



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Asociación de Tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) y Cacomixtles (*Bassariscus astutus*) con la presencia de enfermedades transmitidas por garrapatas provenientes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

P R E S E N T A

AURORA YOALI CABELLO HERNÁNDEZ

D I R E C T O R A

DRA. CAROLINA GUADALUPE SOSA GUTIÉRREZ

C O D I R E C T O R A

DRA. DEYANIRA OJEDA RAMIREZ

TULANCINGO DE BRAVO. FEBRERO, 2024.



Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar
Presente

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado a la C. **Aurora Yoali Cabello Hernández** con número de cuenta 396718, egresada del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ha terminado el trabajo de tesis titulado: **Asociación de Tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) y Cacomixtles (*Bassariscus astutus*) con la presencia de enfermedades transmitidas por garrapatas provenientes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México.**; y por lo tanto se autoriza la impresión del documento en extenso propuesto por el/la estudiante después de haber sido revisado, analizado y evaluado de acuerdo a lo estipulado en al artículo 40 del Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Lo anterior, en función de que, el/la estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha del 09 de febrero 2024.
 Por tal motivo, solicitamos a usted tenga a bien permitir a la estudiante dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del título de Medica Veterinaria y Zootecnista.

- PRESIDENTE: Dra. Carolina Guadalupe Sosa Gutiérrez
- SECRETARIA: Dra. Deyanira Ojeda Ramírez
- PRIMERA VOCAL: Dr. Fabián Ricardo Gómez de Anda
- SEGUNDA VOCAL: Dra. Nallely Rivero Pérez
- SINODAL SUPLENTE: M.C. Yadira Rocío Rodríguez Miguez

ATENTAMENTE
“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, 19 de febrero de 2024.

Dra. Maricela Ayala Martínez
 Coordinador del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. Vicente Vega Sánchez
 Jefe del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. Alfredo Madariaga Navarrete
 Secretario Académico del Instituto de Ciencias Agropecuarias

Dr. Armando Peláez Acero
 Director del Instituto de Ciencias Agropecuarias



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa
 Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600
 Teléfono: 771 71 72000 ext 2461
 carolina_sosa@uaeh.edu.mx

INDICE

Índice de tablas.....	6
Índice de figuras.....	7
Dedicatoria.....	9
Agradecimientos.....	10
Resumen.....	11
1.0. Introducción.....	12
1.1. Participación de animales silvestres en la transmisión de enfermedades zoonóticas.....	12
1.1.1. Evidencia de la interacción entre animales silvestres, patógenos y vectores en el Mundo.....	13
1.1.2. Antecedentes de la relación entre animales silvestres, patógenos y vectores en México.....	21
1.1.3. Relación entre los Tlacuaches, Cacomixtles, <i>Rickettsias spp.</i> , <i>Leptospiras spp.</i> , <i>Bartonella spp.</i> , <i>Borrelia spp.</i> y vectores.....	23
2.0. Marco teórico.....	25
2.1 Ectoparásitos.....	25
2.1.1. Garrapatas duras – Familia <i>Ixodidae</i>	25
2.2. Microorganismos transmitidos por ectoparásitos.....	27
2.3. El orden <i>Rickettsia</i>	31
2.3.1. Tipos de <i>Rickettsia</i>	32
2.3.2. Epidemiología de <i>Rickettsia</i>	34
2.3.3. Patogénesis de <i>Rickettsia</i>	35
2.3.4. Signos clínicos en humanos con <i>Rickettsia</i>	36
2.3.5. Signos clínicos de los animales con <i>Rickettsia</i>	37
2.4. Microorganismo – <i>Leptospira spp.</i>	38
2.4.1. Clasificación de <i>Leptospira</i>	38
2.4.2. Epidemiología de <i>Leptospira spp.</i>	39
2.4.3. Patogénesis de <i>Leptospira spp.</i>	41
2.4.4. Signos clínicos en humanos con <i>Leptospira spp.</i>	42
2.4.5. Signos clínicos en animales con <i>Leptospira spp.</i>	43
2.4.6. Prevención y control de <i>Leptospira spp.</i>	44
2.5. Microorganismo – <i>Bartonella spp.</i>	45
2.5.1. Epidemiología de <i>Bartonella spp.</i>	47



2.5.2. Patogénesis de <i>Bartonella spp.</i>	48
2.5.3. Signos clínicos en humanos de <i>Bartonella spp.</i>	49
2.5.4. Signos clínicos en animales con <i>Bartonella spp.</i>	50
2.5.5. Prevención y Control en <i>Bartonella spp.</i>	50
2.6. Microorganismo – <i>Borrelia spp.</i>	51
2.6.1. Epidemiología de <i>Borrelia spp.</i>	52
2.6.2. Patogénesis de <i>Borrelia spp.</i>	52
2.6.3. Signos humanos con <i>Borrelia spp.</i>	53
2.6.4. Signos animales con <i>Borrelia spp.</i>	54
2.6.5. Prevención y Control de <i>Borrelia spp.</i>	54
2.7. Técnicas implementadas en el diagnóstico de agentes patógenos.....	55
2.7.1. Extracción de ADN.....	55
2.7.1.1. Aspectos generales por considerar para la extracción del ADN.....	55
2.7.1.2. Protocolos tradicionales para la extracción de ADN.....	56
2.7.1.3. Etapas para el procesamiento general de las muestras.....	57
2.7.1.4. Factores que pueden afectar la extracción.....	57
2.7.2. Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	58
2.7.2.1 Procedimiento general y componentes de una PCR.....	59
2.7.3 La electroforesis como apoyo de la PCR.....	59
2.8. Diagnóstico de <i>Rickettsia spp.</i>	61
2.8.1. Pruebas de laboratorio para <i>Rickettsia spp.</i>	62
2.9. Diagnóstico de <i>Leptospira spp.</i>	62
2.9.1. Pruebas de laboratorio para <i>Leptospira spp.</i>	63
2.10. Diagnóstico de <i>Bartonella spp.</i>	63
2.10.1. Pruebas de laboratorio para <i>Bartonella spp.</i>	64
2.11. Diagnóstico de <i>Borrelia spp.</i>	64
2.11.1. Pruebas de laboratorio de <i>Borrelia spp.</i>	64
2.12. El principal marsupial de México.....	65
3.0. Justificación.....	73
4.0. Hipótesis.....	74
5.0 Planteamiento del problema.....	75
6.0. Pregunta de investigación.....	76
7.0. Objetivo general.....	77



9.0. Metodología	79
9.1.1. Toma de muestras sanguíneas	79
9.1.2. Recolección de muestras sanguíneas en Tlacuaches silvestres	80
9.1.2.1. <i>Procedimiento</i>	80
9.1.3. Recolección de muestras sanguíneas en Cacomixtles silvestres	84
9.1.3.1. <i>Procedimiento</i>	84
9.1.4. Protocolo implementado para la extracción de ADN	87
9.1.4.1. <i>Materiales y Equipos</i>	87
9.1.4.2. <i>Método</i>	87
9.1.5. Protocolo implementado para la realización de PCR	91
9.1.5.1. <i>Materiales y Equipos</i>	91
9.1.5.2. <i>Método</i>	91
9.1.6. Protocolos para electroforesis	92
9.1.6.1. <i>Materiales y Equipos</i>	93
9.1.6.2. <i>Método</i>	93
10.0 Resultados	95
12.0 Conclusión	106
13.0 Referencias	107



Índice de tablas

Tabla 1 Tabla con ejemplos de agentes patógenos transmitidos por ectoparásitos _____	28
Tabla 2 Especies de garrapatas reportadas en especies <i>Didelphis</i> y los agentes infecciosos a los que son asociados _____	30
Tabla 3 Clasificación de los grupos del género <i>Rickettsia</i> _____	33
Tabla 4 Clasificación de especies del género <i>Leptospira</i> _____	39
Tabla 5 Clasificación de especies y subespecies de <i>Bartonella</i> _____	46
Tabla 6 Clasificación de las especies de <i>Borrelia</i> _____	51
Tabla 7 Base de datos de cacomixtle (CC) provenientes de URRRS _____	95
Tabla 8 Base de datos de tlacuaches (TC) provenientes de URRRS _____	96
Tabla 9 Número y lugar de origen de cada uno de los animales _____	97



Índice de figuras

Figura 1 Partes morfológicas y características generales de las garrapatas adulta de la familia Ixodidae.....	26
Figura 2 Representación morfológica de una garrapata adulta de la familia Argasidae	27
Figura 3 Ejemplar adulto del género <i>Didelphis marsupialis</i> mejor conocido como tlacuache o zarigüeya recién ingresado a la URRRS	65
Figura 4 Mapa de la distribución y avistamientos del género <i>Didelphis marsupialis</i> en México	66
Figura 5 Mapa de avistamientos del género <i>Didelphis marsupialis</i> en el estado de Hidalgo	67
Figura 6 Mapa de la distribución y avistamientos de la especie <i>Bassariscus astutus</i> en México....	70
Figura 7 Mapa de los avistamientos de la especie <i>Bassariscus astutus</i> en el estado de Hidalgo...	70
Figura 8 Ejemplar adulto de la especie <i>Bassariscus astutus</i> adulto recibido en la URRRS.....	71
Figura 9 Manejo de 2 ejemplares juveniles de <i>Bassariscus astutus</i> dentro de un biosimulador de la URRRS.....	72
Figura 10 Pesaje de un tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) adulto en una transportadora de plastico transparente para una mejor visualización del ejemplar	80
Figura 11 Contención física de un tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) adulto, se debe utilizar la mano dominante para sostener la cabeza y con la otra tomar los miembros posteriores.	81
Figura 12 Toma de muestra sanguínea de la vena coccígea de un tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) juvenil, el soporte en la cola es importante para evitar movimientos que puedan afectar la punción o al propio ejemplar.....	81
Figura 13 Contención física en un ejemplar de tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) adulto, posicionándolo en decúbito dorsal para la recolección de muestra sanguínea por vena coccígea, en la URRRS.	82
Figura 14 Contención física de un tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) juvenil, posicionándolo en decúbito ventral para punción de vena coccígea.	82
Figura 15 Identificación de muestra de tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) juvenil en la URRRS.....	83
Figura 16 Identificación de muestra de tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) juvenil con foto del ejemplar para un mejor control de datos.....	83
Figura 17 Pesaje de un cacomixtle (<i>Bassariscus astutus</i>) juvenil en transportadora de plastico transparente	84
Figura 18 Manejo mediante contención física en un ejemplar de <i>Bassariscus astutus</i> juvenil para toma de muestra sanguínea mediante la vena safena.....	85
Figura 19 Demostración de una contención física adecuada de un ejemplar de <i>Bassariscus astutus</i> para realizar toma de muestra o exploración física, la mano dominante debe sostener la cabeza, mientras que la otra debe sostener los miembros posteriores.	85
Figura 20 Contención física en ejemplar de <i>Bassariscus astutus</i> adulto que puede ser utilizada para la evaluación clínica y toma de muestra sanguínea.....	85
Figura 21 Toma de muestra sanguínea en un ejemplar de <i>Bassariscus astutus</i> juvenil mediante la vena cefálica.....	86
Figura 22 Demostración de contención física de un ejemplar de <i>Bassariscus astutus</i> juvenil con buen estado de salud y evaluación de estructuras de la parte craneal	86
Figura 23 Identificación de muestras para la extracción sanguínea, al igual que la separación de capa leucocitaria para el proceso de extracción usando el kit Omega BIO-TEK.....	87
Figura 24 Administración de reactivos del kit a cada una de las muestras para el proceso de extracción de ADN.....	88
Figura 25 Destrucción de coágulo mediante un pistilo, permitiendo incrementar el volumen de la muestra y mejorar la cantidad de ADN en la extracción.....	88
Figura 26 Utilización del vortex para la homogenizar de la muestra con los reactivos del kit.	89
Figura 27 Medición y análisis del ADN previamente filtrado.....	90



Figura 28 El NanoDrop permite obtener la cantidad y calidad de ADN de cada una de las muestras	90
Figura 29 Elaboración de mezcla maestra para cada una de las muestras.....	91
Figura 30 Muestras colocadas en termociclador	92
Figura 31 Termociclador con las condiciones específicas para cada una de las bacterias.....	92
Figura 32 Muestras con folio previamente amplificadas en un termociclador.....	92
Figura 33 Muestras previamente amplificadas colocadas en gel agarosa	94
Figura 34 Gel con muestras cargadas y colocado en cámara de electroforesis	94
Figura 35 Mapa representativo del Estado de Hidalgo.....	98
Figura 36 Productos de la electroforesis en gel agarosa para la amplificación del gen 16S rARNr de <i>Leptospira</i> spp.....	99
Figura 37 Productos de la electroforesis en gel agarosa para la amplificación del gen 16S rRNA (pb) de <i>Borrelia burgdorferi</i>	99
Figura 38 Grafica de la presencia de bacterias de los géneros <i>Borrelia</i> spp., <i>Leptospira</i> spp., <i>Rickettsia</i> spp. y <i>Bartonella</i> spp. identificadas en las muestras de tlacuache (<i>Didelphis marsupialis</i>) y cacomixtle (<i>Bassariscus astutus</i>) analizadas.....	100

Dedicatoria

A mi mascota Estrella le dedico este trabajo con un profundo agradecimiento por haber sido mi amiga más leal, mi mayor confidente y por ser una fuente inagotable de amor a lo largo de toda su vida, fue en gran parte mi mayor motivo por el cual entre a la carrera, pero lamentablemente no logro estar presente para verme finalizar este sueño. Su partida dejo un vacío que será imposible de llenar, pero también dejó un gran legado que seguirá vivo por siempre en mi corazón y en las acciones que realice para mi futuro.

A mi mascota Vayron le agradezco su cariño tan peculiar, por haber compartido cada momento junto a mí estando presente durante tantas noches de desvelo y por haberme cuidado hasta sus últimos días, fue un caballero autentico siendo valiente y leal con todos a los que conoció, una luz que brillo con fuerza en los momentos más oscuros, su memoria será siempre mi razón para realizar mejor las cosas durante toda mi vida.

A mi querida madre Lorena Beatriz Hernández Samperio por ser mi más grande inspiración, por haberme dado la oportunidad de tener una carrera dándome los recursos necesarios para poder salir adelante, siendo mi guía y fortaleza en mis momentos de mayor debilidad, confiando siempre en que lograría cumplir este sueño. Este logro es una pequeña muestra de mi gratitud eterna que siento hacia ti, con todo mi cariño y admiración.

Agradecimientos

Primeramente, a la Dra. Carolina Guadalupe Sosa Gutiérrez por haber aceptado mi proyecto, dándome todo su apoyo en cada paso de este proceso, le agradezco la confianza que puso en mí al haberme compartido de sus conocimientos, gracias por siempre motivarme a realizar más logros en mi carrera y ser para mí una gran inspiración.

Agradezco al Dr. Marco Antonio Garduño por haberme apoyado durante mi carrera y por compartir sus conocimientos en clínica y gracias por motivarme a continuar con mis sueños.

Agradezco a mi hermana Ana Itzel Barreda Hernández por todo su apoyo durante mi carrera, dándome aliento para continuar con mis metas, brindándome tiempo para escuchar sobre mis conflictos y ayudarme a buscar siempre una solución.

Agradezco a mi pareja Julio por su apoyo incondicional que ha sido algo invaluable en mi vida, gracias por haber estado conmigo desde el primer día de universidad, estando a mi lado, creyendo siempre en mí incluso cuando yo dudaba, muchas gracias por estar presente en mis mejores y peores momentos.

Finalmente le doy las gracias al director general y al encargado de área médica de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre, Endémica Y Exótica por el apoyo en mi investigación, así como los conocimientos obtenidos y los buenos momentos que pase durante mi estadía.



Resumen

Las especies de vida silvestres como los tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) y los cacomixtles (*Bassariscus astutus*) están asociadas a las enfermedades zoonóticas debido a la fragmentación de su hábitat, así como el incremento en las poblaciones humanas, generando un aumento tanto en la movilización como en la urbanización de estos animales, teniendo como resultado una interacción forzada entre las diversas especies y los patógenos. En este estudio se contó con un total de 89 muestras: 58 sueros de tlacuaches silvestres proporcionadas por el Laboratorio Clínico BioGeneTicks y 31 sueros procedentes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México (URRRS) de estas 24 fueron de tlacuaches silvestres y 7 de cacomixtles silvestres. De los resultados obtenido se obtuvo evidencia de la presencia de: *Rickettsia* spp. 17/89 (19.1%) muestras positivas; *Leptospira interrogans* 8/89 (9%) muestras positivas, *Borrelia burgdorferi* 11/89 (13.5%) muestras positivas, y *Bartonella* spp., 12/89 (12.4%) muestras positivas en tlacuaches (*D. marsupialis*), destacando las muestras de tejido cardiaco, mientras que en los cacomixtles (*B. astutus*) se obtuvieron 3/89 (3.4 %) muestras positivas para *Rickettsia* spp.; mediante biología molecular a distintos genes. Por lo anterior se pudo concluir que la fauna silvestre tiene un papel muy importante en el rol de enfermedades zoonóticas para la salud pública, la interacción entre los animales poco comunes en los ciclos, generando así un interés para seguir estudiando a estos animales poco reconocidos, al igual se debe conocer la interacción que tienen estas especies y como pueden afectar a la fauna silvestre la presencia de estas bacterias.

Palabras clave: Garrapatas, Zoonosis, Fauna silvestre, Cacomixtles, Tlacuaches

1.0. Introducción

Existe una gran variedad de enfermedades de entre estas aproximadamente el 60% son transmitidas por animales hacia el hombre, denominadas como enfermedades zoonóticas de las cuáles la mayoría (entre el 70 – 75%) suelen ser originadas en especies de vida silvestre. Su aumento en la actualidad se generó tras la reaparición de enfermedades que ya existían anteriormente, pero en áreas geográficas diferentes y han evolucionado para poder infectar a nuevos hospederos causando sintomatologías más graves. Esta aparición se ha relacionado con la variedad de cambios hechos en los ecosistemas, modificaciones en el hábitat, el crecimiento de la población, aumento de vuelos internacionales por cuestiones comerciales y en general cambios facilitados por la globalización (Rojero, 2017).

Como ejemplo de la gran amplitud de enfermedades que pueden transmitirse, tenemos a todas aquellas que son generadas por vectores como las garrapatas que favorecen la transmisión de bacterias como las rickettsias, las cuales se encuentran a lo largo de todo el mundo e inclusive de forma endémica como es el caso de la enfermedad de Chagas y la Leishmaniasis cutánea en la península de Yucatán (Flores, Guido, 2012).

Por consiguiente, este estudio tiene como objetivo la búsqueda de agentes patógenos transmitidos por vector en fauna silvestre poco estudiada como los tlacuaches (*Didelphis spp.*), y cacomixtles (*Bassariscus astutus*), con el fin de entender el rol que juegan estos en el mantenimiento de los patógenos dentro del ambiente del estado de Hidalgo.

1.1. Participación de animales silvestres en la transmisión de enfermedades zoonóticas

Las enfermedades zoonóticas generalmente son asociadas a la alteración de los ecosistemas, modificaciones ambientales que resultan en la evolución de los patógenos por medio de los hospederos más cercanos a su alrededor, es así como las enfermedades suelen presentarse en los animales de vida silvestre dando como resultado que un aproximado del 70% son responsables de alguna enfermedad zoonótica que afecte a los humanos (Ruiz, 2012).

El riesgo e incluso el impacto que pueden llegar a tener las enfermedades presentes de poblaciones silvestres radica en que muchas de las patologías son desconocidas tanto en los propios animales como en la manera en la que podría afectar al ser humano, la



posibilidad de contaminación incrementa con las distintas interacciones que se tienen con ellos, considerando desde el tráfico ilegal de especies , el consumo de carnes exóticas, las cacerías furtivas, el incremento en la producción de animales domésticos y la gran destrucción de hábitat para la formación de cultivos (Santiago, 2009).

La mayoría de los animales pertenecientes a la mastofauna son asociadas a las infecciones zoonóticas debido a su carácter sinantrópico debido a su presencia en espacios peridomésticos como son los tlacuaches, zorros, mapaches, tejones. Las poblaciones de bajos recursos suelen tener mayor relación con este grupo de animales, ya que favorecen la transmisión del virus del oeste del Nilo, rickettsias, hantavirus y borreliosis incrementando interacción entre huéspedes – patógenos se modifique debido a cambios tanto naturales como aquellos generados por la actividad humana (Ruiz et al, 2011).

1.1.1. Evidencia de la interacción entre animales silvestres, patógenos y vectores en el Mundo

Tanto los antecedentes como la signología de enfermedades zoonóticas en animales de vida silvestre son probablemente muy mínimas en comparación a las de especies domésticas, debido a que los estudios suelen realizarse con ejemplares muertos (resultado del estrés que se genera por el manejo y confinamiento) en caso de ser positivos a algún patógeno, se desconoce por completo los signos que este podría presentar, la patología y la posible forma de trasmisión (Rodríguez., 2015).

Se debe considerar que tanto el riesgo como el impacto de las enfermedades procedentes de poblaciones de animales silvestres son desconocidas, ya que las alteraciones epidemiológicas que se llegan a generar dependen en mayor medida de las especies y su relación con los animales domésticos, así como los humanos; ejemplo de ello es lo ocurrido en algunas zonas de Brasil donde la coexistencia entre caballos, ganado, tapires (*Tapirus terrestres*) y capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) causó una amplificación de las enfermedades generadas por rickettsias, evidenciando que los capibaras en particular son infectados por todos los estadios de garrapatas del complejo *Amblyomma cajennense*, considerándolos así como vectores de diversos microorganismos, causando el contagio de animales domésticos y humanos por igual (Quintana, 2018).

Por su parte un estudio en Colombia permitió conocer la prevalencia que existe entre las enfermedades causadas por rickettsias (*Ehrlichia spp.*, *Rickettsia spp.* y *Anaplasma spp.*),

los vectores que participan en su distribución y los ejemplares tanto de vida silvestres como aquellos presentes en centros de conservación. Para ello se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés PCR) para poder identificar a los microorganismos, utilizando como muestra a garrapatas adultas, así como el suero de mamíferos y reptiles. Los resultados obtenidos permitieron establecer que existe una mayor prevalencia de estas bacterias en los vectores encontrados en las diferentes especies que en los propios ejemplares, siendo todas las especies estudiadas negativas a la presencia de *Ehrlichia spp.* demostrando así que los microorganismos se encuentran circulantes entre garrapatas principalmente en los animales que se encuentran en centros de conservación y en menor medida en aquellos de vida libre. Por ello que la vigilancia epidemiológica de estos agentes, al igual que sus vectores es la clave de una respuesta oportuna y eficiente para prevenir futuras epidemias generadas por estos patógenos (Monsalve, 2014).

Un gran número de garrapatas duras, así como especies blandas se pueden encontrar en aves silvestres como lo demostró un estudio en Argentina que permitió establecer la interacción que tienen debido a su importancia ecológica, ya que las aves sostienen total o parcialmente el ciclo de vida de estos vectores, actuando como reservorios de patógenos transmitidos por garrapatas, facilitando la dispersión geográfica de los vectores. Los resultados obtenidos revelan la existencia de garrapatas mayormente inmaduras (larvas y ninfas) de especies *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Ornithodoros*, confirmando que las aves silvestres son hospederos relevantes para las etapas inmaduras de algunas especies de garrapatas, teniendo así un papel en el transporte de aquellas que se encuentran infectadas con patógenos que afecten tanto animales como humanos (Flore et al., 2023).

Dentro de las regiones del noreste y sureste de Estados Unidos se estableció la interacción que existe entre los ectoparásitos y especies silvestres como son los mapaches, las zarigüeyas y los venados cola blanca; Los resultados sugieren que mamíferos de tamaño mediano a grande alimentan una amplia variedad de garrapatas en el medio ambiente pero esto no es un determinante clave para que especies como *Haemaphysalis longicornis* adquiera patógenos de estos hospederos silvestres, estableciendo así que la interacción entre estas especies no garantiza la aparición de agentes infecciosos y mucho menos su transmisión (Tufts, 2021).



En el estado de Illinois en Estados Unidos se realizó un estudio para demostrar la relación entre garrapatas y tlacuaches, la finalidad era conocer si los vectores eran parte de la dieta de los marsupiales y de ese modo formar parte de las especies que permiten el control de plagas, ya que la literatura menciona un consumo promedio de hasta el 96.5% de estos vectores, consumiendo 5500 larvas por semana, analizando exhaustivamente los estómagos de los marsupiales. De acuerdo con sus resultados, esta especie no es consumidora de garrapatas, por lo que no deberían ser un método efectivo para el control biológico de enfermedades transmitidas por garrapatas, ya que las personas comenzaban a colocarlas en zonas específicas para contrarrestar la presencia de estos vectores (Hennessy y Hild, 2021).

En Texas se llevó a cabo un estudio con la participación de the Galveston Police Department Animal Services Unit el cual permitió asociar a las zarigüeyas con pulgas de gato. Para ello se recolectaron muestras tanto de los marsupiales como de los ectoparásitos que presentaban cada uno, los análisis fueron negativos en la amplificación del ADN rickettsial, sin embargo, en los sueros se estableció la presencia de anticuerpos contra 3 agentes *Rickettsia typhi*, *R. felis* y *R. rickettsii*. Los autores mencionan que lo anterior podría deberse al análisis de PCR realizado en el estudio, la ausencia de este patógeno en los estudios establecería la falta de conocimiento que se tiene sobre la cinética de los patógenos tanto en los vectores como en los posibles reservorios de la zona (Blanton, 2016).

Recientemente, se realizó otro estudio en Estados Unidos para conocer la presencia de las bacterias *Rickettsia* y *Borrelia* en garrapatas *Alectorobius kelleyi* de la familia *Argasidae* presentes en murciélagos marrones peridomésticos, con el fin de conocer la ocurrencia de los vectores en los distintos estados del noreste del país. Los resultados confirmaron la presencia de garrapatas *A. kelleyi* la mayoría en estadio de larvas, del mismo modo se encontró la presencia de rickettsias de las especies *R. bellii* endosimbionte de *Bemisia tabaci* y *R. peacockii*, la presencia de estas bacterias implica un riesgo para la salud tanto de los murciélagos como de los humanos. Lo que permite indicar que la exposición humana a los ectoparásitos que infestan la vida silvestre peridomésticos debe considerarse en la epidemiología de las enfermedades transmitidas por garrapatas (Occi et al., 2023).

Se realizó un estudio exploratorio en el área de manejo de vida silvestre de Sherburne en Luisiana el cual buscaba identificar a reservorios de *Leptospira spp.*, obteniendo muestra



de diferentes mamíferos. Los resultados demostraron que el 21.4% de las 98 muestras fueron positivas con una prevalencia mayor de exposición sobre la serovar bratislava en especies silvestres como las ardillas, zorros, ratas algodoneras hispídas y cerdos asilvestrados, indicando así que estas especies son relevantes para su transmisión, mientras que otras especies como los castores americanos, las nutrias y las zarigüeyas de virginia fueron negativos a todas las serovariedades ocupadas en el estudio. Sin embargo, los resultados podrían ser subestimados ya que no se realizó durante el pico estacional de la bacteria, por lo anterior se puede establecer que existe un riesgo potencial de la exposición a *Leptospira spp.* para la vida silvestre, los animales domésticos y los humanos (Anderson et al., 2022).

El varado de animales marinos a lo largo de la costa de Cerdeña en Italia permitió la recolección de muestras de diferentes especies de delfines, entre ellas, delfines listados (*Stenella coeruleoalba*), delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*), delfines grises (*Grampus griseus*), cachalotes (*Physeter macrocephalus*) y delfines comunes (*Delphinus delphis*). Se realizaron análisis histopatológicos en los que no se encontraron lesiones significativas debido al tiempo transcurrido tras el varamiento de los animales; los análisis inmunohistoquímicos que no fueron útiles para todas las muestras debido a la descomposición y cultivos a partir del tejido renal, lo que evidenció la presencia de *Proteus spp.* en uno de los ejemplares de la especie *T. truncatus*; mientras que el aislamiento e identificación de leptospira se obtuvo por medio de la tipificación de secuencias multilocus (MLST) en el mismo ejemplar, encontrando la cepa 53187 correspondiente a su vez a la secuencia tipo 140 que se asigna a *Leptospira interrogans* serogrupo pomona, grippotyphosa y pyrogenes, su presencia fue confirmada al realizar un análisis filogenético que estableció la presencia únicamente del serogrupo pomona. Las vías de transmisión a través de las cuales estos ejemplares adquieren leptospira son desconocidas; sin embargo, su presencia demuestra una posible fuente de propagación de una amplia variedad de patógenos, incluido aquellos agentes con potencial zoonótico, resaltando la necesidad de realizar o continuar con investigaciones que incluyan a los mamíferos marinos (Piredda et al., 2020).

Se llevó a cabo un estudio en el estado de Carolina del norte para analizar muestras de nutrias de río (*Lontra canadensis*) para establecer la presencia de *Leptospira interrogans*, *Parvovirus* y *Toxoplasma gondii* mediante PCR en tiempo real. Los resultados demostraron que de 220 muestras tan solo el 1% fue positivo a *L. interrogans*, 19% fue



positivo a parvovirus y el 24% fue positivo a *T. gondii*, si bien la presencia de parvovirus junto con *T. gondii* parece relativamente común que no llega a afectar negativamente a las poblaciones, la presencia de leptospiras es inusual y podría ir en aumento al incrementar la interacción entre las enfermedades transmitidas de humanos, animales domésticos a poblaciones silvestres, es por ello que las investigaciones posteriores deben examinar los parámetros presentes en los ecosistemas que están generando la transmisión entre especies domésticas y silvestres, así como los signos o efectos subletales de la infección (Sanders et al., 2020).

El incremento de la población humana, así como la invasión y modificación de los ecosistemas genera un incremento en el riesgo de interacciones entre las especies, como es el caso de los murciélagos de Fiji del Pacífico con los humanos, debido a esto se realizó un estudio para conocer los diversos patógenos (coronavirus, paramixovirus, histoplasma y leptospira) presentes en 176 muestras de murciélagos en vida libre. Se analizaron 78 muestras de orina y 98 muestras fecales mediante PCR utilizando como cebadores LCO1490 y HCO2198 diseñados para amplificar el gen de la subunidad I del citocromo C oxidasa (COI), siendo comprobados mediante electroforesis en gel. Todas las muestras fueron negativas para coronavirus, paramixovirus e histoplasmas; mientras que 78 muestras fueron positivas para *L. kirschneriy* y *L. interrogans*; sin embargo, es necesario realizar un aislamiento bacteriano con muestras frescas para identificar por completo las bacterias detectadas en el estudio, mantener la vigilancia con respecto a la interacción que se da entre los animales silvestres, domésticos y los humanos, teniendo en cuenta que las diversas especies de murciélagos pueden estar actuando como fuente de infección en los casos humanos positivos a *Leptospiras spp.* (McCutchan et al., 2023).

En California se realizó un estudio para estimar la prevalencia de *Leptospiras spp.* en cadáveres de las especies de lince rojos (*Lynx rufus*) y pumas (*Puma concolor*). Se analizaron un total de 136 muestras de pumas y 39 muestras de lince, durante la evaluación histológica e inmunohistoquímica se determinó la presencia de nefritis intersticial, esa lesión se generó en un 95% en pumas y en un 36% en lince. Además, se implementó la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detectar serogrupos de *Leptospira* como pomona, serjroe, canicola, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa y australis. Los resultados demostraron que el 28% de las muestras de lince y 50% de las muestras de puma fueron positivas en la prueba MAT, mientras que en la prueba de PCR 46% de las muestras de puma y sólo el 9% de las muestras de lince fueron positivas,



destacando el serogrupo pomona de *L. interrogans* en ambas especies de felinos y en menor cantidad el serogrupo icterohaemorrhagiae (Straub et al., 2021).

Los hábitos de caza y consumo de especies silvestres se convierten en el método más cercano para contraer diversas enfermedades, por lo anterior se realizó un estudio en el municipio de Mossoró en Brasil para determinar la presencia de anticuerpos de *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp.* y *Leptospira spp.* en armadillos de 6 bandas (*Euphractus sexcinctus*) en vida libre. Se obtuvieron 33 muestras de sangre de ejemplares que se encontraban en libertad, los anticuerpos para el caso de *T. gondii* fueron detectados mediante la prueba de aglutinación modificada (MAT-toco), mientras que para *Leishmania spp.* se utilizó la prueba de aglutinación directa (DAT) y para *Leptospira spp.* se realizó la MAT. Los resultados obtenidos demostraron la presencia de anticuerpos en 2 ejemplares para *T. gondii*; 2 positivos para *Leptospira spp.* serogrupo canicola y andamana, mientras que para *Leishmania spp.* solo 3 animales fueron positivos. A pesar de los resultados ningún animal fue positivo a más de una prueba, por lo que se requieren mayores estudios para poder comprender los resultados y poder demostrar si los armadillos de 6 bandas representan un riesgo para la salud pública (De Oliveira et al., 2020).

Se llevo a cabo un estudio en Ontario, Canadá para analizar 460 muestras de riñones procedentes de diversas especies (nutrias, castores, venados cola blanca, zari güeyas, mofetas, ratones silvestres y coyotes), las cuales fueron analizadas mediante el método de inmunohistoquímica y PCR para la detección de *Leptospira spp.* con la finalidad de comparar y secuenciar aquellas leptospiras presentes en los animales domésticos y humanos. Obtuvieron 341 muestras positivas mediante la prueba de PCR que coincidieron con 104 muestras positivas que fueron analizadas con la prueba de inmunohistoquímica mayormente en las especies de zorrillos (42%) y mapaches (33%), seguido de castores (9%), zorros (8%) y zari güeyas (6%). El estudio estableció que la cercanía de los animales domésticos así como la de los humanos con ejemplares de vida silvestre no garantiza un incremento en la exposición de este agente patógeno, posiblemente por la implementación de programas de vacunación para los animales domésticos, ya que los animales silvestre no mantiene la enfermedad de forma independiente, sino que requieren la introducción de la enfermedad mediante los animales domésticos y las condiciones ambientales para que se mantengan las fuentes de infección (Shearer et al., 2014).



Un estudio similar para determinar la prevalencia de anticuerpos contra los serogrupos autumnalis, bratislava, canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae y pomona de *Leptospiras* en animales silvestres atrapados en granjas de Ontario en Canadá, confirma los reservorios silvestres que se presentan en esta región, ya que se obtuvieron muestras de mapaches, zorrillos, zarigüeyas y ratas las cuales fueron analizadas utilizando la prueba de MAT. Se obtuvo una prevalencia del 33% en las muestras de mapaches, resultado positivas para los serogrupos grippotyphosa, australis, icterohaemorrhagiae y pomona de *Leptospira*, por su parte las demás especies fueron negativas a todos los serogrupos evaluados, posiblemente por la baja cantidad de muestras, así como la amplia distribución que tienen los serogrupos presentes en la región, resaltando la importancia de generar estrategias apropiadas para el manejo de enfermedades en humanos y ganados (Allen et al., 2014).

