

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



“Búsqueda de especies de Rickettsia potencialmente zoonóticas en garrapatas procedentes de vida silvestre de El Salvador”

POR
ÁLVARO JOSÉ SALAZAR ÁLVAREZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO 2023

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA**



“Búsqueda de especies de Rickettsia potencialmente zoonóticas en garrapatas procedentes de vida silvestre de El Salvador”

POR

ÁLVARO JOSÉ SALAZAR ÁLVAREZ

RESUMEN DE PASANTIA DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO 2023

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

Lic. M. Sc. Roger Armando Arias Arévalo

SECRETARIO GENERAL:

M. Sc. Francisco Antonio Alarcón Sandoval

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO:

Dr. Francisco Lara Ascencio

SECRETARIO:

Ing. Agr. Balmore Martínez Sierra

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

MV. Ricardo Ernesto Gamero Guandique

ASESOR INTERNO

MVZ. M. Sc. Rosy Francis Alvarenga Artiga

TRIBUNAL CALIFICADOR

MVZ. M. Sc. Evelyn Alejandra Miranda Melara

MVZ. M. Sc. Luis Ernesto Romero Pérez

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION

MVZ. M.S.P. María José Vargas Artiga

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto en el cual ya casi culmina mi carrera universitaria, a mis padres Elba Amalia Álvarez Ramírez de Salazar y José Ernesto Salazar Salazar por siempre estar a mi lado y apoyarme en las decisiones que he tomado a lo largo de mis estudios. A mis amigos y compañeros por siempre ser parte de esta etapa de mi vida personal y profesional. A mi novia Rebecca Aguilar, por siempre apoyarme y aconsejarme en todo momento, a mi asesora interna, Dra. Rosy Francis Alvarenga por brindarme el apoyo desde mi servicio social y también como asesora en mi pasantía de investigación y a todos los docentes principalmente a todos los miembros del departamento de medicina veterinaria de la Facultad de Ciencias Agronómicas por compartir sus conocimientos y contribuir al desarrollo profesional de cada uno de los estudiantes de la carrera.

Br. Álvaro José Salazar Álvarez

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios y a mi familia, confiando en que será el primero de muchos logros en mi vida personal y profesional.

Br. Álvaro José Salazar Álvarez

RESUMEN

Las rickettsiosis son un grupo de enfermedades que se encuentran distribuidas a nivel mundial y que representan un alto riesgo en la salud humana y animal, al ser transmitidas por vectores como pulgas, piojos, ácaros y garrapatas.

A partir del análisis de ejemplares de garrapatas procedentes de vida silvestre, en 4 áreas naturales protegidas de nuestro país, como lo son el Parque Nacional El Imposible, Parque Nacional Montecristo, Parque Nacional El Boquerón y Laguna de Alegría; así mismo, contando con el apoyo de instituciones de protección de vida silvestre, quienes proporcionaron algunos ejemplares de garrapatas, se pudo realizar la búsqueda de nuevas especies de rickettsia en El Salvador.

Se realizaron pruebas de PCR convencional y secuenciación, para la detección molecular e identificación de especies de garrapatas y rickettsias. Este estudio permite tener un mejor conocimiento de la presencia y distribución de las especies rickettsiales en el país, favoreciendo el desarrollo de estudios epidemiológicos posteriores tanto de rickettsias como de otros agentes infecciosos en diferentes especies animales y el ser humano.

En esta investigación se reportan hallazgos nuevos para El Salvador los cuales corresponden a cinco especies de garrapatas y dos especies de rickettsias. Estos hallazgos amplían el banco genético que actualmente posee El Salvador.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Garrapatas.....	3
2.2. Géneros de garrapatas presentes en el neotrópico y El Salvador:	5
2.3. Ciclo biológico de las garrapatas duras:	6
2.4. Rickettsias.....	8
2.4.1. Etiología.....	8
2.4.2. Enfermedades transmitidas por Garrapatas	8
2.4.3. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas	9
2.4.4. Historia general de las rickettsias	9
2.4.5. Epidemiología.....	10
2.4.6. Distribución de las rickettsias en América Central.....	11
2.4.7. Clasificación de las rickettsias:.....	13
2.4.8. Transmisión	14
2.4.9. Signos clínicos de las rickettsiosis:	15
2.4.10. Diagnóstico de las rickettsiosis	16
3. DESARROLLO	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. Resultados	27
4.2. Discusión.....	31
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
5.1. Conclusiones.....	38
5.2. Recomendaciones.....	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	40

INDICE DE CUADROS

Tabla 1: Clasificación de las Rickettsias	13
Tabla 2: Localidades en El Salvador donde fueron encontradas las garrapatas durante 2019 -2021.	29
Tabla 3: Datos de secuencias parciales de ADNr 16S mitocondrial a partir de 10 muestras de garrapatas de El Salvador en el presente estudio.	30
Tabla 4: Datos de las secuencias parciales gltA y OmpA generadas para especies de Rickettsia de El Salvador en el presente estudio.	31

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Regiones zoogeográficas en las que se divide el mundo.....	4
Figura 2: Ciclo de vida de la garrapata.....	7
Figura 3: Hemorragias petequiales causadas por Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas.....	9
Figura 4: Distribución de <i>Rickettsia</i> sp. en América Latina y el Caribe.....	12
Figura 5: Ciclo de vida para el grupo de las Fiebres manchadas.....	14
Figura 6: Exantema máculo-papular purpúrico en un paciente afecto de infección por <i>Rickettsia rickettsii</i>	15
Figura 7: Equimosis extensa en paciente afecto de infección por <i>Rickettsia rickettsii</i>	16
Figura 8: Escara y celulitis con exantema maculo-papular en paciente con infección por <i>Rickettsia parkeri</i>	16
Figura 9: Preparación de muestras de garrapatas y extracción de ADN.....	19
Figura 10: Colocación de muestras en el TERMOCICLADOR para procesamiento de pruebas PCR.....	20
Figura 11: Proceso de amplificación de ADN	22
Figura 12: Visualización de una electroforesis en gel.....	24
Figura 13: Distribución de garrapatas infectadas por <i>R. amblyommatis</i>	36

1. INTRODUCCIÓN

En el territorio nacional, existen pocas investigaciones que ayuden a determinar la presencia y distribución de diferentes agentes infecciosos como las rickettsias. El fin de la investigación, es la búsqueda de especies de rickettsias a partir de la recolección de ejemplares de garrapatas en 4 áreas naturales protegidas; además de contar con el apoyo de instituciones de protección a la vida silvestre, quienes proporcionaron una pequeña cantidad de especímenes para su estudio.

A partir de la realización de pruebas de biología molecular como lo es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación, se identificaron diferentes especies de garrapatas y rickettsias presentes en el territorio. Se ha demostrado, según estudios realizados a nivel mundial, que las rickettsias pueden afectar a diferentes especies animales e incluso humanos, siendo así agentes causales de diferentes enfermedades de carácter zoonótico.

El Salvador posee un clima tropical, el cual es un ambiente adecuado para la multiplicación de artrópodos como las garrapatas, y que tienen el potencial de transmisión de diferentes agentes infecciosos. En estudios recientes sobre la ocurrencia de diferentes especies de *Rickettsia* en América Latina se ha demostrado que en Centroamérica son transmitidas diferentes especies de rickettsias, siendo *Rickettsia rickettsii* reportada en los últimos años principalmente en Costa Rica y Panamá asociada a las especies de garrapatas *Amblyomma mixtum* (reportada como *Amblyomma cajennense*), *Dermacentor nitens*, y *Haemaphysalis leporispalustris* (López, 2016). Desde el año 2009, se ha reportado en El Salvador y Costa Rica *Rickettsia bellii*, en garrapatas *Amblyomma sabanerae* y *Amblyomma rotundatum* así como *Amblyomma rotundatum* en Panamá. *Rickettsia amblyommii* se reporta en *Amblyomma mixtum* en Panamá, Costa Rica y Honduras (López, 2016).

Un estudio realizado como vigilancia epidemiológica mundial de la rickettsiosis, evidenció por serología altos porcentajes de seropositividad a agentes rickettsiales obteniendo un

20% de las muestras positivas a rickettsias del grupo tifus y 32.5% del grupo de las fiebres maculosas (OMS,1993).

El Salvador no posee reportes de rickettsiosis en humanos, pero existe evidencia serológica de *Rickettsia* en la población (WHO, 1993); además, países cercanos que incluyen a México, Costa Rica, Honduras y Panamá, reportan presencia de enfermedad en humanos asociada a las especies del grupo de la fiebre manchada, como *Rickettsia rickettsii* y también rickettsias de otros grupos tales como *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia typhi*, *Rickettsia akari* y *Rickettsia felis* (Chen & Wilson, 2009; Labruna *et al.*, 2011).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Garrapatas

Los artrópodos son animales que se caracterizan por tener apéndices articulados, este grupo de animales es el más numeroso en el planeta representando cerca del 85% de las especies animales que habitan la tierra, algunas especies como los crustáceos, abejas, gusanos de seda y muchos más son de gran beneficio para la humanidad y un pequeño grupo resulta ser muy perjudicial para la salud humana y de los animales domésticos y silvestres, inyectando veneno o produciendo picaduras o bien como parásitos temporales o permanentes (Gomez & Gutiérrez, 2018). Los artrópodos patógenos pueden causar lesiones de tipo traumáticas en la piel de sus hospederos, así mismo pueden ser capaces de transmitir diferentes agentes bacterianos, virales, protozoarios, helmintos u otros artrópodos (Puerta & Mora, 2014).

El phylum *Arthropoda* está dividido en varios subphyla cuyos números varían según diferentes autores, entre estos subphyla tenemos a *Mandibula* que incluye moscas, mosquitos, piojos, chinches, escarabajos, chapulines, crustáceos, miriápodos; el subphylum *Pentastoma* incluye a los parásitos *Linguatula*, *Porocephalus* y otros y el subphylum *Chelicerata* incluye ácaros de la sarna, arañas, escorpiones y garrapata. Este último subphylum se divide en dos clases *Merostoma* (artrópodos acuáticos no patógenos de animales domésticos) y la clase *Arachnida* en la cual se encuentran las garrapatas (Quiroz Romero, 1990).

Las garrapatas son un grupo de artrópodos pertenecientes a la clase *Arachnida* cuyas características morfológicas y fisiológicas las permite separarse en dos grandes familias, las garrapatas blandas conocidas como argásidos y las garrapatas duras conocidas como ixódidos. Este último grupo de aproximadamente 700 especies es responsable de la transmisión de agentes patógenos en animales y humanos (Manzano et al. 2016). Según Quiroz Romero, 1990; se transmiten a través de contacto por el suelo, cumpliendo

diferentes estadios evolutivos o de crecimiento, siendo estos: huevos, larvas, ninfas y adultos; pudiendo desarrollarse en uno, dos o tres hospederos, la familia *Ixodidae* son responsables de la aparición de diferentes enfermedades a nivel mundial, estas garrapatas se caracterizan por tener un escudo completo en el dorso y las hembras un escudo que cubre parcialmente el dorso.

La familia *Ixodidae* o garrapatas duras, son ectoparásitos que se alimentan de sangre de anfibios, reptiles, aves y mamíferos en todo el mundo. Las garrapatas pueden lesionar a sus huéspedes al causar dermatosis, anemia, parálisis y otras afecciones debilitantes, pero su principal importancia radica en su capacidad para transmitir patógenos, algunos de los cuales pueden ser fatales para los animales domésticos, animales salvajes, así como humanos. Actualmente comprende 137 especies que habitan la región zoogeográfica neotropical, la mayoría de las cuales son endémicas de esta región (Guglielmone et al. 2020). Las regiones biogeográficas o zoogeográficas del mundo son tierras y aguas cuyas fronteras no son definidas políticamente, sino por los límites geográficos de las comunidades humanas y los sistemas ecológicos, cada una de estas regiones ofrece un conjunto peculiar de condiciones ecológicas y se distingue por la fauna nativa que alberga. Dichas regiones son, la paleártica, la neártica, la neotropical, la etiópica, la oriental y la australiana (Figura 1) (Cajal, 2017).

