Ch-85
	1980.5	1319.4	3.29	7.15	8.15	3.7	13.8	19.13	54.8	Ch-5	Ch-46	Ch-86
B	1980.6	1319.5	3.30	7.16	13.1	3.8	13.10	19.14	54.9	Ch-6	Ch-47	Ch-87
	1980.7	1319.6	3.31	7.17	13.2	3.9	14.1	19.15	54.10	Ch-7	Ch-48	Ch-88
	1980.8	1319.7	3.32	7.18	13.4	3.11	14.2	20.2	54.11	Ch-8	Ch-49	Ch-89
	1980.9	1319.8	3.33	7.19	13.6	4.1	14.3	20.4	55.1	Ch-9	Ch-50	Ch-90
	1980.10	1319.9	3.34	7.20	13.9	4.2	14.4	20.5	55.2	Ch-10	Ch-51	Ch-91
C	1980.11	1987.16	3.35	8.1	15.1	4.3	14.5	20.11	55.3	Ch-12	Ch-52	Ch-92
	1980.12	1987.17	3.36	8.2	15.3	4.5	14.6	24.1	55.4	Ch-13	Ch-53	Ch-93
	1980.13	1987.18	3.37	8.3	15.4	7.1	14.7	24.2	55.5	Ch-14	Ch-54	Ch-94
	1980.14	1987.19	3.38	8.4	15.6	7.2	14.8	24.3	56.1	Ch-15	Ch-55	Ch-95
	1980.15	1987.20	5.27	8.5	15.7	7.3	14.9	24.4	56.2	Ch-16	Ch-56	Ch-96
D	1980.16	1980.21	5.28	8.6	17.2	8.1	14.10	24.5	56.3	Ch-17	Ch-57	Ch-97
	1980.17	1980.22	5.29	8.7	17.7	8.4	14.11	24.6	56.4	Ch-18	Ch-58	Ch-98
	1980.18	1980.23	5.30	8.8	18.1	8.5	14.12	24.7	56.5	Ch-19	Ch-59	Ch-99
	1980.19	1980.24	5.31	8.9	18.4	8.7	14.13	24.8	56.6	Ch-20	Ch-60	Ch-100
	1980.20	1987.21	5.32	8.10	18.3	8.8	14.14	24.9	56.7	Ch-21	Ch-61	Ch-101
E	1987.1		5.33	8.11	20.1	8.9	14.15	24.10	56.8	Ch-22	Ch-62	Ch-102
	1987.2		5.34	8.12	20.3	10.1	15.2	24.11	56.9	Ch-23	Ch-63	Ch-103
	1987.3		5.35	8.13	20.5	10.2	15.5	24.12	56.10	Ch-24	Ch-64	Ch-104
	1987.4		5.37	8.14	20.6	10.3	15.8	25	56.11	Ch-25	Ch-65	Ch-105
	1987.5		5.38	8.15	20.7	10.4	15.9	21.1	60	Ch-26	Ch-66	Ch-106
F	1987.6		6.1	10.1		10.5	15.10	51.2		Ch-27	Ch-67	Ch-107
	1987.7		6.2	10.2	3.1	10.6	17.1	51.3		Ch-28	Ch-68	Ch-108
	1987.8		6.3	10.3	3.4	10.7	17.3	51.4		Ch-29	Ch-69	Ch-109
	1987.9		6.4	10.4	3.6	10.8	17.4	51.5		Ch-30	Ch-70	Ch-110
	1987.10		6.5	10.5	3.10	10.9	17.5	51.6		Ch-31	Ch-71	Ch-111
G	1987.11		7.1	10.6	12.2	10.10	17.6	51.7		Ch-32	Ch-72	Ch-112
	1987.12		7.2	10.7	12.6	10.11	18.2	51.8		Ch-33	Ch-73	Ch-113
	1987.13		7.3	10.8	12.10	11.1	19.1	51.9		Ch-34	Ch-74	Ch-114
	1987.14		7.4	10.9	12.10	11.1	19.2	51.10		Ch-35	Ch-75	Ch-115
	1987.15		7.5	10.10	12.9	11.2	19.3	52.1		Ch-36	Ch-76	Ch-116
H	5228.1		7.6	10.11		11.3	19.4	52.2		Ch-37	Ch-77	
	5228.2		7.7	10.12		12.1	19.5	52.3		Ch-38	Ch-78	
	5228.3		7.8	10.13		12.3	19.6	52.4		Ch-39	Ch-79	
	5228.4		7.9	10.14		12.4	19.7	52.5		Ch-40	Ch-80	
	5228.5		7.10	10.15		12.5	19.8	52.6		Ch-41	Ch-81	