En un estudio realizado en la provincia de Madre de Dios en Perú se identificó la presencia de *Bartonella spp.* en 16 especies distintas de murciélagos no hematófagos, destacando el primer reporte para las especies *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata*, *Phyllostomus elongatus* y *Platyrrhinus infuscus*. Las muestras fueron analizadas utilizando la prueba de PCR, se obtuvo una prevalencia de 9.68% de las 62 muestras obtenidas demostrando la importancia que tienen estas especies como reservorios de la bacteria, así como lo importante que es considerar los alcances que puede tener en la salud pública y comprender detalladamente que nos permita poder enfrentar de mejor forma nuevas cepas emergentes o reemergentes (Uchuya et al., 2022).

En un estudio realizado en Alaska por Carrasco y colaboradores (2014) para evidenciar la presencia de bacterias del género *Bartonella spp.* en nutrias, se analizaron 148 muestras (44 de sueros de especímenes capturados en la bahía de Kachemak y 48 obtenidas por necropsias de ejemplares varados) mediante ensayo de anticuerpos inmunofluorescentes indirectos (IFA) para la detección de anticuerpos primarios *B. henselae*, *B. clarridgeiae* y *B. washoensis*. Los resultados obtenidos demostraron que de las 48 muestras solo el 14% tuvo reacción a *B. washoensis* y el 25% fue reactiva *B. henselae* y *B. washoensis*, confirmando la participación de las nutrias como portadores sugiriendo que las coinfecciones con otras especies de *Bartonella spp.* o algún otros patógeno, permite el desarrollo de enfermedades debilitantes en estos animales, este estudio proporciona información necesaria para el monitoreo de *Bartonella spp.*, así como el manejo y conservación de las nutrias marinas (Carrasco et al., 2014).



En Noruega se recolectaron muestras de 68 alces, 41 ciervos rojos y 35 renos, así como los ectoparásitos presentes en ellos y 120 muestras de mosquitos; y se implementó una prueba de PCR para amplificar el gen *rpoB* de *B. bovis*, *B. capreoli*, *B. schoenbuchensis*, *B. chomelii*. Obteniéndose una amplificación del 75.4% en alces, 4.9% en ciervos rojos y todas las muestras de renos fueron negativas siendo el primer estudio sobre la prevalencia de *Bartonella spp.* en esa especie, posiblemente por el hábitat en el que suelen vivir donde existe una baja disminución de ectoparásitos. El estudio permite la comprensión de la epidemiología y los posibles vectores entre los cérvidos salvajes de esta región que se encuentran fuera del área de distribución de los ciervos, haciendo que los alces sean posibles reservorios de estos patógenos (Sacristan et al., 2020).

Se realizó un estudio en el parque nacional de Malasia obteniendo 30 muestras de sangre de la especie de murciélago *Pteropus hipomelanus*, para su análisis se utilizó la prueba de PCR dirigido a la región del ARNr 16S – 23S, los resultados obtenidos fueron 2 muestras positivas a *Bartonella spp.* las cuales presentaban similitudes de secuencia con *B. bovis*, *B. schoenbuchensis* y *B. chomelii*, debido a la movilidad que presentan los murciélagos se ha informado con frecuencia que son reservorios de una gran variedad de patógenos humanos, pero se requieren mayores investigaciones sobre la dinámica de transmisión, así como la competencia que existe entre los vectores (Hou et al., 2018).

Se realizó un estudio molecular para determinar *Bartonella spp.* y *Mycoplasma spp.* en 246 muestras de visón americanos (*Neovison vison*) que se encuentran como especie invasora en el sur de Chile, se analizaron mediante PCRq dirigida al gen *nuoG* para *Bartonella spp.* y una PCR convencional dirigida al gen 16S ARNr para *Mycoplasma spp.*, los resultados obtenidos fueron de un 8.9% 22 de 246 muestras dieron positivas, siendo identificadas con *B. clarridgeiae* y solo el 2% 5 de 246 muestras fueron positivas el primer con identidad de hemotrópico *Mycoplasma* y *Candidatus*, el *M. haematoparvum* que hasta el momento había sido identificada en roedores, perros, gatos domésticos siendo reporte en animales silvestres como el visón americano, por ello estudios futuros deberán evaluar la transmisión entre especies (Sepúlveda et al., 2020).

Se realizó una investigación para conocer el papel de los anfibios y reptiles en el ciclo de *Borrelia spp.* se analizaron trabajos de los cuales solo 25 especies de reptiles y solo 1 especie de anfibio han sido reportadas como hospederos de 7 especies de *Borrellia*, por su parte 11 especies de garrapatas asociadas a 18 especies de reptiles fueron positivas para las mismas especies de *Borrellia*, la mayoría de los reportes se encontró en Europa y



Estados Unidos donde el orden *Squamata* es el que tuvo mayor cantidad de especies referidas, seguido del orden *Testudines*. El estudio concluye que se debe asociar a la enfermedad de Lyme, la fiebre recurrente y las *Borrelia spp.* con especies de reptiles y anfibios a pesar de que los agentes patógenos encontradas en los reptiles, no implica una amenaza latente, pueden presentarse especies como *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. lusitanea*, *B. turcia*; sin embargo, son pocos los estudios a nivel mundial que relacionan a los reservorios herpetológicos con vectores (Colunga et al., 2018).

1.1.2. Antecedentes de la relación entre animales silvestres, patógenos y vectores en México

El proceso de urbanización en las áreas naturales genera de manera indirecta un incremento en la riqueza de ectoparásitos, que a su vez crea un impacto directo a las poblaciones de animales silvestres que buscan adaptarse a la presencia humana, debido a esto la Universidad Autónoma de Querétaro (CJUAQ) realizó un estudio para conocer la variedad de ectoparásitos que suelen ser asociados con los tlacuaches (*Didelphis virginiana*). En este estudio, se logró identificar especies de las familias *Pulicidae* (como *Ctenocephalides felis* y *Euhoplopyllus glacialis affinnis*) y *Rhoplopyllidae* (*Polygenis martinezbaezi* y *Polygenis spp.*); además se obtuvo la identificación de 2 especies nuevas de pulgas (*Euhoplopyllus glacialis affinnis* y *Polygenis martinezbaezi*) las cuales no se habían reportado en esta especie de marsupial o en las zonas donde fue realizado el estudio. Con ello se demuestra que el crecimiento demográfico genera a su vez un incremento en el resguardo de vectores y agentes patógenos (Hernández, 2014).

En el estado de Campeche en México se investigó la infección por *Rickettsia* en garrapatas recolectadas de jabalíes salvajes los cuales son utilizados como fuente de alimento o son capturados para mantenerse en cautiverio. En este estudio se colectaron 196 garrapatas directamente de los animales y se encontró la presencia del ADN de 2 especies de *Rickettsia* (*R. parkeri* y *R. amblyommatidis*) encontradas principalmente en las especies de garrapatas *Amblyomma maculatum* y *A. mixtum*. Este hallazgo indicativo de una posible problemática para la salud humana y animal ya que posiblemente los cerdos salvajes podrían estar sirviendo como huéspedes alternativos para las garrapatas (López et al., 2021).



Dentro de la reserva de la biosfera los Petenes en Campeche y la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel en la Ciudad de México se llevó a cabo un estudio que buscaba determinar la seroprevalencia de rabia y *Leptospira* a través de la interacción antropogénica entre perros de libre rango y tlacuaches, los resultados demostraron que ambas especies habían estado en contacto con diferentes serovariedades de ambos patógenos, lo que podría implicar un riesgo potencial de transmisión de enfermedades zoonóticas debido al contacto indirecto de las especies con las personas (Arenas , 2014).

Se realizó un estudio en la comunidad de Cenotillo al este de Yucatán, se recolectaron 92 roedores silvestres de 7 especies distintas (*Rattus rattus*, *Mus musculus*, *Heteromys gaumeri*, *Otodylomys phyllotis*, *Peromyscus yucatanicus*, *Peromyscus leucopus*, *Sigmodon hispidus*) a los que se les extrajo el ADN del tejido renal para determinar la presencia de *Leptospiras*. Las muestras fueron analizadas mediante PCR de punto final utilizando inicialmente el gen *16SrRNA* y corroborando con una segunda prueba en el que se utilizó el oligonucleótido 16S5. Las condiciones de la PCR fueron de 95°C por 5 min seguido de 34 ciclos a 95°C por 45s, 94°C durante 1 min y 72°C por 2 min, una extensión final de 72°C por 5 min. Se obtuvo una frecuencia positiva general de 5.4% siendo 5 muestras positivas del total, mientras que la frecuencia por especie fue del 4.5% para *H. gaumeri* y del 8% para *R. rattus* y *M. musculus*. La investigación confirma que los roedores silvestres funcionan como reservorios, así como constituir una fuente de mantenimiento, así como un foco de infección interespecífica lo que permite asegurar la circulación del patógeno entre las mismas especies de animales (Torres et al., 2018).

En el estado de Yucatán en México se capturaron 123 roedores localizados en domicilios y peridomicilios 94 de ellos pertenecían a la especie *M. musculus*, 29 eran de la especie *R. rattus* se obtuvieron muestras de tejido provenientes de vejiga y orejas, siendo analizados mediante PCR anidada utilizando como marcador genético la flagelina cromosómica de 41kDa obteniendo un total de 45 muestras positivas, siendo así el primer reporte de la presencia de *Borrelia burgdorferi* en roedores sinantrópicos, el estudio demostró un riesgo de transmisión de *Borrelia spp.* tanto para los humanos como para los animales domésticos debido al incremento en la fragmentación del ecosistema, confirmando que la fauna silvestre que incluía desde roedores, ocelotes hasta zopilotes eran infectados mediante el vector *Ixodes affinis*, sin descartar la posible transmisión que se generaba a especies cercanas a los poblados (Solís et al., 2016).



En él se analizaron 7 rebaños de ovinos provenientes de distintas zonas que involucraban los municipios de Tulancingo de Bravo y Progreso de Obregón en el Estado de Hidalgo y Tlaltizapán en el Estado de Morelos. Se obtuvieron un total de 117 muestras de sangre de ovinos y 9 de caprinos, la amplificación por PCR fue positiva para la presencia de ADN de la especie *Borrelia melophagi* en 20 muestras de ovinos, pero ninguna de las de caprinos, así mismo se obtuvo 46 muestras obtenidas de bovinos de la zona en el que se encontraban expuestas a mordeduras de murciélagos, de ellas solo 16 fueron positivas a *B. bovis*, además se colectaron 35 muestras por hisopado oral de murciélagos (*Desmodus rotundus*) las cuales fueron negativas a *Bartonella spp.* por PCR mediante los cebadores específicos para el citocromo B mitocondrial a pesar de que fueron positivas para otros métodos de diagnósticos como el cultivo. El estudio demostró que los ovinos sirven como portadores potenciales, sin embargo, la presencia de mordeduras generadas por murciélagos hematófagos no tenía mayor relación en el riesgo de exposición con agentes de *Bartonella spp.*, ya que la transmisión oral se limita, disminuyendo potencialmente la transmisión zoonótica (Raya et al., 2018).

En un estudio realizado en Yucatán, se identificó la presencia de diversas especies de *Bartonella spp.* en roedores silvestres, se tuvo un total de 38 especies de roedores de las cuales predominaron los ratones venado de Yucatán (*Peromyscus yucatanicus*). Para ello se realizaron pruebas de PCR con cebadores dirigidos al gen *gltUn* a partir de muestras de corazón y cultivos bacterianos los resultados confirmaron la presencia de *Bartonella spp.* en todos los roedores, siendo mayor la prevalencia (71%) en los ratones venado de Yucatán identificando la especie *B. vinsonii subespecie vinsonii* y una nueva especie propuesta con el nombre de *B. vinsonii subespecie Yucatanense* debido a que comparte más del 96% de homología de secuencia para el gen *gltUn*, Se obtuvo 22 muestras de sangre positivas a *Bartonella* con un aislado intermedio entre *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* y *B. vinsonii* subsp. *Arupensis*, siendo el primer reporte su presencia en el ratón venado de Yucatán (Fischedick et al., 2016).

1.1.3. Relación entre los Tlacuaches, Cacomixtles, *Rickettsias spp.*, *Leptospiras spp.*, *Bartonella spp.*, *Borrelia spp.* y vectores

Existe una gran variedad de estudios en los que se tiene la participación de marsupiales y pequeños mamíferos, la mayoría con la finalidad de establecer una relación entre la vida silvestre, vectores y las enfermedades con potencial zoonótico. Particularmente existe un mayor número de estudios que involucran al tlacuache como especie principal de la

investigación y en menor medida investigaciones que contemplan a los cacomixtles únicamente como dispersores de semillas o que son nombrados sin aportar más información a los estudios.

Estudios realizados en Brasil lograron establecer al tlacuache (*Didelphis aurita*) como potencial diseminador de rickettsias, teniendo como principal vector a la garrapata *A. cajennense*, estableciendo que la enfermedad puede transmitirse de entre 5 a 25 días post-exposición (Quintana, 2020).

En la península de Yucatán – México lograron determinar la relación entre tlacuaches, gatos y perros con relación al agente *Rickettsia felis* que es transmitido por la pulga del gato (*Ctenocephalides felis*) debido a la coexistencia tan cercana de las especies, en donde la especie silvestres puede servir como principales reservorios y transmitir el patógeno a las especies domésticas o siendo al revés. De igual forma se destacó la gran carga parasitaria que manejaban las especies de entre ellas destacaba la presencia de garrapatas del tipo ixodida con particularidad el género *Amblyomma* (Canto, 2020).

Por otra parte, la amplia distribución del orden Didelphimorphia ha permitido obtener el aislamiento de *Leptospira*, serovar grippotyphosa, ballum, brasiliensis, szwajak, autumnalis, tingomaria, georgia, icterohaemorrhagiae, huallaga y rupa rupa presentes sobre todo en la zarigüeya común, mientras que en las demás especies como es el caso de las zarigüeyas de orejas blancas se tienen cepas pertenecientes al serogrupo Pomona. A pesar de la presencia de *Leptospira*, en todas las especies de zarigüeyas investigadas, los títulos para la prueba de MAT fueron bajos. También se ha aislado *Leptospiras* de especies pertenecientes al orden *Cingulata*, *Cetacea*, *Afrosoricida*, *Quiroptera* y ejemplares de reptiles, primates e incluso anfibios, lo que demuestra que la leptospirosis tiene una amplia gama de reservorios que incluyen tanto especies domesticas como silvestres, por lo que podría ser de las enfermedades zoonóticas más prevalentes, reemergente y subestimada en el mundo (Cilia et al., 2021).

Finalmente, un estudio realizado en el Pantanal en Brasil buscaba caracterizar morfológica y fenotípicamente a *Bartonella spp.* provenientes de marsupiales de vida libre, realizando el estudio con un total de 8 muestras de sangre de 2 especies de marsupiales (*Thylamys macrurus* y *Monodelphis domestica*) en que todas las muestras fueron sometidas a PCR. 5 ejemplares fueron positivos para el gen *gapdh* endógeno de mamíferos, pero ninguna fue positiva al utilizar la PCRq basado en el gen *nuoG*; por otra



parte, las muestras positivas fueron analizadas mediante BLAST teniendo una alta identidad con *Borrellia machadae*. Este estudio demostró los pocos informes que existen de *Bartonella spp.* en marsupiales, destacando que los pocos se han realizado en Australia y Estados Unidos, así mismo estable un método para mejorar la detección de esta bacteria en marsupiales, al implementar los resultados de PCRq a partir de muestras de sangre en cultivo líquido de pre-enriquecimiento y aislamiento en agar chocolate demostró ser más eficaz (Amaral et al., 2022).

2.0. Marco teórico

2.1 Ectoparásitos

Las garrapatas son arácnidos de gran tamaño, muy longevas entre 1 a 3 años, que suelen alimentarse exclusivamente de sangre de forma periódica con largos intervalos entre cada ingesta, requieren apartarse de su hospedador cada vez que se alimentan y para poder concluir cada una de las etapas de su ciclo de vida. El hábitat ideal para que puedan generar o concluir un ciclo, requiere de la disponibilidad de hospederos para cada uno de sus estadios de desarrollo y debe tener una humedad lo suficientemente alta para permitir mantener su balance hídrico, en zonas donde la humedad es baja pueden llegar a resistir la desecación por cortos períodos de tiempo mientras consiguen un hospedador (Shearer y Wall, 2010).

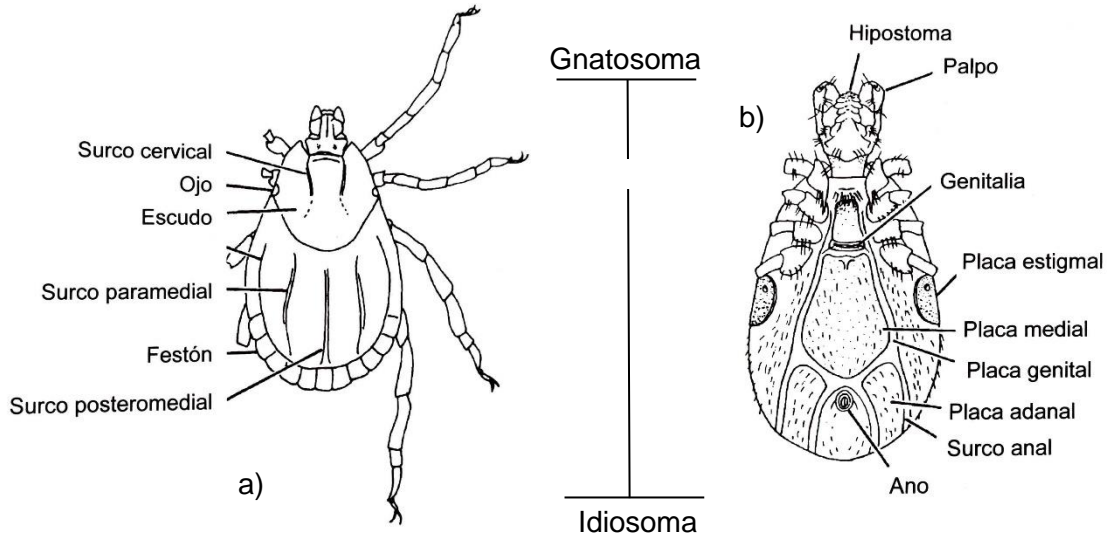
Se clasifican en 2 grandes grupos, el primero denominado como *Ixodidae* o garrapatas duras las cuales son de gran interés en medicina veterinaria por su amplio número de especies, mientras que la segunda familia, denominada como *Argasidae* o garrapatas blandas cuenta con un menor número de especies (Jacobs, 2015).

2.1.1. Garrapatas duras – Familia *Ixodidae*

Los ixoides llegan a medir entre 2 – 20 mm de longitud, presentan un cuerpo aplanado sin alimentar a su vez se divide en 2 porciones un gnatosoma anterior o denominado también como capítulo, el cual es siempre visible cuando se les ve dorsalmente, así mismo en esta parte se encuentran 4 segmentos denominados palpos en los cuales se encuentran los órganos sensoriales y la segunda porción es el idiosoma posterior que es la porción que contiene las patas, este presenta un escudo o *scutum* que cubre por completo la parte dorsal en los machos, siendo esta característica útil para su dimorfismo sexual (figura 1). Dentro de sus particularidades presentan una secreción en la saliva que contiene anticoagulantes que permiten el desarrollo de lesiones, generando la principal vía para la

transmisión de enfermedades. Conforme la alimentación el cuerpo comienza a girar en ángulos de 45° en relación con la piel (pudiendo incrementar de tamaño conforme continúe la ingesta) es en este momento donde realizan un anclaje que puede llegar a durar varios días en el hospedador (Rodríguez , 2019).

Figura 1 Partes morfológicas y características generales de las garrapatas adulta de la familia *Ixodidae*



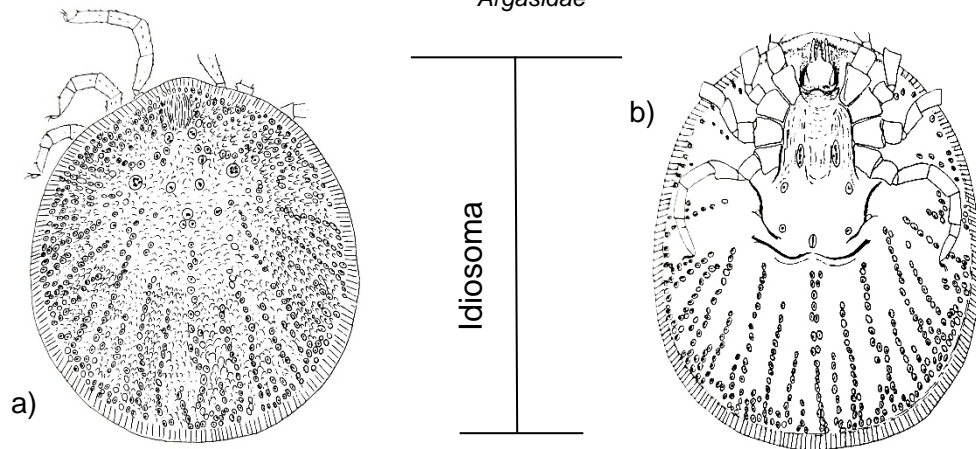
Esta representación de una garrapata dura con sus estructuras morfológicas que son compuestos del gnatosoma e idiosoma respectivamente, también se muestra las características para el dimorfismo sexual de las garrapatas adultas; a) vista dorsal de una garrapata ixódida hembra; b) vista ventral de una garrapata ixódida macho.

2.1.2. Garrapatas blandas - Familia *Argasidae*

Las *Argasidae* se caracterizan por no presentar un escudo dorsal, sin embargo, presentan una cutícula de aspecto correoso siendo más marcado en ayunos prolongado causando la formación de una serie de surcos o pliegues, estos son generados debido a que la superficie corporal está compuesta de una serie de mamelones y disco presentes desde los estadios ninfales, en conjunto generan un aspecto reticulado, no tienen glándulas foveales y carecen de un escudo dorsal esclerotizado (figura 2). Su anclaje es por breves periodos de tiempo debido a que sus piezas bucales se encuentran situadas en la parte anterior de los apéndices, generando que los ojos se localicen en surcos laterales sobre las patas de forma similar los estigmas (aperturas respiratorias) que son pequeños, posicionados de forma anterior a las coxas (base de las patas) del cuarto par de patas y siendo distintivo de esta familia con respecto a su morfología es la presencia de un poro coxal , que les permite concentrar el exceso de agua durante la ingestión de sangre,

eliminando el agua de una forma rápida mientras se encuentran alimentándose. Este mecanismo es tan eficaz que la mayoría de las especies de esta familia en su etapa de larva consumen únicamente pequeñas cantidades de sangre durante no más de 60min, así mismo destacan por presentar distintos estadios ninfales que no siempre es correspondiente al tipo de especie, ya que también puede influir las circunstancias ambientales o la abundancia de hospedadores por lo que podrían llegar a presentar entre 3 a 11 estadios ninfales disminuyendo casi por completo el estadio de larva (Estrada, Peña, 2015).

Figura 2 Representación morfológica de una garrapata adulta de la familia *Argasidae*



En las garrapatas blandas las estructuras se encuentran presentes en el idiosoma respectivamente y no existen características que permitan el dimorfismo sexual de las garrapatas duras; a) vista dorsal de una garrapata argásida; b) vista ventral de una garrapata argásida.

2.2. Microorganismos transmitidos por ectoparásitos

Existe una amplia variedad de ectoparásitos con los que el humano coexiste diariamente de forma natural pero en la mayoría de los casos también existe una convivencia entre los ectoparásitos y los animales que pueden ser tanto silvestres como domésticos; esto da pauta a una relación entre agentes patógenos que pueden involucrar desde virus, protozoarios, hongos, parásitos y bacterias los cuales son transmitidos por diferentes mecanismo como el contacto directo, la ingestión, mordeduras o vectores intermediarios (Rodríguez García et al., 2020). La tabla 1 establece algunos ejemplos de agentes infecciosos que son transmitidos por ectoparásitos, así como sus hospederos.

Tabla 1 Tabla con ejemplos de agentes patógenos transmitidos por ectoparásitos

Agente patógeno	Vector	Reservorio
<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor andersonii</i> y <i>D. variabilis</i>	Cánidos domésticos, Cánidos salvajes,
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Rhipicephalus</i> e <i>Ixodes ricinus</i>	Ratones y Humanos
<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Ixodes scapularis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. spinipalpis</i> , <i>I. ricinus</i>	Cánidos domésticos, Cánidos salvajes,
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum</i> , <i>Ixodes pacificus</i> , <i>I. scapularis</i> y <i>Haemaphysalis</i> spp.	Ratones, Venado cola blanca y Humanos
<i>Babesia canis</i>	<i>Ixodes hexagonus</i> , <i>Haemaphysalis</i> spp., <i>D. reticulatus</i> , <i>Rhipicephalus</i>	Cánidos domésticos
<i>Hepatozoon canis</i>	<i>Babesia gibsoni</i>	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. hexagous</i> , <i>I. persulcatus</i> , <i>D. reticulatus</i>	Roedores, Humanos, Especies silvestres, Rumiantes, Canidos y Felinos domésticos
<i>Borrelia anserina</i>	<i>Argas persicus</i>	Aves de corral y Aves silvestres

(modificado a partir de Organización Mundial de la Salud, 2020)

Los microorganismos rickettsias son responsables de una amplia variedad de enfermedades infecciosas en animales y humanos que presentan una gran distribución en el mundo (Biberstein, 1994). En este orden se diferencian dos familias que son de gran importancia para la medicina veterinaria la primera *Anaplasmataceae* a la cual pertenecen los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia* se relacionan con patógenos intrafagosomales (aquellos que afectan con particularidad a los eritrocitos) debido a que se alojan en el fagosoma de su célula huésped y la familia *Rickettsiaceae* que presenta solo el género *Rickettsia* caracterizado por invadir el endotelio vascular, una tercer familia es descrita como *Coxiellaceae* en la que se distingue el patógeno *Coxiella burnetii* el cual afecta a células fagocitarias como son los macrófagos (Quinn et al., 2011).



Existe una gran variedad de especies de las cuales solo algunas de ellas se transmiten por garrapatas, afectando principalmente caninos (*Ehrlichia canis*, *E. ewingii*, *Anaplasma platys*, *Rickettsia rickettsii*, *Neorickettsia elokominica* y *N. helminthoeca*), equinos (*Anaplasma phagocytophilum* y *Neorickettsia risticii*) y rumiantes (*Anaplasma ovis*, *A. marginale*, *Ehrlichia ruminan* y *Cowdria ruminantium*) de un estadio a otro. En condiciones naturales estos patógenos suelen diseminarse a través de pequeños mamíferos y artrópodos, pero debido a los cambios en los ecosistemas el humano se convirtió en un huésped accidental que tiene la característica de amplificar su radio de diseminación ya que el mayor desarrollo de las enfermedades suele darse tras la mordedura o ingestión de algunos trematodos infectados (Posada et al., 2020).

Las garrapatas son asociadas con una variedad de grupos de vida silvestre como reptiles, aves y mamíferos, pero los estudios y la información que existe al respecto sobre estos ectoparásitos es mínima (tabla 2). En México sólo el 20% de las especies de vertebrados que existen en el país cuentan con información sobre su fauna parasitaria siendo que en la actualidad los estados con mayor presencia de garrapatas son: Veracruz con 26 especies y Oaxaca con 23 especies; seguidos de los estados de Yucatán, Chiapas, Guerrero, Tamaulipas, Nuevo León, Coahuila, Sonora e Hidalgo. Las enfermedades transmitidas por garrapatas que han sido reportada en el país y que se asocian mayormente con animales de vida silvestre son la Fiebre Maculosa de las Montañas Rocosas, Ehrlichiosis y Anaplasmosis sin embargo los pocos estudios que se han realizado para la detección de patógenos, se ha realizado a través de la prueba PCR resultan en la mayoría deficiente, es por ello que algunos autores han comenzado a implementar la qPCR para poder detectar múltiples patógenos debido a que las muestras de fauna silvestres son difíciles de obtener por la afectación al momento de recolectarlas, además de que la mayoría suelen enfocarse en los agentes que se encuentran en el hospedero o solo en el vector (López et al, 2021).



Tabla 2 Especies de garrapatas reportadas en especies *Didelphis* y los agentes infecciosos a los que son asociados

Especies de tlacuache	Especies de garrapata	Agente infeccioso
<i>Didelphis albiventris</i>	Ixodidae: <i>Amblyomma aureolatum</i> , <i>A. auricularium</i> , <i>A. coelebs</i> , <i>A. dubitatum</i> , <i>A. ovale</i> , <i>A. fuscum</i> , <i>A. sculptum</i> , <i>A. parkeri</i>	Grupo Rickettsiae – fiebre maculosa, <i>R. parkeri</i>
<i>Didelphis aurita</i>	Ixodidae: <i>Haemaphysalis juxtakochi</i> , <i>A. brasiliense</i> , <i>A. coelebs</i> , <i>A. dubitatum</i> , <i>A. geayi</i> , <i>A. fuscum</i> , <i>A. incisum</i> , <i>A. ovale</i> , <i>A. sculptum</i> , <i>A. scutatum</i> , <i>A. yucumense</i>	Grupo Rickettsiae – fiebre maculosa, <i>R. parkeri</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>R. amblyommatis</i>
<i>Didelphis marsupialis</i>	Ixodidae: <i>Haemaphysalis</i> , <i>A. dissimile</i> , <i>A. coelebs</i> , <i>A. cajennense</i> , <i>A. geayi</i> , <i>A. ovale</i> , <i>A. sculptum</i> , <i>A. oblongogutta</i> , <i>A. humerale</i> , <i>A. mixtum</i> , <i>A. sabanerae</i> , <i>A. triste</i> , <i>A. parkeri</i> , <i>A. pacae</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Grupo Rickettsiae – fiebre maculosa, <i>R. amblyommatis</i> , <i>R. rickettsii</i> , <i>Coxiella Burnetii</i> , <i>R. parkeri</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>Didelphis virginiana</i>	Ixodidae: <i>A. americanum</i> , <i>Dermaceto variabilis</i> , <i>Ixodes affinis</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. cookie</i> , <i>Haemaphysalis longicornis</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Bartonella henselae</i> , <i>R. conorii</i> , <i>Anaplasma spp.</i> , <i>Rickettsia spp.</i> , <i>Babesia spp.</i> , <i>Theileria spp.</i> , <i>Borrelia spp.</i> , <i>B. burgdorferi</i> , <i>B. bissettiae</i> , <i>B. henselae</i> , <i>B. microti</i> , <i>B. mayoni</i> , <i>R. parkeri</i> , <i>R. conorii</i> , <i>B. lonestari</i> , <i>Ehrlichia ewingii</i> , <i>E. chaffeensis</i> , <i>B. lonestari</i> , <i>Francisella tularensis</i>
<i>Didelphis imperfecta</i>	Ixodidae: <i>A. cajennense</i> , <i>A. sensu</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>

(modificado a partir de Bezerra et al., 2021)

2.3. El orden *Rickettsia*

Este orden tiene la particularidad de poder ser bacilo o cocobacilo con un tamaño pequeño (entre 0.3 – 0.6 μm), pleomórficas, aeróbicos, no producen exotoxinas limitándolas a un contenido de lipopolisacáridos, son gram negativo, se visualizan con mayor facilidad al realizar tinción de Giemsa u otras tinciones policromáticas, son intracelulares obligadas que tienen como células huésped los eritrocitos, linfocitos y células epiteliales, en ellas se lleva a cabo la replicación de forma binaria al encontrarse en el interior de las vesículas intracitoplasmáticas (Gyles et al., 2010).

Se conforma por bacterias cuya característica general, es que presentan una pared celular que les da la capacidad de obtener energía a través de un intercambio entre el ADP con el ATP del hospedador; tienen la capacidad de crear recombinaciones genéticas que conducen a una evasión inmune, permitiéndoles el desarrollo de infecciones persistentes; la mayoría requieren células vivas para propagarse, por lo que de forma in vitro requieren la asociación con células, esto se obtiene al ocupar sacos vitelinos de embriones de pollo, macrófagos o células epiteliales de vertebrados y artrópodos que presenten una temperatura óptima de entre 33 – 35°C con una incubación de varias semanas dependiendo de la especie de interés, así mismo requieren para un óptimo desarrollo nutrientes como el glutamato (Pérez et al., 2017).

Algo distintivo de este orden es que son parásitos de artrópodos que suelen replicarse en las células intestinales antes de propagarse a otros órganos, algunas especies pueden ser transmitidas por vía transovárica (en garrapatas y ácaros), transestadial (como algunas especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma*), algunas otras especies como son las de *Neorickettsia* infectan a trematodos en todas las fases de su ciclo de vida y muy pocas pueden persistir de forma latente en el huésped como es el caso de *Ehrlichia canis* (Monsalve, Buriticá, 2019).

Se ha generado una reclasificación significativa debido a la secuenciación de ADN principalmente en secuencias de genes *ARNr 16S* y el *23S* donde se establece a *Ehrlichia* dentro de la familia *Anaplasmataceae* generando así que la familia *Rickettsiaceae* ahora solo se encuentre compuesta por el género *Rickettsia* y *Oriente* dejando a la familia *Anaplasmataceae* con 5 géneros *Woolbachia*, *Aegyptianella*, *Neorickettsia*, *Anaplasma* y *Ehrlichia*, dentro de esta variación de cambios las especies también pueden ser reasignadas (OIE, 2015).



Su mecanismo patogénico implica un daño generado inicialmente por la picadura de algún artrópodo o bien por la ingestión de algún trematodo infectado, lo que va generar lesiones al endotelio vascular o células hematopoyéticas, el secuestro de tejidos dañados, vasos trombosados, alteraciones en la producción, destrucción y acortamiento de la vida útil de células inmunitarias, pero también suelen utilizar la lisis a través de células T citotóxicas y por interferones (IFN- γ) como resultado se generan alteraciones vasculares y de perfusión como hemorragias, edemas, trombosis o necrosis que terminan afectando a la mayoría de los sistemas (García et al., 2017).