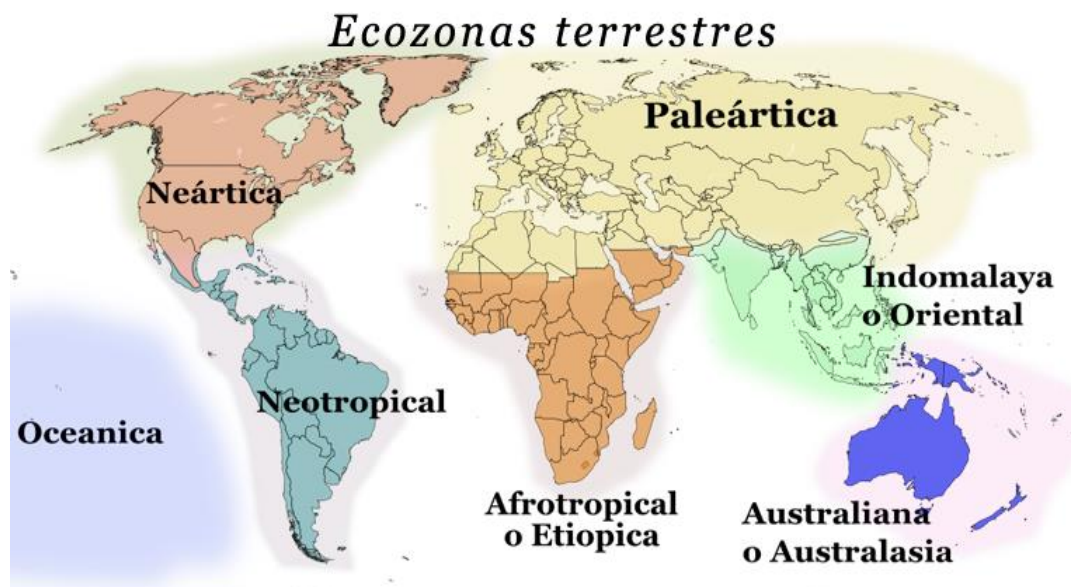


Figura 1: Regiones zoogeográficas en las que se divide el mundo. Extraído de: Ygovea, 2012.

2.2. Géneros de garrapatas presentes en el neotrópico y El Salvador:

Dentro de la familia de los Ixódidos se encuentran diferentes géneros de garrapatas.

Grupo Prostiata, género *Ixodes*, es el más amplio de toda la familia Ixodidae, son parásitos de reptiles, mamíferos y aves en todo el mundo, siendo de importancia en salud pública y veterinaria por la capacidad de transmisión de diferentes agentes infecciosos en humanos y animales (Guzmán & Robins, 2009). A nivel mundial se conocen cerca de 265 especies pertenecientes a este género, el 26% de ellas se encuentran en la región zoogeográfica afrotropical, el 23% se encuentra en la región zoogeográfica paleártica y el 21% se encuentra en la región zoogeográfica neotropical, donde 43 de las 55 especies son endémicas de esta región (Guglielmone et al. 2020).

No existe registro de la presencia de este género de garrapatas en El Salvador.

Grupo Metastriata, en este grupo se encuentran alrededor de 16 géneros, siendo los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemophysalis*, y *Rhipicephalus* los que se encuentran en la región neotropical.

El género *Amblyomma*, posee aproximadamente 146 especies de garrapatas, la mayor cantidad de especies (49%, 67 especies) se encuentra en la región neotropical y en segundo lugar con el 21% de las especies se encuentra en la región afrotropical (Guglielmone et al. 2020). Dentro de este género se reportan para El Salvador las especies *Amblyomma mixtum* (afectando gran diversidad de especies de animales domésticos), *Amblyomma dissimile* (reptiles de vida silvestre), *Amblyomma sabanerae* (reptiles), *Amblyomma scutatum* (reptiles); *Amblyomma parvum* (animales domésticos y silvestres), *Amblyomma ovale* (carnívoros domésticos y silvestres), *Amblyomma auricularium* (Armadillos) (Navarrete et al., 2014).

El género *Dermacentor* compuesto por 42 especies de garrapatas, encontrándose el 36% en la región paleártica, otro 36% se encuentra en la región oriental y el 21% de ellas se encuentran en la región neotropical (4 de ellas son únicas en esta región) (Guglielmone et

al. 2020). El género *Dermacentor* en El Salvador comprende las especies: *Dermacentor dissimilis* en equinos del municipio de San Fernando (Navarrete *et al.*, 2014) y *Dermacentor nitens* en equinos del municipio de Las Pilas, San Ignacio, Chalatenango (Romero *et al.*, 2021).

El género *Haemophysalis* este compuesto por 176 especies, encontrándose la mayor parte (55%) en la región oriental, 27% en la región afrotropical, únicamente el 2% (3 especies) se encuentran en la región neotropical, donde una sola de estas especies es específica de la región (Guglielmone *et al.* 2020). No existe registro de la presencia de este género de garrapatas en El Salvador.

El último género encontrado en el neotrópico es el género *Rhipicephalus*, es la garrapata con mayor distribución en el mundo, ya que existen en la actualidad 60 especies, aparentemente es nativa de África, pero se ha encontrado en el trópico y en regiones de clima templado, causado por la migración del hombre y sus mascotas. El 87% de las especies se encuentran en la región afrotropical, 18% se encuentra en la región paleotropical. Únicamente se pueden encontrar 3 especies en la región neotropical (Guglielmone *et al.* 2020). Este género en El Salvador comprende las especies: *Rhipicephalus microplus* (bovinos, equinos y caninos) y *Rhipicephalus sanguineus* (caninos y el ser humano) (Navarrete *et al.*, 2014).

2.3. Ciclo biológico de las garrapatas duras:

Las garrapatas se movilizan en los campos en donde esperan a que un hospedador pase cerca de ellas, en muchas ocasiones los estadios inmaduros de las garrapatas no suelen encontrarse en el hospedador, sino en el suelo, arbustos y en los lugares donde los animales descansan como madrigueras o cuevas, esperan sigilosamente a que el hospedador pase cerca y poderlo abordar, ellas suben cuidadosamente por las extremidades de los animales y en casos accidentales en humanos, buscando las zonas cubiertas de vellosidades como cabeza, axilas y en animales en la parte perianal, cuello, patas y orejas (Figura 2). En la mayoría de los casos el hospedador no nota la presencia de la garrapata, debido a que esta produce una picadura indolora, ya fijada en la piel

delgada, ingiere sangre para subsistir, la búsqueda de una fuente de alimento puede durar días hasta meses dependiendo la especie de garrapata (Manzano et al., 2016).

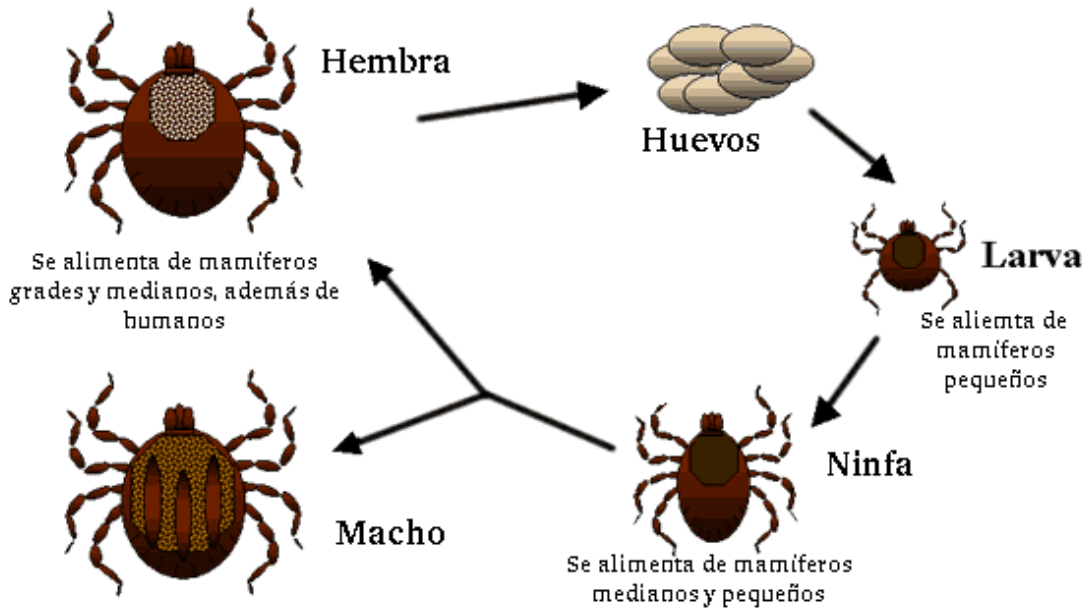


Figura 2: Ciclo de vida de la garrapata, Adaptado de "Blog El Raid" (Gamiz, 2020).

Durante su estadía en el hospedador, ancla el hipostoma para poder fijarse a la piel y poder tener una vía directa a la sangre, cuando la hembra se encuentra repleta de sangre y sexualmente madura, baja de su hospedador a colocar en una sola vez miles de huevos en forma de paquetes en los bosques y muriendo al poco tiempo, la nueva generación guardará a la espera de una fuente de sangre para cumplir su ciclo. El ciclo de vida de las garrapatas está ligado a la época del año, ya que en los meses más calurosos su población se ve aumentada debido a que se prestan las condiciones ambientales y de hospedador para su desarrollo (Manzano *et al.*, 2016).

2.4. Rickettsias.

2.4.1. Etiología

Las rickettsias son organismos intracelulares, procariotas como las bacterias, pero privadas de varias enzimas, hecho que las hace dependientes de una célula eucariótica del huésped, se multiplican por fisión binaria dentro de las células de un artrópodo o de un huésped humano o animal. Son transmitidas por los artrópodos hematófagos (vectores) como son las garrapatas, piojos, pulgas y ácaros (Quintero et al, 2012).

Las rickettsias causan enfermedades como la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (FMRR), el tifus epidémico y el tifo endémico; provocando cuadros febriles agudos, los cuales pueden ser fatales si no son tratados oportuna y adecuadamente (Suárez et al., 2008)

2.4.2. Enfermedades transmitidas por Garrapatas

Las garrapatas son parásitos hematófagos que durante su alimentación pueden llegar a transmitir una diversidad de agentes infecciosos en humanos y animales domésticos y salvajes. Aunado a esto, al momento de la picadura para alimentarse pueden causar diferentes lesiones a su hospedador como son irritación, inflamación de la piel, dermatitis, prurito, estrés, anemia y respuestas alérgicas (Rodríguez et al. 2019).

Actualmente, se conoce que la picadura de la garrapata, es capaz de transmitir una amplia variedad de enfermedades o agente infecciosos, estos en su gran mayoría son de carácter zoonótico, pues son responsables de causar enfermedades en humanos con cursos graves, pudiendo llegar a causar la muerte en muchas ocasiones, lo que hace que estas enfermedades sean de mucho interés en salud pública para muchas instituciones de salud a nivel mundial. Algunas de las enfermedades relacionadas con la picadura de la garrapata son: La enfermedad de Lyme, Ehrlichiosis Humana, Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas causada por rickettsias, Babesiosis Humana, y Anaplasmosis Granulocítica Humana (Rodríguez et al. 2019).

2.4.3. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas

La fiebre manchada de las Montañas Rocosas (RMSF, por sus siglas en inglés) es una enfermedad bacteriana que se propaga mediante las picaduras de garrapatas infectadas. La mayoría de las personas que contraen la fiebre manchada de las Montañas Rocosas presentan fiebre, dolor de cabeza y sarpullido. Los signos y síntomas tempranos de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas no son específicos de esta enfermedad (como fiebre y dolor de cabeza) (Figura 3). Sin



Figura 3: Hemorragias petequiales causadas por Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. Extraído de: The Center for Food Security & Public Health, 2022.

embargo, la enfermedad puede avanzar rápido y evolucionar a una enfermedad grave y potencialmente mortal (CDC, 2021). Se ha demostrado, según investigaciones del CDC, que las principales garrapatas implicadas en esta enfermedad en Norte América son *Dermacentor variabilis*, *D. andersoni* y *Rhipicephalus sanguineus* (CDC, 2019).