Figura 9.- Orden de los pools de DNA de garrapatas de Querétaro (1A-2D), Veracruz (3A-4H), Tabasco (5A-9E) y Chiapas (10A-12G).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que permite la amplificación exponencial de un fragmento específico de ADN a partir de una cantidad inicial mínima. (PCR punto final), para esto para por un ciclo térmico que consta de tres etapas: desnaturalización, alineamiento y extensión. En la desnaturalización, el ADN se somete a altas temperaturas para separar las dos cadenas. Posteriormente, durante el alineamiento, la temperatura se reduce para permitir que los cebadores se unan a sus secuencias complementarias en cada cadena de ADN, en la etapa de extensión, la temperatura se ajusta para que la ADN polimerasa sintetice nuevas cadenas de ADN a partir de los dNTPs, utilizando los cebadores como punto de inicio. Teóricamente, cada ciclo térmico duplica la cantidad de fragmento de ADN objetivo, lo que conduce a una amplificación exponencial.

Para la reacción se preparó en varios tubos Eppendorf una mezcla de 3 µL de DNA de los pools realizados, y 27 µL de una mezcla formada por; GoTaq® Green Mix Master (Promega ®), primers señalados en el **Cuadro 1** y de agua libre de nucleasas, serán colocados en el termociclador para amplificación del ADN, el producto de esto será observado en gel de agarosa al 1%, al cual se le agregará 1.5 µL de fluorocromo Sayto 60. Los resultados positivos se cargaron en una placa de PCR y se enviaron a secuenciar, las secuencias obtenidas fueron comparadas con las bases disponibles en GenBank.

Cuadro 1.- Primers utilizados para las PCR punto final de detección de agentes.

<i>Ehrlichia</i> sp.	<i>Rickettsia</i> sp.
sb-330, 5'- GAT GAT GTC TGA AGA TAT GAA ACA AAT-3'.	gen gltA (Citrato sintasa)
Dsb-728, 5'- CTG CTC GTC TAT TTT ACT TCT TAA AGT-3'.	RpCS.415, 5'-GCT ATT ATG CTT GCG GCT GT RpCS.1220, TGC ATT TCT TTC CAT TGT GC

Se tomaron los códigos de todas las que secuencias que estuvieran relacionadas a las secuencias de los positivos, sin repetir los códigos que ya estuvieran seleccionados, los cuales se descargaron, para ser utilizados en el Software MEGA 12, las secuencias positivas fueron

nombradas con el código F10MIA, G9MIA y O19MIA, se alinearon y al terminar se utilizó un servidor en línea para realizar el árbol filogenético.

C) Manejo de desechos

Los desechos fueron clasificados según sus características y del peligro de contaminación que impliquen estos, según la NOM-087-SEMARNAT- SSA1-2002, los residuos de sangre se colocaron en recipientes herméticos de color rojo. Los objetos punzo cortantes se colocaron en recipientes rígidos de polipropileno color amarillo (Profepa, 2022).

Las garrapatas se catalogaron como residuos patológicos y se colocarán en bolsas de polietileno rojas para ser incineradas (Profepa, 2022).

VII. RESULTADOS

a) Identificación morfológica.

De los estados de Chiapas, Querétaro, Tabasco y Veracruz se recolectaron un total de 432 garrapatas, obteniendo los siguientes resultados:

Cuadro 2.- Garrapatas según su género y su estadio de desarrollo.