2.3.1. Tipos de *Rickettsia*

Se reconocen en la actualidad aproximadamente 25 especies pertenecientes al género *Rickettsia* con distribución mundial. Dentro del continente americano durante el siglo XX únicamente se reconocían 3 enfermedades causadas por estos agentes: la Fiebre manchada de las Montañas Rocosas, el Tifus epidémico y el Tifus endémico, pero a partir del año 2000 se decretaron más de 10 especies diferentes precisamente desconocidas hasta ese entonces en el continente, presentándose tanto en artrópodos como en casos clínicos siendo clasificadas como entidades emergentes y reemergentes. Los agentes pueden ser clasificadas en 3 grupos de acuerdo con el vector potencial que las trasmite (León de la Fuente, 2019):

- Grupo 1 Tifus: se asocia principalmente a piojos y pulgas
- Grupo 2 Fiebres manchadas: asociada únicamente a garrapatas
- Grupo 3 Intermedio: se asocia principalmente ácaro y artrópodos

Debido a la amplia variedad de agentes el género se puede divide en 6 grupos, el grupo del tifus, el grupo de la fiebre de los matorrales, el grupo de la fiebre exantemática, el grupo transicional, el grupo de fiebre Q y el grupo de Ehrlichia. En la tabla 2 se subdividen cada uno de los tipos de rickettsias. Estos agentes tienen mayor potencial para la formación de enfermedades zoonóticas y la presencia de la mayoría de estos microorganismos se pueden determinar con pruebas de serología lo que facilita su prevención y distribución (Carroll, 2018).



Tabla 3 Clasificación de los grupos del género *Rickettsia*

GRUPO	AGENTE	VECTOR	RESERVORIO	ENFERMEDAD	DISTRIBUCIÓN
TIFUS	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Piojo	Humano	Tifus epidémico que es transmitido por piojos y tifus endémico o murino que es	Asia, Sudamérica, Norteamérica y África
	<i>Rickettsia typhi</i>	Pulga	Roedores	Trasmitido por pulgas	Mundial
FIEBRE DE LOS MATORRALES	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Ácaro	Roedores	Fiebre de los matorrales	Se distribuye mayormente en Asia y todo el Pacífico de Australia
FIEBRE EXANTEMÁTICA	<i>Rickettsia conorii</i>			Fiebre exantemática de las montañas rocosas	Estados Unidos y Sudamérica
	<i>Rickettsia sibirica</i>	Garrapata	Perros y Roedores	Fiebre botonosa, Rickettsiosis, Fiebre por garrapata sudafricana, Tifus por garrapata africana, india y fiebre exantemática israeli	África, India, Medio oriente y países del mediterráneo
	<i>Rickettsia rickettsii</i>		Roedores	Tifus por garrapata siberiana	Mongolia y Siberia
FIEBRE Q	<i>Coxiella burnetii</i>	Garrapata	Principalmente Bovinos, Caprinos	Fiebre Q	Mundial
EHRlichias	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>		La mayoría de los mamíferos y ratones	Anaplasmosis Granulocítica Humana	Estado Unidos y Europa
	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Garrapata	Humanos, perros y venados	Ehrlichiosis Monocítica Humana	Ehrlichiosis monocítica humana
	<i>Ehrlichia canis</i>		Perros	Ehrlichiosis Monocítica Canina	Mundial

(modificado a partir de Bernabeu y Segura, 2005)

2.3.2. Epidemiología de *Rickettsia*

Se debe contemplar que las bacterias del género *Rickettsia* requieren para moverse el utilizar a los insectos como vectores, suelen tener mayor preferencia por los artrópodos hematófagos como lo son las garrapatas, pulgas, piojos y de manera indirecta al humano, tras encontrar al hospedero comienza a tener un comportamiento de parásito comensal, al vivir a expensas de los vectores. La selección por un insectos recae en las células de su aparato digestivo el cual contiene microorganismos similares a las bacterias, el ciclo varia con respecto al tipo de rickettsias como es el caso de *Rickettsia rickettsii* que habita en garrapatas sanas transmitiéndose vía transovárica y que al momento de tener contacto con algún vertebrado se da la infección con estos patógenos, cabe destacar que para que este proceso sea de cierto modo exitoso la garrapata debe estar previamente alimentadas (llenas de sangre) lo que generara un aumento en el número de rickettsias (Abarca y Oteo, 2014).

Considerando las estadísticas epidemiológicas en el 2000 se notificaron 495 casos de rickettsiosis con particularidad de fiebre manchada en humanos en Estados Unidos en cualquier mes del año (mayormente en mayo y agosto) variando con respecto a las tendencias estacionales de cada área. Debido al incremento el 1° de enero del 2010 todos los casos generados por *Rickettsias* con particularidad los de fiebre manchada de las Montañas Rocosas se notifican en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE) bajo una nueva categoría denominada como rickettsiosis de fiebre manchada o SFR por sus siglas en inglés, se considera que tras el incremento la cantidad de casos, la incidencia y en conjunto con la implementación de antibióticos especializados reflejan una reducción de las tasas de mortalidad siendo solo entre el 5 - 10% de los casos reportados como mortales (CDC, 2021).

En México las *Rickettsias* fueron reconocidas desde 1930 principalmente en los estados fronterizos del norte, existiendo mayor prevalencia en los estados de Sinaloa, Durango, Sonora y Coahuila, y a partir de 1994 la enfermedad se convirtió de notificación obligatoria con base a la ley general de salud, teniendo que realizar el reporte de forma inmediata antes de que transcurran las 24 horas desde su detección (Maldonado, 2013). En la actualidad se han reportado 14 especies de las cuales sólo 12 están validadas y 2 están únicamente identificadas molecularmente, pero en proceso de ser descritas y recibir un nombre científico por lo que son conocidas como *Candidatus*, este grupo incluye a *Rickettsia andeanae* y *R. colombianensi* (Sanchez et al, 2021).



La incidencia en México es muy baja teniendo que en el año 2000 al 2008 solo se reportaron entre 0 a 9 casos, mientras que para el 2009 existe un incremento en el número de casos notificados siendo un promedio de 500 casos por año. Fue hasta el año 2015 que el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE) emitió una declaración de emergencia epidemiológica para las regiones del norte con particularidad los estados de Baja California y Sonora, debido a que la frecuencia de esta enfermedad es baja, en muchos de los estados del país es probable que no se sospeche de la enfermedad hasta momentos muy tardíos. (López et al, 2018).

En el 2019 se registraron 196 casos por parte de la Secretaria de Salud, 92 del IMSS, 17 del ISSSTE y 144 en otras instalaciones de estos el mayor número de casos confirmados de rickettsiosis por estado fue en Chihuahua con 100 casos, seguido de Sonora con 72 casos, Veracruz con 41 casos, Sinaloa con 32 casos, Nuevo León con 29 casos; de estos la mortalidad por cada 100 mil habitantes fue de 38 descensos confirmados, la mayoría estuvieron presentes en Chihuahua siguiéndole Sonora, Coahuila y Baja California. Por ello el gobierno generó el programa de acción específico que establece el abordaje para la disminución de los casos de rickettsiosis 2020 – 2024, así como la prevención de la letalidad se realiza mediante actividades enfocadas en la población a través de la búsqueda intencionada de enfermos, la capacitación del personal médico de la consulta externa para el abordaje temprano así como el tratamiento oportuno de casos ambulatorios, generando con ello la hospitalización que permita limitar las complicaciones y defunciones al administrar el tratamiento específico, de igual manera promover el acceso al diagnóstico de rickettsiosis en la red nacional de laboratorios de salud pública (RNLSP) para contribuir en la atención adecuada de los enfermo, promover comportamientos saludables que permitan reducir los riesgos de exposición en las viviendas, la tenencia responsable de perros y gatos (Gutiérrez, 2021).

2.3.3. Patogénesis de *Rickettsia*

La patogenia de las rickettsias suele ser similar entre las diferentes especies, teniendo que expresar 2 proteínas mayores de superficie denominadas como proteínas de membrana externa A (*rOmpA*) y B (*rOmpB*) ambas están presentes en el grupo de la fiebres manchadas, mientras que *rOmpB* se encuentra únicamente en las rickettsias pertenecientes al grupo de tifus, estas permiten generar una adhesión a las células blanco de las bacterias, por lo que son consideradas para el desarrollo potencial de vacunas (Pérez et al., 2017).

Estudios realizados de la proteína *rOmpB* mayormente en *Rickettsia conorii* demostraron que tras la unión con su receptor Ku70 y la proteína RickA genera la atracción del complejo proteico que permite controlar la polimerización de la actina, resultando en la fagocitosis de las rickettsias, al estar dentro del citoplasma las rickettsias escapan de las vacuolas fagocíticas, para posteriormente acceder al citoplasma y luego de que las células endoteliales fueron infectadas por las rickettsias, comienzan a producir diferentes tipos de citoquinas como: IL-1, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-11, IL-14, IL-15, TGF- β , GM-CSF, M-CSF, PDGF, TNF- α , ICAM-1 así como prostaglandinas IL-8, MCP-1, gro, ENA-78, RANTES, IP10 y Mig, sin embargo, existen 2 citoquinas el INF- γ y el TNF- α que son bactericidas para las rickettsias, ya que estimulan la producción de óxido nítrico (Martínez, 2019).

En el caso de los ectoparásitos como las garrapatas, piojos, ácaros y pulgas se mantienen en los ovarios y glándulas salivales permitiendo 2 formas de transmisión: el primero ocurre cuando las bacterias se conservan en los huevos puestos por las hembras infectada y que se mantienen en la siguiente generación tras su desarrollo a larva, mientras que la segunda es conocida como transmisión horizontal la cual se presenta cuando los parásitos se alimentan de un hospedero susceptible, transmitiendo a las bacterias cuando estas se alimentan o al contaminar las heridas con heces que son excretadas al momento de su alimentación ingresando al hospedero de manera accidental (Arroyo, et al., 2022).

2.3.4. Signos clínicos en humanos con *Rickettsia*

Las células endoteliales son el objetivo de estas bacterias, para invadir y proliferar, generando daño endotelial directo tras la liberación de citocinas proinflamatorias que dan como resultado un estrés por oxidación, ocasionando en el organismo una vasculitis en vasos sanguíneos acompañado de extravasación de líquidos. El cuadro clínico en humanos se caracteriza por fiebre de inicio agudo, síntomas inespecíficos que van desde malestar general, mialgias, cefalea, artralgias que en ocasiones pueden ser acompañado de cuadros dermatológico como lo es la escara de inoculación la cual puede ser única o múltiple, se identifica como una lesión costrosa necrótica con halo eritematoso circulante que establece el sitio de ingreso de las rickettsias, mientras que en los cuadros graves se presenta daño vascular, afectación pulmonar (como edema, neumonía, dificultad respiratoria), daño cerebral (como convulsiones, meningoencefalitis, déficit neurológico), falla renal y choque hipovolémico (Hidalgo, 2013).

Las manifestaciones clínicas también pueden manifestarse de forma aguda que se caracteriza por una forma súbita de fiebre alta, escalofríos, dolor retro ocular, debilidad, cefalea y anorexia también se puede presentar afección pulmonar con duración de hasta 6 semanas, hepatitis, hepatomegalia, lesiones granulomatosas mientras que en la forma crónica se presenta endocarditis por años de evolución afectando principalmente válvulas generando soplos y signos de insuficiencia cardíaca progresiva y aneurismas en la aórtica (Santamaría et al., 2018).

2.3.5. Signos clínicos de los animales con *Rickettsia*

Las manifestaciones clínicas son variadas con respecto al agente causal, en la mayoría de los casos se encuentran daños en las células endoteliales que generan una vasculitis necrotizante, hemorragias, trombosis, linfopenia, anemia no regenerativa, trombocitopenia, así como la replicación en el interior de los fagosomas al inhibir la fusión con un lisosoma y este se incrementa de acuerdo con la fase en la que se encuentre la enfermedad, la extensión del daño celular, la especie animal, la respuesta inmune y la edad del hospedero. Se ha determinado que los signos de esta enfermedad en caninos tanto domésticos como silvestre son mayoritariamente inespecíficos que van desde la presencia de letargia, fiebre, anorexia, inapetencia, depresión, dolor articular, tos, polidipsia, petequias, equimosis, conjuntivitis, epistaxis, vómito, mialgia, diarrea, sinología neurológica, pérdida de peso, edemas, pirexia, también se desarrollan desarrollar lesiones oculares, dolor en articulaciones, anemia, trombocitopenia, anormalidades neurológicas como paraparesis o tetraparesis, ataxia, síndrome vestibular o bien encontrarse en una fase crónica en la que suelen no presentar sintomatología (Hernández, 2019).

Aunque poco se conoce de la infección y de la sinología en animales domésticos y silvestres, entre las especies domésticos más estudiadas se encuentran los equinos, estos suelen ser infectados por *Rickettsia rickettsii* los cuales no muestran signos clínicos y tampoco anomalías hematológicas, pero si generan anticuerpos anti - rickettsiales, lo que los descarta como amplificadores naturales de las bacterias. Con respecto a las poblaciones de vida silvestre la información es reducida, los estudios más destacados son en pequeños roedores y marsupiales que destacan su papel como amplificadores competentes tanto para las diversas especies de rickettsias como para los vectores destacando a las garrapatas. Por lo que los estudios deben abordar el papel de los animales domésticos en la dinámica de la transmisión de las rickettsiosis, incluida la



posibilidad de que algunos animales de vida silvestre puedan servir como reservorios, amplificadores o ambos (Miranda, 2017).

2.4. Microorganismo – *Leptospira spp.*

Son espiroquetas lo que implica que su morfología es el de un espiral delgado de entre 0.1 μm y 6–20 μm presentando un gancho en cada extremo en forma de S o C así mismo tienen un cilindro citoplasmático que a su vez se encuentra cubierto por una membrana celular y una capa de peptidoglicano de la pared celular, Gram negativas, pero poco reconocible en los frotis, aerobias obligadas que tienen crecimiento en temperaturas de entre 29 - 30°C, habitan las estructuras de los riñones de los portadores, uno de los más frecuentes son los roedores y en segundo lugar los carnívoros, sin embargo ningún mamífero debe ser excluido como posible huésped. La exposición se produce a través del contacto de mucosas, piel, agua, fómites o alimentos contaminados con orina, otras posibles fuentes son a través de la leche de vacas con infección aguda y las excreciones genitales del ganado (McVey et al., 2013).

Tienen 2 filamentos axiales, presentes en ambos polos del espacio periplásmico, los cuales están conformados por 2 proteínas de estructura compleja denominadas como FlaA y FlaB, debido a esta estructura les permiten exhibir movimiento de translación que se genera al direccionar de manera opuesta los flagelos, por lo que uno tendrá forma de gancho mientras que el otro tendrá forma espiralada y el movimiento de rotación se genera cuando ambos flagelos presentan la misma forma siendo esta de gancho o espiralados pero suele ser menos eficaz, ambos movimientos permiten la invasión de tejidos, incrementa su sobrevivencia en ambientes naturales y un aumento en la velocidad de natación sobre todo en medios de gran viscosidad (Nieves, 2018).

*2.4.1. Clasificación de *Leptospira**

Su clasificación es de acuerdo a sus determinantes antigénicos, generando así 3 grupos el primero denominado como grupo de interrogans o patógenos que incluye a 16 cepas las cuales son responsables de la infección humana así como animal, el segundo denominado como grupo de patógenos intermedios incluye aquellos que se encuentran mediados por el huésped, suelen ocasionar infecciones leves o crónicas; y, por último el tercer grupo es denominado saprofito o biflexa, este incluye 14 cepas no patógenas por lo que no tienen ningún papel en la leptospirosis tanto humana como animal ya que son

especies ambientales (De Brito et al., 2018). Las especies pertenecientes a cada grupo se muestran en la tabla 3.

Tabla 4 Clasificación de especies del género *Leptospira*

Grupo de especies	Especies		
Patógenas	- <i>L. alexanderi</i>	- <i>L. kirschneri</i>	- <i>L. santarosai</i>
	- <i>L. alstonii</i>	- <i>L. kmetyi</i>	- <i>L. weilii</i>
	- <i>L. borgpetersenii</i>	- <i>L. noguchii</i>	
	- <i>L. mayottensis</i>	- <i>L. interrogans</i>	
Patogenicidad intermedia	- <i>L. licerasiae</i>	- <i>L. broomii</i>	
	- <i>L. wolffi</i>	- <i>L. fainei</i>	
	- <i>L. venezuelensis</i>	- <i>L. inadai</i>	
Saprófitas	- <i>L. biflexa</i>	- <i>L. terpstrae</i>	- <i>L. yanagawae</i>
	- <i>L. idonii</i>	- <i>L. vanthielii</i>	
	- <i>L. meyeri</i>	- <i>L. wolbachii</i>	

(modificado a partir de Aranzazu et al,2020)

La mayoría de las especies de *Leptospira* no se multiplican fuera del hospedero, pero la mayoría de las cepas si logran sobrevivir hasta 6 días cuando son excretadas en orina y en heces hasta 18 días cuando se encuentran bajo sombra. Su sobrevivencia se ve afectada debido a que las condiciones no favorecen su permanencia, ya que requieren entre 85 – 100% humedad relativa, así como temperaturas superiores a los 50°C. Se ha demostrado que pueden permanecer viables durante semanas o meses en tierra contaminada, algunas semanas en materia fecal sobre todo de bovino o porcinos, en agua permanece viable durante meses mientras el pH se mantenga inferior a 6 aun que puede variar con respecto a las condiciones ecológicas que se desarrollan a su alrededor (Romero et al., 2015).

2.4.2. Epidemiología de *Leptospira* spp.

La organización mundial de la salud (OMS) la estableció como enfermedad emergente y reemergente así como una enfermedad zoonótica de importancia a nivel mundial, la cual afecta a más de 1 millón de personas siendo responsable de 60,000 muertes al año en todo el mundo, presentando 30 serotipos y más de 250 serovares de cepas, siendo que la mayoría de los brotes tienden a producirse tras la época de lluvias torrenciales o

inundaciones en áreas endémicas, estando presente en aquellas zonas con malas condiciones sanitarias y de vivienda (CDC, 2019).

Algunos fenómenos socioeconómicos como la migración intensiva de personas incrementa el contacto, así como la situación económica en los diversos países, los trabajos agrícolas o las actividades recreativas como la natación aumentan la probabilidad de tener contacto con esta enfermedad, sin dejar de considerar la trasmisión que se genera por la mayoría de los mamíferos principalmente los roedores, ectoparásitos como son la garrapatas y pulgas que actúan como vectores, generando que otros animales como son los perros y gatos puedan incrementar el riesgo de infección para los humanos u otras especies no domésticas (Wasiński y Dutkiewicz, 2013).

La prevalencia de la enfermedad a menudo coincide con climas extremos en los que se presentan fuertes lluvias e inundaciones, sin embargo, en México es complejo debido a la falta de notificación de casos a pesar de que existe un seguimiento con las normas oficiales mexicanas NOM-017-SSA2-1994 y NOM-029-SSA2-1999 la cual establece las medidas de prevención, control y vigilancia epidemiológica de la leptospirosis. En México las serovariedades más comunes son *Leptospira bratislava*, *L. autumnalis*, *L. canicola*, *L. ballum*, *L. hardjo*, *L. pomona* las cuales se encuentran presentes en los estados de Veracruz, Sonora, Tabasco, Campeche, Yucatán, Oaxaca, Sinaloa e Hidalgo, donde los principales casos se reportan en grupos mayores de 15 años, sobre todo en la estación de otoño en el mes de octubre, sin embargo el canal endémico demostró que se presenta de forma regular durante todo el año, lo que genera un aumento en el índice endémico sobre todo en los meses de agosto, septiembre y octubre (Yescas et al., 2020).

Existe un rango de susceptibilidad a la infección para las especies domésticas como es el caso de los caballos que son susceptibles a una amplia gama de leptospira mientras que en gatos suele ser poco común; si bien la enfermedad puede afectar a cualquier especie animal los serovares tienden a mantenerse en huéspedes de mantenimiento específicos, teniendo que las especies a su alrededor serán infectadas incidentalmente, incrementando con respecto a la oportunidad que los factores sociales, ambientales o la prevalencia permitan para propiciar la trasmisión, como es el caso de los humanos donde la infección suele ser más común en climas cálidos y húmedos donde se tiene un control deficiente de roedores y los sistemas mixtos de manejo de animales domésticos genera las condiciones óptimas para la contaminación ambiental para una amplia gama de cepas de leptospira (Goday, 2018).



2.4.3. Patogénesis de *Leptospira spp.*

La infección inicia tras el contacto directo entre la orina y alguna mucosa en la que existen pequeños cortes, abrasiones, que se encuentre húmedas o macerada, aunque también se presenta de manera indirecta por la contaminación del medio que se encuentre en contacto con la orina, la bacteria también puede ser eliminada a través de fetos abortado, fluidos uterinos, leche, saliva o excretas. Es por lo anterior que todos los mamíferos actúan como portadores, principalmente los roedores y pequeños marsupiales; sin embargo, los humanos no suelen ser portadores crónicos a pesar de presentar infecciones agudas de esta enfermedad (Ganoza et al., 2010).

Presenta un periodo de bacteriemia de 1 o 2 días después de la infección, el periodo de incubación es de 7 - 30 días, variando con respecto a la especie, esta primera fase concluye con la aparición de anticuerpos circulantes que suelen detectarse después de 10 -14 días lo que genera que la leptospira sea eliminada de la circulación y de los tejidos causando que se aloje en las células epiteliales de los túbulos proximales renales de los animales, pasando a ser portadores crónicos de la enfermedad y diseminando al agente por medio de la orina. (Lee et al., 2014).

De manera general tras la entrada del patógeno al organismo se presenta una lesión primaria en las células endoteliales de los vasos sanguíneos pequeños, las consecuencias de esto varían considerablemente según el serotipo infectante, la especie animal, su edad, el estadio de la infección teniendo que en la fase aguda no se observan lesiones particulares sobre todo en humanos y perros, mientras que en la fase mortal aguda se presentan hemorragias equimóticas, ictericia generalizada, presencia de sangre en vejiga, agrandamiento del hígado con acentuación de los lóbulos hepáticos, petequias en la superficie de pulmones, riñones, peritoneo, abomaso y pleura, en riñones se observan un marcado infiltrado pálido sobre todo en la unión cortico – medular encontrado mayormente en perros. Al examen histológico del hígado se puede observar disociación hepatocelular, necrosis hepatocelular, hipertrofia de células de Kupffer, colestasis intracanalicular (disminución en el flujo de bilis), en los riñones se presenta nefritis intersticial aguda con degeneración tubular, así como glomerular, infiltración de células mononucleares, miocarditis, meningitis y la presencia de células plasmáticas, macrófagos o linfocitos (Ellis, 2015).



2.4.4. Signos clínicos en humanos con *Leptospira spp.*

En humanos la primera etapa de la infección dura de 8 - 10 días y la segunda fase inicia después de 1-3 días de remisión, aproximadamente el 15% de las infecciones son subclínicas mientras que el 90% si logran desarrollar manifestaciones clínicas de este entre el 5% - 40% lo manifiesta como el síndrome de Weil (Campos, Chacón, 2014).

En humanos la mayoría de los casos la enfermedad se produce entre 5 – 14 días después de la exposición, las mujeres embarazadas pueden presentar muerte del feto, abortos espontaneo o complicaciones fetales, la tasa de mortalidad entre los casos diagnosticados con enfermedad grave es del 5% - 15%, aquellos que presentan síndrome pulmonar hemorrágico supera el 50% entre los casos (CDC, 2018). Algo destacable de la segunda fase o fase de inmunidad es que se presenta entro los 6 -12 días en humanos es en esta fase donde se generan anticuerpos en el suero, destaca como síntoma el compromiso pulmonar que puede ser grave con hemorragia pulmonar la cual suele durar 4 - 30 días (Bush y Vazquez, 2022).

El daño renal se refleja con síntomas como la piuria, proteinuria, hematuria, mientras que la ictericia solo se observa entre 5% - 10% de los pacientes, por ello algunas leptospirosis son denominadas como anictérica en la que se manifiesta síntomas semejantes a la gripe pero con un inicio súbito, fiebre de 39° C, escalofríos, cefalea, náuseas, vómitos, dolor muscular intenso sobre todo en pantorrillas, espalda y abdomen, meningismo, linfadenopatía, sensibilidad muscular, fotofobia, exantema que a menudo es transitorio, hepatomegalia, la cefalea se localiza en la zona frontal o retro-orbitaria, esplenomegalia, distrés respiratorio, la evolución natural conduce a la resolución espontánea en 7 – 10 días aproximadamente el 35% de los pacientes se recupera de forma completa y en la fase severa que también es denominada como enfermedad de Weil o fiebre icterohemorrágica que es causada por leptospira serovar *icterohaemorrhagiae* se presenta el peor pronóstico, los signos puede aparecer desde el curso inicial de la enfermedad o en la segunda fase de una presentación bifásica siendo el riñón, el hígado donde se destaca la presencia de ictericia tanto en ojos como en piel y los pulmones los órganos más afectados (Carranza et al., 2020).



2.4.5. Signos clínicos en animales con *Leptospira spp.*

La mayoría de las especies son asintomáticas leves, graves, agudas o crónicas, en general los signos son relacionados con enfermedad renal, hepática o disfunción reproductiva sobre todo en el ganado, poco se conoce de la distribución que existe en las serovariedades que se encuentran de forma silvestre, ya que la mayor investigación se realiza en las especies domésticas, es así que en el caso de los bovinos son afectados por la serovariedad hardjo, grippotyphosa y pomona, en ovinos es las serovariedades hardjo, serjroe, australis, icterohaemorrhagiae, y pomona, en porcinos se presenta pomona, tarassovi y bratislava, en los felinos se presenta autumnalis y ballum mientras que en los caninos se presentan las serovariedades canicola y bataviae (CFSPH, 2015).

Los signos dependerán en mayor medida al tipo de serovariedad, generalmente en terneros se presenta fiebre, anorexia, conjuntivitis, diarrea, y muerte a los 3 - 5 días mientras que los bovinos adultos gravemente afectados incluyen depresión, pirexia, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia, neumonía, meningitis (rigidez muscular, falta de coordinación, salivación), infecciones incidentales, leche teñida de sangre, leche amarilla, agalactia sobre todo en hembras lactantes, disminución de la fertilidad, disminución en la producción de leche, los abortos se presentan en los últimos estadios de la gestación (6 - 9 meses) por lo que tiene lugar 3 - 10 semanas después de la fase aguda, muerte fetal, nacimientos prematuros, nacimiento de terneros débiles, mortinatos, retención de placenta y muerte (Briñez, Gallego, 2014) .

En la mayoría de los pequeños rumiantes como son ovinos y caprinos presentan la enfermedad de forma inaparente presentan signos como anorexia, fiebre, diarrea, ictericia, hemoglobinuria, anemia hemolítica, neumonía, en los adultos no se presenta depresión, ni fiebre, pero si es común la presencia de abortos, mortinatos, corderos débiles, agalactia, infertilidad siendo menos común que en otras especies (Barreto y Rodríguez, 2018). En el caso de los porcinos se destacan mayormente los signos reproductivos en los que se incluyen abortos presentes a los 15 – 30 días después de la infección, infertilidad, mortinatos, fetos momificados o macerados, incremento en la mortalidad neonatal y en cerdos jóvenes, en lechones se puede observar un cuadro agudo grave en el que se tienen signos como anorexia, diarrea, fiebre, debilidad ictericia que puede o no presentar hemoglobinuria, en algunas ocasiones los adulto presenta fiebre, ictericia, meningitis con sintomatología nerviosa que puede ser fatal y disminución en la producción de leche (García et al., 2017).



Los caninos presentan signos variables de acuerdo a la serovariedad presente, algunas son asintomática o leves , mientras que otras son graves e incluso mortales, los primeros signos son a menudo inespecíficos los cuales pueden incluir fiebre, depresión, anorexia, rigidez muscular, mialgia, escalofríos, debilidad seguida de signos de enfermedad renal que incluye la presencia de úlceras bucales, vómitos, hematuria, anuria, polidipsia, poliuria, diarrea, heces grises, disnea, tos, taquipnea, disnea inicialmente leve a severa, conjuntivitis, hemorragias petequiales en las membranas de las mucosas, epistaxis, gastroenteritis hemorrágica pérdida de peso, ictericia, abortos y una muerte fulminante (Schuller et al., 2015). Por su parte los felinos domésticos pueden ser infectados por leptospiras, pero rara vez presentan signos, de ser así los primeros serían poliuria, polidipsia seguido de hemoglobinuria, ictericia y en casos graves la muerte (Jaimes y Molina., 2022).

Otras especies domesticas como los caballos y burros no suelen presentar una enfermedad sistémica más bien suele ser más focal en la zona ocular durante la fase aguda así como fiebre, fotofobia, conjuntivitis, miosis, iritis, opacidad corneal, adhesiones anteriores o posteriores del ojo, humor vitreo turbio, cataratas, uveítis, abortos, mientras que la opacidad corneal como la oftalmia periódica se generan por infecciones agudas y en general los casos son acompañados en su mayoría de enfermedades renales, hepáticas o cardiovasculares (Toriz et al., 2021). Los animales de vida silvestres son en su mayoría asintomáticos, inclusive los roedores, a pesar de ello algunos mamíferos como las focas y leones marino se han presentados con depresión, polidipsia, fiebre, muerte neonatal y abortos, también se ha reportado la infección en serpientes, tortugas, ranas y sapos (Rocha,1998).

2.4.6. Prevención y control de *Leptospira spp.*

La principal prevención es a través de la eliminación y erradicación de los reservorios animal, en lugares de alta incidencia se debe realizar control completo de plagas, así como la desinfección de los lugares de trabajo, evitar el contacto con aguas contaminadas y en caso de abortos eliminar lo antes posible para evitar el contacto con los vectores u otros animales (SAG, 2012). La vacunación para los animales domésticos debe ser aplicadas antes de la exposición de acuerdo con las especies entre los primeros meses de vida y realizando una revacunación con respecto al fabricante, debido a que la protección contra estos agentes es de corta duración, lo permitirá mantener los títulos de anticuerpos protectores (Solórzano y Gálvez, 2015). A pesar de la importancia que



conlleva la implementación de vacunas, estas suelen ser aplicadas en aquellas zonas endémicas o para zonas de inundación, en animales de compañía como caninos y felinos se debe aplicar según las recomendaciones del fabricante, generalmente se realizan 2 dosis con un intervalo de 2 a 4 semanas (WSAVA, 2020).

2.5. Microorganismo – *Bartonella* spp.

Pertenece a la clase *alphaproteobacteria*, de manera microscópica todas las especies de *Bartonella* son bacilos o cocobacilos, Gram negativos, patógenos intracelulares facultativos, aerobios, pleomorfos en su mayoría que puede llegar a ser en forma curvada o en forma de varilla, son bacterias pequeñas con un tamaño que entre 1.6 a 1.0 μm , delgadas, cortas, de proliferación lenta llegando a generar hasta 45 días colonias visibles en cultivo primario, son visibles en aquellos tejidos infectados que son teñidos con técnica de impregnación Waethin – Starry. La transmisión de esta bacteria, es principalmente mediante artrópodos, teniendo una gran variedad de reservorios de mamíferos ya que el género presenta entre 30 – 40 especies descritas que han sido aisladas tanto de humanos, animales domésticos y animales silvestres, las especies que más se han relacionado con enfermedades en el humano incluyen a *B. elizabethae*, *B. alsatica*, *B. koehlerae* así como las subespecies *berkhoffii* y *arupensis* de *B. vissoni* que se relacionan con endocarditis, mientras que en los animales se ha identificado *B. henselae*, *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. vinsonii* – *berkhoffii* principalmente, ya que *B. taylorii*, *B. peromysci*, *B. birtlesii*, *B. tribocorum*, *B. talpae*, *B. bovis*, *B. schoenbuchensis* y *B. capreoli* se han aislado tanto en animales domésticos como silvestres pero sin demostrar una enfermedad específica (Gamboa, Prieto, 2021).

Se destacan 3 especies con potencial zoonótico, *B. henselae* que tiene como hospedero principal a los gatos domésticos junto a su vector la pulga *Ctenocephalides felix*, causando la enfermedad por rasguño de gato, *B. quintana* es transmitida por el piojo *Pediculus humanus* teniendo como hospedero al humano denominada como fiebre de las trincheras y *B. bacilliformis* que tiene como vector a las moscas del género *Lutzomya* generando la enfermedad de Carrión (Nemhauser, MD, 2023). La clasificación de las especies que fueron detectadas como zoonóticas y no zoonóticas se encuentran enlistadas en la tabla 4.



Tabla 5 Clasificación de especies y subespecies de *Bartonella*

Clasificación	<i>Especies reportadas</i>	
Potencial zoonótico	• <i>B. koehlerae</i>	• <i>B. alsatica</i>
	• <i>B. henselae</i>	• <i>B. quitana</i>
	• <i>B. vinsonii</i> spp. <i>arupensis</i>	• <i>B. elizabethae</i>
	• <i>B. bovis</i>	• <i>B. grahamii</i>
	• <i>B. rochalimae</i>	• <i>B. melophagi</i>
	• <i>B. tribocorum</i>	• <i>B. washoensis</i>
	• <i>B. bacilliformis</i>	• <i>B. mayotimonensis</i>
	• <i>B. vinsonii</i> spp. <i>berkhoffii</i>	
Sin potencial zoonótico	• <i>B. clarridgeiae</i>	• <i>B. silvatica</i>
	• <i>B. vinsonii</i> spp. <i>vinsonii</i>	• <i>B. tamiae</i>
	• <i>B. talpae</i>	• <i>B. australis</i>
	• <i>B. peromysci</i>	• <i>B. phoceensis</i>
	• <i>B. birtlesii</i>	• <i>B. thailandensis</i>
	• <i>B. taylorii</i>	• <i>B. rattaustaliani</i>
	• <i>B. weissii</i>	• <i>B. queenslandensis</i>
	• <i>B. doshiae</i>	• <i>B. bandicootii</i>
	• <i>B. chomelii</i>	• <i>B. antechini</i>
	• <i>B. volans</i>	• <i>B. merieuxii</i>
	• <i>B. schoenbuchensis</i>	• <i>B. woyliei</i>
	• <i>B. japonica</i>	• <i>B. capreoli</i>

(modificado a partir de Angelakis y Raoult, 2014)

Dentro de su composición se tienen los factores de virulencia como el T4SS que facilita el paso de moléculas efectoras (con excepción de las especies *B. bacilliformis*), Beps que promueven la formación de un invasoma y la entrada a la célula hospedadora; TrwT4SS 4 que genera adherencia a los eritrocitos; VirB/Vir T4SS que ejerce un control en el proceso de traslocación; NFkB que causa la liberación de citoquinas proinflamatorias permitiendo inhibir la apoptosis de las células endoteliales infectadas, proteínas como la adhesina A permite la autoaglutinación generando una adhesión en las células hospedadora; LPS que pueden genera un efecto proinflamatorio o contrario para no activar la respuesta inmune humoral y Vomps que son unas proteínas de membrana que facilitan la angiogénesis así como la adhesión. Además, de manera general todas las especies tienen perfiles de

ácidos grasos que consiste en C18:09, C18:19 y C16:0 siendo útil para la identificación de la especie, la codificación de ADN 16S rRNA del citrato sintasa se codifica mediante las proteínas *gltA*, *groEL*, *ribC*, *ftsZ* así como un antígeno de 17 kDa que permiten la identificación por PCR (Alamán, 2014).