2.4.4. Historia general de las rickettsias

La identificación y clasificación de las rickettsias, así como el descubrimiento de sus formas clínicas, ocurrió en el siglo XX. Sin embargo, las enfermedades ocasionadas por estos microorganismos han existido desde la antigüedad y han tenido grandes efectos en la historia y evolución de la humanidad. Dentro de los grandes conflictos del siglo XX se registraron plagas por enfermedades provocadas por las rickettsias, como son: tífus epidémico, fiebre Q y fiebre de la trinchera. El reporte más antiguo de epidemia por *Rickettsia* en Europa data del año 429 a.C., cuando ocurre la plaga del tífus en Atenas. Mientras que, en América, las referencias más antiguas de estas zoonosis provienen de las leyendas de los indios Shoshone.

El primer indicio documentado data de 1896 en el Valle de Idaho, donde recibió el nombre de sarampión negro (debido a su exantema característico) o de la fiebre del sendero. La mortalidad de esta patología variaba en aquellos años de 5% en Idaho a 70% en Montana.

En 1899 Edward E Maxey provee de la primera descripción clínica de «una enfermedad febril caracterizada clínicamente por hipertermia moderada, constante, la cual se acompaña de una profusa erupción caracterizada por ser, primero de color rojo púrpura, la cual progresa hasta volverse de color negro. Esta erupción inicialmente aparece en los tobillos, muñecas y frente, la cual rápidamente se esparce por todo el cuerpo». Esta entidad patológica fue denominada como fiebre manchada de Idaho. En 1900 ya se tenían referencias de esta enfermedad en otras áreas como Washington, Montana, California, Arizona y Nuevo México, siendo los primeros en identificar a las garrapatas como vectores de esta enfermedad, en 1906, se caracterizó a la garrapata *Dermacentor spp* como al agente involucrado en la transmisión de la FMMR.

Entre 1906 a 1910, el doctor Howard Taylor Ricketts identifica el agente etiológico de esta enfermedad: la *Rickettsia rickettsii*, concluyendo que la enfermedad es de tipo infeccioso y, por lo tanto, transmisible por animales de laboratorio.

2.4.5. Epidemiología

Las bacterias del género *Rickettsia* pueden ser patógenas para sus hospederos vertebrados e invertebrados, algunas bacterias de este género han sido causa de muchas epidemias en todo el mundo, algunas de las más importantes son el tifus que causó 3 millones de muertes en Rusia entre 1917 y 1923, la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas que causó 224 muertes durante 1983 en Estados Unidos. La FMMR es una zoonosis universal con más alta incidencia en Europa, Estados Unidos, Oeste de Canadá, Occidente y Centro de México, Panamá, Costa Rica, Noroeste de Argentina, Brasil y Colombia (Barba, 2009).

Las rickettsiosis constituyen un grupo de enfermedades zoonóticas de distribución geográfica mundial encontradas en Asia, África, Europa y América.

En Latinoamérica 8 especies han sido asociadas a enfermedades humanas: *R. rickettsii* en México, Costa Rica, Panamá, Colombia, Brasil y Argentina; *R. prowazekii* en Argentina, Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador, Guatemala, México y Perú; *R. typhi* en Brasil, Colombia, Guatemala, México, Panamá y Puerto Rico; *R. felis* en México y Brasil; *R. parkeri* en Brasil,

Uruguay y Argentina; *R. africae* en las Antillas menores; *R. akari* en Costa Rica y México, y finalmente *R. massiliae* en Argentina (Ávila et al, 2020).

Todos los países de América Central tienen registros de rickettsiosis. Con respecto a las rickettsias del grupo tifus, existe evidencia clínica o serológica de *Rickettsia prowazekii* en Guatemala, *Rickettsia typhi* en Panamá, Guatemala y Costa Rica y especies no identificadas del grupo tifus en El Salvador. Un estudio serológico mostró títulos de anticuerpos contra rickettsias del grupo tifus en humanos en Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua y Panamá, así mismo un estudio de vigilancia mundial desarrollado por la OMS en 1993, ocho voluntarios de El Salvador tuvieron una reacción positiva a rickettsias del grupo tifus (Bermudez & Troyo, 2018).

En América Central, la bacteria *Rickettsia rickettsii* ha sido identificada molecularmente en las especies de garrapatas: *Amblyomma mixtum*, *Dermacentor nitens*, *Haemaphysalis leporispalustris*, *Amblyomma varium* y *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (Parola et al., 2013; Lopes et al., 2016; Troyo et al., 2016; Martínez-Caballero et al., 2018). Otras especies de agentes rickettsiales se han identificado en garrapatas obtenidas de ambiente, animales domésticos y animales silvestres, demostrando la presencia de diferentes agentes rickettsiales en especies de garrapatas en la región. En América Central, Belice, Costa Rica y Panamá demuestran la existencia de *Rickettsia rickettsii* y *Rickettsia parkeri* en garrapatas de la región que representan un potencial riesgo para la salud pública, las rickettsiosis podrían ser un problema subestimado en ausencia de mayores esfuerzos diagnósticos en casos febriles indeterminados (López et al., 2016; Troyo et al., 2016; Bermúdez et al., 2016; Polsomboon et al., 2017).

2.4.6. Distribución de las rickettsias en América Central

Existen diferentes reportes de *Rickettsia* en América Latina (Figura 4) incluyendo varios países de América Central. *Amblyomma cajennense* es la especie de garrapata mayormente asociada a contacto con seres humanos en América Central, siendo el transmisor de la *Rickettsia rickettsii* (Buitrago y Pachón 2008).

Estudios realizados por el Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), en Costa Rica, han identificado la presencia de bacterias no reportadas previamente en ese país como *Rickettsia amblyommii* y *Rickettsia felis*, esta última reconocida como patógeno para el ser humano (CIET, 2011).

En El Salvador existe evidencia de la presencia de agentes rickettsiales circulantes en humanos (pruebas serológicas), animales y vectores; aunque muy limitada. Un estudio realizado como vigilancia epidemiológica mundial de a rickettsiosis, evidenció por serología altos porcentajes de seropositividad a agentes rickettsiales obteniendo un 20% de las muestras positivas a rickettsias del grupo del tifus y 32.5% del grupo de las fiebres maculosas (OMS, 1993).

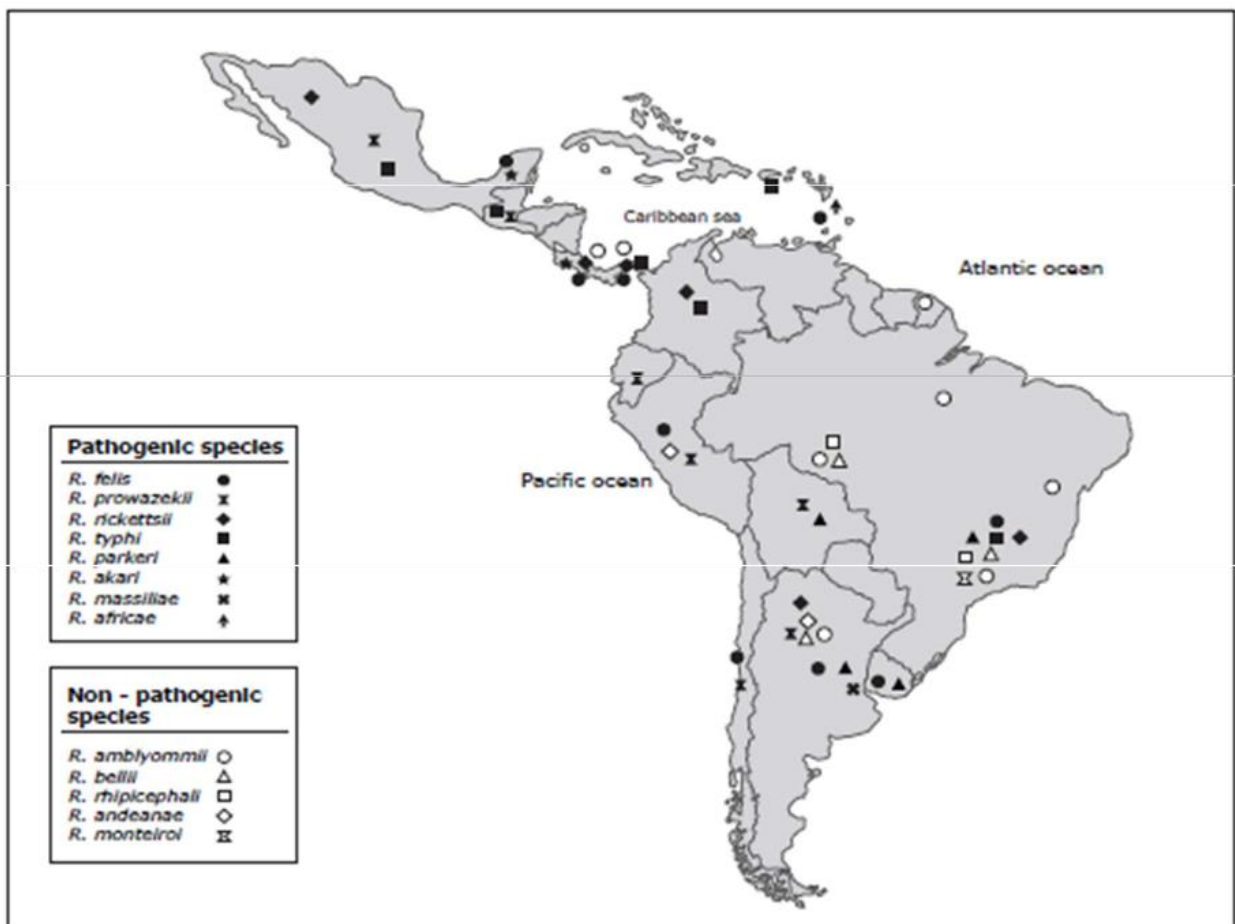


Figura 4: Distribución de *Rickettsia* sp. en América Latina y el Caribe, tomada de “Rickettsiosis en América Latina, el Caribe, España y Portugal” (Labruna, 2011).

Rodríguez Mata (2004) realizó un estudio para la vigilancia de agentes causantes de Enfermedades Emergentes Infecciosas en la población del departamento de La Libertad, El Salvador. Este estudio reveló, mediante análisis serológicos 29/(41%) casos positivos a *Rickettsia rickettsii*, y 4/(6%) a *Rickettsia typhi*.

Es importante tomar en cuenta que la sintomatología de las enfermedades rickettsiales en humanos es muy general y no es de extrañar que puedan estar siendo enmascaradas por otras enfermedades de carácter endémico en El Salvador.

2.4.7. Clasificación de las rickettsias:

Las rickettsias son clasificadas de diferentes formas, la más utilizada es la que las divide en dos grupos (Tabla 1): el de las fiebres manchadas (o maculosas) y el de las fiebres tíficas. Las fiebres manchadas constituyen un grupo de zoonosis transmitidas por garrapatas y que son causadas por diversas rickettsias muy relacionadas entre sí. Otras rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas. Esta clasificación se refiere según la zona geográfica en que se presentan y se les han denominado como: *R. sibirica*, *R. japonica*, *R. australis*, *Israeli tick typhus Rickettsia*, *R. africae*, *R. slovaca*, *R. canada*, *R. montana*, *R. helvetica*, *R. bellii*. (Barba, 2009).

AGENTE CAUSAL	ENTIDAD CLÍNICA	VECTOR	HOSPEDERO	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA
GRUPO DE FIEBRES MANCHADAS				
<i>R. conorii</i>	Fiebre botonosa	Garrapata	Perro	Mediterráneo, África, India
<i>R. felis</i>	Tifus murino	Pulga de gato	Perro, gato y otros mamíferos domésticos	América, Sur de Europa (puede ser universal)
<i>R. slovaca</i>	TIBOLA	Garrapata	Diferentes mamíferos salvajes y domésticos	Europa
<i>R. rickettsii</i>	Fiebre de las montañas rocosas	Garrapata	Roedores y perro	América
<i>R. akari</i>	Viruela rickettsiósica	Ácaro	Ratón	Norteamérica, África, Asia y Europa del este
GRUPO DE FIEBRES TÍFICAS				
<i>R. typhi</i>	Tifus murino	Pulga de rata	Rata	Universal
<i>R. prowazekii</i>	Tifus epidémico	Piojo corporal	Humano	África y Sur América
<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Tifus de los matorrales	Acaro	Roedores	Sudeste asiático y Oceanía

Tabla 1: Clasificación de las Rickettsias, adaptado de Barba, 2009.