N.º	Estado	<i>Rhipicephalus</i> sp.			<i>Amblyomma</i> sp.			Total
		Hembra	Macho	Ninfa	Hembra	Macho	Ninfa	
1)	Chiapas	78	26	2	2	4	3	115
2)	Querétaro	40	12	7	1	1	0	61
3)	Tabasco	90	44	18	7	12	5	176
4)	Veracruz	49	8	3	9	1	10	80
	Total	257	90	30	19	18	18	432
		Total <i>Rhipicephalus</i> sp.		377	Total <i>Amblyomma</i> sp.		55	

En el caso de las garrapatas machos del género *Rhipicephalus*, todos pertenecían a la especie *R. microplus*.

b) PCR punto final

Los resultados de las pruebas PCR fueron colocados en geles de agarosa al 1%, y se realizó la electroforesis obteniendo resultados positivos de *Rickettsia* sp. en las garrapatas muestreadas del estado de Tabasco, los cuales se pueden observar en la figura 9, también se obtuvieron resultados positivos de *Ehrlichia* sp. en las garrapatas muestreadas del estado de Veracruz.



Figura 10.- Resultado PCR con gen gltA *Rickettsia* sp., por electroforesis en gel de agarosa, líneas 1-11= DNA de las garrapatas, A= Marcador molecular, B= control negativo, C= control positivo.

c) Árbol filogenético

En la siguiente imagen se puede observar que las secuencias obtenidas de los positivos muestreados están relacionados con secuencias genéticas de múltiples especies del género *Rickettsia*, como *R. amblyommatis*, *R. parkeri*, *R. conorii*, *R. raoultii*, *R. prowazekii*, *R. massiliae*, entre otras, como lo indica la escala de sustituciones por sitio (de 0 a 0,1).