2.5.1. Epidemiología de *Bartonella spp.*

La distribución de las especies de *Bartonella spp.* con excepción de *B. bacilliformis* se mantienen en regiones de la cordillera de los Andes por su relación con sus vectores, esto genera variaciones en su localización causando que los reservorios sean muy diferentes entre cada una de las especies. La infección se caracteriza por presentar una bacteriemia intraeritrocitaria persistente al interior del hospedero, generando que la transmisión principal se realiza entre artrópodos hematófagos que al entrar en contacto con algún hospedero ingieren sangre infectada para ser pasada a otro reservorio, aquellas áreas que presenten algún herida, ya sea generada por el vector, por rasguños, mordeduras se contaminan por las excretas de los vectores o también se puede transmitir a través de sangre contaminada que sea por transfusiones o al tener interacciones agresivas. La distribución de las diversas enfermedades va correlacionada con la presencia de vectores, en la que pueden modificar la forma de transmisión de las diversas especies, siendo por vectores:

- Pulgas: representan el vector principal para *B. henselae* infección. Entre felinos domésticos, la bacteria se replica dentro del intestino de la pulga para posteriormente ser secretada en las heces durante la vida útil de la pulga (hasta 12 días); las heces contienen *B. henselae* dentro de las 24h de una comida de sangre, siendo fundamental para el mantenimiento de *B. henselae* infección, la pulga se alimenta generando una lesión siendo esta la vía de transmisión más importante entre los hospederos en el que se involucran felinos domésticos y humanos.
- Piojos: represan el vector principal para *B. quintana*. Entre humanos, su transmisión es relacionada a factores ambientales que favorecen la infestación, además condiciones de vida antihigiénicas aumentan la probabilidad de contraer la enfermedad. El vector se infecta cuando los piojos adultos se alimentan de un hospedero con bacteriemia, alojándose en el intestino del piojo infectando las heridas o zonas de alimentación del propio parasito por medio de sus heces.



- Moscas: en este destaca la especie *Lutzomyia verrucarum* que es el vector principal para *B. bacilliformis*. Entre humanos, su transmisión es limitada estrictamente a las zonas de los Andes peruanos, pero esto puede verse modificado debido a los cambios climáticos que pueden ampliar el área de distribución del vector y aumentar la propagación de *B. bacilliformis*.
- Garrapatas: debido a su facilidad para alimentarse en más de 3 veces durante su ciclo de vida incrementa la distribución y propagación de patógenos, la prevalencia de *Bartonella spp.* llega a ser hasta de un 15% en estos vectores, teniendo como principal reservorio pequeños roedores, pequeños mamíferos, rumiantes sobre todo bovinos y algunas especies de venados.

Otros artrópodos como son otras especies de moscas como *Hematobio spp.*, *Stomoxys spp.* se han relacionado con la presencia de *B. bovis*, *B. henselae*, en ácaros recolectados de roedores, murciélagos, ciervos se demostró la presencia de *B. henselae* al igual que de *B. schoenbuchensis*, estos reportes incrementan la distribución de este patógeno. Sin embargo, se requieren más investigación para poder conocer y especificar los vectores, así como las características de las enfermedades que causan a partir de la presencia de especies de *Bartonella* (Regier et al., 2016).

2.5.2. Patogénesis de *Bartonella spp.*

Su mecanismo de invasión tiene como célula blanca a los glóbulos rojos ya que son dependientes de actina, estos organismos inducen la proliferación y migración de células endoteliales mediante una proteína que actúa como factor angiogénico que generan a su vez cambios morfológico evidente debido a modificaciones del citoesqueleto. Algunas especies como *B. henselae* induce a las células infectadas a producir factor de crecimiento endotelial vascular que a su vez estimula la proliferación de células endotelial vascular, permitiendo así que otras especies de *Bartonella* puedan desarrollarse, otras como *B. quintana* producen sustancias antiapoptosis; sin embargo, todas las especies se multiplican y persisten en los glóbulos rojos. Asimismo, algunas especies presentan flagelos polares que permiten generar una adhesión a los eritrocitos, mientras que aquellas no flageladas generan adhesión mediante las proteínas presentes en su superficie al unirse a los componentes de la matriz extracelular de las células del hospedero permite la traslocación eficiente de proteínas efectoras de la secreción tipo IV, la cual se modifica con respecto a la capacidad de cada especie; por su parte la colonización intracelular o hemolítica es implementada como una especie de camuflaje,



que incrementa la transmisión vectorial eficiente, después de esta fase denominada como oculta o silenciosa con una duración de 5 días, el organismo se multiplica (Spach,2020).

2.5.3. Signos clínicos en humanos de *Bartonella spp.*

Las infecciones por *Bartonella spp.* generan una amplia variedad de manifestaciones clínicas, que pueden afectar a todos los órganos y sistemas, según las especies la sintomatología se ve modificada. Es así que en la enfermedad por arañazo de gato genera linfadenopatía crónica benigna en niños y jóvenes, con un tiempo de incubación que va de los 5 a 20 días, los primeros signos van desde la presencia de fiebre, anorexia, cefalea, exantema, artralgia, mientras que el 6% de los casos se presenta el síndrome de Parinaud, en la mayoría de los casos las linfadenopatía se resuelve de manera espontánea, se acompaña de la presencia de angiomas bacilar generada por las especies *B. quintana*, *B. henselae* desarrollando la infección a partir de pacientes inmunodeprimidos, causando un proceso proliferativo vascular que suele afectar a la piel u otros órganos, presentando pápulas, úlceras, nódulos hiperpigmentadas que pueden estar presentes en todas las mucosas y llegar afectar huesos largos, también se puede presentar peliosis hepática que presentan lesión parenquimatosas hepática, caracterizada por generar síntomas digestivos inespecíficos, fiebre y hepatoesplenomegalia. Por su parte la fiebre de las trincheras genera fiebre, cefalea e intensos dolores óseos después de 15 a 25 días de ser picados por los vectores, también pueden presentar artralgias o mialgias. La enfermedad de Carrión genera cuadros clínicos graves con la presencia de una o múltiples lesiones cutáneas de aspecto vascular, papulosas y pruriginosas que suelen sangrar con facilidad y se acompañan de dolor óseo (Blanco y Raoult, 2005).

Algunas especies han sido asociadas a endocarditis o miocarditis con la ayuda de hemocultivos negativos, teniendo a *B. henselae*, *B. koehlerae*, *Bartonella elizabethae*, *B. vinsonii* subespecie *berkhoffii* y *arupensis*, en la mayoría de los casos los pacientes tuvieron un recambio valvular, presentando una mortalidad de hasta el 10%, en pacientes infectados con VIH puede generar bacteriemias con desarrollo insidioso que causa malestar general, dolores, fatiga, pérdida de peso, fiebre progresiva y hepatomegalia (Lopardo et al., 2019).



2.5.4. Signos clínicos en animales con *Bartonella spp.*

Los animales infectados de forma natural suelen padecer una bacteriemia desde intermitente hasta varios años de duración, tiendo que en la mayoría de las ocasiones son asintomática. Entre los animales domésticos los felinos son el principal reservorio de *B. henselae* y *B. clarridgeiae*, pero también son susceptibles a las infecciones generadas por *B. quintana*, *B. henselae*, *B. vinsonii* subespecie *berkhoffii* y *B. bovis* detectadas principalmente en pulgas de estos felinos (Lorenzatti et al., 2022).

Una de las especies más investigadas son los felinos domésticos los cuales han sido infectados de manera experimental, informando la presencia de signos como fiebre, linfadenopatía, trastornos reproductivos y signos neurológicos pero estos varían con respecto a la especie que se encuentre, existiendo mayor probabilidad la presencia de *B. elizabethae*, *B. vinsonii berkhoffii*, *B. vinsonii arupensis*, *B. koehlerae*, *B. washoensis* y *B. alsatica* siendo de las más reportadas, presentando enfermedades renales así como infecciones del tracto urinario, estomatitis y linfadenopatía. Por su parte los caninos domésticos suelen ser infectados por *B. vinsonii berkhoffii*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *B. washoensis*, *B. elizabethae* y *B. quintana* las cuales suelen causar endocarditis, arritmias cardíacas, endocarditis, miocarditis, linfadenitis granulomatosa, rinitis granulomatosa, epistaxis, pero también pueden provocar anemia hemolítica inmunomediada, meningoencefalitis neutrofílica o granulomatosa, poliartritis neutrofílica, vasculitis cutánea y uveítis (Álvarez et al., 2018).

2.5.5. Prevención y Control en *Bartonella spp.*

A pesar de que la enfermedad se autolimita en varias semanas, solo es de manera transitoria con recaídas, por ello se debe generar un control de pulgas, siendo la principal medida para prevenir la infección en los animales de compañía sobre todo en los felinos, esto permite limitar la transmisión entre gatos así como su propagación, en los caninos se debe considerar el control tanto de pulgas como de garrapatas, teniendo inspecciones rutinarias al finalizar los paseos en zonas infestadas, así mismo mantener la higiene de los animales, actividades de limpieza y modificar comportamiento de los propietarios. En casos donde se requiere antibioticoterapia, la tetraciclina o la eritromicina son tratamientos efectivos, la especie *B. henselae* es sensible a rifampicina, ciprofloxacina, gentamicina, trimetoprima sulfametoxazol, eritromicina, doxiciclina, isoniazida (Guillot y Chabanne, 2021).

2.6. Microorganismo – *Borrelia* spp.

Las bacterias del género *Borrelia* son Gram negativas, helicoidales, micro - hidrofílicas, espiroquetas delgadas con un tamaño de entre 10 – 20 µm de largo, contienen múltiples flagelos axiales que puede ir de los 15 a 20 endoflagelos según la especie, su forma presenta una disposición especial laca con ondas irregulares, se pueden observar con mayor facilidad al utilizar tinción de Giemsa o Wright, en algunas especies el genoma se encuentra en plásmidos lo que influye en los genes importantes para la infección de animales o humanos (Ryan y Ray, 2011). Se mencionan las especies patógenos de humanos y animales como principales reservorios en la tabla 5.

Tabla 6 Clasificación de las especies de *Borrelia*

Reservorio	Especie		
Humanos	<i>B. recurrentes</i>		<i>B. duttonii</i>
Animales	<i>B. hispánica</i>	<i>B. miyamotoi</i>	<i>B. canis</i>
	<i>B. crocidurae</i>	<i>B. lonestari</i>	<i>B. caucásica</i>
	<i>B. microti</i>	<i>B. lusitaniae</i>	<i>B. hermsii</i>
	<i>B. pérsica</i>	<i>B. valaisiana</i>	<i>B. turicatae</i>
	<i>B. dipodilli</i>	<i>B. tanukii</i>	<i>B. parkeri</i>
	<i>B. merionesi</i>	<i>B. bissettii</i>	<i>B. mazzottii</i>
	<i>B. japónica</i>	<i>B. andersonii</i>	<i>B. garinii</i>
	<i>B. anserina</i>	<i>B. venezuelensis</i>	<i>B. burgdorferi</i>
	<i>B. coriaceae</i>	<i>B. afzelii</i>	<i>B. teileri</i>
			<i>B. sínica</i>

(modificado a partir de Escudero y Guerrero, 2005)

En el caso de las borrelias patógenas de los animales suelen ser transmitidas principalmente por ectoparásitos (garrapatas) estos se infectan en algún momento de su ciclo de vida al alimentarse de animales infectados, en el caso de las aves de producción como silvestres son afectadas por la especie *B. anserina* con una mortalidad entre el 10% - 100% ocurriendo en todos los continentes y afectando a todas las edades, de manera similar la especie de *B. burgdorferi* afecta a una gran variedad de especies estando presente con mayor frecuencia los roedores, caninos domésticos y algunas especies de vida silvestre, por su parte la especie *B. theileri* afecta principalmente bovinos africanos o australianos, mientras que de manera ocasional puede afectar a caprinos y equinos



siendo infectados mediante garrapatas del género *ixódida* y permitiendo la transmisión a través de la placenta, la leche y la orina, particularmente en aves, la infección puede ocurrir por coprofagia (McVey et al., 2022).

2.6.1. Epidemiología de *Borrelia spp.*

Es considerada una enfermedad zoonótica de distribución mundial, su epidemiología está estrechamente relacionada con el ciclo de vida de sus vectores, por ello solo algunas áreas la tendrían presente de manera endémica como es el caso de Estados Unidos en el que se estiman entre 20 a 100 casos por cada 100.000 habitantes, tan solo en el 2010 se notificaron alrededor de 28,921 casos confirmados y 7,500 casos probables, suele presentarse a inicios del veranos y principios de otoño afectando principalmente a niños o adultos jóvenes que viven en zonas boscosas. En el caso de los humanos se trasmite principalmente por 4 especies de ectoparásitos alrededor de todo el mundo *Ixode scapularis* que es la garrapata del venado presente en el noreste y centro norte de EE. UU., *Ixode pacificus* en el oeste de EE. UU., *I. ricinus* en Europa y *I. persulcatus* en Asia, la CDC estima un aproximado anual de 476,000 casos en humanos en Estados Unidos (Bush y Vázquez, 2023).

En México se puede considerar como una enfermedad olvidada debido a la falta de información o desconocimiento por los distintos sectores de la población, es tanta la falta de reportes que en el año 1999 solo se presentaron 0.3% de casos por *B. burgdorferi*, mientras que en el 2003 se reportaron 12.6% de casos positivos y en el año 2009 se confirmó la zona noreste de México como endémica de la enfermedad al reportar garrapatas infectadas con *B. burgdorferi*, es así que en la actualidad existen 393 reportes de los cuales 140 de los casos reporto el agente etiológico, así como la identificado a posibles vectores en animales domésticos y en especies de vida silvestre teniendo prevalencia de *B. burgdorferi* sobre todo en roedores (Dzul, et al., 2022).

2.6.2. Patogénesis de *Borrelia spp.*

La infección ocurre por contaminación de heridas, generalmente durante la alimentación por garrapatas infectadas a través de su saliva o excretas, generando un periodo de incubación de entre 4 – 18 días posteriormente inician los primeros síntomas, se considera que el estadio de ninfa es el más peligroso para los humanos debido a que son difíciles de detectar y suelen ser más activas durante los meses de verano. Tras su entrada al organismo la bacteria pasa al torrente sanguíneo permaneciendo durante los



episodios febriles, quedando oculta en diversos órganos, la adaptación dentro de los hospederos depende de la expresión de sobre todo OspC es expresada durante la época de otoño, invierno o a comienzos de la primavera que es el tiempo en que las garrapatas permanecen inactivas, así mismo la proteína GroEl que se presenta en todas las células, siendo las responsables de la respuesta al estrés, tiene la función de la supervivencia en el huésped durante la transición de los vectores a los animales de sangre caliente. Se debe considerar que el mecanismo de evasión de la respuesta inmunitaria es cambiante con respecto a la especie como es el caso de *B. burgdorferi* ingresa a la piel en el sitio de la picadura de la garrapata, después de 3 - 32 días migra localmente a la piel alrededor de la lesión, su diseminación es a través de los vasos linfáticos para causar adenopatía regional o se diseminan en la sangre a los órganos, se genera primero una reacción inflamatoria antes de una respuesta significativa de anticuerpos a la infección, su diseminación se facilita por la alta permeabilidad de los vasos sanguíneos así como la activa penetración de la bacteria a través de las membranas endoteliales, se genera la invasión de los diferentes tipos de tejidos se produce como resultado de la adherencia a fibroblastos y células endoteliales (García et al., 2014).

2.6.3. Signos humanos con *Borrelia spp.*

En los humanos los síntomas pueden ser variados, por lo general aparecen en etapas, además algunas personas pueden llegar a no presentar ningún síntoma. La primera etapa es denominada como enfermedad localizada temprana, en esta los síntomas son limitados presentándose entre 3 - 30 días después de la picadura de garrapata, se tiene la presencia de sarpullido (pero puede no presentarse) suele ser un único círculo que se extiende lentamente desde el lugar donde se produjo la picadura, presentando un aspecto comúnmente denominado como ojo de buey, no suele ser indoloro pero se siente caliente al tacto, también se presenta cansancio extremo, rigidez articular así como artralgias, fiebre, dolor de cabeza, inflamación de nódulos linfáticos, dolor muscular, escalofríos a veces se presenta fatiga, náuseas o vómitos. La segunda etapa denominada como enfermedad de diseminación temprana suele ser más grave, generalizada que comienza al no obtener un tratamiento, entre 2 - 6 semanas se presentan síntomas aparte de los ya presentes de la primera etapa como meningitis aséptica, afectación de nervios craneales, letargia, depresión, trastornos de memoria, dificultad en la concentración o trastornos de conducta, entre el 4% al 10% se generan manifestaciones cardíacas y en un 50% de los pacientes se tiene la neuropatía craneal. La última etapa denominada como diseminación



ardía de la enfermedad puede aparecer de 1 - 10 años manifestando alteraciones osteoarticulares, cardiovasculares o neurológicas que llegan a ser muy similares a las de la segunda etapa, incluso se puede desarrollar acrodermatitis crónica atrófica sobre todo en manos y pies aun que suele presentarse después de meses e inclusive años después de la picadura de la garrapata (Vargas y Ponce, 2020).

2.6.4. Signos animales con *Borrelia spp.*

A pesar de que existen reportes en diversas especies de aves y mamíferos tanto domésticos como silvestres, los informes de enfermedad clínica son poco frecuentes, los estudios realizados en ratones de patas blancas han informado la presencia de eritema en los pabellones auriculares, parecía de las extremidades posteriores, movimientos circulares, temblores, falta de coordinación mientras que en un erizo se presentó eritema migratorio, anorexia, rigidez en la marcha, derrame articular, ataxia y muerte por ello que las manifestaciones son variadas siendo acompañadas a la especie de *Borrelia spp.* que este generando la infección así como el tipo de hospedero en el que se encuentren como en el caso de las aves de producción que pueden presentar fiebre, anorexia, depresión, plumas erizadas, diarrea verde, hepatomegalia, eritrofagocitosis, hiperplasia de fagocitos mononucleares, esplenomegalia, visualización de las espiroquetas en vasos sanguíneos o espacios intercelulares al ser teñidos con plata, hemorragias de ventrículo y proventrículo, mientras que las aves de vida silvestre no hay informes de signos. En especies como ratas y ratones se ha presentado sinovitis, neumonitis, encefalitis, miocarditis e infiltrado linfoplasmocitario perivasculares de riñones o hígados, mientras que en algunos murciélagos se han presentado lesiones de necrosis multifocal de hígado con vacuolización de hepatocitos, esplenomegalia, agrandamiento de glándulas suprarrenales pálidas con presencia de hemorragias, pulmones congestionados, hemopoyesis extramedular del bazo, moteado de la corteza renal y hepatomegalia (OIE, 2022).

2.6.5. Prevención y Control de *Borrelia spp.*

La mejor manera de prevenir la enfermedad generada por *Borrelia* es evitando las picaduras de garrapatas, en caso de encontrarse en zonas donde existe una alta presencia de estos ectoparásitos se recomienda usar zapatos cerrados, rociar equipos de campamento, así como la ropa de repelentes que contengan 0.5% de permetrina, usar repelentes de insectos que se encuentren registrados ante la agencia de protección ambiental, utilizándolo sobre todo en la piel expuesta, evitar los productos con aceite de



eucalipto en niños menores a 3 años de edad, realizar duchas tan pronto se allá salido de la zona, examinando para comprobar o no la presencia de garrapatas en la piel, si es posible utilizando un espejo, realizando lo mismo con las mascotas, también se puede evaluar las prendas antes de ser utilizadas o limpiándolas con agua caliente por lo menos 10 min, para zonas de excursión evitar el acceso a senderos con vegetación (DVBD, 2018).

2.7. Técnicas implementadas en el diagnóstico de agentes patógenos

2.7.1. Extracción de ADN

El primer aislamiento fue realizado en 1869 por el médico suizo Friedrich Miescher que realizó su estudio con sangre periférica utilizando principalmente la pus de vendas quirúrgicas desechadas y determinó que con ácidos lograba precipitar una pequeña porción del material genético, ya que inicialmente definió a las proteínas como principal componente del citoplasma de los leucocitos y en 1952 tras los experimentos de Alfred Hershey y Martha Chase fue comprobado que la transmisión de información genética se realizaba en el núcleo o ADN de las células y no en sus proteínas (Herráez, 2012).

Tras el paso del tiempo se generaron protocolos que tenían como finalidad el aumentar la cantidad de material genético obtenido y mejorar la calidad para un mejor análisis, en los 50 los protocolos tradicionales implementaban solventes orgánicos para separar a las proteínas del ADN, permitiendo que este quedara suspendido en una fase acuosa que al ser aislado con etanol lograba precipitarse, solían ser métodos que requerían soluciones bien elaboradas lo que causaba que la extracción llegara a tardar horas hasta días por sus numerosos pasos que se tenían que realizar (Ríos et al, 2016). Pero fue a partir de los años 90 que se comenzaron a implementar protocolos más equipados que consistían en kits que utilizaban soluciones inorgánicas cargadas positivamente, estos tenían la capacidad de retener la mayor cantidad de ADN y permitir separarlo del resto de las biomoléculas, teniendo así una extracción libre de inhibidores (Cornejo, 2014).

2.7.1.1. Aspectos generales por considerar para la extracción del ADN

Como primer aspecto se debe tener en cuenta el tipo de protocolo que se desea realizar ya que este determinara tanto la calidad como la cantidad de material genético que podremos obtener de una muestra. Sin importar el protocolo que se quiera implementar deberá considerar que la solución o soluciones a utilizar deberá tener la capacidad de poder romper tanto la membrana plasmática como la membrana nuclear para poder



acceder libremente al ADN y al mismo tiempo sea aislado de enzimas que puedan llegar a degradarlo (Martínez, 2015).

La destrucción de las células o también denominada lisis de las células solo será posible al incrementar los iones que permiten romper la estructura tridimensional de macromoléculas, en conjunto con un detergente como el dodecilsulfato sódico permite la eliminación de las membranas y puede ser complementado al añadir acetato o proteasas para precipitar las proteínas que se encuentran asociadas al ADN (Zhang, 2015).

Así mismo deberemos considerar que el ADN propio es insoluble en alcohol por lo que se deben considerar soluciones como el etanol o isopropanol para generar su precipitación con el apoyo de centrifugación, la presencia del material genético puede llevarse a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa, posteriormente ser teñido con red - midori green y siendo observado con luz UV (Tuya, 2016).

2.7.1.2. Protocolos tradicionales para la extracción de ADN

Se considera como tradicional aquel protocolo el cual requiere mayor cantidad de soluciones, también requiere mayor tiempo para realizar la extracción como primer paso se debe realizar la separación de proteínas y lípidos mediante solventes orgánicos como es el fenol, cloroformo y el alcohol isoamílico estos en conjunto con ciclos de centrifugación van a permitir aislar los componentes del ADN, posteriormente se eliminan para recuperar al ADN mediante la adición de soluciones con alta concentración de iones de sodio o amonio también se puede implementar etanol para que generen una unión a los grupos fosfato, lo anterior va permitir que el ADN se pliegue sobre sí mismo haciéndolo insoluble, por último se hidrata las estructuras del ADN para mantenerlo en solución esto puede ser a través de agua que tenga un pH de 7, solución amortiguadora como puede ser EDTA o Tris - HCL que va permitir el almacenamiento del material genético (Gallou, 2015).

Cada modificación puede ser apoyada por investigaciones previas que asegure una mejor cantidad del material genético, de la misma forma se realizan las modificaciones debido a que es necesario estandarizar los métodos de extracción de ADN que garanticen su sencillez, eficacia de los protocolos y de la misma manera la calidad del material obtenido (Núñez, 2021). Otras modificaciones que en su mayoría son los más utilizados, es para permitir optimizar procedimiento que conllevan la implementación de kit para mantenerlos a bajo costo, para ello se recomienda esta metodología para superar las limitaciones de



investigación que pueden surgir al extraer ADN a partir de muestras de sangre complejas (Tomas, 2021).

2.7.1.3. Etapas para el procesamiento general de las muestras

Un procedimiento normal sin especificar las soluciones que vaya a utilizar debe considerar como mínimo el poder realizar y completar las siguientes etapas:

- Pretratamiento: en esta primera fase se debe considerar en primera instancia el tipo de muestra que se tiene pudiendo ser sangre, tejido, saliva, células cultivadas o algún otro similar, así mismo conocer el proceso por el cual será sometido para generar ciertas acciones que permitan la creación de un tampón de lisis
- Lisis: al igual que en la primera fase se toma en consideración el tipo de muestra que se va a manejar ya que con ello se determinará el tipo de solución con el cual generaremos la destrucción de cada uno de los complementos de las células, este puede ser un detergente, proteasas o agentes desnaturizantes de proteínas
- Adsorción: en este punto se colocará nuestra muestra ya lisada en el contenedor que permitirá separar todos los componentes fraccionados que no sean parte del ADN, la salida puede ser mediante presión o por centrifugación dependiendo del diseño del material
- Lavado: se realiza con el fin de poder desplazar por completo todos los componentes no fijados permitiendo obtener la mayor cantidad de ADN
- Elución: la última fase tiene como finalidad el desestabilizar o disolver la unión del ácido nucleico para finalmente ser captado por algún material estéril, libre de partículas que pudieran no ser parte del ADN

Dependiendo del tipo de protocolo cada una de las fases puede cambiar tanto en tiempo, cantidad y en las diferentes soluciones que se implementen, pero siempre deberán conservar la finalidad de cada fase (Checa, 2018).

2.7.1.4. Factores que pueden afectar la extracción

En su mayoría se puede ver afectado mucho antes de que la muestra llegue al laboratorio para ser analizada y procesada. Los factores pueden presentarse incluso desde la falta de conocimiento, sobrepasar el tiempo de almacenamiento de las muestras, así como el realizar malos manejos antes y después de la toma de muestras (LabMedica, 2018).



1. Estado de salud del paciente: Es el primer factor que de manera no directa puede afectar la cantidad y calidad del material genético, aquellos pacientes con inmunodeficiencia o que se encuentren en condiciones críticas presentan celularidad disminuida lo que se ve reflejado en una baja cantidad de volumen, la facilidad para formar coágulos y teniendo como resultado final un bajo número de células nucleadas (Cruz, 2021).
2. Manejo de muestras: Se deberá considera desde la obtención de la muestra la cual deberá ser en tubos adecuados tanto en composición como en capacidad, para ello se podrá trabajar con muestra que vengan en tubos que contengan ácido etilendiaminotetraacético como anticoagulante, así mismo que la sangre recolectada este correcta homogenización evitando la formación de coágulos que puedan llegar a provocar la reducción de células nucleadas y con ello disminuir la cantidad de ADN obtenido al finalizar el protocolo de extracción (Osorio, 2013).
3. Almacenamiento de las muestras: Es un aspecto primordial para que la extracción de las muestras sea exitosa, considerando que el almacenamiento temporal puede ser hasta de 24h con temperatura ambiente o bien entre 2- 8°C pudiendo permanecer hasta 4 días, esto tiene utilidad para aquellas muestras que van destinadas para estudios de metilación, mientras que aquellas muestras que van para estudios de secuenciación se pude mantener con las mismas condiciones hasta por 15 días (Riera et al, 2010).

2.7.2. Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Es una reacción enzimática que se realiza de manera *in vitro* que permite amplificar millones de veces una secuencia específica de ADN, fue desarrollada en 1994 por Kary Mullis, esta técnica puede ser variar con respecto al tipo de ADN que se implemente, cuando se utiliza ADN complementario proveniente del ARN mensajero se le conoce como RT-PCR (*reverse transcription* por sus siglas en inglés) mientras que al utilizar ADN genómico generamos una PCR. Para su desarrollo se requieren elementos importantes como el templado molde (ADN o ADNc), enzimas, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs como adenina, timina, citosina y guanina), el ion magnesio, una solución amortiguadora o buffer y agua, su interacción se realiza en los equipos denominados como termocicladores los cuales estarán encargados de tener las condiciones necesarias de temperatura y tiempo para generar la amplificación de las secuencias de interés (Tamay et al., 2013).



2.7.2.1 Procedimiento general y componentes de una PCR

Esta técnica requiere realizar ciclos constantes, al final de cada ciclo los productos se duplican para ello el proceso es realizado en un termociclador programables, esto implica que al realizar entre 30 a 50 ciclos térmicos genera un aumento exponencial del número total de copias sintetizadas de ADN (Padilla et al.,2003). Es por ello por lo que se realizan PCR múltiple en esta se introduce un mismo tubo de reacción do o más pares de cebadores específicos dirigidos a diferentes blancos para que una sola secuencia de ADN blanco pueda ser amplificada al mismo tiempo, los cebadores son diseñados cuidadosamente con el objetivo de tener temperaturas similares (Kim et al, 2019). Los componentes básicos que requiere una PCR son:

- Una molécula molde de ADN de la cual se amplificará el fragmento
- 2 cebadores sintéticos que suelen ser denominados cebadores directos e indirecto, estos flanquearan la región del ADN para poderlo amplificar
- Desoxinucleotidos sintéticos por sus siglas dNTP
- Enzimas de ADN polimerasa

El procedimiento estándar establece que se requieren altas temperaturas alrededor de 95°C para que la molécula molde de ADN pueda ser desnaturalizada, permitiendo así que las hebras se separen rompiendo los enlaces de hidrogeno, por lo que se utilizar en los diversos protocolos microorganismos extremófilos, posteriormente se usan temperaturas más bajas que suelen ser denominadas temperaturas de hibridación que varía entre los 55 a 65°C esto permitirá la activación del cebador, después de un periodo de tiempo que dependerá de la síntesis de ADN polimerasa la solución vuelve a ser calentada a temperaturas desnaturalizantes para poder repetir el ciclo varias veces (Boster, 2021).

2.7.3 La electroforesis como apoyo de la PCR

La electroforesis es una técnica de separación de moléculas basadas en su carga eléctrica y tamaño molecular, su función se realiza al utilizar una corriente eléctrica a través de un gel o medio líquido que contiene las moléculas, esto permite desplazar a diferentes velocidades de acuerdo a la muestra, para ello requerimos que las moléculas deben tener una carga eléctrica neta para ser separadas, en ocasiones las moléculas se cargan negativamente mediante la adición de un detergente aniónico o un tampón que contiene iones, también se considera el tamaño molecular más grande se desplaza con lentitud a comparación de las moléculas de menor tamaño, se debe considera que el campo eléctrico se aplica a través del medio de separación para que se pueda producir un campo eléctrico que permita la movilización de las moléculas a través del gel, por su parte



para poder detectar las moléculas se debe teñir los geles o implementar técnicas de detección específicas como puede ser la hibridación de ácidos nucleicos o la inmunodetección, así mismo se debe tener en cuenta el medio en que se realizara la técnica, los geles más comunes son los de agarosa y poliacrilamida (EDVOTEK, 2016).

Cuando se realiza la electroforesis en gel puede ser utilizada para separar moléculas o fragmentos de moléculas de ácidos nucleicos, son colocados en un espacio o cubeta de electroforesis, hasta que queden completamente sumergidos en un tampón con pH de 8, con ello las moléculas tanto de ADN o ARN comenzaran a ser desplazadas al polo positivo, debido a que el pH es superior a 5 poseen carga negativa. De manera generar los geles se comportan como un tamiz molecular, lo que permite separar moléculas cargadas en función a su tamaño y forma, la distancia recorrida por cada fragmento será inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular, se debe contemplar el implementar marcadores de un tamaño conocido para que pueda permitir calcular los pesos moleculares de las muestras (Padilla, et al., 2014).

Para poder leer el resultado se puede implementar bromuro de etidio para intercalarlo con las bases de ADN, este tinte permite obtener patrones de intensidad de fluorescencia que son digitalizados y analizados de manera visual o mediante software, que al ser expuesto con los rayos ultravioletas permitan fluorescer la sensibilidad que presenta el bromuro es de aproximadamente 30pg por cada muestra o banda y de acuerdo con el grosor. Las moléculas son visualizadas indirectamente cuando los son pigmentado o coloreados por el bromuro de etidio pudiendo tener un color naranja frente a la luz UV, las distintas bandas serán marcadas por su tamaño quedando las de mayor peso retardadas o al inicio de la placa (Montalvo y Lugo, 2016). A partir de la técnica se pueden analizar mezclas de ADN mayores a 20 kb y un máximo de 5Mb esto permite que el análisis de ADN sea intacto permitiendo diferenciar los subtipos de bacterias, considerándose la técnica de oro para dicho proceso (Coto,2014).

Es el conjunto de técnicas que permiten el mantenimiento de las células de manera in vitro lo que permite mantener al máximo sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas, se pueden implementar 4 tipos de cultivos:

- > Cultivo de órganos – permite mantener la arquitectura característica del tejido, lo que conserva las interacciones histológicas, este cultivo permite mantener los tipos celulares diferenciados



- > Cultivo de explantes primarios – se coloca un fragmento del tejido u órgano en la interfase sólido – líquido de un soporte de vidrio o plástico, lo que genera una adherencia a la superficie y genera una proliferación por la superficie del soporte
- > Cultivo celular primario – es el más utilizado por qué se puede obtener a partir de explantes primarios o suspensiones de células disgregadas la cual se realiza por métodos enzimáticos o mecánicos, cuando las células ocupan toda la superficie disponible se dice que han alcanzado la confluencia, existen 2 tipos el primero es el cultivo en monocapa que se genera cuando las células crecen adheridas sobre un soporte sólido sea de plástico o vidrio y el segundo es un cultivo en suspensión en el que las células se encuentran dispersas en el medio de cultivo por lo que su crecimiento no depende del anclaje
- > Cultivo histotípicos y organotípicos – se generan a partir de un solo tipo celular para conseguir una elevada densidad celular mientras que los organotípicos son de varios tipos celulares que interactúan entre sí de una forma que intenta parecerse lo más posible a la original su intención es generar órgano o tejidos completamente funcionales de manera *in vitro*

Los métodos son utilizados para la investigación básica que permite estudiar los fenómenos complejos como la actividad intracelular, el flujo intracelular de las biomoléculas, ecología celular, interacciones celulares, genómica y proteómica. Esto se logra tener control del medio ambiente (Muñoz de Benavides, 2013).