2.4.8. Transmisión

Las garrapatas son los principales portadores naturales de rickettsias (Figura 5), que tienen función de vectores y depósitos de estas bacterias patógenas. Transmiten la bacteria por medio de la saliva mientras se alimentan de su huésped, además las hembras tienen la capacidad de transmitir la rickettsia a sus huevecillos (transovárica), y una vez infectada la garrapata puede llevar la rickettsia durante toda su vida (Barba, 2009). Las rickettsias en muchos lugares del mundo son agentes patógenos emergentes y reemergentes, y las enfermedades relacionadas con ellos tienen un amplio espectro de severidad (Suarez et al., 2008).

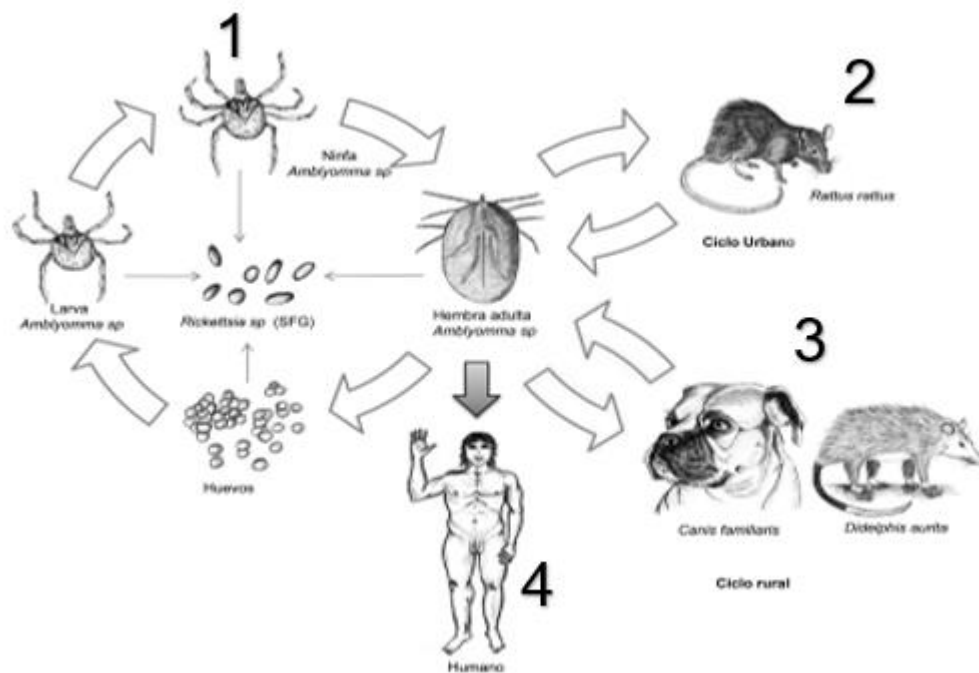


Figura 5: Ciclo de vida para el grupo de las Fiebres manchadas. 1. Garrapata ingurgitada y adulta puede adquirir la infección y transmitirla por la vía transovárica y transtadiál. 2. Existe el ciclo urbano donde los principales reservorios de la enfermedad serían roedores sinantrópicos. 3. El ciclo rural donde participan caninos y algunos marsupiales como reservorios de la enfermedad. 4. El humano entra en contacto con los vectores (a través de la picadura) por la convivencia o la exposición accidental con los reservorios, adquiere la enfermedad. Tomado de Quintero, 2012.

2.4.9. Signos clínicos de las rickettsiosis:

Los síntomas y signos clínicos de las rickettsiosis comienzan usualmente en 6 a 10 días posteriores de la picadura o exposición al artrópodo vector competente, e incluyen: fiebre, malestar general, cefalea, mialgias y diferentes tipos de lesiones cutáneas (Figura 6, 7 y 8), que van desde un exantema máculo-papular o pápulo-vesicular leve a cuadros petequiales intensos, acompañados o no de una escara de inoculación. Todas las especies de *Rickettsia* no son igual de patógenas; así, mientras *R. rickettsii* puede provocar con frecuencia cuadros clínicos muy graves con alta mortalidad, *R. parkeri* provoca cuadros mucho más leves y de momento no se ha descrito mortalidad. El estado inmunológico del paciente y la respuesta inflamatoria mediada por diferentes citoquinas van a determinar, junto a los factores antes señalados, las manifestaciones clínicas y su gravedad. En los cuadros graves se puede observar compromiso orgánico del sistema nervioso central, pulmonar, cardíaco, renal, trastornos de la coagulación y finalmente falla multiorgánica (Abarca y Oteo, 2014).



Figura 6: Exantema máculo-papular purpúrico en un paciente afecto de infección por *Rickettsia rickettsii* tomado de Abarca y Oteo, 2014



Figura 7: Equimosis extensa en paciente afecto de infección por *Rickettsia rickettsii* tomado de Abarca y Oteo, 2014



Figura 8: Escara y celulitis con exantema maculo-papular en paciente con infección por *Rickettsia parkeri* tomado de Abarca y Oteo, 2014.

2.4.10. Diagnóstico de las rickettsiosis

El diagnóstico se establece mediante pruebas serológicas específicas de grupo para *Rickettsia* y se basa en la demostración de un aumento o disminución de cuatro veces los títulos de anticuerpos entre los sueros de fase aguda y de convalecencia. Son especialmente útiles pruebas como:

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA: Se considera la prueba de referencia o estándar de oro para el diagnóstico serológico de tífus y rickettsias en general. La inmunofluorescencia se basa en la explotación del fenómeno biológico de la reacción de interacción entre un anticuerpo y un antígeno. Tiene que ver concretamente con la visualización o detección de esta reacción al excitar las moléculas fluorescentes a una longitud de onda específica (Parada, 2019).

HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA: Se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos (Ureña, 2019).

AISLAMIENTO CELULAR: El aislamiento de rickettsias mediante cultivo celular convencional a partir de una muestra procedente de un paciente con rickettsiosis, es un proceso muy laborioso y solamente realizado en laboratorios especializados. Las muestras deben manejarse como potencialmente peligrosas y se requiere un nivel 3 de bioseguridad (Oteo, 2014).

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA: Es una técnica de laboratorio común utilizada para hacer muchas copias (millones) de una región particular de ADN.

También se han establecido criterios para el diagnóstico a partir de muestra única en suero de convalecientes, los anticuerpos pueden detectarse a los 7-10 días de la aparición de la enfermedad. En la actualidad, no se dispone de ninguna prueba microbiológica para el diagnóstico rápido y precoz de la enfermedad, aunque la identificación de *R. rickettsii* por inmunofluorescencia indirecta se considera la prueba de elección, ya que puede tener una sensibilidad del 70% y una especificidad del 100% (Santamaría et al, 2018).

3. DESARROLLO

La pasantía de investigación dio inicio el 24 de junio del año 2022 y culminó el 5 de enero del presente año 2023, en un tiempo aproximado de 6 meses. Durante este tiempo se realizaron diferentes actividades dentro de las cuales se realizó una fase de laboratorio y una fase virtual o de oficina en donde se redactaron artículos científicos y un reporte final respecto a los hallazgos de la investigación realizada, todas estas actividades estando bajo la dirección de MVZ M. Sc. Rosy Francis Alvarenga Artiga con ayuda del docente MVZ M. Sc. Luis Ernesto Romero Pérez.

La etapa de laboratorio se llevó a cabo en laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agronómicas, analizando garrapatas obtenidas durante los muestreos realizados previamente por el Departamento de Medicina Veterinaria, a partir de las cuales se realizó un análisis molecular de las garrapatas que previamente fueron identificadas por morfología; con el fin de comparar los resultados y conocer la especie a la que pertenecen. De igual forma, se realizaron diagnósticos laboratoriales de PCR para la detección de Rickettsias y la identificación molecular de especies de rickettsias presentes en las garrapatas muestreadas y que tienen potencial zoonótico para la población. Los muestreos fueron llevados a cabo en las áreas naturales protegidas de "El Boquerón" en el departamento de San Salvador y San Ignacio en el departamento de Chalatenango; también a las zonas protegidas: parque nacional "El Imposible" en el departamento de Ahuachapán y Laguna de Alegría en el departamento de Usulután. Así mismo diferentes instituciones de resguardo de vida silvestre proporcionaron algunos de los especímenes que se estudiaron. Se colectaron en total 218 especímenes correspondientes a 11 diferentes especies de garrapatas. Todas las garrapatas adultas, ninfas y larvas fueron procesadas en esta fase. El tiempo de ejecución de esta etapa comprendió desde 24 de junio hasta 20 de octubre de 2022.

La garrapata se extrae del tubo de almacenamiento con ayuda de una pinza y esta es colocada en papel toalla para absorber el exceso de alcohol, luego con ayuda del bisturí y la pinza, el espécimen se corta en segmentos (únicamente para adultos pues larvas y

ninfas se procesan de forma completa), se selecciona un segmento y se coloca en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml dejando en reposo esperando que se evapore el resto del alcohol. Una vez el alcohol se ha evaporado por completo, se debe realizar un macerado de la garrapata o del fragmento de la misma presionando contra los bordes del tubo de microcentrífuga. Posteriormente se utiliza un kit comercial llamado DNeasy® Blood and Tissue Kit para lograr extraer el ADN de acuerdo con el protocolo del fabricante. Inicialmente se agrega un primer reactivo, que ayuda a lisar las células del exoesqueleto de las garrapatas, dejándolo reposar a temperatura controlada durante toda la noche, posterior a esto se agregan otros reactivos con los cuales se realizan diferentes lavados y filtrados, que ayudan a romper los compuestos que no son necesarios para el procedimiento los cuales son: proteínas, carbohidratos, lípidos, etc. Posteriormente quedará en el tubo de microcentrífuga únicamente el ADN y de esta manera poder utilizarlo en las siguientes etapas del procedimiento (Figura 9).



Figura 9: Preparación de muestras de garrapatas y extracción de ADN.

Todas las muestras de garrapatas se procesaron individualmente mediante un ensayo PCR, el cual busca amplificar porciones de ADN específicas, para ello, todas las muestras luego de haber extraído el ADN, deben trasladarse a tubos de 0.2 ml para poder realizar la PCR, al mismo tiempo debe prepararse una solución conocida como “master mix”, la cual es una mezcla con todos los componentes que realizan la PCR los cuales son: marcadores o primers, nucleótidos y la ADN taq polimerasa, la cual es una enzima aislada a partir de las bacterias termoestables de la especie *Thermus aquaticus*, haciendo que la Taq polimerasa sea ideal para la PCR gracias a esta estabilidad térmica que poseen estas bacterias, debido a que el procedimiento requiere del uso de altas temperaturas para poder replicar hebras de ADN. Esta solución (Master mix) es agregada a cada uno de los tubos de PCR que contienen las muestras de ADN. El proceso de la PCR se realiza mediante un equipo llamado termociclador, en donde se colocan los tubos de PCR, este equipo permite calentar y enfriar los tubos de reacción para controlar la temperatura necesaria para cada etapa de la reacción de la PCR (Figura 10).



Figura 10: Colocación de muestras en el TERMOCICLADOR para procesamiento de pruebas PCR.

La identificación molecular se realizó mediante la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y posterior secuenciación de las muestras, empleando al menos un ejemplar de cada especie de garrapata y estadios inmaduros. El ADN extraído se sometió a PCR convencional, dirigido a un fragmento de 460 pares de bases (pb) del gen 16S rDNA. En el caso de las larvas, el proceso de extracción fue a través de ebullición según Horta *et al.*, (2005). Una vez terminada esta prueba PCR, se procede con la secuenciación de las muestras de garrapatas. Al haber realizado esta prueba de PCR, se procede a secuenciar los resultados para poder identificar la especie de garrapata a nivel molecular.

Nuevamente las muestras de garrapatas son sometidas a una segunda prueba PCR, con la cual se busca la presencia del género *Rickettsia* en cada una de las garrapatas. Se emplearon los marcadores CS 78 y CS 323 que amplifican un fragmento de 401 pb del gen *gltA* (citrato sintasa) el cual está presente en todas las especies de rickettsias. Las muestras con resultado positivo a la amplificación del gen *gltA*, se sometieron a una tercera prueba PCR, con la cual se busca la presencia de diferentes especies de rickettsias pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas, esta prueba amplifica un fragmento de 532pb del gen 190-kDa de la proteína de membrana externa (*ompA*), el cual está presente solamente en las rickettsias del Grupo de Fiebre Maculosa empleando los marcadores Rr190.70F' y Rr190.602R (Regnery *et al.*, 1991).