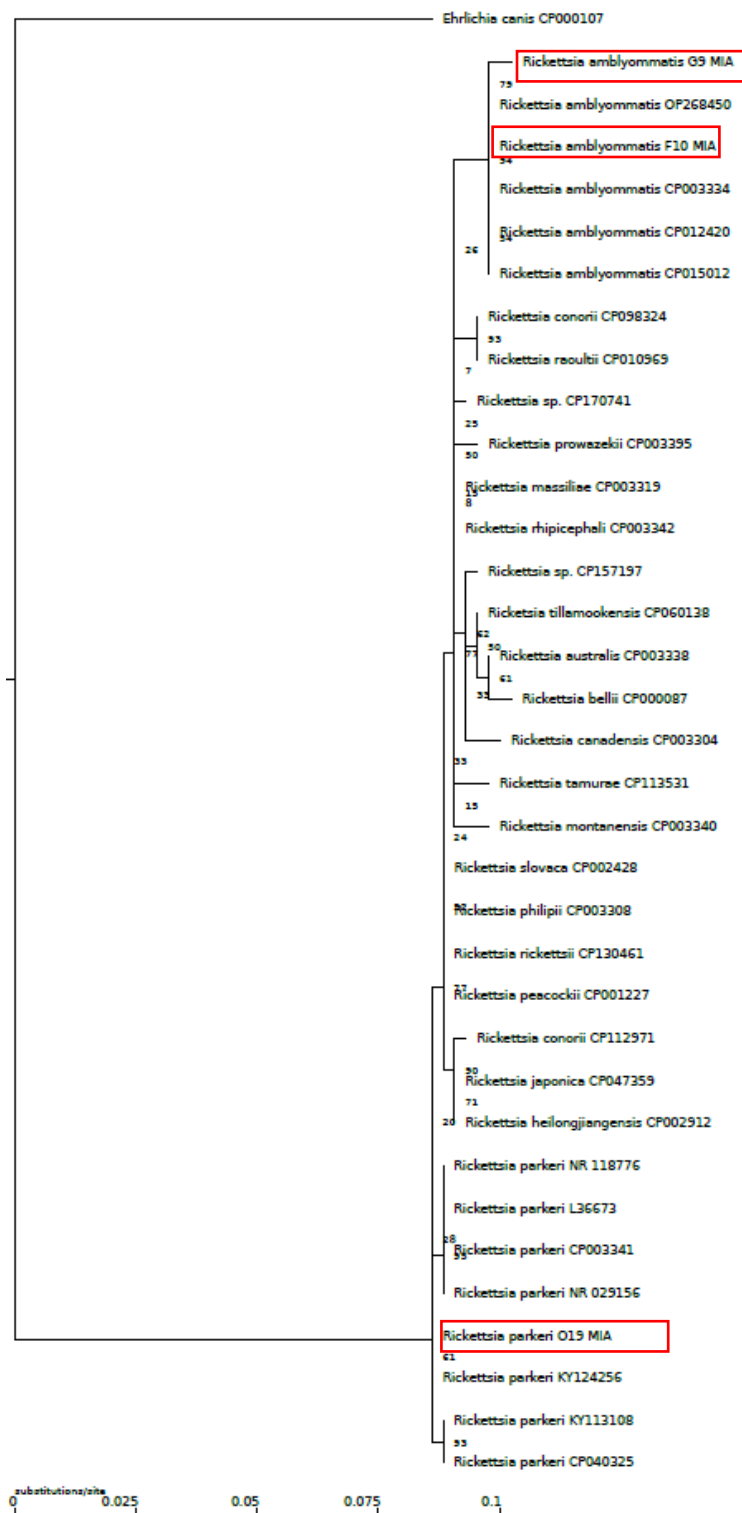


Figura 11. Árbol filogenético de los resultados (en los cuadros rojos) de las muestras positivas a *Rickettsia* sp.

Así mismo se encontraron resultados positivos en el estado de Veracruz del *Ehrlichia*, las cuales coinciden con *E. minasensis*.



Figura 12. Árbol filogenético de los resultados (en los cuadros rojos) de las muestras positivas a *Ehrlichia* sp.

VIII. DISCUSION

Los resultados obtenidos en este proyecto son significativos en el estudio de agentes patógenos transmitidos por garrapatas en el contexto del ganado bovino mexicano, resaltando la detección molecular de *R. parkeri* en garrapatas del estado de Tabasco y *E. minasensis* en Veracruz. Estos resultados, son los primeros relacionando a los agentes, vectores y a los estados muestreados, implican un avance en la comprensión de la dinámica epidemiológica de estos microorganismos y sus posibles impactos en la salud animal y pública.

Es importante mencionar que en México, la ganadería bovina supone una actividad económica sustancial, con más de 146 mil cabezas de ganado registradas a nivel nacional y una creciente exportación e importación (De Agricultura y Desarrollo Rural, 2024), que facilitan la circulación de agentes patógenos entre regiones, por lo tanto la presencia de bacterias como *Ehrlichia minasensis* y *Rickettsia parkeri* en garrapatas que parasitan este ganado adquiere particular relevancia porque representan riesgos con un amplio espectro: afectan directamente la salud animal, disminuyendo la productividad y aumentando la morbilidad y mortalidad; asimismo, tienen un potencial zoonótico que implica riesgos a la salud pública.

La selección estratégica de cuatro estados con alta concentración de ganado bovino y condiciones óptimas para la proliferación de garrapatas en tres estados, permite representar la diversidad ecológica y epidemiológica de las zonas tropical y templada. La recogida sistemática de garrapatas sobre los animales, seguida de la correcta identificación taxonómica apoyada en claves especializadas, asegura la calidad de las muestras estudiadas.

En este estudio solo se observaron garrapatas de la especie *R. microplus*, y del género *Amblyomma* sp., siendo estos último de múltiples hospederos, por lo cual tienen una mayor probabilidad a ser portadoras de distintos agentes patógenos, y que se pueda localizar de igual manera en ganado bovino, esto hace que sea de suma importancia su estudio, ya que es una especie domestica de importancia debido a su exportación e importación, facilitando la movilización de agentes patógenos y vectores a distintas regiones.

Anteriormente se había reportado en el estado de Campeche la presencia de *R. parkeri* y *R. amblyommatis* en garrapatas recolectadas de cerdos silvestres del estado de Campeche (López-Pérez *et al.*, 2022).

Uno de los hallazgos más relevantes del estudio es el registro molecular por primera vez de *Ehrlichia minasensis* en garrapatas *Rhipicephalus microplus* y ganado bovino en el estado de Veracruz, esta bacteria emergente (describiéndose inicialmente en Brasil y otros países) no había sido reportada en territorio mexicano, lo que representa un avance significativo para la vigilancia epidemiológica nacional. Su identificación indica que esta región puede constituir un foco de infección activa o latente, capaz de afectar la producción ganadera local y potencialmente extenderse a otras áreas.