2.8. Diagnóstico de *Rickettsia spp.*

El diagnóstico es basado principalmente en las sospechas clínicas, confirmando con pruebas de laboratorio como puede ser el uso de técnicas serológicas, las cuales son de las más utilizadas para el diagnóstico para la detección de anticuerpos como puede ser mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, la cual se basa en la detección de inmunoglobulinas IgM e IgG tanto en fase aguda como en la convalecencia, localizadas en el suero del paciente, se manifiestan mediante una antiglobulina marcada con fluoresceína que al resultar positivo permite la visualización mediante microscopio de fluorescencia, pero solo puede ser confirmado al realizar una seroconversión, suele generar reacciones cruzadas debido a las diferentes especies de *Rickettsia* o bacterias. Algunos otros métodos como el cultivo suelen ser consideradas como pruebas de referencia, la cual es una técnica muy específica que permite establecer la especie de rickettsia presente en la muestra, pero suele ser un proceso laborioso que solo puede ser



realizado en laboratorios especializados con nivel 3 de bioseguridad, otros métodos diagnósticos son las técnicas de biología molecular como PCR que permite identificar rickettsias en distintos tipos de muestras (sangre, biopsias cutáneas, LCR, exudados, raspado de escaras e incluso garrapatas) comúnmente se analiza el gen *gltA* que codifica la enzima citrato sintetasa (presente en todas las rickettsias) y que codifica también a las 2 proteínas de la membrana externa (OmpA presente en especies del GFM y OmpB presente en todas menos *Rickettsia bellii*) al obtener un resultado positivo se realiza una secuenciación esto permite llegar a la especie implicada (Oteo et al., 2015).

2.8.1. Pruebas de laboratorio para *Rickettsia* spp.

La principal prueba es el cultivo a pesar de ser un procedimiento muy laborioso, las técnicas de serología permiten detectar los anticuerpos como puede ser mediante la inmunofluorescencia indirecta (IFI); sin embargo, estas no permiten la identificación de las especies, mientras que otras solo se basan en la detección de anticuerpos como es la prueba ELISA o Western Blot que no son muy estandarizadas. Las técnicas moleculares como el uso de PCR son el gen *16S ARNr* lo que permite codificar para diferentes proteínas como 17kDa o la *gltA* que se encuentra en todas las especies de *Rickettsia*, así como proteínas de la membrana externa OmpA, OmpB al igual que las de superficie celular como Sca1 y Sca4, la secuenciación de los productos mediante esta técnica así como los otros tipos de PCR (PCR de punto final, PCR en tiempo real, PCR suicida) son la mejor herramienta para la identificación de especies, por su parte la selección de muestras varía con respecto al tiempo de evolución de la enfermedad, se puede utilizar como muestra: sangre, suero, biopsia cutánea de pápulas, recolección de los ectoparásitos, vesícula o hisopados. (Bontti et al., 2021).

2.9. Diagnóstico de *Leptospira* spp.

El diagnóstico se confirma mediante pruebas de laboratorio aunque este puede llegar a ser complejo ya que se utilizan pruebas que permiten detectar los anticuerpos antileptospiras así como la presencia de antígenos o ácidos nucleicos de leptospiras a partir de una muestra significativa, en este caso el aislamiento y la detección se obtiene de muestras de órganos internos como el hígado, pulmón, cerebro o riñones así mismo de los líquidos corporales como la sangre, leche, líquido cerebroespinal, líquido peritoneal de animales infectados, lo que determinaría un diagnóstico definitivo de la enfermedad clínica mientras que una muestra de feto sería para las infecciones crónicas en las madres (Ordóñez, Andrade, 2018).

2.9.1. Pruebas de laboratorio para *Leptospira spp.*

Las técnicas de tinción inmunoquímicas suelen ocupar muestras patológicas que son inadecuadas para realizar cultivos o en caso de requerir un diagnóstico rápido, son poco implementadas cuando se tienen portadores crónicos, ya que la técnica en si depende del número de microorganismos presentes para que pueda ser exitosa, por lo anterior los métodos para la detección del ácido nucleico se emplean pruebas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) siendo utilizada por su alta sensibilidad, así como la capacidad que tienen para generar un diagnóstico temprano, sin embargo no suele ser una prueba de rutina ya que dependerá de la presencia de genes que suelen estar presentes en las bacterias (como *gryB*, *rrs* o *secYo*) o de genes restringidos a las especies (como *lipL21*, *lipL32*, *lip1*, *ligA* y *Lig1AB*), por su parte las pruebas serológicas constituyen el procedimiento de laboratorio más utilizado sobre todo para poder confirmar, determinar la prevalencia y para poder realizar el estudio en un mayor número de animales, como puede ser la prueba de microaglutinación (MAT) la cual es una de las más utilizadas debido a que es un ensayo sencillo de realizar, consistiendo en enfrenar los sueros problema con suspensiones de antígenos de leptospiras, requiere preferentemente antígenos que sean representativos de acuerdo a la incidencia del lugar o bien que todos los serogrupos sean conocidos, lo que le permite tener una mayor sensibilidad ayudando así en la interpretación de resultados, sin embargo, esta prueba no puede ser implementada para identificar definitivamente la identidad del serotipo infectante, teniendo como mayor complicación las reacciones cruzadas, por su parte la prueba de enzimoimmunoanálisis (ELISA) pueden estar diseñadas a base de OMP o Lipopolisacáridos lo que permite aumentar la especificidad, ampliando la reacción contra anticuerpos de todas las leptospiras patógenas o siendo específico de un serogrupo lo que disminuye su validación, requiriendo en la mayoría de los casos ser respaldada al realizar MAT (OIE,2022).

2.10. Diagnóstico de *Bartonella spp.*

Anteriormente el diagnóstico se basa en la evidencia de signos clínicos, antecedentes de exposición a felinos domésticos a la falla en el aislamiento de otras bacterias o en el examen histológico de biopsias de ganglios linfáticos, así mismo se puede aislar el patógeno de sangre de reservorios naturales donde prevalece la bacteriemia entre el 10% – 20% sobre todo en felinos silvestres o coyotes y hasta en un 95% en los bovinos o ciervos (Hernández et al., 2001).

2.10.1. Pruebas de laboratorio para *Bartonella spp.*

No existe un diagnóstico de elección para estos patógenos, pero cada método permite demostrar o no su presencia. Para el caso del examen histológico se puede implementar la tinción de Warthin-Starry, al igual que hematoxilina eosina y la de naranja de acridina, utilizando como muestras biopsia de ganglios, válvulas cardíacas o piel, en el caso del cultivo se realiza por hemocultivo, siembra directa en medio sólido o en cultivo celular teniendo como muestra sangre o biopsias es un método de baja sensibilidad por su difícil crecimiento. Por su parte los métodos moleculares son de mayor especificidad, requieren el uso de cebadores o sondas diseñadas para el reconocimiento del agente, es recomendando utilizar tejidos como muestras para esta clase de estudios ya que la sangre y otros fluidos no se presentan volúmenes adecuados de la enfermedad, haciendo que sean muestras no representativas (Malbrán, 2018).

2.11. Diagnóstico de *Borrelia spp.*

Se realiza en primera instancia con el antecedente de la mordedura de un ectoparásito sobre todo si es por garrapata, así como presentar alguna manifestación clínica compatible con la enfermedad, en caso de existir un tratamiento previo de antimicrobianos puede evitar el desarrollo de anticuerpos dificultando la confirmación microbiológica, con respecto a los cultivos suelen ser laboriosos teniendo hasta 12 semanas en observación de fácil contaminación y específico que requieren medios enriquecidos suelen ser realizados únicamente en laboratorios de referencia (Portillo et al., 2014).

2.11.1. Pruebas de laboratorio de *Borrelia spp.*

Se implementan métodos de serología para la detección de anticuerpos específicos (IgM e IgG) o técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) implementando diferentes fragmentos de genes como *OspA*, *OspB*, *p66*, *rrs*, *flaB*. Esta última es una técnica que presenta una alta sensibilidad para la detección de especies y también en la que se pueden utilizar diversas muestras, siendo preferente el líquido cefalorraquídeo o líquido sinovial. Por su parte los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) o de inmunofluorescencia (IFA) contienen múltiples antígenos lo que hace que sean poco específicos a pesar de su alta sensibilidad, los resultados deben ser corroborados con prueba de Western Blot para la identificación de bandas proteicas que permiten validar un resultado positivo, el número de bandas dependerá de inmunoglobulinas que se analicen, esto permite conocer la respuesta inmune ante la infección activa, si solo se detectan bandas de IgM se considera como un falso positivo,



debido al tiempo de exposición de las muestras que se presentan después de un mes de la infección (Cortes et al., 2021).

2.12. El principal marsupial de México

El tlacuache (tlakuakilotl en náhuatl) como mejor se le reconoce en México, presenta una amplia variedad de nombres con respecto a la región en la que se encuentren, siendo llamados como zarigüeyas/opossum principalmente en Estado Unidos y partes de Panamá, como zorra, zorro pelón o zorro cola pelada en (Costa Rica, Nicaragua), como raposa en Ecuador, comadreja en Uruguay, como carachupa en Bolivia, muca en Perú y como chucha, faro, runcho o yaguar en Venezuela y Colombia. Son mamíferos terrestres, clasificados al mismo tiempo como marsupiales didelfimorfo pertenecientes a la familia *Didelphidae*, los primeros restos fósiles fueron encontrados en rocas que datan del periodo cretácico, actualmente se distribuyen por toda América central y Suramérica en regiones de altas montañas, bosques costeros e inclusive desierto (Arteaga, 2017).

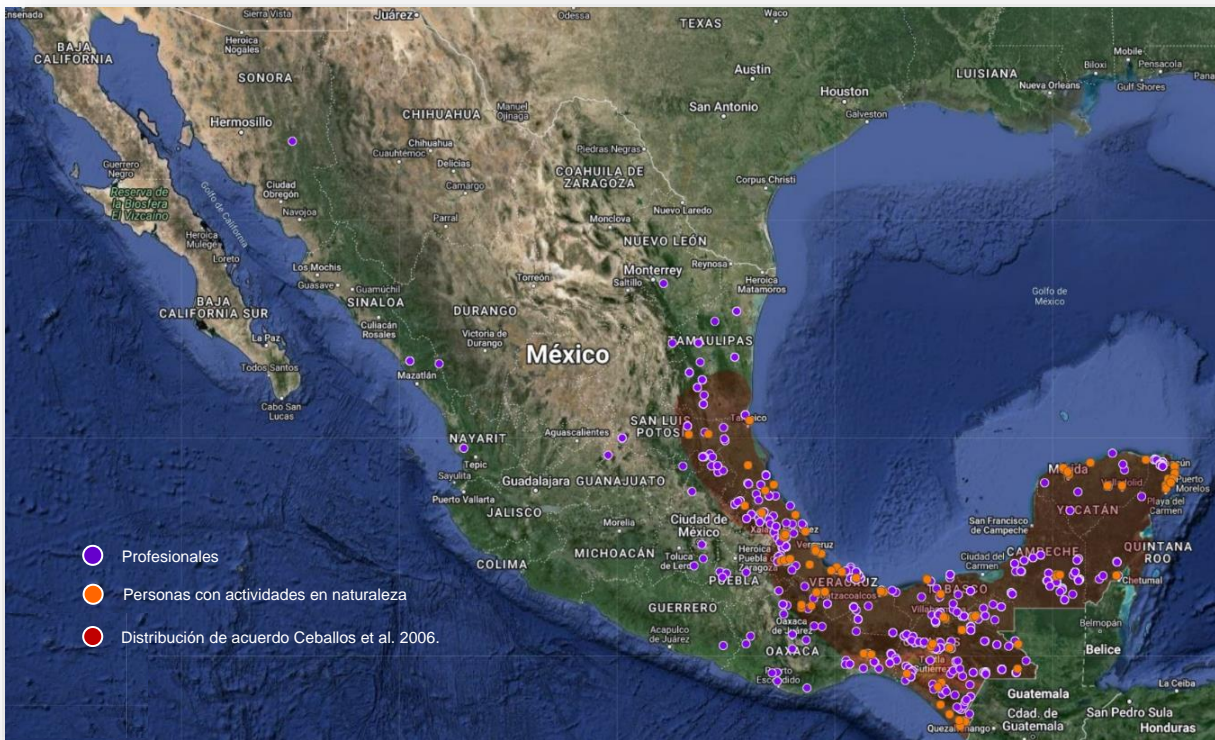
En México habitan 8 especies siendo a su vez subdivididas en 7 géneros: tlacuache lanudo (*Caluromys derbianus*), tlacuache de agua (*Chironectes minimus*), tlacuache ratonero (*Marmosa mexicana* y *mayensis*), tlacuache yupatí (*Metachirus nudicaudatus*), tlacuache cuatro ojos (*Philander oposum*), tlacuachín (*Tlacuatzin canescens*) y tlacuache común (*Didelphis* que puede ser *virginiana* o *marsupiales*) como se puede observar en la figura 3. Todas se encuentran distribuidas únicamente en 24 estados de la república con la excepción de Baja California norte y sur, Durango, Zacatecas y Chihuahua en los cuales no se tienen registros oficiales (Rivas, 2020).

Figura 3 Ejemplar adulto del género *Didelphis marsupialis* mejor conocido como tlacuache o zarigüeya recién ingresado a la URRRS



El estudio de su distribución es complementado con los avistamientos registrados hasta el año 2021 en la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) como se muestra en la figura 4.

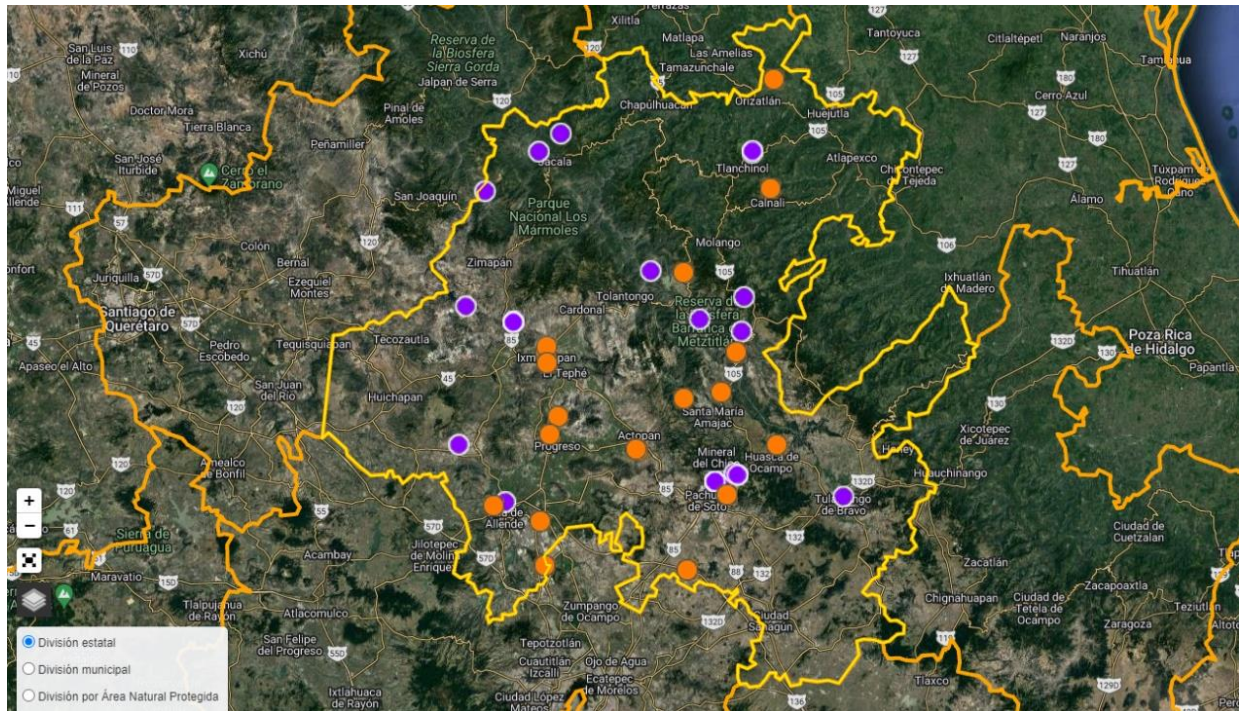
Figura 4 Mapa de la distribución y avistamientos del género *Didelphis marsupialis* en México



Los puntos de color morado representan los registros de avistamiento realizado por profesionales, mientras que los de color naranja son los registros de personas que realizan actividades cercanas a la naturaleza como fotógrafos o senderistas y en color rojo se representan las zonas de distribución del género *Didelphis marsupialis* de acuerdo con el estudio de Ceballos et al. 2008. (CONABIO, 2021).

A través del Sistema Nacional de Información Sobre Biodiversidad (SNIB) presentan 4,911 registros a nivel nacional y teniendo no más de 100 registros en el estado de Hidalgo en la actualidad (figura 5).

Figura 5 Mapa de avistamientos del género *Didelphis marsupialis* en el estado de Hidalgo



Los registros también se representan mediante puntos de color morado cuando son realizados por profesionales, mientras que los de color naranja son los registros de personas que realizan actividades cercanas a la naturaleza como fotógrafos o senderistas y las líneas de color amarillo delimitan al estado de Hidalgo de los estados colindantes que se encuentran remarcados con líneas de color naranja (CONABIO, 2021).

En general son animales nocturnos con hábitos arborícolas en su etapa juvenil apoyados por una cola prensil que les permite cargar todo su peso al transportarse por las ramas de los árboles y terrestres en su etapa adulta que permitió desarrollar una adaptación de un pulgar oponible en las patas traseras, su peso va de los 60 g hasta los 5 kg según la especie. Los géneros *Didelphis*, *Philander* y *Chirnectes* tienen un marsupio bien desarrollado, no obstante, en el caso de las especies *metachirus*, *marmosa* y *tlacuatzin* está ausente, esto junto a un periodo de gestación incompleto es lo que les caracteriza como marsupiales. El periodo de gestación oscila entre los 10 - 45 días dependiendo de la especie, después de este tiempo las crías nacen de forma embrionaria y realizan una migración hacia el marsupio que es un tipo de bolsa que les brinda protección contra patógenos, así como eventos climáticos adversos, ya en el interior se adhieren a las glándulas mamarias hasta completar su desarrollo que varía entre los 70 - 120 días para ser totalmente independientes. Solo una de estas especies *Didelphis virginiana* logra realizar tanatosis, el cual es un método de defensa pasivo que se caracteriza por el hecho de aparentar estar muerto, es también una de las especies con mayor adaptación a las áreas antropizadas por lo que su contacto con animales domésticos y humanos es mayor generando que la trasmisión de patógenos se facilite (Cruz, 2012).

El promedio de vida de estos animales es de 2 a 5 años, durante ese tiempo se encontrarán solos con excepción de las épocas de reproductivas el cual se ve directamente influido por el fotoperiodo siendo marcadamente estacionales incrementando el porcentaje de hembras preñada en los inicios de estaciones húmedas. Su rango de distribución es de 0.2 Ha en hembras y 3.0 Ha en machos viviendo preferentemente en zonas periurbanas con variaciones según la especie y debido a que son poco selectivos al comer se les considera como omnívoros que se alimentan de forma oportunista en la mayor parte de su vida adulta donde incluyen desde vertebrados hasta carroña, por su parte cuando son jóvenes manejan una dieta basada principalmente en insectos y plantas (Flórez y Vivas, 2020).

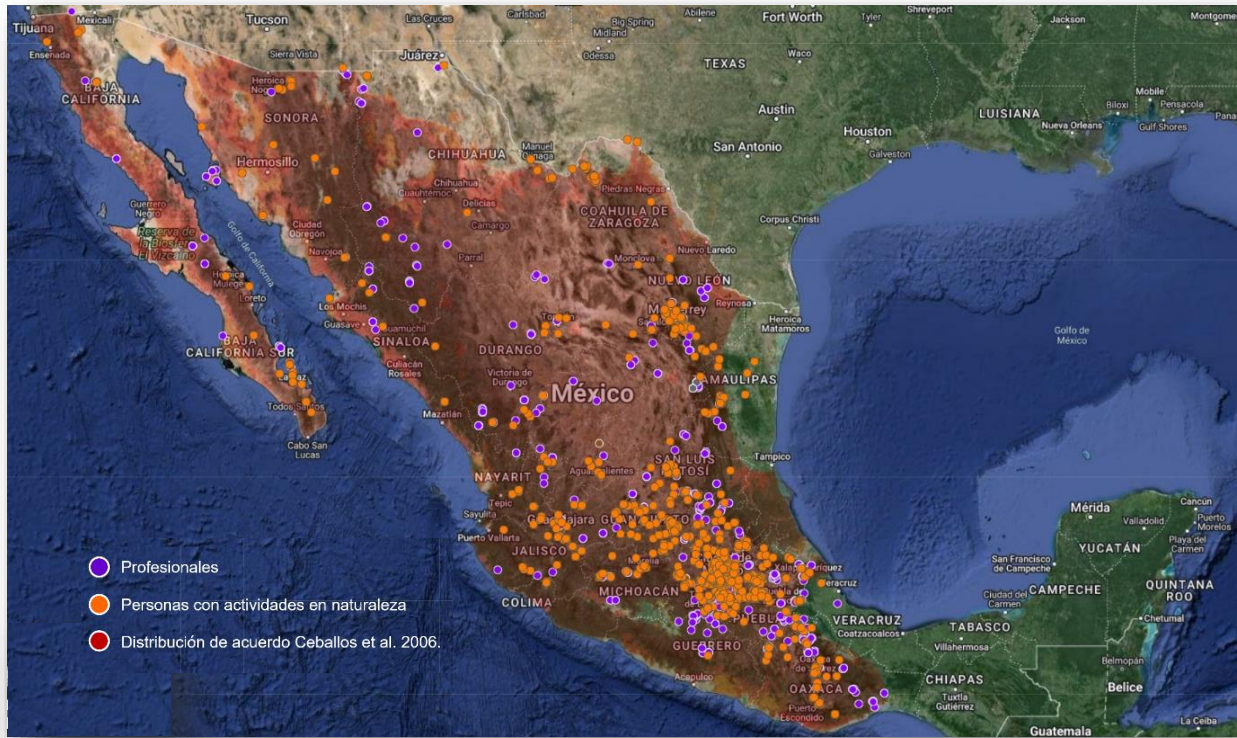
2.13. Mamífero distintivo de México

En 1887 fue descrito por primera vez por el estadounidense Elliott Coues proponiendo el término “*bassarisk*” para agrupar a los animales de este género (Milo,2022), sin embargo, el cacomixtle se ha denominado claco, tlaco, medio o miztli en náhuatl, pero también como rintel, basáride o basarisco dependiendo del país. Es un mamífero de la familia *Procyonidae* que presenta solo 2 especies *Bassariscus sumichrasti* y *B. astutus* los cuales se distribuyen desde Estados Unidos hasta México (Moncada, 2014); aunque se han realizado registros que indican que la distribución geográfica de la especie *B. sumichrasti* está restringida únicamente a Centroamérica teniendo que en México se presentan desde Guerrero hasta el sur de Veracruz y en el oeste de Panamá abarcando Guatemala, Belice, Nicaragua, El Salvador y Costa Rica (Sánchez Herrera et al.,2015).

En México su distribución se encuentra prácticamente en todos los estados de la república desde Baja California hasta Oaxaca e inclusive en muchas áreas de la Ciudad de México (sobre todo en alcaldías como Tlalpan, Álvaro Obregón, Cuajimalpa y Coyoacán) preferentemente en zonas rocosas o áridas, hasta el momento únicamente las subespecies de *B. astutus insulicola* y *B. saxicola* se menciona en el listado de la NOM-059-SEMARNAT-2010 con categoría de especies amenazadas y con distribución endémica en el país (Cisneros y Martínez, 2019). Por su parte la especie de cacomixtle tropical (*B. sumichrasti*) a diferencia de su congénere habita en selvas altas, selvas medianas perennifolias, bosques mesófilos de montaña y las áreas húmedas, densas de bosques sobre todo de encino pino, presentes a nivel del mar hasta los 2.900m. de altitud (Villarreal et al., 2012).

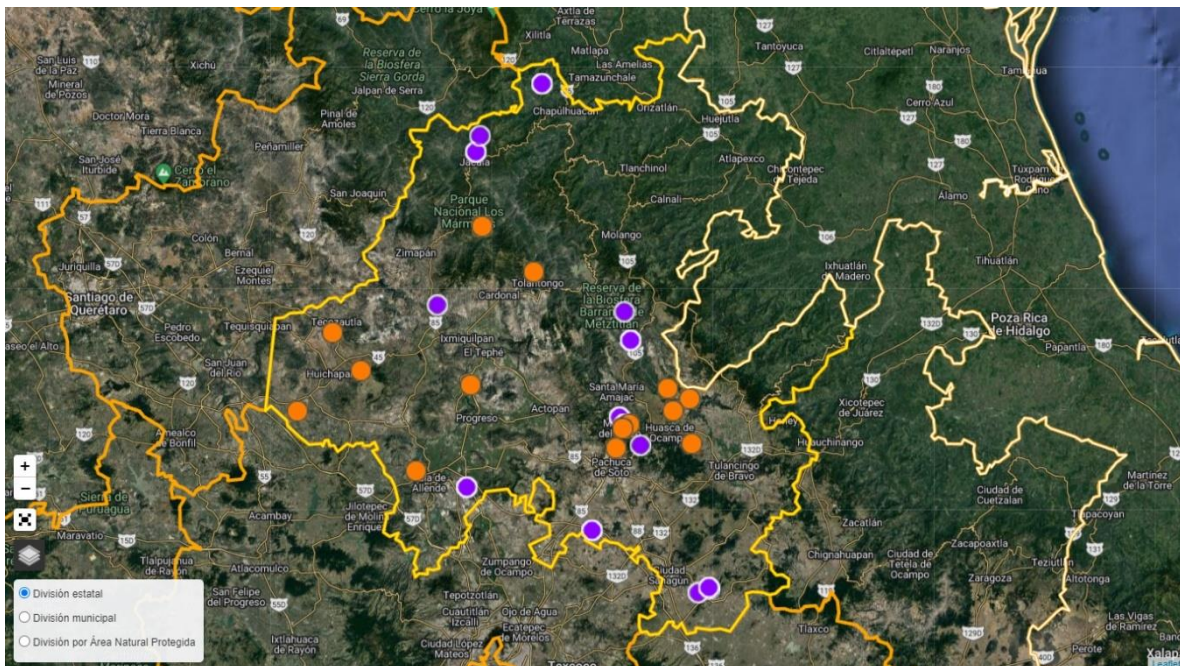
La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) a través del Sistema Nacional de Información Sobre Biodiversidad (SNIB) tienen en la actualidad 3,343 registros a nivel nacional como se muestra en la figura 6, los puntos de color morado representan los registros de avistamiento realizado por profesionales, mientras que los de color naranja son los registros de personas que realizan actividades cercanas a la naturaleza como fotógrafos o senderistas y en color rojo se representan las zonas de distribución del género *Bassariscus astutus* de acuerdo con el estudio de Ceballos et al. 2008 (CONABIO,2021).

Figura 6 Mapa de la distribución y avistamientos de la especie *Bassariscus astutus* en México



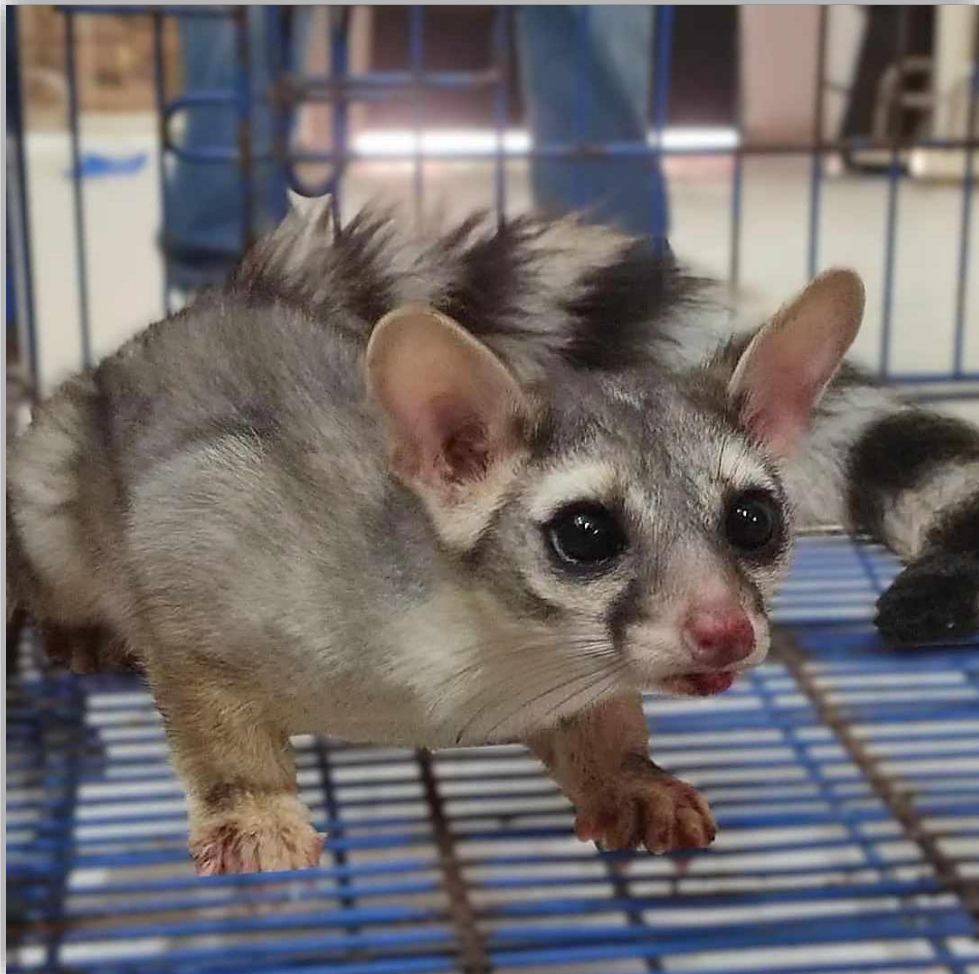
Se tienen un estimado de 200 registros en el estado de Hidalgo (figura 7), estos valores son un estimado de la población total presente en el país, sin embargo, permiten generar un panorama de la amplitud que puede llegar a tener esta especie (CONABIO,2021).

Figura 7 Mapa de los avistamientos de la especie *Bassariscus astutus* en el estado de Hidalgo



Llegan a medir entre 60 a 80 cm con un peso que va de los 700 g hasta los 1.500 kg en adultos; visualmente se asemejan a un gato pequeño pero se distingue por una cola esponjosa que presenta de 7-8 anillos negros, esta puede llegar a ser similar al tamaño del cuerpo; pose ojos grandes rodeados por anillos negros o marrón, orejas que pueden ser redondeadas en el caso de *B. astutus* como (figura 8) o sin redondear ligeramente puntiagudas en el género *B. sumichrasti*, un pelaje dorsal grueso que generalmente es de color gris con tonos marrones o amarillos; y emite una gran variedad de sonidos casi similar a los que llegan a realizar los mapaches (Medellín, 2020).

Figura 8 Ejemplar adulto de la especie *Bassariscus astutus* adulto recibido en la URRRS.



En general son animales nocturnos, tímidos, solitarios que suelen juntarse únicamente para el apareamiento, se desplazan bien tanto por tierra como a través de los árboles debido a que sus articulaciones llegan a ser tan flexibles que las presentes en sus tobillos pueden girar a más 180° grados permitiéndoles trepar con mayor facilidad, sus miembros anteriores cuentan con 5 dedos, un cojinete plantar y subplantar en el dedo meñique, los miembros posteriores son similares pero sin cojinete subplantar, en algunas especies como *B. astutus* (figura 9) las garras pueden ser retráctiles siendo distintivo de la especie, con respecto a su reproducción es principalmente en primavera con una gestación que va de los 45 - 50 días, llegando a tener hasta 4 cachorros por camada, su alimentación es variada haciéndolos animales omnívoros, pero su alimentación puede llegar a ser más estricta con respecto a su hábitat pudiendo tener como principal alimento la vegetación, pequeños mamíferos, artrópodos e incluso aves (Vargas, 2018).

Figura 9 Manejo de 2 ejemplares juveniles de *Bassariscus astutus* dentro de un biosimulador de la URRRS.



3.0. Justificación

Los animales que son ingresados en la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México pueden presentar agentes infecciosos con posibilidad de zoonosis, debido a la interacción natural que existe entre los ejemplares y los vectores como son las garrapatas. En caso de confirmar la presencia de agentes infecciosos como *Rickettsia spp.*, *Bartonella spp.*, *Leptospira spp.* o *Borrelia spp.* a través de las muestras sanguíneas se establecería que no existe un tratamiento específico para dichos patógenos, lo que estaría generando una resistencia, los resultados de estos análisis servirán como promotores para iniciar protocolos de prevención de enfermedades zoonóticas y contribuir al conocimiento que se tiene sobre su asociación con las especies silvestres como tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) y cacomixtles (*Bassariscus astutus*).



4.0. Hipótesis

Existe la presencia de al menos un patógeno transmitido por vector en tlacuaches y cacomixtles provenientes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México, y con una frecuencia de infección de al menos 7% de alguna de estas especies, siendo infectadas por enfermedades que son transmitidas por vectores.

5.0 Planteamiento del problema

Establecer la presencia de agentes patógenos transmitidos por vectores en animales silvestre provenientes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México, particularmente las especies de tlacuaches y cacomixtle que estén infectados por ectoparásitos.

6.0. Pregunta de investigación

¿Existe la presencia de enfermedades transmitidas por vector en tlacuaches y cacomixtles provenientes de la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México en Hidalgo?



7.0. Objetivo general

Realizar una búsqueda intencionada de 4 agentes infecciosos transmitidos por vector (*Rickettsia spp.*, *Bartonella spp.*, *Leptospira spp.*, *Borrelia spp.*), mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en todas las especies de tlacuaches y cacomixtles que lleguen a la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México.