Genes evaluados:

GEN 16S RDNA: Es un marcador molecular para el diagnóstico específico y para determinar las relaciones evolutivas entre taxones estrechamente relacionados, es especialmente útil para la separación de especies debido a su baja variabilidad genética, en este caso se utilizó para la confirmación molecular de la especie de garrapata en cuestión y verificar que el ADN se extrajo de manera correcta (Arroyo et al, 2023).

GEN *gltA* (CITRATO SINTASA): Es un gen comúnmente analizado para identificar rickettsias, se encuentra conservado en todas las especies del género *Rickettsia*, así mismo es frecuentemente utilizado en la determinación de la presencia de este género bacteriano en artrópodos vectores como pulgas y garrapatas (Arroyo et al, 2022).

GEN ompA (PROTEÍNA DE MEMBRANA EXTERNA): Es una proteína que se encuentra únicamente en las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas, básicamente es un factor de virulencia que tiene la bacteria que actúa como un ligando del receptor Ku70, el cual desencadena la endocitosis de la bacteria en la célula blanco (Martínez et al, 2019).

En la PCR ocurre un proceso llamado amplificación, el cual consta de 3 pasos (Figura 11):

- **La desnaturalización:** se realiza a 94 °C por un minuto, en donde se separan las dos hebras que conforman el ADN. Luego se da la segunda etapa.
- **La hibridación o alineamiento:** Se realiza a 54 °C por 45 segundos, aquí se debe usar el cebador apropiado para el fragmento de ADN que se quiere amplificar. Se debe tener cuidado de no usar temperaturas muy elevadas o bajas. Luego se pasa al último proceso
- **La extensión:** En donde se sintetiza la nueva cadena de ADN a partir de las 2 hebras separadas en la desnaturalización, se realiza por 2 minutos a 72 °C para que la Taq polimerasa extienda los cebadores y sintetice así nuevas cadenas de ADN.

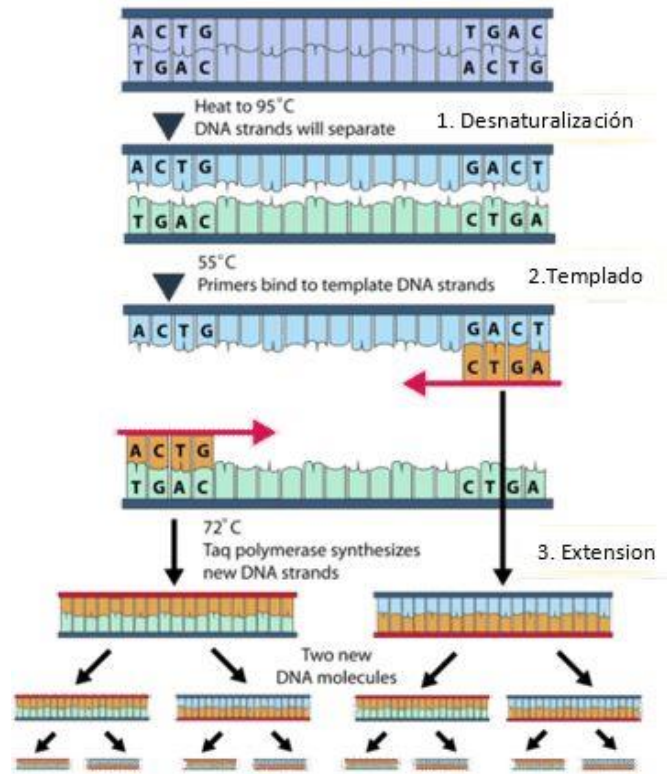


Figura 11: Proceso de amplificación de ADN, imagen de referencia.

Se debe repetir este mismo proceso por hasta 35 ciclos, con el fin de generar una extensión exponencial, lo que generara cerca de 34 mil millones de copias de ADN.

Los resultados de la amplificación del ADN en las pruebas PCR se visualizan utilizando la prueba de electroforesis en gel, la cual es una técnica utilizada para separar fragmentos

de ADN por su tamaño y carga, gracias a la aplicación de una corriente eléctrica debido a que el ADN está cargado negativamente.

Para ello debe prepararse el gel de agarosa siguiendo las instrucciones del fabricante, al mismo tiempo de la preparación se le agrega un colorante llamado gel red, el cual ayudara a teñir el ADN y lograr observar los resultados de la amplificación en la electroforesis.

Las muestras de ADN se cargan en pocillos (ranuras) elaborados previamente en un extremo del gel, seguidamente en una de las columnas del gel se debe colocar una “escalera” la cual se refiere a diferentes enzimas que amplifican diferentes pares de bases conocidas, que normalmente vienen de 100 pb en 100 pb hasta llegar a 1000 pb. En otra columna se coloca un control positivo, el cual está compuesto por pb conocidas de 401 y 532 pb respectivamente de la especie *Rickettsia vinii*. Se utiliza esta especie (*R. vinii*) como control positivo por ser una especie en la cual se tendrá una reacción positiva al gen *gltA* por pertenecer al género *Rickettsia* y una reacción positiva al gen *ompA* por pertenecer al grupo de rickettsias de las fiebres manchadas. Así mismo, es una especie de rickettsia que no se encuentra en el continente americano, evidenciando así una posible contaminación de las muestras y así verificar que los resultados sean precisos y correctos (Figura 12).

El gel se coloca en una caja polarizada (un extremo negativo en donde se coloca el lado del gel con los pocillos y un extremo positivo) a la cual también se coloca una solución búfer cargado con sales y iones que permiten el traslado de las cargas de positivo a negativo, se tapa la caja y se aplica una carga eléctrica, el ADN es atraído de negativo a positivo en un tiempo determinado, al terminar la reacción debe retirarse el gel y se coloca sobre una fuente de luz ultravioleta, con ayuda del colorante agregado al gel previamente, este brillara y podremos saber que si existe o no amplificación del ADN.

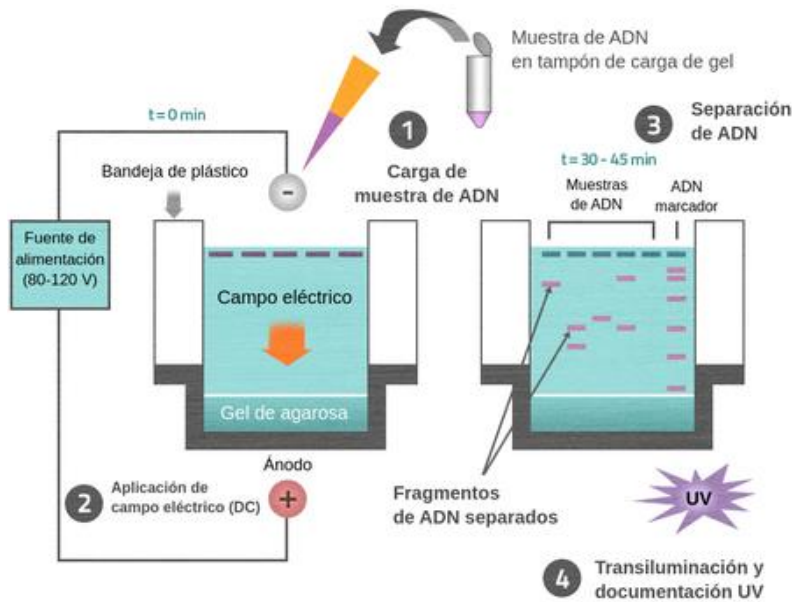


Figura 12: Visualización de una electroforesis en gel, imagen de referencia.

La electroforesis nos permite ver cuántos fragmentos diferentes de ADN están presentes en una muestra y cuán grandes son unos con respecto a otros. También podemos determinar el tamaño absoluto de un fragmento de ADN examinándolo junto a una "escala" estándar de fragmentos de tamaño conocido.

Todas las muestras positivas al gen *ompA* fueron enviadas al laboratorio del Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinaria e Zootecnia de la Universidad de São Paulo, Brasil, en donde para corroborar los resultados fueron realizados las mismas pruebas PCR y los productos obtenidos se sometieron al proceso de secuenciación donde se ejecutó este procedimiento en un secuenciador automático, utilizando ExoSAP-IT® y se secuenciaron con el kit comercial BigDye™ Terminator – Cycle Sequencing Ready Reaction – Applied Biosystems. Se empleó un secuenciador de ADN modelo ABI Prism 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems/Perkin Elmer), según el manual de instrucciones. Las secuencias obtenidas se editaron con el programa Bioedit® y sometidas a análisis de similitudes con las secuencias disponibles en el GenBank para poder identificar la especie, a través del programa BLAST análisis (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) (Altschul *et al.* 1990).

El trabajo virtual se realizó con los resultados obtenidos de los productos PCR y las secuenciaciones. Se realizó un análisis de resultados y recolección de información complementaria la cual se utilizó como base para comparar los resultados obtenidos

durante la fase de laboratorio, se tomaron principalmente investigaciones realizadas en la región centroamericana, puesto que los países incluyendo El Salvador, cuentan con características climáticas, flora y fauna similares lo cual los hace propicios para el desarrollo de garrapatas y agentes rickettsiales. La información utilizada fue obtenida de artículos científicos en PubMed ([PubMed \(nih.gov\)](http://pubmed.nih.gov)), tesis de grado y organizaciones internacionales como la OIE y la OMS.

Así mismo se realizaron diferentes documentos correspondientes a los hallazgos de garrapatas y rickettsias durante la investigación, siendo estos documentos referentes a una especie de rickettsia y a cuatro especies de garrapatas correspondientes a los géneros *Amblyomma* y tres géneros nuevos identificados para El Salvador.

Cada uno de estos documentos, cuenta con un resumen de los resultados obtenidos para cada especie, así como una pequeña discusión que comprende generalidades de cada especie, hospederos y patógenos asociados en el caso de las garrapatas y signos clínicos en el caso de la rickettsia. Para cada artículo se tomaron de 4 a 5 horas diarias para su elaboración, se consultaron al menos 5 diferentes bibliografías tanto en idioma español como en idioma inglés para poder recopilar la suficiente información para cada resultado. Para culminar las actividades de la pasantía, con la información recolectada, así como con los resultados obtenidos durante todo el proceso y tiempo de investigación, se prosiguió con la realización del documento final de toda la investigación, el cual cuenta con las siguientes partes según normas dictaminadas por la Secretaria de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (SIC-UES) en su instructivo para informes de proyectos de investigación:

- Título de la investigación realizada.
- Autores / Dirección Institucional.
- Resumen.
- Introducción.
- Marco teórico.
- Problema abordado en la investigación.
- Objetivos de la investigación.

- Metodología.
- Resultados y discusión.
- Conclusiones.
- Impacto y grado de logro de los objetivos.
- Recomendaciones.
- Referencias Bibliográficas.
- Anexos.

Para la realización de dicho documento se revisaron detenidamente los resultados obtenidos y se compararon con la información que se recolectó de forma previa, se destinaron aproximadamente de cuatro a seis horas de lunes a viernes para la realización de este documento. Se realizaron varias asesorías con el tutor interno de la pasantía para valorar mejoras en el documento.

Otras actividades realizadas:

Durante el tiempo de desarrollo de la investigación se proporcionó ayuda al equipo de trabajo con la elaboración de informes trimestrales sobre el avance de la investigación, dichos informes según el instructivo para informes de proyectos de investigación elaborado por SIC-UES constan de las siguientes partes:

- Título del proyecto.
- Autores y datos generales de los mismos.
- Objetivos del proyecto.
- Progreso (Avances de la investigación con relación al cronograma de actividades, resultados y ejecución del presupuesto Resumido).
- Problemas confrontados (con las soluciones realizadas).
- Plan de trabajo para el próximo período (Resumido).
- Cambios en presupuesto (consignar si se proponen cambios, si existe propuesta debe comunicarse con el director ejecutivo para su aprobación).
- Si le han entregado equipos, indicar el lugar actual de su ubicación física y estado de funcionamiento.

También se realizó la recepción de algunos de los equipos que fueron entregados por las autoridades de la Universidad de El Salvador en SIC-UES para la realización de la investigación, los cuales fueron almacenados en el laboratorio de medicina veterinaria, algunos de estos equipos son:

- Refrigeradora marca LG de 22 PCu.
- Bloque térmico de mezcla de calentamiento y enfriamiento marca Thermo Scientific.
- Estereomicroscopio marca Meiji.
- Microcentrífuga marca Scilogex.