Simultáneamente, la detección de *Rickettsia parkeri* y *Rickettsia amblyommatis* en garrapatas parasitando bovinos del estado de Tabasco amplía el conocimiento que se tiene sobre el rango geográfico y el espectro de hospedadores de estas bacterias. En particular, la presencia de *Rickettsia parkeri*, reconocida como un patógeno emergente y causante de fiebre maculosa con manifestaciones hematológicas y cutáneas, reflejando la creciente distribución de esta especie bacteriana en América y confirma su circulación en zonas tropicales mexicanas. Además, la detección de *R. amblyommatis*, cuya importancia patogénica aún se estudia, revela la complejidad ecológica y epidemiológica del entorno vectorial.

El riesgo sanitario asociado a la diseminación de *E. minasensis* y *R. parkeri* a través de las garrapatas de los géneros *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, es de alta relevancia, principalmente porque afectan no solo a los bovinos como reservorios y huéspedes principales, sino que poseen potencial zoonótico que puede comprometer la salud humana.

Estos registros permiten inferir que las condiciones climáticas, ecológicas y la presencia de hospederos susceptibles en los estados estudiados favorecen la transmisión y mantenimiento de estas bacterias en ciclos naturales. Del mismo modo, subrayan la posible coexistencia de múltiples agentes patógenos en un mismo territorio, incrementando la dificultad para su diagnóstico y control.

La metodología aplicada en el presente estudio, permitió obtener una muestra representativa de los vectores asociados a bovinos en esos ecosistemas, y la aplicación de PCR punto final con primers específicos, seguida de secuenciación y análisis filogenético, confirmen la fiabilidad de los resultados moleculares presentados.

IX. CONCLUSIONES

El registro molecular por primera vez de *Ehrlichia minasensis* en garrapatas *Rhipicephalus microplus* y ganado bovino en Veracruz constituye un avance epidemiológico trascendental, dado que hasta ahora los reportes en México estaban ausentes para esta bacteria emergente. Del mismo modo, la identificación de *Rickettsia parkeri* y *Rickettsia amblyommatis* en garrapatas colectadas en bovinos de Tabasco representa la ampliación del espectro de hospedadores y zonas endémicas de estas especies bacterianas presentes en el país. Estos hallazgos son congruentes con los registros previos en países vecinos y subrayan la capacidad adaptativa y diseminación geográfica de estos agentes en regiones tropicales y templadas del país.

Epidemiológicamente, estas evidencias implican que las regiones estudiadas, caracterizadas por climas cálidos y húmedos adecuados para la proliferación de garrapatas, pueden constituir focos de infección latente o activa que favorecen la persistencia y circulación de estos patógenos, la presencia de estos agentes ratifica la necesidad de monitorear estas zonas como corredores epidemiológicos claves para la vigilancia de enfermedades transmitidas por vectores en México.

La detección de *Rickettsia parkeri* en garrapatas recogidas en Tabasco y *Ehrlichia minasensis* en Veracruz representa una contribución crucial para el conocimiento epidemiológico de estas zoonosis transmitidas por vectores en México.

X. BIBLIOGRAFÍA

Abarca, K., y Oteo, J. A. (2014). Aproximación clínica y principales rickettsiosis transmitidas por garrapatas presentes en Latinoamérica. *Revista chilena de infectología*.

Aguiar, D.M.; Ziliani, T.F.; Zhang, X.; Melo, A.L.; Braga, I.A.; Witter, R.; Freitas, L.C.; Rondelli, A.L.; Luis, M.A.; Sorte, E.C. (2014). A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks Tick Borne Dis*.

a) Aguiar DM, Araujo JP, Jr, Nakazato L, Bard E, Cabezas-Cruz A. (2019). Complete genome sequence of an *Ehrlichia minasensis* strain isolated from cattle. *Microbiol Resour Announc*.

b) Aguiar, D. M., Araújo, J. P., Nakazato, L., Bard, É., Aguilar-Bultet, L., Vorimore, F., Popov, V. L., Colodel, E. M., y Cabezas-Cruz, A. (2019). Isolation and characterization of a novel pathogenic strain of *Ehrlichia minasensis*. *Microorganisms*.

Aguilar-Domínguez, M., Sánchez-Montes, S., Esteve-Gassent, M. D., Barrientos-Salcedo, C., De León, A. P., y Romero-Salas, D. (2019). Genetic Structure analysis of *Amblyomma mixtum* populations in Veracruz State, Mexico. *Ticks and Tick-borne Diseases*.

Alonso-Díaz, M.A, y Fernandez-Salas, A. (2022). *Rhipicephalus microplus*: biología, control y resistencia. Centro de enseñanza, investigación y extensión en ganadería.