8.0. Objetivos específicos

1. Realizar toma de muestra sanguínea a todas las especies de tlacuaches y cacomixtles que se presenten a la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre Endémica y Exótica de México durante el periodo julio 2022 a mayo de 2023.
2. Realizar la extracción y valoración del ADN de cada una de las muestras.
3. Analizar mediante la técnica de PCR en cada muestra la presencia de *Rickettsia spp.*
4. Analizar mediante la técnica de PCR en cada muestra la presencia de *Bartonella spp.*
5. Analizar mediante la técnica de PCR en cada muestra la presencia de *Leptospira spp.*
6. Analizar mediante la técnica de PCR en cada muestra la presencia de *Borrelia spp.*
7. Analizar y correlacionar los resultados obtenidos.

8.0. Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, analítico y comparativo obteniendo 24 muestra de tlacuaches silvestres (*Didelphis marsupialis*.) y 7 muestra de cacomixtles silvestres (*Bassariscus astutus*) en un periodo de 10 meses en 2 años distintos, el primero en los meses de agosto a diciembre del 2022 y el segundo en los meses de enero a junio del 2023, tanto las muestras como los datos de las especies silvestre fueron proporcionadas por la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre, Endémica Y Exótica de México (URRRS); además se obtuvieron 58 muestras de ADN de tlacuaches extraídas en el mes de octubre del 2019, proporcionadas por el Laboratorio Clínico Especializado BioGeneTicks, ambas instituciones localizadas en el estado de Hidalgo, generando así un total de 89 muestras.

La extracción de ADN para todas las muestras y amplificación para cada bacteria se realizó en el Laboratorio Clínico BioGeneTicks, en el que cada muestra fue seleccionada siguiendo los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión: todas aquellas muestras provenientes de ejemplares de tlacuaches o cacomixtles silvestres que presenten un buen estado de salud o bien se encuentren en un estado desahuciado y de los cuales se conozca el lugar de origen, peso, sexo, estado actual, así como la estimación de su edad
- Criterios de exclusión: todas aquellas muestras que provengan de ejemplares domésticos o que se encuentren con un estado de salud crítico
- Criterios de eliminación: muestras sin información o que sean de difícil identificación

Es poco lo que se sabe de las poblaciones de tlacuache y cacomixtle, ya que los porcentajes establecidos por la procuraduría federal de protección al ambiente (PROFEPA) estima que en México al redor de un 30% de los animales que existen en el país son mamíferos, conformado a su vez por 5,420 especies endémicas del país que incluyen 1,229 géneros, 154 familias y 29 órdenes (PROFEPA, 2020). No obstante, algunos estudios realizados en zonas específicas pueden apoyar con el análisis estimado de población, como es el caso del parque nacional el Chico el cual es un área natural protegida que a pesar de su reducida extensión presenta el 23.8% de mastofauna de la cual el 74.5% del registro fotográfico que se realizó pertenece a la especie de cacomixtle y dentro del 25.5% se encontraron registros de tlacuaches (Hernández, y Rojas, 2010).

Lo anterior permitió establecer la muestra finita con la siguiente formula:

$$N_c = \frac{N}{1 + \frac{N}{PT}}$$

N: tamaño de muestral calculado

Nc: tamaño de muestral corregido

PT: tamaño de la población

Se obtuvo un porcentaje de confianza del 95%, con una proporción poblacional infinita, y una precisión de la estimación α 0.05, requiriendo un tamaño de muestra mínima de 89 ejemplares para ser estadísticamente significativo.

9.0. Metodología

El análisis de las 31 muestras proporcionadas por la Primera Unidad de Rescate, Rehabilitación y Reubicación de Fauna Silvestre, Endémica Y Exótica de México se implementó la siguiente metodología:

9.1.1. Toma de muestras sanguíneas

Las muestras se recolectaron en microtainer BD® (tapa lila con EDTA) preferentemente por la vena coccígea y en caso de no lograr canalizarla, se obtenía directamente en yugular, posteriormente fueron colocadas en refrigeración con temperatura de 4° - 5°C posteriormente se colocaban en congelación, el volumen de sangre obtenido de cada ejemplar fue de acuerdo con la relación del peso, por lo que en cada una de las recolectas solo se podía obtener entre 1 – 2 % del peso corporal de los ejemplares, para no afectar la salud o recuperación de los mismos, permitiendo así el proceso de adaptación para que al término de este sean reubicados en una zona natural protegida de la región.

Los datos recopilados de cada cacomixtle a los que se le realizó la toma de muestra sanguíneas incluyeron: el sexo, la fecha en que ingresó a la institución, lugar de origen, fecha del muestreo, peso, estado nutricional, nombre o folio con el que se identificaba en la unidad, presencia de ectoparásitos, cantidad de ectoparásitos y la edad que se estimó con respecto al tamaño y peso de cada ejemplar.



9.1.2. Recolección de muestras sanguíneas en Tlacuaches silvestres

La recolección de muestras se realizó a través de la vena coxígea con el objetivo de disminuir el estrés, siendo útil para aquellos ejemplares que tenían alta probabilidad de ser liberados, como segunda opción se utilizó la vena yugular o cefálica, sin embargo, incrementaba el estrés en los ejemplares debido a la posición en las que se debía manipular, por lo que solo se implementó para aquellos ejemplares con poca probabilidad de supervivencia. Se utilizaron jeringas de 1 ml o de 3 ml con aguja de calibre 27 x 13 mm o de 21G x 40 mm de acuerdo con la edad estimada del ejemplar, la sangre se recolectaba en microtainer (tapa lila/morada) con capacidad de 0.5 ml.

9.1.2.1. Procedimiento

Los ejemplares eran pesados mediante una báscula electrónica de la marca pretul, siendo colocados en cajas de plástico transparentes que permitiera visualizarlos (figura 10).

Figura 10 Pesaje de un tlacuache (*Didelphis marsupialis*) adulto en una transportadora de plástico transparente para una mejor visualización del ejemplar



Después se inmovilizaban mediante contención física, utilizando guantes de carnaza o lazador para perros en los ejemplares con peso de 1 kg o más; se sujetaban los miembros posteriores, así como la cabeza, tratando de incluir la parte del cuello para dar mayor soporte (figura 11).

Figura 11 Contención física de un tlacuache (*Didelphis marsupialis*) adulto, se debe utilizar la mano dominante para sostener la cabeza y con la otra tomar los miembros posteriores.



Figura 12 Toma de muestra sanguínea de la vena coccígea de un tlacuache (*Didelphis marsupialis*) juvenil, el soporte en la cola es importante para evitar movimientos que puedan



Posteriormente eran limpiados vigorosamente con VeteriBac® y alcohol en la zona de venopunción (vena coccígea), lo siguiente era localizar el vaso sanguíneo para insertar la aguja en dirección proximal en ángulo recto, inmovilizando por completo la cola como se muestra en la figura 13 y figura 14.

Figura 13 Contención física en un ejemplar de tlacuache (*Didelphis marsupialis*) adulto, posicionándolo en decúbito dorsal para la recolección de muestra sanguínea por vena coccígea, en la URRRS.



Figura 14 Contención física de un tlacuache (*Didelphis marsupialis*) juvenil, posicionándolo en decúbito ventral para punción de vena coccígea.



La extracción de la sangre se realizaba de manera continua obteniendo un volumen mínimo de 0.3 ml para ejemplares que no podían ser inmovilizados en su totalidad, aquellos que pesaban menos de 0.500 kg o que se encontraban en estado crítico, mientras que el volumen máximo fue de 0.5 ml para ejemplares en buen estado de salud o adultos; Por último se colocó la muestra en un microtainer BD® con EDTA y se mezcló suavemente de manera uniforme, se realizó presión en la zona de punción hasta que ya no se observa salida de sangre (aproximadamente 5 min) se rotuló cada tubo con el número de muestra junto con la letanía de T.C. como se muestra en las figuras 15 y 16.

Figura 15 Identificación de muestra de tlacuache (*Didelphis marsupialis*) juvenil en la URRRS.



Figura 16 Identificación de muestra de tlacuache (*Didelphis marsupialis*) juvenil con foto del ejemplar para un mejor control de datos



9.1.3. Recolección de muestras sanguíneas en *Cacomixtles* silvestres

Para la toma de muestra de estos ejemplares se realizó a través de la vena cefálica o safena, ya que permite disminuir el estrés se implementó en los ejemplares que tenían alta probabilidad de ser liberados (figura 14), otra opción fue la vena yugular o coxígea pero estas zonas aumentaron el estrés en los ejemplares debido a la posición en la que se tenían que colocar para realizar la extracción, es por ello que estas zonas de punción se ocuparon para aquellos ejemplares con poca probabilidad de supervivencia. El material que se ocupó fue jeringas de 1 ml con aguja de calibre 27G x 13 mm o se podían ocupar catéter de calibre 23G debido a que tanto la piel como los vasos sanguíneos son de fácil ruptura sobre todo si los ejemplares se encuentran deshidratados, la sangre se recolecto en microtainer (tapa lila/morado) con capacidad de 0.5ml.

9.1.3.1. Procedimiento

Los ejemplares se pesaban en trasportadoras de plástico transparentes en una báscula electrónica pretul (figura 17) permitiendo visualizar al ejemplar durante el proceso de pesaje.

Figura 17 Pesaje de un cacomixtle (*Bassariscus astutus*) juvenil en transportadora de plástico transparente



Posteriormente se inmovilizaron utilizando guantes de carnaza, se sujetaron de los miembros posteriores, así como la cabeza incluyendo parte del cuello para dar mayor soporte como se muestra en la figura 19 y figura 20.

Figura 18 Manejo mediante contención física en un ejemplar de *Bassariscus astutus* juvenil para toma de muestra sanguínea mediante la vena safena



Figura 19 Demostración de una contención física adecuada de un ejemplar de *Bassariscus astutus* para realizar toma de muestra o exploración física, la mano dominante debe sostener la cabeza, mientras que la otra debe sostener los miembros posteriores.



Figura 20 Contención física en ejemplar de *Bassariscus astutus* adulto que puede ser utilizada para la evaluación clínica y toma de muestra sanguínea



Se colocó un torniquete y se limpió vigorosamente con alcohol, de ser posible eran rasurados, tras localizar el vaso sanguíneo se insertó la aguja en dirección proximal en un ángulo superficial respecto a la piel al localizarlo se retiraba el torniquete para hacer la extracción de sangre de manera continua (figura 21), el volumen mínimo que podía ser recolectado era de 0.3 ml para ejemplares que no podían ser inmovilizados, que pesaban menos de 0.500 kg o que se encontraban en estado crítico y el volumen máximo era de 0.5 ml para ejemplares adultos, que se encontraban en buen estado de salud (figura 22). Por último, la sangre se depositaba en un microtainer BD® con EDTA mezclando suavemente de manera uniforme, se realizaba presión en la zona de punción (aproximadamente durante 5 min) y finalmente el tubo era rotulado con el número de muestra, así como la letanía de C.C.

Figura 21 Toma de muestra sanguínea en un ejemplar de *Bassariscus astutus* juvenil mediante la vena cefálica



Figura 22 Demostración de contención física de un ejemplar de *Bassariscus astutus* juvenil con buen estado de salud y evaluación de estructuras de la parte craneal



9.1.4. Protocolo implementado para la extracción de ADN

9.1.4.1. Materiales y Equipos

- Kit Omega BIO – TEK
- Tubos de microcentrífugas de 1.5 ml
- Pistilo estéril
- Columnas de recolección con filtro y sin filtro
- Micropipetas de 10, 100 y 1000 µl - Eppendorf®
- Rack para tubos de microcentrífuga
- Termobloque termomix - Eppendorf®
- Centrifuga refrigerada - Eppendorf®
- Agitador vortex marca DLAB
- Espectrofotómetro NanoDrop - Thermo scientific™

9.1.4.2. Método

Se comenzó con aquellas muestras que estaban en Microtainer BD® de tapa lila que contenían más 0.3ml de sangre, las cuales fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 min, al finalizar se separó el plasma y la capa leucocitaria en tubos de microcentrífuga (figura 23).

Figura 23 Identificación de muestras para la extracción sanguínea, al igual que la separación de capa leucocitaria para el proceso de extracción usando el kit Omega BIO-TEK



Después se limpió el área para iniciar el proceso de extracción, pasando 250 μ l de la capa leucocitaria a un tubo de microcentrífuga nuevo, para las muestras que contenían un valor de 0.3ml o menor se realizaron con el procedimiento directo en el microtainer BD® (figura 24) y las muestras que contenían coágulos fueron colocadas entre 5 a 10 min en la incubadora a 65°C para realizar la destrucción del coágulo con ayuda de un pistilo (figura 25).

Figura 24 Administración de reactivos del kit a cada una de las muestras para el proceso de extracción de ADN



Figura 25 Destrucción de coágulo mediante un pistilo, permitiendo incrementar el volumen de la muestra y mejorar la cantidad de ADN en la extracción



Posteriormente se realizó la medición de sangre y Buffer BL para que fueran exactamente iguales en cantidad, el resto de las muestras se les adiciono 250 μ l de solución Buffer BL más 15 μ l de proteinasa K (soluciones proporcionadas por el Kit Omega BIO-TEK) incluidas aquellas con coágulos o con menor volumen.



Se mezclaron a través de un vortex por 10 s (figura 26), se incubo por 15 min a 65°C en el termobloque, pasado el tiempo se agregó 500µl de alcohol etílico, mezclando nuevamente con apoyo del agitador vortex durante 15 s, nuevamente fueron colocadas a incubar en el termobloque; después se pasaron 750µl a una columna de recolección con filtro previamente rotulada con el número de muestra y se centrifugaron durante 1 min a 10000 rpm al finalizar se eliminó el material presente en la columna recolectora sin filtro, terminado el proceso de centrifugación se inició con los lavados con 500µl de solución Buffer HBC (solución presente en el kit Omega BIO-TEK).

Figura 26 Utilización del vortex para la homogenizar de la muestra con los reactivos del kit.



A continuación, se centrifugó a 12000 rpm por 1 min eliminando el excedente presente en la columna de recolección sin filtro, para el ultimo lavado se agregaron 750µl de solución Wash Buffer (solución presente en el kit Omega BIO-TEK) siendo centrifugado a 13000 rpm por 1 min realizando por duplicado, pero con la columna vacía.



Por último, se colocó la columna de recolección con filtro en un tubo de microcentrifuga nuevo se agregó 200µl de solución Elution Buffer a 65°C y se dejó reposar por 5 min con la solución, se realizó una última centrifugación a 13000rpm durante 1 min, pasado el tiempo se colocó en un tubo de microcentrifuga previamente rotulado, la lectura y evaluación de la calidad del ADN extraído fue obtenido de 1µl en el espectrofotómetro NanoDrop™ (figura 27 y 28).

Figura 27 Medición y análisis del ADN previamente filtrado

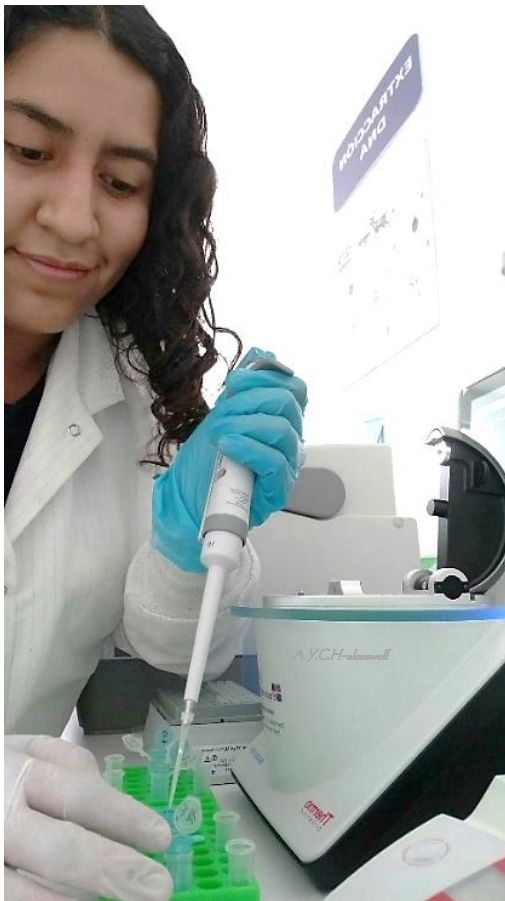
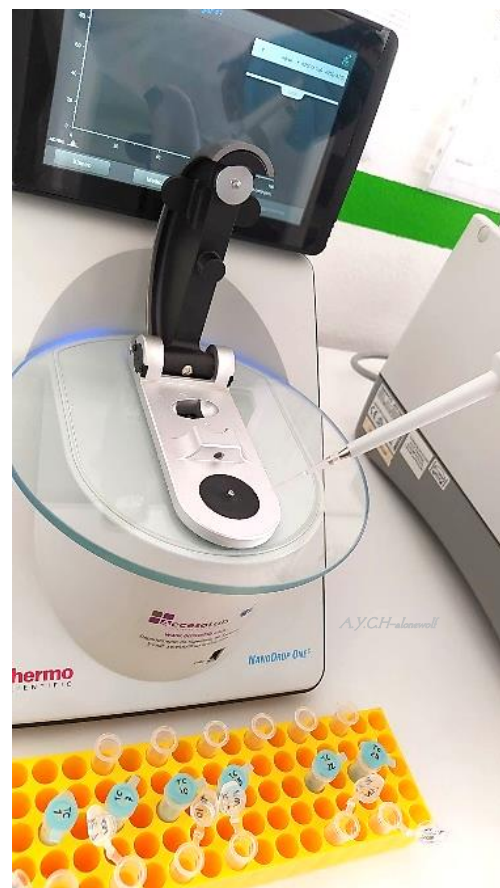


Figura 28 El NanoDrop permite obtener la cantidad y calidad de ADN de cada una de las muestras



9.1.5. Protocolo implementado para la realización de PCR

9.1.5.1. Materiales y Equipos

- Tubos de microcentrífuga BD® de 0.5ml a 2ml
- Mezcla maestra - Promega®
- Micropipeta y puntas de 10 µl, 100 µl, 1000 µl
- Agua libre de nucleasas
- Rack para PCR - Eppendorf™
- Primer a base de los genes de cada bacteria
- Termociclador - Eppendorf™
- Centrifugadora minispin - Eppendorf™

9.1.5.2. Método

Se limpio bien el área, se atemperó el ADN extraído, se colocaron en un rack para PCR 89 tubos de microcentrífuga de 0.5ml, se calculó y preparó la mezcla total la cual estaba conformada por 25 µl de mezcla maestra PROMEGA®, adicionada con 2 µl de primer y 7 µl de agua libre de nucleasas, posteriormente se colocaron 34 µl de mezcla a cada uno de los tubos y se adicionaron los microlitros necesarios de ADN, obtenidos al calcular 100 entre el valor de calidad que dio el NanoDrop™ (figura 29).

Figura 29 Elaboración de mezcla maestra para cada una de las muestras



Posteriormente se llevaron a la centrifuga minispin con el fin de que cada punta del tubo de microcentrífuga sea llenada en su totalidad, se colocaron en el termociclador ingresando los siguientes datos con respecto al patógeno, teniendo las siguientes condiciones: para *Bartonella spp.* se utilizó el gen secuencia ITS forwards y reverse, para *Leptospira spp.* fue el gen secuencia 16S rRNA forwards y reverse, para *Rickettsia spp.* el gen secuencia *gltA* forwards y reverse mientras que para *Borrelia burgdorferi* el gen secuencia 16S rRNA forwards y reverse (figura 30 y 31). Al termino de los ciclos se colocaron nuevamente los tubos dentro de un rack de PCR manteniendo el orden de cada muestra (figura 32).

Figura 31 Muestras colocadas en termociclador



Figura 32 Termociclador con las condiciones específicas para cada una de las bacterias



Figura 30 Muestras con folio previamente amplificadas en un termociclador



9.1.6. Protocolos para electroforesis

9.1.6.1. Materiales y Equipos

- Gel agarosa ultrapura - invitrogen™
- TAE al 10x - invitrogen™
- Probeta de 50ml y 100 ml
- Gel estain - invitrogen™
- Marcador de peso molecular
- Matraz de 100 ml
- Peine de 50 dientes - Thermo Scientific™
- Cámara de Electroforesis para gel de agarosa
- Balanza analítica - OHRUS™
- Fotodocumentación de geles - Vilber™

9.1.6. 2. Método

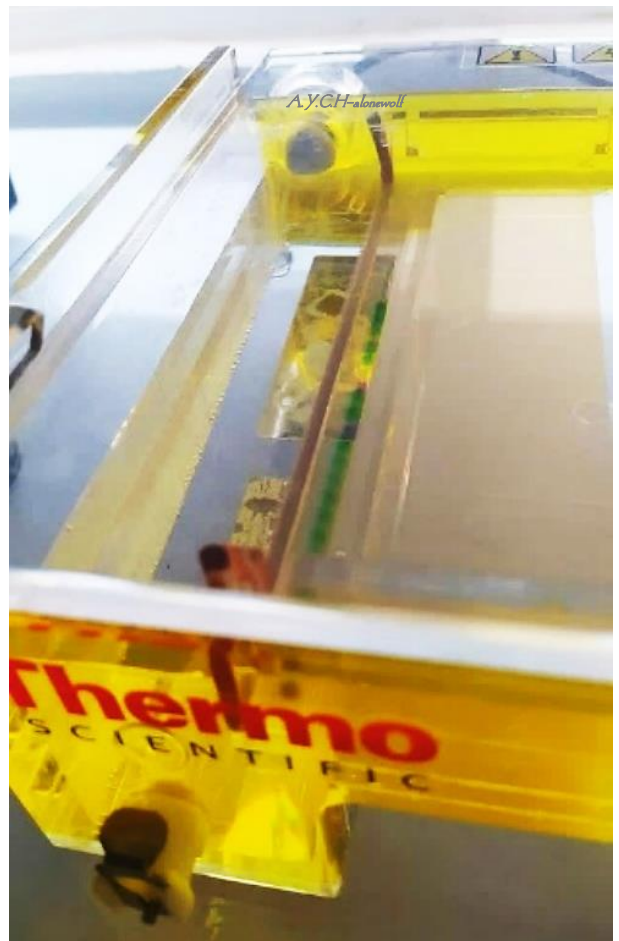
Se pesaron 2.5 g del gel sacarosa con ayuda de la balanza analítica, después se adicionaron 150 ml de TAE al 10x mezclando continuamente para homogenizar la mezcla, posteriormente fue calentado durante 30 min realizando movimientos uniformes para homogenizar o hasta que las hebras del gel desaparecieran, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le agregaron 15 µl de gel stain vertiendo la mezcla en la bandeja, colocando 2 peines de 50 dientes para la formación de los pozos, dejándolo reposar durante 15 min o hasta que el gel solidifique lo suficiente, después se colocó en la cámara de electroforesis hasta cubrirlo por completo con TAE para corrido, se tomaron 15 µl de las muestra resultante de la PCR para ser colocadas en cada uno de los pozos, corriendo en un tiempo de entre 35 a 45 min con voltaje de 114 (*figura 33 y 34*). Al terminar fue retirado el TAE para corrido y se colocó el gel cuidadosamente en el fotodocumentador para analizar las muestras que fueran positivas, visualizando las bandas presentes en el gel.



Figura 33 Muestras previamente amplificadas colocadas en gel agarosa



Figura 34 Gel con muestras cargadas y colocado en cámara de electroforesis



10.0 Resultados

Se analizaron un total de 89 muestras de las cuales 58 fueron tejido cardíaco de tlacuaches silvestres capturados en la zona de Tulancingo, Hgo., provenientes del banco de muestras del laboratorio BIOGENETICK; las restantes fueron muestras sanguíneas proporcionadas por la URRRS siendo 24 de tlacuaches silvestres del género *Didelphis marsupialis* y 7 de cacomixtles silvestres del género *Bassariscus astutus*. Se determinó la edad de los ejemplares a partir de su peso, ya que la determinación por medio de su dentadura requiere mayor manipulación y genera un incremento significativo de estrés; se consideró como cachorros a aquellos animales con un peso menor de 0.500 kg, juveniles a los de peso mayor a 0.500 kg, pero menor a 1 kg y como adultos aquellos que pesaban 1 kg o más. Se obtuvieron 7 muestras de cacomixtles silvestres 2 (28.6%) fueron de hembras y 5 (71.4%) de machos, de los cuales 2 (28.6%) en etapa adulta, 2 (28.6%) juvenil y 3 (42.8%) cachorro (tabla 6) durante la evaluación física vario la presencia de ectoparásitos, la mayoría solo presento pulgas; mientras que de las 24 muestras de tlacuaches silvestres 11 (45.8%) fueron de hembras y 13 (54.2%) de machos teniendo 11 (45.8%) en etapa juvenil, 8 (33.3%) adultos y 5 (20.8%) cachorros (tabla 7) durante la evaluación física se encontraron en algunos ejemplares ectoparásitos como pulgas.

Tabla 7 Base de datos de cacomixtle (CC) provenientes de URRRS

Número de identificación <i>Cacomixtles</i> <i>(Bassariscus astutus)</i>	Peso	Sexo		Edad		
		Macho	Hembra	Adulto	Juvenil	Cachorro
CC - 1	0.690 kg		x		x	
CC - 2	0.465 kg		x			x
CC - 3	0.375 kg	x				x
CC - 4	1.200 kg	x				x
CC - 5	1.735 kg	x		x		
CC - 6	1.565 kg	x			x	
CC - 7	1.645 kg	x		x		
Total de animales		5	2	2	2	3



Tabla 8 Base de datos de tlacuaches (TC) provenientes de URRRS

Número de identificación <i>Tlacuaches</i> <i>(Didelphis marsupialis)</i>	Pesos	Sexo		Edad		
		<i>Macho</i>	<i>Hembra</i>	<i>Adulto</i>	<i>Juvenil</i>	<i>Cachorro</i>
TC - 1 / 1.2	0.550 g	x			x	
TC - 2	0.411 g		x		x	
TC - 3	0.385 g	x			x	
TC - 4	1.220 kg		x	x		
TC - 5	1.200 kg		x	x		
TC - 6	0.645 g		x		x	
TCH - 7	0.915 g	x			x	
TCH - 8	0.870 g	x			x	
TCH - 9	0.880 g		x		x	
TC - 10	0.550 g		x		x	
TC - 11	0.155 g		x			x
TC - 12	0.215 g	x				x
TC - 13	0.320 g	x				x
TC - 14	0.240 g	x				x
TC - 15	0.275 g	x				x
TC - 16	0.645 g		x		x	
TC - 17	1.760 kg	x		x		
TC - 18	1.690 kg		x	x		
TC - 19	1.295 kg		x	x		
TC - 20	0.195 g		x		x	
TCH - 21	0.235 g	x			x	
TC - 22	1.050 kg	x		x		
TC - 23	1.100 kg	x		x		
TC - 24	5.100 kg	x		x		
Total de animales		13	11	8	11	5

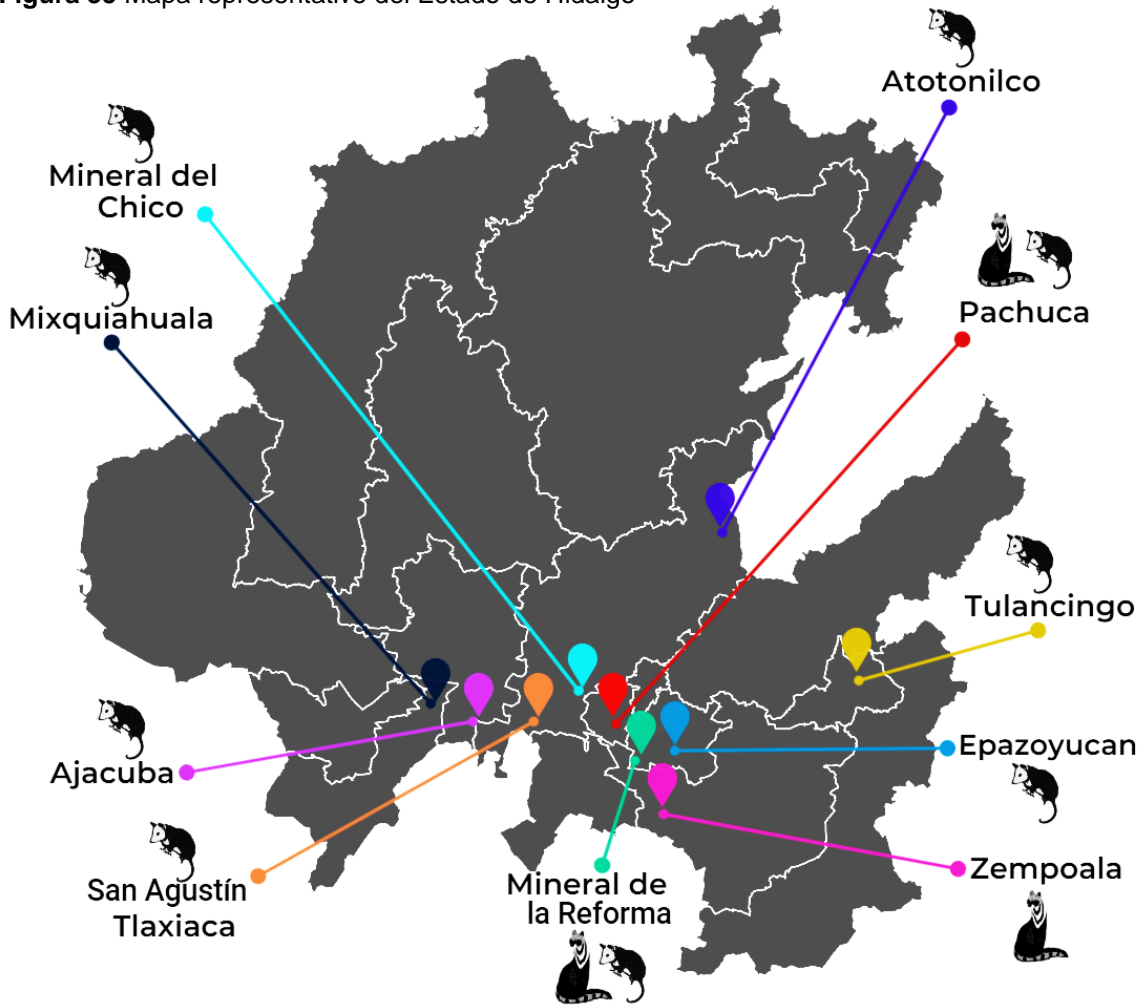
Cada ejemplar provenía de diversas zonas del estado de Hidalgo (tabla 8), debido a las funciones de la unidad que en coordinación con personas encargadas al cuidado y protección de los animales al igual que instituciones como PROFEPA, el heroico cuerpo de bomberos o protección civil realizaban la captura, resguardo y traslado de los ejemplares a la URRRS (figura 38).



Tabla 9 Número y lugar de origen de cada uno de los animales

Lugar de procedencia	Tlacuaches	Cacomixtles
<i>Colonia Los prismas – Pachuca</i>	1	-
<i>Colonia San Antonio – Pachuca</i>	1	-
<i>Mineral del chico</i>	1	-
<i>Mixquiahuala</i>	1	-
<i>San Agustín – Tlaxiaca</i>	1	-
<i>Tulancingo</i>	1	-
<i>Zempoala</i>	-	1
<i>Ajacuba</i>	3	-
<i>Congreso de Pachuca</i>	3	-
<i>Atotonilco</i>	3	-
<i>Epazoyucan</i>	3	-
<i>Mineral de la reforma</i>	3	2
<i>Pachuca</i>	3	4

Estas zonas del estado de Hidalgo representan la interacción, distribución y amplitud que tienen los cacomixtles (*Bassariscus astutus*) y tlacuaches (*Didelphis marsupialis*), dando un panorama de la relación que tienen con los agentes infecciosos como *Rickettsia spp.*, *Bartonella spp.*, *Leptospira spp.* *Borrelia spp* y su vector la garrapata.

Figura 35 Mapa representativo del Estado de Hidalgo



En el mapa las muestras de cacomixtles (*Bassariscus astutus*) se identifican con el símbolo  y las muestras de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) son representadas con el símbolo . Las zonas señaladas con líneas blancas son representativas de los municipios del estado de Hidalgo, los puntos de color indican el origen de cada ejemplar recibido en la URRRS; el municipio de Pachuca se encuentra de color rojo debido a que fue el área que aportó un total de 12 (38.70%) muestras de ambas especies, teniendo mayor aportación lugares como el congreso, la colonia los Prismas y la colonia San Antonio; mientras que en color verde se encuentra el municipio de Mineral de la Reforma siendo el segundo lugar al aportar un total de 5 (16.12%) muestras también de ambas especies. Para determinar la presencia de los agentes patógenos con potencial zoonótico en los animales muestreados, se analizó cada una de las muestras mediante la técnica de PCR en tiempo real y se realizó una electroforesis en gel para confirmar su presencia en las muestras.