Se verificó que el equipo entregado fuera el indicado según las necesidades y especificaciones de la investigación, que estuviera completo y en buen estado (funcional). También se realizó la solicitud de cotizaciones para productos varios a utilizar como reactivos y materiales desechables.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Durante el período de recolección de muestras se colectaron 218 garrapatas correspondientes a 11 diferentes especies en las zonas de muestreo, así como garrapatas proporcionadas por instituciones de resguardo de vida silvestre. Cada una de las garrapatas fue documentada según la zona o localidad de colecta y especie animal a la que parasitaba. Se identificaron cinco géneros de garrapatas, de estos, tres son nuevos reportes para El Salvador. El género más común fue *Amblyomma*. Las especies de garrapatas encontradas en esta investigación fueron: *A. dissimile*, *A. mixtum*, *A. ovale*, *A. cf parvum*, *A. sabanerae*, *A. scutatum*; así mismo se identificaron cinco especies nuevas no reportadas para El Salvador las cuales no pueden ser mencionadas, ya que la investigación aún no ha sido publicada.

En esta investigación se recolectó un espécimen de *A. disimile* (hembra), cuatro especímenes de *A. mixtum* (tres hembras y un macho), 25 especímenes de *A. ovale* (16 hembras y 9 machos), cinco especímenes de *A. parvum* (tres hembras y dos machos), un espécimen de *A. sabanerae* (una ninfa), nueve especímenes de *A. scutatatum* (nueve machos). Para el caso de las nuevas especies de garrapatas reportadas para El Salvador, estas pertenecen a diferentes géneros. Se recolectaron en total tres especímenes para la primera especie (dos machos y una hembra), cuatro especímenes (hembras) correspondientes a una segunda especie, tres especímenes (una hembra y dos machos) para la tercera especie, 152 especímenes (110 ninfas y 42 larvas) para la cuarta especie y por último ocho especímenes (ocho larvas) para la quinta especie. Todos los ejemplares recolectados fueron obtenidos en diferentes localidades a nivel nacional (Tabla 2).

Todas las muestras fueron identificadas mediante morfología, de acuerdo con Apanaskevich & Bermúdez (2013) y su posterior análisis molecular; a excepción de una de las especies que no ha sido reportada para nuestro país (hallazgo nuevo), para la que únicamente fue posible realizar el análisis morfológico. Para todas las demás especies fueron identificadas mediante el proceso de secuenciación. También se encontró una larva perteneciente un género no reportado en nuestro país, la cual no se pudo identificar su especie.

Localidades		Elevación (m)	Coordenadas Geográficas (Norte, Oeste)
No.	Nombre		
1	Altepeque-La Montañona, San Ignacio. Chalatenango	1761	14°20'41",89°08'08"
2	Apaneca-Lamatepec, Santa Ana. Santa Ana	1823	13°49'53",89°37'52"
3	Barrio El Carmen, Olocuilta. La Paz	463	13°34'10",89°06'43"
4	El Carrizal, Cojutepeque. Cuscatlán	940	13°42'57",88°56'25"
5	El Imposible-Barra de Santiago, San Francisco Menéndez. Ahuachapán	248	13°50'42",90°00'45"
6	El Imposible-Barra de Santiago, San Francisco Menéndez. Ahuachapán	780	13°49'43",89°56'44"
7	San Salvador. San Salvador	862	13°41'40",89°15'07"
8	San Salvador. San Salvador	746	13°40'27",89°12'27"
9	Sitio del Niño, San Juan Opico. La Libertad	465	13°46'58",89°22'35"
10	Sitio del Niño, San Juan Opico. La Libertad	459	13°47'13",89°22'51"
11	Tecapa-San Miguel, Alegría. Usulután	1328	13°29'41",88°29'34"
12	Tecapa-San Miguel, Alegría. Usulután	598	13°14'41",88°14'41"

Tabla 2: Localidades en El Salvador donde fueron encontradas las garrapatas durante 2019 -2021.

Con relación al análisis molecular, los resultados obtenidos se identificaron garrapatas comunes para nuestro país y nuevos hallazgos. Una vez obtenidos los resultados del análisis molecular, se procedió con la secuenciación de estas.

Las secuencias que podemos encontrar en GenBank resultaron ser 100% compatibles con las secuencias parciales 16S rDNA de *A. cf parvum*, *A. sabanerae*, al igual que para dos de las especies nuevas reportadas para nuestro país. En el caso de una de las especies de hallazgo nuevo demostraron un 96.39% de compatibilidad con garrapatas encontradas en Panamá, para las larvas de un género no reportado para nuestro país no existe una secuencia disponible con la cual comparar en GenBank, pues la especie más cercana con la que pudieron compararse el resultado de compatibilidad fue de 96.14%. Esto mismo ocurrió con otro de los géneros no reportados para el país, pues no coincidió con ninguna secuencia disponible a la fecha en GenBank, siendo la compatibilidad más cercana con un 95.07% de una especie disponible en GenBank. (ver tabla 3).

Para poder determinar una especie mediante el uso de la secuenciación, es importante conocer que las secuencias obtenidas durante el procedimiento deben tener un porcentaje de compatibilidad mayor o igual a 97% con las secuencias obtenidas de Genbank, puesto que al tener un valor de compatibilidad menor no es posible determinar una especie, por lo cual es necesario estudiar más genes para poder comparar nuevamente y determinar una especie.

Espece de Garrapata	Estadio de la Garrapata	Espece Hospedero	Localidad	% Cobertura de consulta	% Identificación	Número de acceso
Nueva especie reportada	Macho	<i>Sphiggurus mexicanus</i>	T	100	100	MH818...
Nueva especie reportada	Ninfa	Ambiente	1	100	100	MH818...
<i>Amblyomma cf parvum</i>	Hembra	<i>Canis familiaris</i>	12	100	100	KT820...

<i>Amblyomma sabanerae</i>	Ninfa	<i>Tamandua mexicana</i>	T	100	100	KF702...
Nueva especie reportada	Macho	Ambiente	1	100	95.07	MG834...
Nueva especie reportada	Hembra	<i>Sphiggurus mexicanus</i>	T	100	95.07	MG834...
Nueva especie reportada	Hembra	<i>Canis familiaris</i>	2	99	96.39	NW7179...
Nueva especie reportada	Hembra	Ambiente	2	99	96.39	NW7179...
Nuevo género reportado.	Larva	Ambiente	1	100	96.14	AF549...
Nueva especie reportada	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	9	100	100	EF120...

Tabla 3: Datos de secuencias parciales de ADNr 16S mitocondrial a partir de 10 muestras de garrapatas de El Salvador en el presente estudio.

Durante esta investigación se reportan cinco géneros de garrapatas diferentes, de estos géneros, tres son nuevos reportes para El Salvador. Para dos especies correspondientes a dos de los géneros nuevos, los resultados no son concluyentes, ya que no se logró identificar una especie, pues no existe una secuencia disponible con la cual comparar en GenBank.

En relación con especies del género *Rickettsia*, se logró identificar tres especies, teniendo reportes en El Salvador para *R. amblyommatis*, y el hallazgo de dos nuevas especies de rickettsia para el país. Una de las nuevas especies de rickettsia fue identificada en una garrapata correspondiente a uno de los géneros nuevos identificados para nuestro país. Tanto las secuencias parciales gltA como OmpA de esta rickettsia eran 99.71% y 97.53% respectivamente idénticas a las secuencias correspondientes en GenBank para gltA y para OmpA, de rickettsia presente en Brasil y EE.UU. Así mismo, se detectó otra nueva especie de rickettsia en todas las garrapatas correspondientes a un nuevo género para el país, tanto las secuencias parciales gltA como OmpA eran 100% y 99.59% respectivamente idénticas a las secuencias correspondientes en GenBank para gltA y para OmpA de rickettsia tipo endosimbionte de Panamá. También se analizaron las muestras de garrapatas *A. cf parvum*, se detectó *R. amblyommatis*, tanto las secuencias parciales gltA como OmpA de *R. amblyommatis* eran 100% y 99.57% respectivamente idénticas a las secuencias correspondientes en GenBank KU001170 (para gltA) y KU001173 (para OmpA) de Belice y Panamá. (Tabla 4).

Género y/o Especies de Garrapatas	Especies de Rickettsia	Localidades #	% Identificación	gen	Número Acceso a GenBank
<i>Amblyomma cf parvum</i>	<i>R. amblyommatis</i>	12	100	gltA	KU001....
			99.57	OmpA	KU001....
Hallazgo nuevo	Rickettsia nueva especie	1	99.71	gltA	KX434....
			97.53	OmpA	EU109....
Hallazgo nuevo	Rickettsia nueva especie	T	99.43	gltA	KX434....
Hallazgo nuevo	Rickettsia nueva especie	2	100	gltA	MW699....
			99.59	OmpA	MW699....

Tabla 4: Datos de las secuencias parciales gltA y OmpA generadas para especies de Rickettsia de El Salvador en el presente estudio.

4.2. Discusión

En El Salvador, las especies de garrapatas *A. dissimile*, *A. mixtum*, *A. ovale*, *A. cf parvum*, *A. sabanerae* y *A. scutatum* se han registrado previamente como especies comunes de huéspedes silvestres y domésticos (Romero et al., 2021).

El género *Amblyomma*, posee aproximadamente 146 especies de garrapatas (Guglielmore et al. 2020).

A. dissimile se distribuye desde el sur de Florida en Estados Unidos hasta el norte de Argentina incluyendo las islas del Caribe, según estudios anteriores en el país ha sido identificada parasitando diferentes especies de reptiles como Garrobo (*Ctenosaura similis*), Iguana (*Iguana iguana*), Sapo (*Rhinella marina*), Tortuga (*Rhinoclemmys pulcherrima*), Boa (Boa constrictor), Víbora Castellana (*Agkistrodon bilineatus*) y Víbora Cascabel (*Crotalus durissus*). Guglielmone (2006), reporta esta garrapata desde el sur de México hasta Argentina e islas del Caribe (Navarrete et al. 2014). Según Rodríguez et al. (2022) se han reconocido hospederos no convencionales para esta garrapata, siendo caninos, bovinos e incluso se habla de humanos. Se ha registrado a *A. dissimile* como hospedera de bacterias patógenas, como es el caso de *Candidatus R. colombianensi*, *R. belli*, *Anaplasma* sp. y *Ehrlichia ruminantium*. Romero et al. (2021) identificó *Candidatus*

R. colombianensi en el 10% y *R. bellii* en el 3% de *A. dissimile* colectadas de anfibios, reptiles y mamíferos de El Salvador. Esta garrapata también ha sido reconocida como vector del protozooario *Hepatozoon* sp., cuya interacción está reportada en Brasil, Colombia, Honduras y México, así como se ha detectado *Borrelia* sp en estas garrapatas en el territorio mexicano (Navarrete et al. 2014).

A. mixtum es una garrapata perteneciente al complejo *A. cajennense*, el cual está compuesto por al menos seis especies de garrapatas *Amblyomma* (*A. mixtum*, *A. patinoi*, *A. cajennense sensu stricto*, *A. interandinum*, *A. sculptum* y *A. tonelliae*) (Acevedo et al, 2018). *A. mixtum*, es una especie de garrapata ampliamente distribuida desde el Sudeste de Texas en Estado Unidos en Norte América hasta el Oeste de Ecuador en Sur América (Aguilar et al, 2021). Es considerada la segunda especie de garrapata de importancia médica y veterinaria, se encuentra principalmente en zonas cercanas al Golfo de México, América Central (El Salvador, Honduras, Guatemala, Panamá y Belice) y en menor proporción Sur América. Se ha evidenciado su presencia parasitando diferentes especies de aves migratorias (Cardona et al, 2020). Principalmente se observa parasitando a bovinos, equinos y caninos. Además, representa un potencial vector de enfermedades rickettsiales en los humanos como lo es *R. rickettsii* (Montenegro et al, 2021). Es importante conocer que *A. mixtum* ha desarrollado cierta capacidad de buscar y adaptarse a nuevos hospederos con el fin de garantizar su subsistencia. En diferentes países del continente americano, se ha reportado como vector de *R. amblyommatis*, *R. rickettsii*, *Theileria equi*, *Coxiella burnetti* (Bermúdez et al, 2021). Se ha demostrado que pueden estar involucradas en el mantenimiento del ciclo del virus de la encefalitis equina venezolana (Acevedo et al, 2018).