Alonso-Díaz, M. A., y Fernández-Salas, A. (2021). Entomopathogenic fungi for tick control in cattle livestock from Mexico. *Frontiers in Fungal Biology*.

Beugnet F. y Marié JL. (2009) Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in europe. *Vet Parasitol*.

Brossard M y Wikel SK (2004). Tick immunobiology. *Parasitology*.

Cabezas-Cruz, A., Zweygarth, E., Vancová, M., Broniszewska, M., Grubhoffer, L., Passos, L. M. F., Ribeiro, M. F. B., Alberdi, P., y de la Fuente, J. (2016). *Ehrlichia minasensis*

sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.

CONABIO. (2014). *Ecosistemas de México | Biodiversidad mexicana*. Biodiversidad Mexicana. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/ecosismex>

Cortés, J.A. (2010) Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global.

De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s. f.). Reporta Agricultura crecimiento de 10 porciento exportación de ganado bovino mexicano a Estados Unidos. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/reporta-agricultura-crecimiento-de-10-porciento-exportacion-de-ganado-bovino-mexicano-a-estados-unidos>.

Estrada-McDermott, J.M., Vargas-Arrieta, J.A. y Estrada-Umaña, J.M. (2020). Manual de sujeción, derribo e incorporación en especies mayores. Universidad Nacional, Costa Rica. Manual Versión Digital.

Estrada-Peña, A., (2015). Garrapatas Morfología, fisiología y ecología. Edición adaptada por zonas geográficas: España y América latina

Estrada-Peña, A., Guglielmone, A. A., y Mangold, A. J. (2004). The distribution and ecological «preferences» of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*.

Estrada-Peña A, Mallón AR, Bermúdez S, de la Fuente J, Domingos A, García MPE, Labruna MB, Merino O, Mosqueda J, Nava S, et al. (2022). One Health Approach to Identify Research Needs on *Rhipicephalus microplus* Ticks in the Americas. *Pathogens*.

Ferreri, L., Bajardi P. y Giacobini, M. (2016) Non-systemic transmission of tick-borne diseases: a network approach.

Gajadhar, A. A., Lobanov, V., Scandrett, W. B., Campbell, J., y Al-Adhami, B. (2010). A novel *Ehrlichia* genotype detected in naturally infected cattle in North America. *Veterinary Parasitology*.

Han, B. A. y Yang, L. (2016) Predicting Novel Tick Vectors of Zoonotic Disease.

Harris EK, Jirakanwisal K, Verhoeve VI, Fongsaran C, Suwanbongkot C, Welch MD, Macaluso KR. (2018). Role of Sca2 and RickA in the dissemination of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma maculatum*. *Infect Immun*.

Herrick, K., Peña, S. A., Yaglom, H., Layton, B. J., Moors, A. J., Loftis, A. D., Condit, M. E., Singleton, J., Kato, C. Y., Denison, A. M., Ng, D., Mertins, J. W., y Paddock, C. D. (2016). *Rickettsia Parkeri* Rickettsiosis, Arizona, USA. *Emerging Infectious Diseases*.

Hossain, S. I., De Goër de Herve, J., Hassan, M. S., Martineau, D., Petrosyan, E., Corbin, V., Beytout, J., Lebert, I., Durand, J., Carravieri, I., Brun-Jacob, A., Frey-Klett, P., Baux, E., Cazorla, C., Eldin, C., Hansmann, Y., Patrat-Delon, S., Prazuck, T., Raffetin, A., . . . Nguifo, E. M. (2022). Exploring convolutional neural networks with transfer learning for diagnosing Lyme disease from skin lesion images. *Computer Methods And Programs In Biomedicine*, 215.

Iweriebor, B.C., Mmbaga, E.J., Adegborioye, A. (2017) Genetic profiling for *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ticks collected in the Eastern Cape Province of South Africa. *BMC Microbiol*.

Kirby, T. G. y Blackwood, J. C. (2021) Potential of the Sterile Insect Technique for Control of Deer Ticks, *Ixodes scapularis*.

Kolokoltsov, V. N. (2022). On the control over the distribution of ticks based on the extensions of the KISS model, *Mathematics*, 11(2), 478.