En las figuras 36 y 37 muestra los pares de bases (PB), los marcadores de peso molecular (M) en donde los pozos (P) 1 a 9 son las muestras amplificadas de tejido cardiaco de tlacuaches, los pozos del 10 al 16 son las muestras sanguíneas de cacomixtles silvestres y los pozos del 41 al 91 son las muestras sanguíneas de tlacuaches silvestres, las muestras positivas (+) se visualizan en las bandas que se generan tras la migración de los fragmentos de ADN. Se obtuvieron 8 positivos a *Leptospira spp.*, 11 positivos a *Borrelia spp.*, 12 positivos a *Bartonella spp* y 20 positivos a *Rickettsia spp.*

Figura 36 Productos de la electroforesis en gel agarosa para la amplificación del gen *16S rARNr* de *Leptospira spp.*

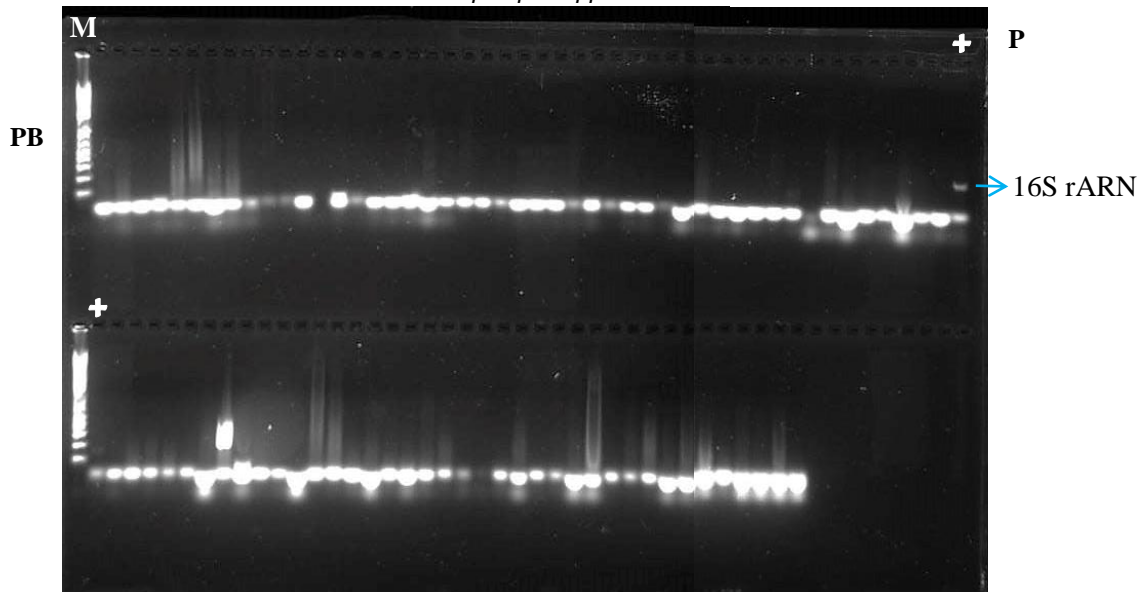
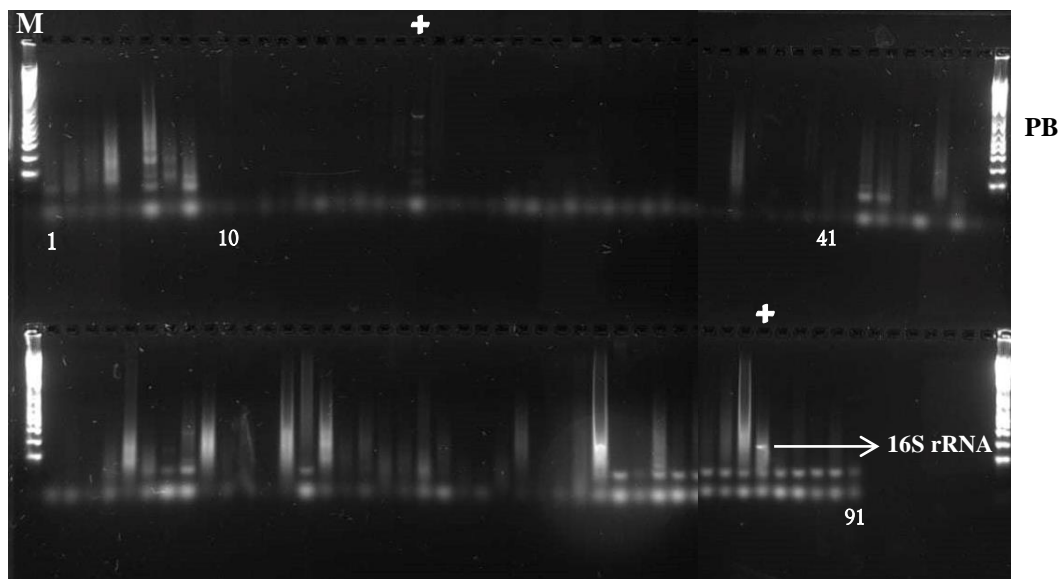


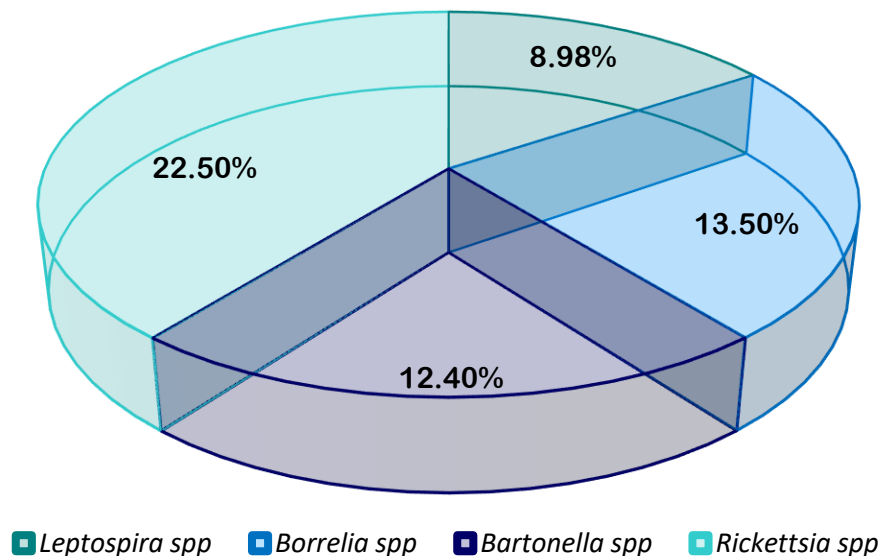
Figura 37 Productos de la electroforesis en gel agarosa para la amplificación del gen *16S rARN* (pb) de *Borrelia burgdorferi*



Los resultados de las 82 muestras de tlacuaches fueron 12 positivas a *Bartonella spp.*, 11 a *Borrelia spp.* identificando la especie *B. burgdorferi.*, 8 positivas a *Leptospira spp.* y 17 positivas a *Rickettsia spp.* destacando aquellas muestras que provenían de tejido cardíaco fueron positivas en un 13.5%; a *Borrelia burgdorferi.* en un 12.4% a *Bartonella spp.*, solo el 9% a *Leptospira spp.* y el 22.5% a *Rickettsia spp.*; respecto a las 7 muestras de cacomixtle solo 3 fueron positivas a *Rickettsia spp.* representando el 3.4% y el 19.1% de las muestras positivas pertenecían a tlacuaches (figura 38).

Figura 38 Grafica de la presencia de bacterias de los géneros *Borrelia spp.*, *Leptospira spp.*, *Rickettsia spp.* y *Bartonella spp.* identificadas en las muestras de tlacuache (*Didelphis marsupialis*) y cacomixtle (*Bassariscus astutus*) analizadas

Porcentajes de muestras positivas



Estos resultados son los primeros registros positivos para *Rickettsia spp.* encontrados en ejemplares de cacomixtles (*Bassariscus astutus*) silvestres; también es el primer estudio relacionado con estos ejemplares en el estado de Hidalgo, estos valores pueden ser una base para generar investigaciones futuras en la que se tenga que considerar a estos animales como parte de la interacción de las enfermedades zoonóticas, así como su papel dentro de la red entre vectores y hospederos.

11.0 Discusión

Las especies silvestres en su mayoría son consideradas la fuente inicial de enfermedades zoonóticas debido a la participación que tienen en la transmisión de los agentes, con el tiempo se ha comprobado la participación de ejemplares poco comunes en la transmisión, mediante esta perspectiva los animales sinantrópicos son el mayor aporte en la interacción de reservorios como es el caso de los tlacuaches o cacomixtles que por sus hábitos y la gran capacidad de adaptación pueden ser participe en el transmisión de patógenos, generando así enfermedades en humanos, animales domésticos y silvestre, al actuar como huéspedes definitivos o reservorios de protozoos, helmintos y artrópodos.

Si bien la presencia de animales sinantrópicos como los tlacuaches y cacomixtles incrementan las posibilidades de una infección zoonótica, las condiciones urbanas son de importancia para la transmisión e infección de animales, en general los animales sinantrópicos se suele asociar a zonas urbanas con malas condiciones de higiene como es la presencia de basura, animales domésticos sin hogar, presencia de plagas así como sistemas de drenaje mal diseñados son puntos que se suelen considerarse para que exista la presencia de patógenos, sin embargo también las zonas donde los pisos son en su mayoría de tierra o concreto y en el que los sistemas de desagüe se encuentran en correctas condiciones pueden se puntos que contengan animales infectados.

En este estudio se obtuvimos 89 muestras sanguíneas y de tejido cardiaco de 2 especies silvestres (*Bassariscus astutus* y *Didelphis marsupialis*) provenientes de distintos municipios del estado de Hidalgo, destacando lugares como Pachuca y Mineral de la Reforma. De acuerdo a la investigación de Imbert, 2018 no es la primera vez que estos lugares se relacionan con la presencia de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) o algún agente infeccioso, esto se debe a que son zonas que realizan actividades como el consumo de estos animales, utilizarlos con fines curativos o como mascotas; sus resultados demostraron la relación que existe entre los tlacuaches como reservorio del parásito *Trypanosoma cruzi* que es favorecida por la relación sinantrópica que tienen estos animales con las comunidades, incrementando la probabilidad de contraer alguna enfermedad zoonótica. Por otro lado, no hay registros previos que relacionen a los cacomixtles (*Bassariscus astutus*) con agentes infecciosos en el estado de Hidalgo, posiblemente por la falta de información que se tiene de la especie, lo que genera que no se conozca su importancia dentro de los ecosistemas y el papel que puede estar ocupando en la transmisión de enfermedades zoonóticas.



Durante el proceso de recolección de muestras cada ejemplar fue examinado con el objetivo de encontrar la presencia de ectoparásitos, la mayoría solo presentaron únicamente pulgas, pero de acuerdo al estudio de Bezerra et al, 2021 establecen la relación entre garrapatas y tlacuaches con particularidad aquellas pertenecientes al género *Ixodes* las cuales tienen mayor afinidad a estos animales, sus resultados demostraron que los tlacuaches de la especie *Didelphis aurita* pese al contacto que tienen con garrapatas del género *Amblyomma sculptum* tienen entre 5 – 18% de posibilidad de infectarse por *Bartonella burgdorferi* con una seroprevalencia del 27.5% o por *Ehrlichia chaffeensis* que tiene una seroprevalencia del 15.8%; mientras que la especie *Didelphis virginiana* fue relacionada mayormente con *Haemaphysalis longicornis* garrapata asociada a la transmisión de *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.*, *Babesia spp.*, *Theileria spp.*, *Borrelia spp.* El estudio de Guzmán et al, 2023 revelo al *Bassariscus astutus* como hospedero de garrapatas de la especie *Ixodes damfi* miembro del subgénero *Pholeoixodes* la cual fue descrita por primera vez en México a partir de tuzas; su estudio se posiciona como uno de los pocos que considera y relaciona a los cacomixtles con sus posibles vectores y enfermedades, resaltando la escasez de investigaciones que permitan conocer sobre su rol en la transmisión de enfermedades zoonóticas.

Cada una de las muestras se analizó mediante la prueba de PCR en tiempo real lo que permitió la amplificación del ADN de los patógenos (*Leptospira spp.*, *Bartonella spp.*, *Borrelia spp.* y *Rickettsia spp.*). Esta metodología se realizó con diferentes condiciones que se adaptaban para las bacterias, lo que resulto en un total de 51 (57%) muestras positivas; de las muestras de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) el 8.98% fueron positivas para *Leptospira spp.* siendo equivalente a los resultados obtenidos por Vado et al. 2002 que presentaron una seroprevalencia del 4% en 80 muestras de suero, así como Ruiz et al., 2002 que tuvieron el 4.9% de positivos en 81 muestras de sueros; ambos estudios identificaron la presencia de *Leptospira* serovares pomona y wolfii al analizar mediante la técnica MAT; posiblemente el estudio de Jorge et al. 2012 obtuvieron el 36.4% positivos en 33 muestras de orina al haber utilizado también la técnica de PCR, implementando condiciones similares a las de este estudio con variación entre 1° - 2°C en los ciclos para la amplificación de los genes.



También se obtuvieron resultados favorables de las muestras de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) con un 12.4% de positivos para *Bartonella spp.* siendo este el primer registro que se tiene de este agente patógeno relacionado con alguna de las especies de tlacuaches en México; Externamente se tienen estudios como el de Rojas y Del Valle 2023 en Brasil que obtuvo 33.3% de positivos para *Bartonella spp.* a partir de muestras de hígado, bazo y riñón de 3 tlacuaches (*Didelphis marsupialis*), sus resultados permitieron identificar mediante PCR la presencia de *Bartonella vinsonii* en una de las muestras de bazo. Asimismo, el estudio realizado en el noreste de Brasil por Braga et al. 2023 permitió confirmar la presencia de algunos agentes patógenos, ya que analizaron 45 muestras sanguíneas de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) mediante PCR, resultando en un 17.77% positivos para *Ehrlichia spp.* y un 4.44% positivos para *Bartonella spp.* demostrando su circulación en marsupiales silvestres.

A su vez en este estudio se obtuvo el 13.5% de muestras positivas para *Borrelia spp.* identificando la especie *Borrelia burgdorferi* presente únicamente en las muestras de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*); son pocos los estudios realizados en México que toman a especies de *Didelphis* como reservorios, de acuerdo con lo descrito por Faccini et al., 2022 quienes realizaron un estudio de la distribución de *Borrelia spp.* en América latina, mencionando que en México solo se han reportado casos de humanos infectados por garrapatas blandas de especies como *Ornithodoros talaje* y *O. turicata* las cuales suelen encontrarse en zonas rurales donde existe la presencia de animales domésticos infectados, teniendo una amplia distribución en los estados de la república; así mismo menciona que en zonas de Panamá se descubrió que las zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*) y algunas especies de armadillos se encuentran infectados de manera natural, teniendo una tasa de infección del 12% y 6.2% respectivamente, considerando ambas especies como huéspedes que participan en la trasmisión de *Borrelia spp.*; de manera externa se encuentran estudios como el de Tomé et al. 2016 realizado en São Paulo Brasil lograron obtener el 27.52% de positivos de 109 muestras de suero de 2 especies distintas de tlacuaches *Didelphis albiventris* y *D. aurita*, mediante la técnica de IFA identificando a *Borrelia burgdorferi* y teniendo un 29.35% de positivos para *Rickettsia spp.* El estudio de López et al., 2023 realizado en Colombia utilizó 53 muestras de suero de tlacuaches (*Didelphis marsupialis*) que fueron analizadas mediante PCR, sus resultados fueron de 18.8% positivos a *Borrelia spp.* identificando la presencia de *Borrelia*



puertoricensis destacando la importancia epidemiológica que puede tener estos animales como reservorios de enfermedades zoonóticas.

Por último, en este estudio se obtuvo un 22.5% de muestras de tlacuache (*Didelphis marsupialis*) positivas a *Rickettsia spp.*; siendo semejantes a lo obtenido en el estudio de Peniche et al., 2016 realizado en zonas de Yucatán, obteniendo un total de 87 muestras sanguíneas de 2 especies de tlacuaches (*Didelphis virginiana* y *D. marsupialis*) siendo analizadas utilizando PCR, sus resultados fueron de un 32.1% de positivos para *Rickettsia spp.* logrando identificar a *Rickettsia felis* mediante los genes *gltA* y *17 kDa.*; el estudio Rojero et al, 2017 analizaron 102 muestras sanguíneas de tlacuaches (*Didelphis spp.*) junto con 44 muestras de perros en libertad mediante PCR, sus resultados fueron del 3% de positivos para *Anaplasma phagocytophilum* siendo el único positivo de los tlacuaches, esto demuestra que si bien la tasa de infección incrementa con la presencia de animales silvestres, los resultados serán mayormente afectados por las especies que se encuentran directamente involucradas en la ecología de los patógenos en el caso de la investigación eran los perros quienes obtuvieron un 27% de positivos para *A. phagocytophilum* y un 7% para *Ehrlichia canis*. Otro estudio, pero realizado en Mérida Yucatán por Dzul et al. 2021 quienes analizaron 29 muestras de sangre de tlacuaches (*Didelphis virginiana*) mediante PCR, los resultados fueron de un 50% de positivos a *Rickettsia spp.* que demostró que estos animales son parte importante para que exista una interacción entre los vectores, los animales domésticos y los patógenos por su actividad sinantrópica, ejemplo de ello es también el estudio de Ballados et al., 2023 en el que identificaron a la garrapata blanda *Ornithodoros puertoricensis* como vector de *Rickettsia felis*, siendo presente en un ejemplar de tlacuache de la especie *Didelphis virginiana* siendo el primer caso registrado en una zona distinta a su distribución habitual y permitiendo conocer un poco sobre el papel que tienen estos animales; también el estudio de Santoyo et al., 2021 realizado en el Pedregal de San Ángel, Ciudad de México, obtuvo resultados favorables al analizar pulgas presentes en 31 tlacuaches (*Didelphis virginiana*), mediante PCR y utilizando el gen *gltA* junto con el gen *OmpB* se tuvo el 17.7% de positivos para ADN de *Rickettsia spp.* detectando la presencia de *Rickettsia typhi* siendo un registro poco común en pulgas presentes en estos animales.



A su vez de los resultados de *Rickettsia spp.* el 3.4% pertenecen a las 7 muestras de cacomixtles (*Bassariscus astutus*), siendo el primer registro en México que confirma la presencia de esta bacteria en estos animales y esto es apoyado en cierto modo por el trabajo realizado en el estado de Veracruz y Nuevo León por Montiel et al. 2007 que identifico a larvas y ninfas de las especies *Ixodes cookei* en un ejemplar de cacomixtle (*Bassariscus astutus*) registrándolo como un nuevo huésped para esta especie de garrapata. A pesar de que en este estudio se tuvo una baja prevalencia de infección en los cacomixtles (*Bassariscus astutus*) los resultados son de interés para la salud pública por la capacidad zoonótica de este patógeno y refuerza la importancia de realizar nuevas investigaciones que permitan involucrar a esta especie para conocer sobre su papel que juegan como nuevos reservorios de *Rickettsia spp.*



12.0 Conclusión

La fragmentación de los ecosistemas que genera el aumento en la población ocasiona que nuevas especies sirvan como reservorios de agentes patógenos, tal fue el caso de los cacomixtles de los cuales existen muy pocos registros. En este estudio se encontró el primer caso de cacomixtle infectado con rickettsia en México. Además, se demostró que los tlacuaches están actuando como reservorio para las 4 bacterias analizadas en este estudio, mientras que los cacomixtles deben ser considerados como nuevos reservorios para las especies de *Rickettsia spp.* Con respecto a esto último, este estudio constituye el primer registro que se tiene de su interacción; sin embargo, se requieren mayores estudios para conocer mejor el papel que tienen ambas especies en la transmisión y propagación de estos patógenos.



13.0 Referencias

- Abarca, K., y Oteo, J., A. (2014). Aproximación clínica y principales rickettsiosis transmitidas por garrapatas presentes en Latinoamérica. *Revista chilena de infectología*, 5(31), 569-576. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000500009>
- Alamán Valtierra, M. (2014). Prevalencia de infección por *Bartonella henselae* en saliva de gatos de colonia en Zaragoza [Trabajo final Master]. Universidad de Zaragoza.
- Allen, S., J., Ojkic, D., y Jardine, C., M. (2014). Prevalence of Antibodies to Leptospirain Wild Mammals Trapped on Livestock Farms in Ontario, Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 50(3), 666–670. <https://doi.org/10.7589/2013-11-292>
- Álvarez, Fernández, A., Breitschwerdt, E. B., y Solano Gallego, L. (2018). *Bartonella* infections in cats and dogs including zoonotic aspects. *Parasites y Vectors*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3152-6>
- Amaral, R., B., D., Cardozo, M., V., De Mello Varani, A., Gonçalves, L., R., Furquim, M., E., C., Dias, C., M., De Souza, Santana, M., De Assis, W., O., Da Silva, A., R., Herrera, H., M., y André, M., R. (2022). *Bartonella machadoae* Sp. nov. isolated from wild rodents in the Pantanal Wetland. *Acta Tropica*, 229, 106368. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106368>
- Anderson, A.S., Long, A.M., LaCour, JM, Bresnan, AM, Bushaw, JD, Gerrits, AP, Hunt, JD, Moscicki, DJ, Raginski, NM, Stafford, B., Ulrey, EE y Randel, CJ (2022). Seroprevalence of *Leptospira* among Selected Mammals on a Wildlife Management Area in Louisiana, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 58 (1). doi.org/10.7589/jwd-d-20-00192
- Angelakis, E., y Raoult, D. (2014). Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(1), 16-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.04.006>
- Aranzazu, Ceballos, A., D., Apraez, Henao, L., y Ortiz, Marín, D., C. (2020). Leptospirosis en pediatría, un diagnóstico a tener en cuenta. *Revista chilena de infectología*, 37(6), 728-738. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182020000600728>



Arenas, Pérez, P., A. (2014). Seroprevalencia de rabia y *Leptospira* en poblaciones de perros de libre rango (*Canis familiaris*) y tlacuaches (*Didelphis spp.*) que habitan dos reservas ecológicas [Tesis para Optar por el Grado de Maestro en Medicina Veterinaria y Zootecnia]. Universidad Nacional Autónoma De México.

Arroyo, Ramírez, A., Lugo, Caballero, C., Bolio, González, M. E., Rodríguez, Vivas, R. I., Reyes, Novelo, E., Panti, May, J. A., y Torres, Castro, M. (2022). El género *Rickettsia* y reportes de infección en perros de Yucatán. *Bioagrociencias*, 15(1). <https://doi.org/10.56369/bac.4266>

Arteaga, Salazar, G. (2017). Prevalencia de *Salmonella spp.* en tlacuaches (*Didelphis virginiana*) en zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Santiago de Querétaro [Tesis doctorado]. Universidad Autónoma de Querétaro.

Avantor. (2022). Kit para DNA sanguíneo E.Z.N.A.®. VWR. Recuperado 5 de marzo de 2023, de <https://es.vwr.com/store/product/2103872/kit-para-dna-sanguineo-e-z-n-a>

Ballados, González, G. G., Bravo, Ramos, J. L., Grostieta, E., Andrade, López, A. N., Ramos, Vázquez, J. R., Chong, Guzmán, L. A., Moctezuma, Díaz, L. Á., Colunga, Salas, P., Miranda, Caballero, C. I., Álvarez, Castillo, L., Cruz, Romero, A., Aguilar, Domínguez, M., Becker, I., y Sánchez, Montes, S. (2023). Confirmation of the presence of *Rickettsia felis* infecting *Ornithodoros puertoricensis* in Mexico. *Medical and veterinary entomology*, 37(2), 219–227. <https://doi.org/10.1111/mve.12624>

Barreto, Argilagos, G., y Rodríguez, Torrens, H. de la C. (2018). La leptospirosis en las producciones caprinas. Artículo reseña. *Revista de Producción Animal*, 30(3), 57-62. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000300009

Bernabeu, Wittel, M., y Segura, Porta, F. (2005). Enfermedades producidas por *Rickettsia*. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 23(3), 163-172. <https://doi.org/10.1157/13072167>

Bezerra, Santos, M., A., Ramos, R., A., N., Campos, A., K., Dantas, Torres, F., y Otranto, D. (2021). *Didelphis spp.* opossums and their parasites in the Americas: A



One Health perspective. Parasitology research, 120(12), 4091–4111.
<https://doi.org/10.1007/s00436-021-07072-4>

Biberstein, E. L. (1994). Tratado de microbiología veterinaria. Editorial Acribia.

Blanco, J. L., y Raoult, D. (2005). Enfermedades producidas por *Bartonella spp.* Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica, 23(5), 313-320.
<https://doi.org/10.1157/13074971>

Blanton, L., S., Idowu, B., M., Tatsch, T., N., Henderson, J., T., Bouyer, D., H., Walker, D., H. (2016). Opossums and Cat Fleas: New Insights in the Ecology of Murine Typhus in Galveston, Texas. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 95(2), 457-461. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0197>

Bontti, S., Mera y Sierra, R., Giai, C., y Quintero, C. A. (2021). Diagnóstico molecular de *Rickettsia spp.*: de la investigación a la clínica. Revista Bioanálisis, 1(120), 38-49.
<http://www.revistabioanalisis.com/images/Rev%20120n/Nota%204.pdf>

Boster Biological Technology. (2021). PCR Troubleshooting Guide Download Page | Boster Bio. Bosterbio. Recuperado 23 de abril de 2023, de <https://www.bosterbio.com/pcr-troubleshooting-guide-download-page>

Braga, Oliveira, M., S., C., Costa, Borges, F., Calchi, A., C., Califre de Mello, V., V., C., Mongruel, Baumel, A., C., Dias, Morato, C., Silva, Bassini, R., Silva, Conceição E., M., Pereira, Gomes, J., Ribeiro, dos Santos, L., S., da Costa, Pereira, A., de Andrade, Evangelista, F., H., Silva, Abreu, L., A., Machado, Z., R. y André, M., R. (2023). Molecular detection and characterization of vector-borne agents in common opossums (*Didelphis marsupialis*) from northeastern Brazil. Acta tropica, 244, 106955. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2023.106955>

Briñez, Gallego, Paola., Xiomara. (2014). Determinación prospectiva del impacto de leptospirosis sobre aspectos reproductivos y productivos en dos hatos de la Sabana de Bogotá. Ciencia Unisalle. https://ciencia.lasalle.edu.co/maest_ciencias_veterinarias

Briones, Salas M., M., C., Lavariega, Y., Martínez, Ayón, N., Martín, Regalado y Santiago, Matías, Y. 2019. Modelado de la distribución geográfica de mamíferos

endémicos y en riesgo de conservación de Oaxaca. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Bases de datos SNIB-CONABIO.

<http://www.conabio.gob.mx/institucion/cgi-bin/datos2.cgi?Letras=JM&Numero=11>

Bush, L. M., y Vázquez, Pertejo, M. T. (2022). Leptospirosis. Manual MSD. <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/espiroquetas/leptospirosis>

Bush, L., M., y Vázquez, Pertejo, M., T. (2023). Lyme Disease. MSD Manual Professional Edition. <https://www.msdmanuals.com/professional/enfermedades-infecciosas/lyme-disease>

Campos, Chacón, N. (2014). Leptospirosis. Medicina Legal de Costa Rica. Recuperado 31 de mayo de 2023, de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152014000200012

Canto, Osorio, J., M., Cuxim, Koyoc, A., Ruiz, Piña, H. A., Morales, Malacara, J., B., Reyes, Novelo, E. (2020). Ectoparasites of *Didelphis virginiana* From Yucatán, México. Journal of Medical Entomology, 57(6), 1821-1829. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa106>

Carranza, Zamora, A. J., Chang, Fonseca, D., y Gutierrez, López, Y. (2020). Leptospirosis y enfermedad de Weil: (Leptospirosis and Weil's syndrome). Revista Médica Sinergia, 5(3), e346. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i3.346>

Carrasco, S., E., Chomel, B., B., Gill, V., A., Doroff, A., M., Miller, M., A., Burek-Huntington, K., A., Kasten, R., W., Byrne, B., M., Goldstein, T., y Mazet, J., A., K. (2014). *Bartonella* spp. Exposure in Northern and Southern Sea Otters in Alaska and California. Vector-borne and Zoonotic Diseases. <https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1612>

Carroll, K. M. (2018). Microbiología Medica. En *Rickettsia* y géneros relacionados (págs. 341 - 344). México: Mcgraw-Hill.

CDC [Centers for Disease Control and Prevention]. (2018, 26 enero). Leptospirosis Hoja informativa para médicos. Centers for Disease Control and Prevention (U.S).

Recuperado 6 de mayo de 2023, de <https://www.cdc.gov/leptospirosis/resources/index.html>

CDC [Centers for Disease Control and Prevention]. (2019, 13 marzo). Leptospirosis Hoja informativa para médicos. Centers for Disease Control and Prevention (U.S). Recuperado 26 de mayo de 2023, de <https://www.cdc.gov/leptospirosis/>

CDC [Centers for Disease Control and Prevention]. (2021, 5 agosto). Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Zoonóticas y Emergentes (NCEZID). Estadísticas y epidemiología Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF). Recuperado 18 de marzo de 2023, de <https://www.cdc.gov/rmsf/es/stats/index.html>

CFSPH [The Center for Food Security y Public Health]. (2015). Leptospirosis. Institute for International Cooperation in Animal Biologics IICAB. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/leptospirosis-es.pdf>

Checa, Rojas, A. (2018, 22 febrero) Extracción de ADN. Conogasi, Conocimiento para la vida. Recuperado 01 de marzo de 2023, de <https://conogasi.org/articulos/extraccion-de-adn-2/>

Cilia, G., Bertelloni, F., Albini, S., y Fratini, F. (2021). Insight into the Epidemiology of Leptospirosis: A Review of *Leptospira* Isolations from “Unconventional” Hosts. *Animals*, 11(1), 191. <https://doi.org/10.3390/ani11010191>

Cisneros, Moreno, C. y Martínez, Coronel, M. (2019). Alimentación del cacomixtle (*Bassariscus astutus*) En un ambiente urbano y uno agrícola en los valles centrales de Oaxaca. *Revista mexicana de mastozoología*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.22201/ie.20074484e.2019.1.1.274>

Colunga, Salas, P., Garcés, C. B., Ochoa, Ochoa, Leticia., M., Guzmán, Cornejo, Sánchez, Montes, S., y Becker, I. (2018). *Borrelia* spp. Asociadas con anfibios y reptiles: hospederos y distribución mundial. *Revista Latinoamericana de Herpetología*, 01(01).

CONABIO [Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad]. (2021, 5 abril). Cacomixtle norteño (*Bassariscus astutus*). EncicloVida.

Recuperado 19 de julio de 2023, de <https://enciclovida.mx/especies/33549-bassariscus-astutus>

Cornejo Romero, A., Serrato Díaz, A., Rendón Aguilar, B., y Rocha Munive, M., G. (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: Aspectos teóricos y prácticos (1.a ed.) [Digital]. Semarnat
https://www.researchgate.net/profile/Alejandra-Vazquez-Lobo/publication/280731680_Microsatelites/links/55c3903008aeca747d5fa98f/Microsatelites.pdf#page=17

Cortes, Franco, J., Merlín, López, A., Morales, Jaimes, Y., Palafox, Hernández, J., S., Rodríguez, Diego, J., G., y Olivares, Orozco, J., L. (2021). Actualización sobre la enfermedad de Lyme. *Revista de Salud Animal*, 43(2), http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2021000200002

Coto, Ferreira, L. (2014). Desarrollo de Reactivos para Diagnóstico in vitro para la Detección de *Candida* y *Bartonella* Mediante PCR a Tiempo Real [Master Interuniversitario en Biotecnología Avanzada]. Universidad de Coruña.

Cruz, Enríquez, J. A., Espinosa Padilla, S. E., Medina, Torres, E. A. (2021). Importancia del adecuado protocolo de extracción de DNA para estudios moleculares. *Medigraphic - Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 30(2), 50-53. <https://doi.org/10.35366/101642>

Cruz, Salazar, B. (2012). Efectos de paisajes modificados en *Didelphis marsupialis* y *Didelphis virginiana* en Chiapas, México: un estudio poblacional y genético [Para optar al grado de Doctora en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable]. El Colegio de la Frontera Sur.

De Brito, T., Gonçalves da Silva, A., M., y Estima Abreu, P., A. (2018). Pathology and pathogenesis of human leptospirosis: a commented review. *Journal of the São Paulo Institute of tropical Medicine*, 60(23). <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860023err>

De Oliveira, Barbosa, W., Coelho, T., V., N., Da Costa, T., T., Paiz, L., M., Fornazari, F., Langoni, H., De Paula Antunes, J., M., A., y Freitas, C., I., A. (2020). Antibodies to *Toxoplasma gondii*, *Leishmania spp.*, and *Leptospira spp.* in Free-

Ranging Six-Banded Armadillos (*Euphractus sexcinctus*) from Northeastern Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 56(2), 486. <https://doi.org/10.7589/2019-06-165>

DVBD [Division of Vector Borne Diseases]. (2018, 30 abril). Prevenga la enfermedad de Lyme. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Recuperado 25 de agosto de 2023, de <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/es/media/prevenga-la-enfermedad-de-lyme/index.html>

Dzul, Rosado, K., R., Contreras, Vallejo, J., H., Gordillo, Pérez, G., Puerto, Manzano, F., I., Noh, Pech, H., y Rodríguez, Vivas, R., I. (2022). Enfermedad de Lyme en México: situación actual, diagnóstico y riesgo en salud pública. *Bioagrobiencias*, 15(1). <https://doi.org/10.56369/bac.4289>

Dzul, Rosado, K., Reyes, Novelo, E., Lugo, Caballero, C., Cuxim, Koyoc, A., Collí, Padrón, F., Tello, Martín, R., López, Ávila, K., Palma, Chan, A., Peniche, Lara, G., y Ruiz, Piña, H., A. (2021). Urban ecology of hosts and vectors of *Rickettsia* in a Rickettsiosis-endemic city of the Yucatan peninsula, Mexico. *Acta Tropica*, 216, 105832. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105832>

EDVOTEK. [La Empresa de Educación en Biotecnología] (2016). Principios y práctica de la electroforesis en gel de agarosa. EDVOTEK The Biotechnology Education Company. Recuperado 19 de abril de 2023, de <https://www.edvotek.com/site/pdf/101sp.pdf>

Ellis, W., A. (2015). Animal leptospirosis. *Current topics in microbiology and immunology*, vol, 387, no. 1, 99–137. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6

Escudero, Nieto, R., y Guerrero, Espejo, A. (2005). Enfermedades producidas por *Borrelia*. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 23(4), 232-240. <https://doi.org/10.1157/13073150>

Estrada, Peña, A. (2015). Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDE@*, 13, 1-15. http://sea-entomologia.org/IDE@/revista_13.pdf

Faccini, Martínez, Á. A., Silva, Ramos, C. R., Santodomingo, A., Ramírez, Hernández, A., Costa, F. B., Labruna, M. B., y Muñoz, Leal, S. (2022). Historical

overview and update on relapsing fever group *Borrelia* in Latin America. *Parasites and Vectors*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05289-5>

Fischedick, F., B. S., Stuckey, M., J., Aguilar, Setién, A., Moreno. Sandoval, H., N., Galvez, Romero, G., Salas, Rojas, M., Aréchiga, Ceballos, N., Overgaauw, P., Kasten, R., W., y Chomel, B., B. (2016). Identification of *Bartonella* Species Isolated from Rodents from Yucatan, Mexico, and Isolation of *Bartonella vinsonii* subsp. yucatanensis subsp. nov. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 16(10), 636-642. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1981>

Flores, F., S., María, N., Saracho, Bottero, M., N., Tarragona, E., L., Sebastián, S., P., Copa G., N., Guardia, L., Mangoldc, A., Venzal, J., M., Nava, S. (2023). Ticks (Acari: *Ixodidae*, *Argasidae*) associated with wild birds in Argentina. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 14(3), 102135. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102135>

Flores, Guido, J., S. (2012). Huertos familiares de la Península de Yucatán (30.a ed., Vol. 1). Universidad Autónoma de Yucatán. <https://biblioteca.ecosur.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=000058004>

Flórez, Oliveros, Francisco., Javier, y Vivas, Serna, C. (2020). Zarigüeyas (Chuchas Comunes) Marmosas y Colicortos en Colombia (1.a ed.). Fundación Zarigüeya – FUNDZAR. https://www.metropol.gov.co/Documentos_SalaPrensa/LIBRO%20ZARIGUEY20VERSION_ESPAL.pdf

Gallou, Suastes, A., Alba, Dzul, P., Serna, Domínguez, M., G., Andrade M., G., Y.(2015). Practicas del Laboratorio de Biología Molecular (1.a ed.) [Digital]. Unidad de Promoción y Vinculación - SENASICA. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/210350/Manual_del_LBM_2014.pdf

Gamboa, Prieto, J. (2021). Diversidad genética de micoplasmas hemotrópicos y *Bartonella* spp. en perros de clínicas veterinarias de los municipios de Veracruz y Boca del Río [Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencia Animal]. Universidad Veracruzana.