A. ovale es una garrapata que se encuentra ampliamente distribuida en el hemisferio occidental, encontrándose en diferentes hábitats desde el norte de México al norte de Argentina. Los hospederos de estas garrapatas cuando son adultas corresponden a carnívoros, en especial por los felinos salvajes, mientras que larvas y ninfas se encuentran en roedores, carnívoros y otros pequeños vertebrados de sangre caliente. Uribe et al. (2020) reporta el hallazgo frecuente de *A. ovale* parasitando perros domésticos. En la investigación de Navarrete et al, en El Salvador (2014), encontró *A. ovale* en los siguientes

animales: Canino (*Canis lupus familiaris*), Cabra. (*Capra hircus*) y Zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*).

Múltiples investigaciones a lo largo del continente han demostrado la asociación de esta garrapata con diferentes especies de Rickettsias, Sokani et al. (2019) menciona que en México se recolectaron 22 especímenes provenientes de seis perros, encontrándose el 27.27% de las muestras asociadas con *R. parkeri* cepa bosque atlántico; Romero et al. (2021) menciona también sobre la presencia de *R. bellii* asociada a *A. ovale* en El Salvador, donde 17% de las garrapatas *A. ovale* resultaron positivas; también en Nicaragua se ha identificado en esta garrapata la especie *R. africae* la cual no había sido identificada en esta garrapata en Centro y Sur América, esta rickettsia causa la fiebre africana por picadura de garrapata.

A. parvum es una especie que se encuentra en Guyana Francesa, Paraguay, El Salvador, Argentina, Bolivia, Brasil, Guatemala, Sur de México, Nicaragua, Panamá, Venezuela y Costa Rica (Guglielmone et al., 2004). Parasita a varios animales domésticos como caninos domésticos (*Canis lupus familiaris*), bovinos (*Bos taurus*), equinos (*Equus caballus*) y caprinos (*Capra hircus*). Los estadios de *A. parvum* se alimentan de varias especies hospedadoras a lo largo de su ciclo de vida. Las etapas inmaduras parasitan roedores y varias familias de aves silvestres, mientras que los adultos prefieren especies silvestres y domésticas. En México, *A. parvum* ha sido reportada en perros, gatos, zopilotes (*Coragyps atratus*), venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*), ratones comunes (*Mus musculus*), caballos, panteras (*Panthera onca*), zarigüeyas (*Didelphis virginiana*), armadillos (*Dasyus novemcinctus*), así como en humanos (Rodriguez et al, 2022). En *A. parvum* se ha registrado agentes patógenos potencialmente transmitidos hacia los animales y seres humanos. Estos agentes son *R. amblyommatidis*, *Ehrlichia sp.*, *Babesia sp.* y *Theileria sp.* (Rodriguez et al, 2022).

Para el caso de *A. scutatum*, esta garrapata se encuentra en Brasil, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, sur de México, Nicaragua, Paraguay, Venezuela (Guglielmone et al., 2004). Es un ectoparásito de reptiles, actualmente existe muy poca información acerca de esta especie de garrapata, todas sus etapas parasitarias han sido

encontradas en miembros de la familia Squamata: Iguanidae tales como iguana verde (*Iguana iguana*), Iguana negra (*C. pectinata*), e iguana espinosa del golfo (*Ctenosaura achanthura*); también hay reportes donde se han encontrado especímenes parasitando otros reptiles como serpiente de indigo (*Drymarchon corais couperi*), boa constrictor (*Boa constrictor*) y lagartijas metálicas (*Ameiva ameiva*) (Camacho & Pérez 2006). Según investigaciones de Guglielmone et al. (2014) esta es una garrapata que se encuentra únicamente en México y América Central, no existen reportes sobre parasitismo en humanos. Para el caso de los patógenos asociados a esta especie de garrapata, no se posee información alguna respecto a esto, pero al igual que otras especies del género *Amblyomma* pueden fungir como transmisores de diferentes agentes rickettsiales.

Para el caso de *A. sabanerae* ha sido reportada en El Salvador, Costa Rica, Panamá y Colombia (Robayo et al, 2020). Actualmente existe muy poca información respecto a esta especie de garrapata, *A. sabanerae* está relacionada con aves, reptiles (*Rhinoclemmys areolata* y *R. pulcherrima*), marsupiales y roedores; sin embargo, los reportes encontrados en Colombia hacen referencia a reptiles en especies diferentes a las tortugas antes mencionadas. Con relación a los patógenos asociados en El Salvador, se ha detectado la presencia de *R. belli* por primera vez en esta especie de garrapata.

Es importante mencionar, que para los hallazgos nuevos de garrapatas, se realizó la discusión con las mismas características que se encuentran en este documento para el resto de especies, pero no se detallan porque la investigación aún no ha sido publicada.

Con relación a las rickettsias encontradas, durante la investigación se analizaron las muestras de garrapatas obtenidas en los diferentes puntos de muestreo, siendo los resultados más significativos los pertenecientes a las garrapatas de dos de los géneros nuevos reportados para el país, con todas las muestras positivas al género *Rickettsia* y una garrapata de la especie *Amblyomma parvum* obtenida de un perro que resultó positiva al género *Rickettsia*, dada la importancia que tiene esta garrapata como transmisor de agentes infecciosos, corresponde a un hallazgo extra como parte de la investigación. La detección de rickettsias en estas garrapatas fue empleando la técnica de PCR.

Mediante investigaciones realizadas en otros países de la región centroamericana, se ha logrado evidenciar la presencia de agentes rickettsiales circulantes en humanos, gracias a la realización de pruebas serológicas en animales y humanos. Actualmente El Salvador, no cuenta con suficientes investigaciones que ayuden a identificar diferentes especies de garrapatas y la identificación de agentes rickettsiales circulantes en las mismas u otros vectores. América Central, al tener un clima tropical, posee las condiciones adecuadas para que una amplia variedad de vectores puedan multiplicarse, de esta manera muchos agentes infecciosos incluyendo las rickettsias se ven favorecidos en su multiplicación por la gran cantidad de vectores que pueden existir en el territorio; estos agentes rickettsiales posteriormente se transmiten a otros animales silvestres o domésticos y que ocasionalmente pueden transmitirse a los seres humanos, produciendo en los últimos una enfermedad que puede ser mortal en los casos graves no tratados a tiempo (entre 23% - 60%).

En la investigación se encontraron tres especies de Rickettsias, siendo estas *R. amblyommatidis* la cual ya ha sido reportada para nuestro país y dos especies nuevas de rickettsia.

R. amblyommatidis, aislada por primera vez en el año 1973 de una garrapata *Amblyomma americanum* es la especie más común en América Central, es una especie rickettsial perteneciente al grupo de las fiebres manchadas, *R. amblyommatidis* ha sido reportada en 34 especies diferentes de garrapatas a nivel mundial (Figura 13) siendo el género *Amblyomma* con hallazgos más frecuentes para esta rickettsia, dentro del género, la especie más común *A. americanum* catalogada como el vector principal para *R. amblyommatidis*, ha sido identificada como un vector competente de diferentes agentes infecciosos, originaria del sudeste de los Estados Unidos, los hallazgos de *A. americanum* han aumentado geográficamente así también los reportes de *R. amblyommatidis* aumentando así el número de casos de infecciones en humanos (Richardson et al, 2023).



Figura 13: Distribución de garrapatas infectadas por *R. amblyommatis*. Tomado de: Richardson et al (2023).

Esta especie de rickettsia posee una transmisión transovárica y transestadial. Algunos autores mencionan que puede tener cierta importancia en salud pública pero aún se desconoce su potencial de patogenicidad hacia los humanos. Apperson et al., (2008) & Medina et al., (2007), demostraron mediante serología que algunas personas desarrollan una respuesta inmunológica robusta que puede estar relacionada con la aparición de enfermedad en algunos pacientes. Otros autores mencionan que en zonas con alta prevalencia de esta especie de rickettsia no es patógena para los humanos debido a la falta de síntomas clínicos como dolor de cabeza, sarpullido o fiebre. Por el contrario, un estudio más reciente ha demostrado que esta rickettsia puede producir enfermedad en mamíferos, siendo esto también referente al primer caso de infección por *R. amblyommatis* causando sarpullido en la piel luego de haber sido picado por una garrapata, a este paciente se le realizó una prueba de PCR para detectar la presencia de rickettsias. El resultado de dicha prueba resulto positivo a la presencia de *R. amblyommatis* (Richardson et al, 2023).

Esta especie de rickettsia ha sido detectada en estudios previos en el 50% de *A. cf parvum* de El Salvador (Romero et al., 2021). Otras especies de garrapatas en las cuales se ha identificado esta rickettsia son: *A. longirostre* (siendo esta la segunda especie con

mayor prevalencia de esta rickettsia en el mundo) en Brasil, *A. neumannii* y *A. hadanii* en Argentina, *A. cajennense* en México, Costa Rica y Colombia, *A. mixtum* y *Haemaphysalis juxtakochi* en Panamá, *A. coelebs* Guyana Francesa y *D. variabilis* en Estados Unidos (Karpathy et al. 2016). De esta manera se conoce que *R. amblyommatis* está ampliamente distribuida por todo el continente americano.

Para la garrapata de un género nuevo reportado para el país, se reporta una nueva especie de rickettsia en el país, la cual es una especie reportada únicamente una vez en garrapatas de Costa Rica y América Central.

As mismo, en dos géneros nuevos de garrapatas se identificaron dos especies de rickettsias nuevas para El Salvador.

Es importante mencionar, para los hallazgos nuevos de garrapatas y rickettsias existen cinco nuevas especies de garrapatas identificadas y no reportadas para El Salvador y dos nuevas especies de rickettsias identificadas y no reportadas para El Salvador, dichas especies no pueden ser mencionadas en este documento, ya que la investigación no ha sido publicada, de igual manera se realizó la discusión con las mismas características que se encuentran en este documento para los hallazgos comunes en la investigación.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- En El Salvador existen especies de Rickettsia con potencial de causar enfermedad en humanos a través de la exposición a garrapatas provenientes de vida silvestre.
- Con los hallazgos, es posible ampliar la información de país respecto a los diferentes agentes infecciosos y vectores transmisores, en relación a rickettsias, dando como resultado el hallazgo de seis nuevas especies de garrapatas y dos nuevas especies de rickettsias para El Salvador
- Con base a los resultados obtenidos durante la investigación se ha demostrado la eficacia que tiene la realización de pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la detección de rickettsias en garrapatas provenientes de vida silvestre en nuestro país, dando como resultado la detección de nuevas especies de garrapatas y nuevas especies de rickettsias que afectan a diferentes especies animales y al ser humano.