Koutsovoulos, G., Makepeace, B., Tanya V. N. y Blaxter, M. (2014) Palaeosymbiosis revealed by genomic fossils of *Wolbachia* in a strongyloidean nematode, *PLoS Genetics*, 10(6), e1004397.

Lado, P., Nava, S., Mendoza-Uribe, L., Caceres, A.G., Delgado-de la Mora, J., Licona-Enriquez, J.D., Delgado-de la Mora, D., Labruna, M.B., Durden, L.A., Allerdice, M.E.J., Paddock, C.D., Szabó, M.P.J., Venzal, J.M., Guglielmone, A.A. y Beati, L. (2018) The *Amblyomma maculatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) group of ticks: phenotypic plasticity or incipient speciation? *Parasites y Vectors*.

Li, J., Liu, X., Mu, J., Yu, X., Fei, Y., Chang, J., Bi, Y., Zhou, Y., Ding, Z., y Yin, R. (2019). Emergence of a novel *Ehrlichia minasensis* strain, harboring the major immunogenic glycoprotein TRP36 with unique tandem repeat and C-Terminal region sequences, in *Haemaphysalis hystricis* Ticks removed from Free-Ranging sheep in Hainan Province, China. *Microorganisms*.

Liu, X., Mubayi, A., Reinhold, D. y Zhu, L. (2018). Approximation Methods for Analyzing Multiscale Stochastic Vector-borne Epidemic Models.

López-Pérez, A.M., Sánchez-Montes, S., Maya-Badillo, B.A., Orta-Pineda, G., Reveles-Félix, S., Becker, I., Bárcenas-Barreto, K., Torres-Monroy, A., Ojeda-Flores, R. y Sánchez-Betancourt, J.I. (2022). Molecular detection of *Rickettsia amblyommatis* and *Rickettsia parkeri* in ticks collected from wild pigs in Campeche, Mexico, Ticks and Tick-borne Diseases, Volume 13, Issue 1.

Marqués, R., Krüger, R. F., Peterson, A. T., De Melo, L. F., Vicenzi, N., y Jiménez-García, D. (2020). Climate change implications for the distribution of the babesiosis and anaplasmosis tick vector, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Research*.

Maseleno, A. y Hasan, Md. M. (2012). African Trypanosomiasis Detection using Dempster-Shafer Theory.

Miller, M. J., Esser, H. J., Loaiza, J. R., Herre, E. A., Aguilar C. y Qu, D. (2014) Molecular Ecological Insights into Neotropical Bird–Tick Interactions. *PLoS ONE* 11(5).

Monasterio, J., Salles, A., Lang, C., Weinberg, D., Minnoni, M. y Travizano, M. (2018) Uncovering the Spread of Chagas Disease in Argentina and Mexico," *arXiv preprint*.

Nava, S., Mangold, A.J., Simonato, G.E., Puntin, E. y Sproat, M.C. (2019). Guía para la identificación de las principales especies de garrapatas que parasitan a los bovinos en la provincia de Entre Ríos, Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ediciones INTA, Libro digital, PDF.

Petney, T.N., Robbins, R.G., Guglielmone, A.A., Apanaskevich, D.A., Estrada-Peña, A., Horak, I.G., (2011) A Look at the World of Ticks. *Progress in Parasitology*.

Saito, T. B., y Walker, D. H. (2016). Ehrlichioses: an important one health opportunity. *Veterinary Sciences*.

Sánchez-Montes, S., Ballados-González, G. G., Hernández-Velasco, A., Zazueta-Islas, H. M., Solís-Cortés, M., Miranda-Ortíz, H., Canseco-Méndez, J. C., Fernández-Figueroa, E. A., Colunga-Salas, P., López-Pérez, A. M., La Mora, J. D., Licona-Enríquez, J. D., La Mora, D. D., Karpathy, S. E., Paddock, C. D., y Rangel-Escareño, C. (2019). Molecular confirmation of *Rickettsia Parkeri* in *Amblyomma Ovale* Ticks, Veracruz, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*.