Ganoza, C., A., Matthias, M., A., Saito, M., Céspedes, M., Gotuzzo, E., y Vinetz, J., M. (2010). Asymptomatic renal colonization of humans in the peruvian Amazon by

Leptospira. PLoS neglected tropical diseases, 4(2), e612.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000612>

García, Acosta, J., Aguilar, García, C., R. y Aguilar, Arce, I., E. (2017). Tifus. *Med Int Méx*, 33(3).

García, Benítez, J., M., Martínez, R., y Alonso, J., M. (2017). Leptospirosis en Porcino. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 104(1), 1-15.
<https://www.produccion-animal.com.ar>

García, Meléndez, M., Skinner, Taylor, E., C., Salas, Alanís, J. C., y Ocampo, Candian, J. (2014). Enfermedad de Lyme: actualizaciones. *Gaceta Médica de México*, 150. https://www.anmm.org.mx/GMM/2014/n1/GMM_150_2014_1_084-095.pdf

Goday, Mariezcurrena, F., Javier. (2018). Caracterización De La Población De Equinos Con Sospecha De Leptospirosis Remitidos Al Laboratorio Dilave-Dgsg-Mgap En Los Últimos Cinco Años [para Obtener el Título de Doctor en Ciencias Veterinarias]. Universidad de la República Facultad de Veterinaria.

Guillot, J., y Chabanne, L. (2021). Guía de enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos. Grupo Asís Biomedica S.L.

Gutiérrez, Cedillo, V., Chávez, Flores, I., A., Fernández, Colin, J. R., Rodríguez, Morales, J. D., Navarro, Ángeles, O., Gómez, Mendoza, J. I. (2021, 17 diciembre). Programa de Acción Especifico, Prevención y Control de Enfermedades Zoonóticas y Emergentes 2020 - 2024. Secretaria de Salud. Recuperado 19 de marzo de 2023, de <https://www.gob.mx/salud/cenaprece>

Guzmán, Cornejo, C., Herrera, Mares, A., Paredes, León, R., y García, Prieto, L. (2023). Actualización de la riqueza de garrapatas de los géneros *Ixodes* y *Amblyomma* (Ixodida: *Ixodidae*) en México. *Dugesiana*.(Guadalajara, México), 30(2), 163-176. <https://doi.org/10.32870/dugesiana.v30i2.7303>

Gyles, C. L., Prescott, J. F., Songer, J. G. y Thoen, C. O. (2010). *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals* (4.a ed.). Wiley-Blackwell. Pérez Ramos, S. (2021). Patrones de actividad de los didelfimorfos en la Laguna de términos, Campeche



[Egreso de la carrera Ciencias Biológicas y Agropecuarias]. Universidad Veracruzana.

Hennessy, C., y Hild, K. (2021). Are Virginia opossums really ecological traps for ticks? Groundtruthing laboratory observations. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(5). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101780>

Hernández, B., Ortega, M., Eiroa, J., M., y Orduña, A. (2001). Infecciones por *Bartonella*. *Medicina Integral*, 38(2), 69-75. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-infecciones-por-bartonella-13015323>

Hernández, Camacho, N., Vergara, Pineda, S., Acosta, Gutiérrez, R., W. Jones, R. (2014). Nuevos registros de pulgas de tlacuaches *Didelphis virginiana* (Kerr 1792) en Querétaro, México. *Therya*, 5(1). <https://doi.org/10.12933/therya-14-187>

Hernández, Flores, S., D., y Rojas, Martínez, A., E. (2010). Lista actualizada y estado de conservación de los mamíferos del Parque Nacional El Chico, Hidalgo, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 26(3). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372010000300005

Hernández, Urbina, C. F. (2019). Detección de Ectoparásitos y Patógenos Rickettsiales en *Canis Latrans* en el Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca, Chihuahua [Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencia Animal]. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

Herráez, Á. (2012). Preparación de muestras, extracción y análisis de ácidos nucleicos: Extracción y purificación de ácidos nucleicos [Digital]. En *Biología molecular e ingeniería genética conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud* (2.a ed., Vols. 136- 137). ELSEVIER. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/685916/5098_nge_Biolog_a_Mol_eular_e_Ingenier_a_gen_tica_compressed_compressed.pdf

Hidalgo, M., Faccini, Martínez, Álvaro. A., y Valbuena, G. (2013). Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomédica*, 33(1), 161-178. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1466>

Hou, S. L., Koh, F. X., Nuryana, I., Sitam, F. T., y Tay, S. T. (2018). Molecular detection of *Bartonella* spp. in Malaysian small flying foxes (*Pteropus hypomelanus*). *Tropical biomedicine*, 35(1), 293–299.

Imbert, Palafox, J., L., Tovar, Tomas, M., R., Peña, Rojas, A., Becerril, Flores, M., A., Molina, Trinidad, E., M., Piña, Ruiz, H., A., Ruvalcaba, Ledezma, J., C., (2018). Búsqueda del Reservorio Marsupial (*Didelphis marsupialis*) de la Enfermedad de Chagas en el Estado de Hidalgo, México. *Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de La Salud Del ICSa*, 7(13), 75-81. <https://doi.org/10.29057/icsa.v7i13>

Jacobs, D., Fox, M., Gibbons, L. y Herмосilla, C. (2015). *Principles of Veterinary Parasitology*. Wiley Blackwell.

Jaimes, Camargo, K., D., y Molina., Puentes, M., M. (2022). Identificación de *Leptospira* spp utilizando una técnica molecular de PCR convencional en caninos y felinos del Instituto Distrital de Protección y Bienestar Animal (IDPYBA) [Para optar al título de Médico Veterinario y Zootecnista]. Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas Colombia.

Jorge, S., Hartleben, C. P., Seixas, F. K., Coimbra, M. a. A., Stark, C. B., Larrondo, A. G., Amaral, M. G., Albano, A. P. N., Minello, L. F., Dellagostin, O. A., y Brod, C. S. (2012). *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. *Acta Tropica*, 124(2), 147–151. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.07.009>

Kim, YJ, Seo, HJ, Kim, DM y Yun, NR (2019). Comparación de ensayo de inmunofluorescencia indirecta y PCR en tiempo real para el diagnóstico de tifus de los matorrales. *_Revista de Análisis de Laboratorio Clínico*, 33(5), e22874.

LabMedica. (2018, 30 mayo). Factores que afectan análisis del ADN en plasma. LabMedica. Recuperado 23 de febrero de 2023, de <https://www.labmedica.es/diagnostico-molecular/articles/294773647/factores-que-afectan-analisis-del-adn-en-plasma.html>

Lee, H. S., Levine, M., Guptill, Yoran, C., Johnson, A. J., von Kamecke, P., y Moore, G. E. (2014). Regional and temporal variations of *Leptospira* seropositivity in dogs in the United States, 2000-2010. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(3), 779–788. <https://doi.org/10.1111/jvim.12335>

León de la Fuente, R., A., Herrera, M., Sánchez, A., P. (2019). Fiebre Manchada por *Rickettsia Rickettsii*, 64. Editorial Académica Española

Lopardo, H., A., Predari, S., C., Vay, C., Kaufman, S., C., y Armitano, R. I. (2019). Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología (2.a ed., Vol. 1). Asociación Argentina de Microbiología.

López, Castillo, D., C., Vaquera, Aparicio, D., González, Soto, M., A., Martínez, Ramírez, R., Rodríguez, Muñoz, L., Solórzano, Santos, F. (2018). Fiebre manchada de montañas rocosas: experiencia en 5 años de vigilancia activa en un hospital pediátrico de segundo nivel en el noreste de México. Boletín Médico Del Hospital Infantil de México, 75(5). <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000034>

López, González, C., A., Hernández, Camacho, N., Aguilar, Tipacamú, G., Zamora, Ledesma, S., Olvera, Ramírez, A., M., Jones, R., W. (2021) Gap Analysis of the Habitat Interface of Ticks and Wildlife in Mexico. *Pathogens* 10 (12), 1541. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121541>

López, Pérez, A., 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. (2021). Molecular detection of *Rickettsia amblyommatis* and *Rickettsia parkeri* in ticks collected from wild pigs in Campeche, Mexico. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 13(1), 101844. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101844>

López, Y., Faccini-Martínez, A.A., Muñoz-Leal, S. et al. *Borrelia puertoricensis* en zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*) de Colombia. *Vectores de parásitos* 16, 448 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13071-023-06016-4>

Lorenzatti, J. S., Nazarena De Salvo, M., Díaz, Pérez, P., Leonardo, Cicuttin, G., y Samartino, L., Ernesto. (2022). Enfermedad por arañazo de gato en el interfaz humano animal. Reporte de caso en la Ciudad de San Luis, Argentina. *Revista Medicina Veterinaria*, 103(2), 97-99. [https://www.someve.com.ar/images/revista/2022/Vol103\(2\)/Pag-97-99-Lorenzatti.pdf](https://www.someve.com.ar/images/revista/2022/Vol103(2)/Pag-97-99-Lorenzatti.pdf)

Malbrán, C., G. (2018, mayo). Diagnóstico microbiológico de infecciones por *Bartonella spp.* Universidad Nacional de Entre Ríos. Recuperado 11 de junio de



2023, de https://www.entrierios.gov.ar/msalud/wp-content/uploads/2018/05/diagnostico-microbiologico-de-infecciones-por-bartonella-spp-_1_.pdf

Maldonado, Cabrera, A. (2013). Morbi-Mortalidad De Las Rickettsiosis En México 2002- 2011. Perspectiva A Nivel Nacional, En Un Estado Endémico (Sonora), Y Un Brote Comunitario (Mexicali) [Maestría en Salud Pública área de Concentración: Epidemiología]. Instituto Nacional De Salud Pública Escuela De Salud Pública De México.

Martínez, Martín, L. (2015, abril). Extracción de DNA: Experimento con reactivos de la vida cotidiana. Universidad Autónoma de Barcelona. Recuperado 24 de febrero de 2023, de http://genetica.uab.cat/base/documents/genetica_gen/Laura%20Mart%C3%ADnez%20M art%C3%ADn2015_4_19P21_19.pdf

Martínez, Miranda, H. A., Balam, Romero, J. B., Dzul, Rosado, K. R. (2019). Importancia de las proteínas OmpA y OmpB en el desarrollo de vacunas contra la rickettsiosis. *Revista Biomédica*, 30(2). https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-84472019000200073

McCutchan, J., L., Knox, M., A., Naikatini, A., Hayman, D., T., S. y Gartrell, B., D. (2023). Molecular Evidence of *Leptospira spp.* in Isolated Fijian Bats. *Journal of Wildlife Diseases*, 59 (1), 202–206. <https://doi.org/10.7589/jwd-d-22-00038>

McVey, D. S., Kennedy, M. A., y Chengappa, M. M. (2013). Spiral-Curved Organisms V: *Leptospira*. En *Veterinary Microbiology*. John Wiley y Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119650836>

McVey, D. S., Kennedy, M., Chengappa, M. M., y Wilkes, R. (2022). *Veterinary Microbiology*. John Wiley y Sons.

Medellín, E. A. (2020, 2 mayo). La Reconquista del Cacomixtle. *Ciencias UNAM*. <https://ciencia.unam.mx/leer/991/la-reconquista-del-cacomixtle>

Milo, A. (2022). Cacomixtle, el “mitad felino” que caza por la noche. *National Geographic en Español*, 19(8). <https://www.ngenespanol.com/animales/cacomixtle-el-mitad-felino-que-caza-por-la-noche>

Miranda, R, J., Mattar. V, S., González, Tous, M. (2017). Rickettsiosis. *Revista MVZ Córdoba*, 22, 6118-6130. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1080>

Moncada, H., Cervantes, Y. A., Luna, F., Isidro, X. (2014). Mamíferos Silvestres de la Reserva del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, UNAM (1.a ed.). Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología.

Monsalve, Buriticá, S. (2019). Algunas Clamidias y Rickettsias: riesgo en humanos y animales. En Medicina de la conservación y enfermedades de la fauna silvestre. (1.a ed.). Corporación Universitaria Lasallista. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/338530/20793626>

Monsalve, Buriticá, S., Rojano, Bolaño, C., Miranda, Regino, J., Quintana, Diosa, L., Hernandez, Fernández, L., Loaiza, Escobar, M., J., Acevedo, Cendales, L., D., Mattar, Velilla, S., Londoño, Londoño, J., Rodas González, J., D. (2014). Vigilancia epidemiológica de *Rickettsia*, *Ehrlichia* y *Anaplasma* en fauna silvestre ex situ en algunas regiones de Colombia resumen. Memorias De La Conferencia Interna En Medicina Y Aprovechamiento De Fauna Silvestre, Exótica Y No Convencional, 10(2), 184-185. <https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/182/PDF>

Montalvo, Navarro, C., A., y Lugo, Flores, M., A. (2016). Electroforesis: Fundamentos, Avances Y Aplicaciones. *EPISTEMUS*, 26, 48-54. <https://www.epistemus.uson.mx>

Montiel, Parra, G., Fuentes, Moreno, H., y Vargas, M. (2007). Primer registro de *Ixodes cookei* (Acari: *Ixodidae*) para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78(1), 205-206. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42578120>

Muñoz de Benavides, M. (2013). Estudio experimental de la influencia de la administración de IGF-1 y de su análogo peptídico Pep-1, en cultivos celulares de condrocitos humanos [Trabajo para fin de máster]. Universidad San Pablo.

Nemhauser, MD, J., B. (2023). CDC Yellow Book 2024 (Alvarado, Ramy, F., DO, K., A., Ericsson, C., Gertz, A., Kozarsky, P., Ostroff, S., Ryan, E., Shlim, D., Stauffer, W., Weinberg, M. y Wilson, M., E. Eds.). The Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://wwwnc.cdc.gov/travel/page/yellow-book-about-2024>

Nieves, Álvarez, C., J. (2018). Estudios genómicos y moleculares de bacterias del género *Leptospira*: análisis de la variabilidad genética y contribución en diagnóstico y tipificación [Tesis de Maestría]. Universidad de la República Uruguay, Facultad de Ciencias (PEDECIBA).

Núñez, L., Rodríguez, M. I., Giménez, G., y Martínez, R. (2021). Evaluación y comparación de dos protocolos de extracción de ADN a partir de tres tipos de muestras de ovinos. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 11(2).

http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2226-17612021000200018

Occi, James., L., Price, D. C., Hall, M., Campbell, V., Stronsick, S., Sullivan, C., F., Pesapane, R., Gonzalez, J., Toledo, A., y Fonseca, D. M. (2023). *Rickettsia* and relapsing fever *Borrelia* in *Alectorobius kelleyi* (Ixodida: *Argasidae*) from peri domestic bats in the northeastern United States. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 14(4), 102157. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102157>

OIE [Organización Mundial de Sanidad Animal]. (2015). Anaplasmosis Bovina. En *Manual Terrestre de la OIE* (1.a ed., pp. 1-16). <https://www.woah.org/en/home/>

OIE [Organización Mundial De Sanidad Animal]. (2022). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. In *Leptospirosis* (Vol. 1).

https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/E_summry.htm

Ordoñez, Andrade, G. (2018). Determinación de los Métodos de Diagnóstico del Perfil Reproductivo en Bovinos: Revisión. *Revista de Investigación Talentos*, 2018(1), 218-233. Recuperado a partir de <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/111>

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020, 2 marzo). Enfermedades transmitidas por vectores. World Health Organization (WHO). Recuperado 19 de



diciembre de 2023, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>

Osorio, J., Pachajoa, H., y Hurtado, P. (2013). Concentración y pureza del ADN de muestras sanguíneas en papel whatman FTA almacenadas entre 1 a 3 años*. *Revista Estomatología*, 21(1), 35-38. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877727/7-osorio-concentracion-pureza-adn.pdf>

Oteo, J. A., Nava, S., de Sousa, R., Mattar, S., Venzal, J. M., Abarca, K., Labruna, M. B., y Zavala Castro, J. (2015). Guías Latinoamericanas de la RIICER para el diagnóstico de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas. *Revista Chilena Infectol*, 31(1), 54-61.

Padilla R, Carlos, y Ventura E, Gladys. (2003). Diseño y estandarización de una prueba de PCR para el diagnóstico de la Bartonelosis causada por *Bartonella bacilliformis*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 20(1), 5-8. Recuperado en 26 de abril de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342003002&lng=es&tlng=es

Padilla, Peña, C., A., Diez, Dapena, J., M., Galisteo, E., Bárcena, Ruiz, J., A. y García, Alfonso, C. (2014). Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico. *Bioquímica y Biología Molecular*, 17. <https://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol.pdf>

Peniche, Lara, G., Ruiz-Piña, H. A., Reyes, Novelo, E., Dzul, Rosado, K., y Zavala, Castro, J. (2016). Infection by *Rickettsia felis* in opossums (*Didelphis sp.*) from Yucatan, Mexico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 58, 32. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658032>

Pérez, Acosta, J., A., Martínez, Porchas, M., Gollas, Galván, T., Martínez, Córdova, L., R., Gutierrez, Millan, L., E., y López, Torres, M., A. (2017). Proteínas transmembranales de organismos tipo *rickettsia* (OTR) en animales acuáticos: Factores de adherencia, invasión e infección. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía*. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572017000100002>

Pérez, Ramos, S. (2021). Patrones de actividad de los didelfimorfos en la Laguna de términos, Campeche [Egreso de la carrera Ciencias Biológicas y Agropecuarias]. Universidad Veracruzana.

Piredda, I., Palmas, B., Noworol, M., Tola, S., Longheu, C., Bertasio, C., Scaltriti, E., Denurra, D., Cherchi, M., Picardeau, M., Boniotti, MB y Ponti, MN (2020). Isolation of *Leptospira interrogans* from a Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) in the Mediterranean Sea. *Journal of Wildlife Diseases*, 56 (3), 727. <https://doi.org/10.7589/2019-07-186>

Portillo, A., Santibáñez, S., y Oteo, J. A. (2014). Enfermedad de Lyme. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 7(41), 37-42. <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/ccs-2012-revisionesEIMC-EnfermedaddeLyme.pdf>

Posada, Arias, S., Cabrera, Jaramillo, A. y Monsalve, Buriticá, S. (2020). *Enfermedades Rickettsiales en Latinoamérica (1.a ed.)*. Editorial Artes y Letras s.a.s.

PROFEPA. (2020, 13 julio). Mamíferos en México (Primera parte). Gobierno de México. Recuperado 10 de mayo de 2023, de <https://www.gob.mx/profepa/articulos/mamiferos-en-mexico-primera-parte?idiom=es>

Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S. y Fitzpatrick, E. S. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease (2.a ed.)*. Wiley Black Well.

Quintana, Diosa, L. E. (2018). Frecuencia de *Rickettsia spp.* En chigüiros (*Hydrochoerus ochoerus hydrochaeris*) y sus garrapatas en Paz de Ariporo, Casanare [Magister en Ciencias Veterinarias]. Universidad de la Salle Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Quintana, Diosa, L., E., Monsalve, Buriticá, S. (2020). La fauna silvestre y su papel en la transmisión de microorganismos del género *Rickettsia*. *Revista UDEA*, 1, 187-196. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/issue/view/3714>



Raya, A. P., Jaffe, D. M., Chomel, B. B., Ota, M. S., Tsou, P., Davis, A., Olave-Leyva, J. I., Galvez-Romero, G., Stuckey, M. J., Kasten, R. W., Obregón-Morales, C., Aréchiga-Ceballos, N., Martínez-Martínez, F. O., y Aguilar-Setién, A. (2018). Detection of *Bartonella* species, including Candidatus *Bartonella ovis* sp. nov, in ruminants from Mexico and lack of evidence of *Bartonella* DNA in saliva of common vampire bats (*Desmodus rotundus*) predated on them. *Veterinary Microbiology*, 222, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.06.018>

Regier, Y., O'Rourke, F., y Kempf, V. A. J. (2016). *Bartonella* spp. - a chance to establish One Health concepts in veterinary and human medicine. *Parasites y Vectors*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1546-x>

Riera, M. A., Rojas, M. E., Zapata, P. D. (2010). Protocolo de extracción de DNA por salting-out para pequeños volúmenes de sangre. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 14. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-75872010201&script=sci_arttext&tlng=pt

Ríos, Sánchez, E., Calleros, E., González, Zamora, A., Rubio, J., Martínez, O., C., Martínez, A., Hernández, S., y Pérez Morales, R. (2016). Análisis comparativo de diferentes métodos de extracción de DNA y su eficiencia de genotipificación en población mexicana. *Análisis Comparativo de Diferentes Métodos de Extracción de DNA y Su Eficiencia de Genotipificación En Población Mexicana*, 26(4), 56-65. <https://doi.org/10.15174/au.2016.1078>

Rivas LDG, S. (2020). Observaciones Tlacuaches (orden *Didelphimorphia*). *Naturalista México*. <https://www.naturalista.mx/observations>

Rocha, T. 1998. A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz.* 17, 699-712.

Rodríguez García, I. E., Coronado Blanco, J. M., Garrido Olvera, L., Guzmán Cornejo, C., López Aguirre, D., Estrada Drouaillet, B., y Niño Maldonado, S. (2020). Ectoparásitos: Trasmisores De Enfermedades De Animales A Humanos. *ResearchGate*. <https://www.researchgate.net/publication/367077596>

Rodríguez, Vivas, R. I., Ojeda Chi, M. M., Bolio González, M. E. y Rosado Aguilar, J. A. (2019). Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrociencias*.

Rojas, Jaimes, J., y Del Valle, Mendoza, J. (2023). Detection of Bartonella vinsonii, Anaplasma platys and Bartonella sp. in *Didelphis marsupialis*, *Pecari tajacu* and *Chelonoidis denticulate*: Peru. BMC Research Notes, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-023-06412-0>

Rojero, Vázquez, E. (2017). El papel de los marsupiales y perros en la dinámica de transmisión de tres rickettsias (Bacteria) en Campeche, México ([Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural]. El Colegio de la Frontera Sur.

Rojero, Vázquez, E., Gordillo, Pérez, G., y Weber, M. (2017). Infection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia spp.* in Opossums and Dogs in Campeche, Mexico: The Role of Tick Infestation. *Frontiers In Ecology And Evolution*, 5. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00161>

Romero, Borges, R., Valido, Díaz, A., y Álvarez, Montano, A. (2015). Necesidades ecológicas y ambientales de las leptospirosis para su supervivencia en el ecosistema: conocerlas para evitarlas. *Medicentro Electrónica*, 20(3). <http://scielo.sld.cu/pdf/mdc/v20n3/mdc10316.pdf>

Ruiz, Pina, H. A., Puc, Franco, M. A., Flores, Abuxapqui, J., Vado, Solis, I., y Cardenas, Marrufo, M. F. (2002). Isolation of Salmonella enterica and serologic reactivity to Leptospira interrogans in opossums (*Didelphis virginiana*) from Yucatán, México. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 44(4), 235–237. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652002000400011>

Ruiz, Piña, H., A., Escobedo, Ortegón, F., J., Rebollar, Téllez, E., Barrera, Pérez, M., A. (2011). Biodiversidad y desarrollo humano. En Mamíferos silvestres y sus patógenos zoonóticos (1.a ed.). Dirección de Recursos Naturales. <https://www.cicy.mx/sitios/biodiversidad-y-desarrollo-humano-en-yucatan>

Ruiz, Piña, H., A., Reyes, Novelo, E. (2012). El Huerto Familiar Yucateco y las Zoonosis (1.a ed.). Universidad Autónoma de Yucatán.

Ryan, K. J., y Ray, C. G. (2011). Sherris: microbiología médica (5a. ed.).

Sacristan, C., Neves, C., G. D., Suhel, F., Napolitano, C., Tengs, T., Hamnes, I., S., y Madslien, K. (2020). *Bartonella spp.* detection in ticks, Culicoides biting

midges and wild cervids from Norway. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(2), 941-951. <https://doi.org/10.1111/tbed.13762>

SAG [Servicio Agrícola y Ganadero]. (2012). Ficha Técnica Leptospirosis. Servicio Agrícola y Ganadero. Recuperado 29 de mayo de 2023, de https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_leptospirosis.pdf

Sánchez, Herrera, Ó., Pineda, Maldonado, M. A., Benítez, Díaz, H., Berlanga, H., y Rivera, Téllez, E. (2015). Guía de identificación Para las aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES): Vol. II (2.a ed.). CONABIO. https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/planeta/cites/files/CITES_mamiferos_12.pdf

Sánchez, Montes, S., Blum, Domínguez, S., Lozano, Sardaneta, Y., N., Zazueta, Islas, H., M., Solís, Cortés, M., Ovando, Márquez, O., Colunga, Salas, P., Tamay, Segovia, P., Becker, I., Fernández, Figueroa, E., Rangel, Escareño, C. (2021) Detección molecular de *Rickettsia* sp. cf. *Rickettsia monacensis* en *Ixodes* sp. cf. *Ixodes affinis* colectados de venado cola blanca en Campeche, México. *Parasitol Res.* 120:1891–1895

Sanders, C., W., Olfenbittel, C., Pacifici, K., Hess, G., P., Livingston, R., B. y DePerno, C., S. (2020). *Leptospira, Parvovirus, And Toxoplasma* In The North American River Otter (*Lontra Canadensis*) In North Carolina, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 56 (4). <https://doi.org/10.7589/2019-05-129>

Santamaría, Arza, C., Reyes, Gómez, U., Reyes, Hernández, K., López, Cruz, G., López, Días, A., Quero, Hernández, A., Reyes, Hernández, D., Santos, Calderón, A., Lara, Huerta, J., y Matos, Alviso, L. (2018). Rickettsiosis conceptos básicos. *Revista Médico Científica de la Secretaría de Salud Jalisco*, 5(2), 113-121. <https://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2018/sj182g.pdf>

Santamaría, Arza. C. (28 de 03 de 2018). Rickettsiosis conceptos básicos. Obtenido de Revista Médico Científi de la Secretaría de Salud Jalisco: <https://ssj.jalisco.gob.mx/publicaciones/5670>



Santiago, Monsalve, B., Salim, Mattar, V., Marco, González, T. (2009). Zoonosis Transmitidas por Animales y su Impacto en las Enfermedades Emergentes y Reemergentes. *Revista MVZ Córdoba*, 14(2).

Santoyo, Colín, V., Sánchez, Montes, S., Salceda, Sánchez, B., Huerta, Jiménez, H., Alcántara, Rodríguez, V., Becker, I., Gual, Sill, F., y López, Pérez, A. M. (2021). Urban foci of murine typhus involving cat fleas (*Ctenocephalides felis felis*) collected from opossums in Mexico City. *Zoonoses and public health*, 68(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/zph.12770>

Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J. E., y Sykes, J. (2015). European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56(3), 159-179. <https://doi.org/10.1111/jsap.12328>

Sepúlveda, García, P., Raffo, E., Medina, Vogel, G., Muñoz, F., Muñoz, P., Alabí, A., Navarrete, Talloni, M., J., Gonçalves, L., R., De Mello, V., V., C., Machado, R., Z., André, M., R., Bittencourt, P., y Müller, A. (2020). Molecular survey of *Bartonella spp.* and *haemoplasmas* in American minks (*Neovison vison*). *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 2094-2110. <https://doi.org/10.1111/tbed.13857>

Shearer, D., y Wall, R. (2010). *Ectoparasitología veterinaria, biología, patología y control* (1.a ed.) [Físico]. Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA, S.A.

Shearer, K., E., Harte, M., J., Ojkic, D., Delay, J., y Campbell, D. (2014). Detection of *Leptospira spp.* in wildlife reservoir hosts in Ontario through comparison of immunohistochemical and polymerase chain reaction genotyping methods. *The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne*, 55(3), 240–248.

Solís, Hernández, A., Rodríguez, Vivas, R. I., Esteve, Gassent, M. D., y Villegas, Pérez, S. L. (2016). Prevalencia de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en roedores sinantrópicos de dos comunidades rurales de Yucatán, México. *Biomedica*, 36(1), 109-117. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i3.3139>

Solórzano, Paz, M. G., y Gálvez, García, Y. N. (2015). Aislamiento e identificación de *Leptospira interrogans* de muestras de pacientes hospitalizados en el Hospital

General San Juan de Dios durante el período de mayo a septiembre de 2013 [Para Optar al Título de Químicas Biólogas]. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Spach, H., D. (2020). Clinical features, diagnosis, and treatment of *Bartonella quintana*. UpToDate. Retrieved February 18, 2021, from <https://www.uptodate.com/contents/clinical-features-diagnosis-and-treatment-of-bartonella-quintana-infections>

Straub, M., H., Rudd, J., L., Woods, L., W., Clifford, D., L. y Foley, J., E. (2021). *Leptospira* Prevalence And Its Association With Renal Pathology In Mountain Lions (*Puma Concolor*) And Bobcats (*Lynx Rufus*) In California, Usa. *Journal of Wildlife Diseases*, 57 (1). <https://doi.org/10.7589/jwd-d-20-00070>

Tamay D., L., Ibarra, C., Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en Discapacidad*, 2 (2):70-78.

Tomas, H., Landázuri, R., Carrasco, A., León, R., Vinueza, L., y Barragan, V. (2021, 15 septiembre). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias | Gobierno gob.mx. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/5635>

Tomé, Melo, A. L., De Aguiar, D. M., Spolidorio, M. G., Yoshinari, N. H., Matushima, E. R., Labruna, M. B., y Horta, M. C. (2016). Serological evidence of exposure to tick-borne agents in opossums (*Didelphis spp.*) in the state of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria*, 25(3), 348-352. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612016028>

Toriz, Suarez, O., Pérez, Rivero, J., Herrera, Barragán, A., Torres, Barranca, J., y Lombardero, Goldaracena, G. (2021). Frecuencia de leptospirosis en equinos: revisión de literatura. *Abanico Veterinario*, 11(1). <https://doi.org/10.21929/abavet2021.23>

Torres, Castro, M., Cruz, Camargo, B., E., Medina, Pinto, R., A., Reyes, Hernández, B., Moguel, Lehmer, C., Medina, R., Ortiz, Esquivel, J., Arcila, Fuentes, W., López, Ávila, A., No-Pech, H., Panti-May, J. A., Rodríguez-Vivas, I., y Puerto, F. I. (2018). Detección molecular de leptospirosis patógenas en roedores



sinantrópicos y silvestres capturados en Yucatán, México. *Biomedica*, 38, 51–58.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.3938>

Tufts, D. M., Goodman, L. B., Benedict, M. C., Davis, A. D., VanAcker, M. C. y Diuk Wassera, M. (2021). Association of the invasive *Haemaphysalis longicornis* tick with vertebrate hosts, other native tick vectors, and tick-borne pathogens in New York City, USA. *International Journal for Parasitology*, 51(2-3), 149-157.
<https://doi.org/10.10116/j.ijpara.2020.08.008>

Tuya, F., Curbelo, L., y Montero, D. (2016, abril). Extracción de ADN. *Prácticas de Biología General (Evolución y Genética)*. Recuperado 2 de marzo de 2023, de <https://studylib.es/doc/7762128/extracci%C3%B3n-adn-dr.-fernando-tuya>

Uchuya, N., M., Morales, Cauti, S., y Gomez, Puerta, L., A. (2022). Presencia de *Bartonella spp.* en murciélagos no hematófagos en la Reserva Ecológica Taricaya, Puerto Maldonado, Madre de Dios, Perú. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*, 33(4), e23343. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i4.23343>

Vado, Solís, I., Cárdenas, Marrufo, M., F., Jiménez, Delgadillo, B., Alzina, López, A., Laviada, Molina, H., Suárez-Solís, V., y Zavala, Velázquez, J. E. (2002). Clinical-epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*, 44(6), 335-340.
<https://doi.org/10.1590/s0036-46652002000600008>

Vargas, Sandoval, M., y Ponce, Saavedra, J. (2020). Enfermedad de Lyme: zoonosis emergente en México. *Saber más*. Recuperado 20 de agosto de 2023, de <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/435-numero-50/824-enfermedad-de-lyme-zoonosis-emergente-en-mexico.html>

Vargas, Yáñez, R., Vargas, Bahena, R. (2018). El de cola anillada: Cacomiztle. *HYPATIA Revista de Divulgación Científico-Tecnológica del Gobierno del Estado de Morelos*, 1(70). <https://www.revistahypatia.org/mastozoologia-revista-32.html>

Villarreal, EB, O., Mendoza, M, G., Camacho, Ronquillo, J., Franco, Guerra, f., Hernández, Hernández, j., y Plata, P, F. (2012). Ampliación de la distribución geográfica de cacomixtle tropical, *bassariscus sumichrasti* (carnivora: *procyonidae*) en México. *Revista colombiana*, 4(1), 168-171.
<https://revistas.unisucre.edu.co/index.php/recia/article/view/305/347>



Wasinski, B., Dutkiewicz, J. (2013). Leptospirosis: current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann Agric Medio Ambiente Med.*, 20 (2), 239-244.

WSAVA [Asociación Mundial de Veterinarios de Pequeños Animales]. (2020). Recomendaciones sobre vacunación para los profesionales latinoamericanos de pequeños animales: un informe del Grupo de Directrices de Vacunación de WSAVA. *Revista Clínica Veterinaria*, 148, 34-91. <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/10/Recommendations-on-vaccination-for-Latin-American-small-animal-practitioners-Spanish.pdf>

Yescas, Benítez, J. E., Pérez, N. R., Montiel, Díaz, H., Valladares, Carranza, B., Peláez, Acero, A., Morales, Ubaldo, A. L., y Zaragoza, Bastida, A. (2020). Comportamiento epidemiológico de la leptospirosis en México durante el periodo 2013-2019. *Revista de Salud Pública*, 22(4), 1–7. <https://doi.org/10.15446/rsap.v22n4.87535>

Zhang, L., Zhao, J., Cui, G., Wang, H., y Wang, D., W. (2015). Genotyping on ALDH2: Comparison of four different technologies. *PLoS One*, 10(3), e0122745-e0122754.