5.2. Recomendaciones

- Se deben realizar más estudios de genes en algunos de los ejemplares de garrapatas colectados, puesto que dada la poca información disponible respecto a sus especies los resultados deben ser comparados nuevamente para poder tener información concluyente.
- Se deben realizar este tipo de investigaciones para actualizar la información que se tiene a nivel de país en relación los agentes rickettsiales y sus vectores, con el fin de identificar más especies de garrapatas y rickettsias presentes en el territorio y determinar así su grado de impacto en las poblaciones animales (silvestres y domésticos) y en la población humana.
- El hallazgo de nuevas especies de garrapatas y rickettsias abre la posibilidad para que el sistema de salud nacional establezca un rol de importancia a estos agentes y sus vectores como parte de las enfermedades de riesgo en salud pública, de esta manera enfocando esfuerzos en educar a la población en general sobre el problema que conlleva tener contacto con garrapatas de cualquier especie puesto que representan un peligro para la salud por la transmisión de diferentes agentes infecciosos como las rickettsias.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, K. y Oteo, J. 2014. Aproximación clínica y principales rickettsiosis transmitidas por garrapatas presentes en Latinoamérica. Rev. chil. infectol. vol.31 no.5 Santiago. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014000500009
- **Acevedo, L; Patermina, L; Londoño, F; Parra-Henao, G; Rodas, J. 2018.** Modelos potenciales de distribución geográfica y climática del complejo *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), potencial vector de *Rickettsia rickettsii* en Colombia. Biomédica 2018;38:534-544 doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3885>
- Aguilar-Domínguez, M., Moo-Llanes, D. A., Sánchez-Montes, S., Becker, I., Feria-Arroyo, T. P., de León, A. P., & Romero-Salas, D. (2021). *Potential distribution of Amblyomma mixtum (Koch, 1844) in climate change scenarios in the Americas. Ticks and Tick-Borne Diseases, 12(6), 101812.* doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101812
- Arroyo, A., Lugo C., Bolio M., Rodríguez I., Reyes E., Panti J., Torres M. 2022. El género *Rickettsia* y reportes de infección en perros de Yucatán, México. Bioagrobiencias 15(1):65-76. Consultado 5 enero 2023. Disponible en: <4266-18867-1-PB.pdf>
- Ávila, L; Martínez, H; Ruiz, P; Hidalgo, M. 2020. Historia de la rickettsiosis en Colombia. En línea. Consultado 18 febrero 2022. Disponible en <file:///G:/TRABAJO%20DE%20GRADO/342129-Texto%20del%20cap%C3%ADtulo-195761-1-10-20200520.pdf>
- Barba Evia, JR. 2009. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. (en línea).56 (3). Yucatán, MX. rev mex patol clin. Consultado 18 febrero 2022. pdf. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2009/pt093e.pdf>
- Bermúdez C., S. E., Félix, M. L., Domínguez A., L., Kadoch, N., Muñoz-Leal, S., & Venzal, J. M. (2021). *Molecular screening for tick-borne bacteria and hematozoa in Ixodes cf. boliviensis and Ixodes tapirus (Ixodida: Ixodidae) from western highlands of*

- Panama. Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 1, 100034. doi:10.1016/j.crpvbd.2021.100034
- Bermúdez, S., Martínez-Mandiche, J., Domínguez, L., González, C., Chavarría, O., Moreno, A., ... Martínez, A. A. (2021). *Diversity of Rickettsia in ticks collected from wild animals in Panama. Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(4), 101723. doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101723
 - Bermúdez, S; Troyo, A. 2018. A review of the genus Rickettsia in Central America. 1Department of Medical Entomology, Gorgas Memorial Institute for Health Research, Panamá; 2Vector Research Laboratory, Tropical Diseases Research Center, Faculty of Microbiology, University of Costa Rica, San Jose, Costa Rica. Consultado 4 octubre 2022.
 - Cajal, A. 2017. Regiones biogeográficas del mundo y sus características. En línea. Consultado 24 julio de 2022. Disponible en: [Regiones biogeográficas del mundo y sus características \(lifeder.com\)](https://www.lifeder.com/regiones-biogeograficas-del-mundo-y-sus-caracteristicas/) .
 - Cardona-Romero, M., Martínez-Sánchez, E. T., Álvarez Londoño, J., Tobón-Escobar, W. D., Ossa-López, P. A., Pérez-Cárdenas, J. E., ... Rivera-Páez, F. A. (2020). *Rickettsia parkeri strain Atlantic rainforest in ticks (Acari: Ixodidae) of wild birds in Arauca, Orinoquia region of Colombia. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. doi:10.1016/j.ijppaw.2020.09.001
 - Chen LH; Wilson ME. 2009. Tick-borne rickettsiosis in traveler returning from Honduras. *Emerg Infect Dis*. [Enfermedad de Lyme - Infecciones - Manual MSD versión para público general \(msdmanuals.com\)](https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5901a01.htm) [Fiebre manchada de las Montañas Rocosas | Rocky Mountain Spotted Fever \(RMSF\) | CDC](https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5901a01.htm)
 - García, A., Mora, I. 2012. Artrópodos y enfermedades. En línea. Consultado: 14 abril 2023. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(14\)70751-6](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(14)70751-6)
 - Gomez, G., Gutierrez, L. 2018. Los artrópodos: una mirada a su diversidad, impacto e importancia. En línea. Consultado: 15 abril de 2023. Disponible en: [Los artrópodos una mirada a su diversidad impacto e importancia.pdf \(tdea.edu.co\)](https://www.tdea.edu.co/los-artr%C3%B3podos-una-mirada-a-su-diversidad-impacto-e-importancia.pdf)
 - Guglielmone, AA; Estrada-Peña, A; Keirans, AJ; Robbins, RG. 2004. Las garrapatas (Acari. Ixodida) de la región zoogeográfica neotropical. Buenos Aires, AR. 142p.

- Hun, L; Cortés, X; Taylor, L. 2008. Molecular characterization of *Rickettsia rickettsii* isolated from human clinical samples and from the rabbit tick *Haemaphysalis leporispalustris* collected at different geographic zones in Costa Rica. Consultado 18 febrero 2022.
- Labruna M.B., Whitworth T., Horta M.C., Bouyer D.H., McBride J.W., Pinter A., Popov V., Gennari S.M., Walker D.H., 2004. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 90-98.
- Labruna, MB; Mattar, S; Nava, S; Bermúdez, S; Venzal, JM; Dolz, G; Abarca, K; Romero, L; de Sousa, R; Oteo, J; Zavala-Castro, J. 2011. Rickettsiosis en América Latina, el Caribe, España y Portugal. Consultado 18 febrero 2022.
- Lopes, MG; May, JJ; Foster, RJ; Harmsen, BJ; Sánchez, E; Martins, TF; Quigley, H; Marcili, A; Labruna MB. 2016. Ticks and rickettsiae from wildlife in Belize, Central America. *Parasit Vectors*. Consultado 17 febrero 2022.
- Manzano, R; Diaz, V; Pérez, R. 2016. Garrapatas: características anatómicas, epidemiológicas y ciclo vital. En línea. Consultado 28 julio 2022. Disponible en Garrapatas: características anatómicas, epidemiológicas y ciclo vital | PortalVeterinaria
- Martínez, H., Balam, J., Dezul, K. (2019). Importancia de las proteínas OmpA y OmpB en el desarrollo de vacunas contra la Rickettsiosis. (en línea). Mérida, Yucatán, México. Consultado 5 enero 2023. Disponible en: [Importancia de las proteínas OmpA y OmpB en el desarrollo de vacunas contra la Rickettsiosis \(scielo.org.mx\)](https://doi.org/10.15406/ijv.2019.081001)
- McBride, J. 2013. *Ehrlichia*: Avances en vacunas, diagnóstico y patobiología. En línea. Consultado 29 julio 2022. Disponible en: [Ehrlichia: Advances in vaccines, diagnostics and pathobiology \(scielo.sa.cr\)](https://doi.org/10.15406/ijv.2013.021001)
- Montenegro, V. M., Delgado, M., Miranda, R. J., Domínguez, L., Vargas-Muñoz, M., & Bermúdez, S. (2021). *Free-living hard ticks (Ixodida: Ixodidae) from three different natural environments of Costa Rica. Ticks and Tick-Borne Diseases, 12(6), 101811.* doi:10.1016/j.ttbdis.2021.101811

- Navarrete, LR; Rodríguez, EA; Valle, CA. 2014. Identificación de especies de Rickettsia asociadas a garrapatas de la familia Ixodidae, en colección del Ministerio de Agricultura y Ganadería, El Salvador. Tesis Lic. Med. Vet. y Zootec. San Salvador, El Salvador, UES. 114 p.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2015. Enfermedades de los animales silvestres. En línea. Consultado 22 julio 2022. Disponible en http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/WD_ES.pdf
- OPS. 2004. Consulta OPS/OMS de expertos sobre rickettsiosis en las Américas (en línea). Minas Gerais, Brasil. En línea. Consultado 22 julio 2022. Disponible en: http://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=informes-reuniones-803&alias=75-reunion-rickettsiosis-5&Itemid=518
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2003. ZONOSIS Y ENFERMEDADES TRANSMISIBLES COMUNES AL HOMBRE Y A LOS ANIMALES. En línea. Consultado 18 febrero 2022. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/710/9275319928.pdf>
- Oteo, J., Nava, S., Sousa, R., Mattar, S., Venzal, J., Abarca, K., Labruna, M., Zavala, J. 2014. Guías latinoamericanas de la RIICER para el diagnóstico de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas. En línea. Consultado: 17 abril de 2023. Disponible en: [Guías Latinoamericanas de la RIICER para el diagnóstico de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas \(scielo.cl\)](https://scielo.cl)
- Parada, R. 2019. Inmunofluorescencia: fundamento, protocolo y aplicaciones. En línea. Consultado: 17 abril de 2023. Disponible en: [Inmunofluorescencia: fundamento, protocolo y aplicaciones \(lifer.com\)](https://lifer.com)
- Quintero V, JC; Hidalgo, M; Rodas Gonzáles, JD. 2012. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y reemergente en Colombia. (en línea). Bogotá, CO. Universidad de Antioquia. Consultado 18 febrero 2023. pdf. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832012000100009#:~:text=En%20las%20%20C3%BAltimas%20d%20C3%A9cadas%20C%20las,Estados%20Unidos%20\(EU\)%20C%20han](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832012000100009#:~:text=En%20las%20%20C3%BAltimas%20d%20C3%A9cadas%20C%20las,Estados%20Unidos%20(EU)%20C%20han)

- Robayo, C; Ríos, M; Soler, D. 2020. Conocimiento de la distribución geográfica y ciclo de vida del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) en Colombia. En línea. Consultado 16 diciembre 2022. Disponible en: [duvan,+Enfermedades+Rickettsiales+en+Latinoamérica-124-151 \(1\).pdf](#)
- Rodríguez, R; Ojeda, M; Bolio, M; Rosado J. 2019. Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrociencias* 12(1): 19-26.
- Rodríguez-Vivas RI, Ojeda-Chi MM, Ojeda RobertosNF, Dzul-Rosado KR. 2022. La garrapata *Amblyomma parvum* como vector potencial de patógenos en animales y seres humanos. *Bioagrociencias* 15(1):1-9
- Romero, L., Costa, F. B., & Labruna, M. B. (2021). *Ticks and tick-borne Rickettsia in El Salvador. Experimental and Applied Acarology, 83(4), 545–554.* doi:10.1007/s10493-021-00610-w
- Sánchez-Montes, S., Ballados-González, G. G., Hernández-Velasco, A., Zazueta-Islas, H. M., Solís-Cortés, M., Miranda-Ortiz, H., ... Rangel-Escareño, C. (2019). *Molecular Confirmation of Rickettsia parkeri in Amblyomma ovale Ticks, Veracruz, Mexico. Emerging Infectious Diseases, 25(12).* doi:10.3201/eid2512.190964
- Sangioni L.A., Horta M.C., Vianna M.C.B, Gennari S.M., Soares R.M., Galvão M.A.M., Schumaker T.T.S., Ferreira F., Vidotto O., Labruna M.B. 2005. Rickettsial infection in animals and Brazilian Spotted Fever endemicity. *Emerging Infectious Diseases*
- 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., Matos-Alviso L., Santibañez S. 2012. Rendimiento de diferentes métodos de PCR en el diagnóstico molecular de Rickettsiosis humanas transmitidas por garrapatas. Consultado 18 febrero de 2023.
- Suárez, R; Hidalgo, M; Nino, N; González, C; Vesga, JR; Orejuela, L; Sánchez, R; Castañeda, E; Valbuena, G. 2008. Las rickettsias como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia. (en línea). Bogotá, CO. Consultado 18 febrero 2023. pdf. Disponible en: https://appsciso.uniandes.edu.co/sip/data/pdf/Las_rickettsias_como_agentes_etiologicos.pdf [The Polymerase Chain Reaction - Advanced | CK-12 Foundation \(ck12.org\)](https://www.ck12.org/)

- Ureña, L. 2019. Hemaglutinación indirecta para chagas. En línea. Consultado: 17 abril de 2023. Disponible en: [Hemaglutinación Indirecta Para Chagas \[d49o80pwe049\] \(idoc.pub\)](#)
- Uribe, J. E., Nava, S., Murphy, K. R., Tarragona, E. L., & Castro, L. R. (2020). *Characterization of the complete mitochondrial genome of Amblyomma ovale, comparative analyses and phylogenetic considerations. Experimental and Applied Acarology*. doi:10.1007/s10493-020-00512-3
- Vogel, H., Foley, J., & Fiorello, C. V. (2018). *Rickettsia africae and Novel Rickettsial Strain in Amblyomma spp. Ticks, Nicaragua, 2013. Emerging Infectious Diseases, 24(2), 385–387*. doi:10.3201/eid2402.161901