Sánchez-Montes, S., Colunga-Salas, P., Lozano-Sardaneta, Y. N., Zazueta-Islas, H. M., Ballados-González, G. G., Salceda-Sánchez, B., Huerta, H., Torres-Castro, M., Panti-May, J. A., Peniche-Lara, G., Muñoz-García, C. I., Rendón-Franco, E., Ojeda-Chí, M. M., Rodríguez-Vivas, R. I., Zavala-Castro, J., Dzul-Rosado, K., Lugo-Caballero, C., Alcántara-Rodríguez, V. E., La Mora, J. D., . . . Becker, I. (2021). The Genus *Rickettsia* in Mexico: Current knowledge and Perspectives. *Ticks and Tick-borne Diseases*.

Sánchez-Montes, S., López-Pérez, A. M., Guzmán-Cornejo, C., Colunga-Salas, P., Becker, I., Delgado-de la Mora, J., Licona-Enríquez, J. D., Delgado-de la Mora, D., Karpathy, S. E., Paddock, C. D., y Suzán, G. (2018). *Rickettsia parkeri* in *Dermacentor parumapertus* Ticks, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*.

Self, S. W., McMahan, C., Brown, D. A., Lund, R., Gettings J. y Michael, M. (2018) A Large Scale Spatio-temporal Binomial Regression Model for Estimating Seroprevalence Trends.

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2023. Situación actual Campaña Nacional para el control de la garrapata *Boophilus* spp. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-delcontrol-de-la-garrapata-boophilus-spp>

Tatarinova, T. V., Lysnyansky, I., Nikolsky Y. V. y Bolshoy, A. (2015) The mysterious orphans of Mycoplasmataceae.

Wall, R. y Shearer, D. (2008). Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control, Second edition.

XI. ANEXO

ANEXO 1: Protocolo de extracción de DNA con CHELEX en garrapatas.

El método CHELEX al 10% se fundamenta en el uso de una resina de intercambio iónico, Chelex-100, que actúa principalmente mediante la captura de iones metálicos divalentes, como el magnesio (Mg^{2+}) y el calcio (Ca^{2+}), presentes en la muestra. Estos iones son cofactores esenciales para la actividad de nucleasas, enzimas que pueden degradar el ADN durante el proceso de extracción. Al secuestrar estos iones, la resina Chelex-100 inhibe la actividad de las nucleasas, protegiendo así la integridad del ADN extraído.

1. Materiales:

- Guantes
- Cubrebocas
- Bata
- Marcado permanente
- Pinzas de disección
- Bisturí
- Caja de petri de cristal
- Agujas
- 3 Tubos para centrifuga de fondo cónico de 50 ml.
- Tubos ependorf de 1.5 ml
- Pipeta de 1000 μ l
- Puntas para pipeta
- Cloro al 10%
- Alcohol 75%
- Agua destilada
- Chelex
- Termoblock
- 2 Gradillas

2. Uno de los tubos cónicos se llena con cloro y el otro con alcohol y se colocan en una gradilla, deben ser rotulados, las pinzas, el bisturí y la aguja, primero se desinfectarán en el tubo con cloro y después se sacarán y colocarán en el tubo con alcohol para eliminar el cloro y no se dañe la muestra.
3. La garrapata debe ser colocada en una caja de petri desinfectada, en el caso de que la garrapata sea grande, con un bisturí se realiza un corte diagonal en el idiosoma, entre el ano y el espiráculo, en caso de que la garrapata sea pequeña, con una aguja se hace una punción arriba del inicio de las placas adanales, como se muestra en las siguientes imágenes:



4. Una vez realizado el corte, la garrapata se colocará en un tubo ependorf esterilizado, el cual se rotulará con la información de la garrapata.
5. Las pinzas y bisturí se colocarán nuevamente en el tubo con cloro y después en el tubo con alcohol, la caja de petri también debe ser desinfectada con ambos agentes en el orden ya mencionado, esto debe hacerse antes de colocar cada garrapata.
6. Una vez terminado con todas las garrapatas se debe agregar la solución de CHELEX al 10%, se agregará 500 μ l, es importante mezclar la solución cada que se toma nuevamente con la pipeta, ya que esta tiende a separarse.
7. Debemos asegurarnos que las garrapatas estén en la solución, después de cerrar los tubos ependorf se deben pasar por el vortex por 5 a 10 segundos.
8. Las muestras deben ser colocadas en el termoblock el cual debe estar a 56° C, se dejan incubando por 48hrs.

9. Después de esto estará terminado el proceso de extracción de DNA y podremos continuar con la preparación para la PCR.