# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



## **TESIS**

Prevalencia de Borrelia burgdorferi en garrapatas de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) de localidades del norte de la República Mexicana

#### POR

Q.B.P MARIANA CUESY LEÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

#### SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



Prevalencia de Borrelia burgdorferi en garrapatas de venado cola blanca (Odocoileus virginianus) y borrego cimarrón (Ovis canadensis) de localidades del norte de la República Mexicana

Por

Q.B.P MARIANA CUESY LEÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

Prevalencia de Borrelia burgdorferi en garrapatas de venado cola blanca (Odocoileus virginianus) y borrego cimarrón (Ovis canadensis) de localidades del norte de la República Mexicana

	Comité de Tesis
*	Limia
	DRA ZINNIA-JUDITH MOLINA GARZA
	Presidente
	( ) day
-	DR. LUCIO GALAVIZ SILVA
	Secretario
	7
	DRA MARÍA PORFIRIA BARRÓN GONZÁLEZ
	Vøcal
	Fruit Villaneal 5
	DRA LICET VILLARREAL TREVIÑO
	Vocal
	1
	DRA LAURA MARÍA TREJO ÁVILA
	Vocal

#### **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco al ETERNO por acompa¿ arme y guiarme a lo largo este tiempo y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A le doy gracias a mi familia:

A mi Esposo Oscar Alberto P¶rez, a mis padres Griselda LeÆn y Eduardo Cuesy, a mis hermanos Miriam, Ileana, Miguel Ξ ngel y Daniela. A mis amigos porque tambi¶n son familia.

Por su amor, cari¿o, apoyo y creer en mº siempre.

A gradezco a mi comit¶de tesis:

A la Dra. Zinnia J. Molina Garza y al Dr. Lucio Galaviz Silva por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y por su gran apoyo para realizar esta tesis.

A la Dra. Maria Porfiria BarrÆn Gonzales, Dra. Licet Villareal Trevi¿o y Dra. Laura Trejo E vila por su apoyo y amabilidad para formar parte de mi comit¶.

Gracias a todos por su tiempo y paciencia para realizar las correcciones de este trabajo y consejo durante el desarrollo del mismo.

Tambi¶n doy mi m® sincero agradecimiento:

A todos y cada uno de mis compa¿ eros de laboratorio pues fueron un gran ejemplo de trabajo en equipo, ayuda y aprendizaje para mº.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologºa por la beca proporcionada para el desarrollo de este trabajo.

A Susana P¶rez Sauceda de la OrganizaciÆn de Vida Silvestre, al Ing. Isaºas Galv®n Castro de la UniÆn Ganadera Regional de N.L., a Taxidermia Internacional y Taxidermia Rodrºguez. Por su apoyo en la colecta de muestras de las cuales dependºa para realizar esta tesis.

Sin cada uno de ustedes: familia, maestros, amigos, compa¿eros, etc. no podrºa haber logrado este trabajo, el cual significa mucho para mº desarrollo personal y profesional

`La vida es una uniÆn simbiÆtica y cooperativa que permite triunfar a los que se asocian\_ Lynn Margulis

## **DEDICATORIAS**

A mi esposo: Por amor, cari¿o y apoyo en todos estos a¿os juntos

A mis padres:
Porque han sido fundamentales en todo lo que soy, en toda mi educaci*A*n, tanto acad¶mica, como de la vida, por su apoyo incondicional

A mis hermanos: Por el cari¿o que siempre me han brindado

## PNDICE

PNDICE DE FIGURAS	6
PNDICE DE TABLAS	7
LISTA DE SPMBOLOS Y ABREVIATURAS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIΦN	8
ANTECEDENTES	9
1- VECTOR	9
2. ENFERMEDAD DE LYME	18
3- RESERVORIOS	24
J UST IFICA C IΦN	27
HIPΦTESIS	27
OBJ ETIVOS	27
Objetivo general	27
Objetivo particulares	27
MATERIAL Y M§TODOS	28
RESULTADOS	33
IdentificaciÆn taxonÆmica del vector	33
Diagnostico molecular de B. burgdorferi	40
DISCUSIΦN	42
CONCL USIONES	44
PERSPECTIVAS	45
RIBLIOGRAFDA	46

## PNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Clasificacián taxonámica de las garrapatas	.10
Fig. 2-Morfolog°a de las garrapatas.	.11
Fig. 3-Diferentes Gnastomas de las garrapatas para identificaciæn de las mismas	.12
Fig. 4- Estructuras externas de las garrapatas	.13
Fig. 5-Ciclo de vida de la garrapata de venado	.15
Fig. 6- Taxonomºa de Borrelia bugdorferi. (Karami 2012)	.21
Fig. 7 - Estructura del flagelo de B. burdorferi Karami (2012)	.22
Fig. 8- Reservorios para poblaciones de garrapatas trasmisoras de patægenos	.26
Fig. 9 UbicaciÆn Geogr®ica de las zonas de muestreo	.29
Fig. 10. Caracter°sticas taxonÆmicas de Otobius megnini	37
Fig. 11. Caracter°sticas morfolÆgicas para la identificaciÆn taxonÆmica de las especies	S
de Dermacentor sp.	.38
Fig. 12 Caracter°sticas morfolÆgicas para la identificaciÆn taxonÆmica de Boophilus	5
microplus	.39
Fig. 13- Gel de electroforesis de agarosa 2% te¿ido con bromuro de etidio	.40

## PNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificaci An clonica de la enfermedad de Lyme. (Portillo et al. 2014).	_ 19
Tabla 2- Datos obtenidos de las localidades del norte de la Republica Mexicana	_33
T abla 3- Identificaci $A\!$	ļ
Sonora, M¶xico	_34
Tabla 4- Datos obtenidos en las localidades de Nuevo LeÆn, M¶xico	_35
Tabla 5- Datos obtenidos de Tamaulipas, M¶xico	_36
Tabla 6- Resumen de las especies de garrapatas muestreadas en este estudio	41

## LISTA DE SPMBOLOS Y ABREVIATURAS

Microgramos mg Mililitros mL Milºmetros cßbicos mmE Latitud/Longitud Lat/Lon hect@reas has microlitros ١L Revoluciones por minuto rpm Pares de bases pb Cloruro de magnesio  $MgCl_2$ Desoxiribonucleotidos dNTPús

#### RESUMEN

La borreliosis de Lyme, producida por Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.), es una enfermedad multisist¶mica con manifestaciones dermatolÆgicas, neurol Ægicas y cardºacas. Nuevo LeÆn y el norte del paºs cuentan con las condiciones propicias para el desarrollo de esta enfermedad debido a que se han identificado vectores, hu¶spedes intermediarios y un medio ambiente favorable, por lo que este trabajo pretende determinar la distribuciÆn de especies de garrapatas en hospederos intermediarios como lo son en el venado cola blanca Odocoileus virginianus couesi y borrego cimarrÆn Ovis canadensis, asº como tambi¶n la identificaciÆn de Borrelia burgdorferi mediante amplificaciÆn del gen OspA a trav¶s de la t¶cnica de reacciÆn en cadena de la polimerasa (PCR) asº como determinar la prevalencia de la misma en las garrapatas del venado cola blanca y borrego cimarrÆn. En este estudio se muestrearon localidades de los estados de Sonora, Nuevo LeAfn y Tamaulipas, adem®s de 2 Taxidermias del ®ea Metropolitana de Nuevo LeÆn. Se inspeccionaron un total de 116 hospederos: 113 venados de los cuales 23/113 (20.35%) estaban infestados, y 3/3 (100%) borregos cimarrÆn estaban infestados. Se colectaron un total de 215 garrapatas pertenecientes a 4 especies distintas, las cuales fueron negativas para presencia de la espiroqueta causante de Lyme. Tres de las especies de garrapatas est®n asociadas a ganado: Otobius megnini, Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Dermacentor (Anocentor) nitens mientras que Dermacentor hunteri es la garrapata m® com
n del borrego cimarrÆn. Todas estas especies tienen una importancia econÆmica y veterinaria, e inclusive m¶dica pues trasmiten patÆgenos como: Anaplasma spp, Babesia spp y Rikettsia spp.

#### **ABSTRACT**

Lyme borreliosis, produced by Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.), is a multisystemic disease with dermatological, rheumatic, neurological and cardiac manifestations. Nuevo Leon and the north of the country have the propitious conditions for the development of this disease because vectors, intermediate hosts and a favorable environment have been identified, so this work aims to determine the distribution of tick species in intermediate hosts as are the white-tailed deer (Odocoileus virginianus couesi) and bighorn sheep (Ovis canadensis), as well as identification of Borrelia burgdorferi by amplification of the OspA gene through the polymerase chain reaction (PCR) technique as well as determining the prevalence of this disease in white tail deer and bighorn sheep ticks. In this study we sampled localities of the states of Sonora, Nuevo Leon and Tamaulipas, as well as 2 Taxidermies of the Metropolitan area of Nuevo LeAfn. A total of 116 hosts were inspected: 113 deer of which 23/113 (20.35%) were infested, and 3/3 (100%) bighorn sheep were infested. A total of 215 ticks belonging to 4 different species were collected, which were negative for Lyme spirochete. Three of the tick species are associated with cattle: Otobius megnini, Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Dermacentor (Anocentor) nitens while Dermacentor hunteri is the most common tick in the bighorn sheep. All these species have economic, veterinary, and even medical importance because they transmit pathogens such as Anaplasma spp, Babesia spp and Rikettsia spp.

#### **INTRODUCCION**

La borreliosis de Lyme es una zoonosis de distribuciÆn mundial y es la enfermedad m® com
ßn transmitida por vectores en los Estados Unidos de Am¶rica con m® de 20 000 casos reportados anualmente. En Europa, aunque la borreliosis de Lyme no se encuentra entre las enfermedades de declaraciÆn obligatoria, se estima que las mayores tasas de incidencia se alcanzan en Alemania, Austria, Eslovenia, Suecia y Escandinavia, pudiendo llegar a los 155 casos por 100 mil habitantes por a¿o (Miranda et al. 2009).

Para transmitir la infecciÆn a los humanos se necesita un reservorio animal, principalmente garrapatas y mamºferos peque¿os, donde Borrelia permanezca viable por largos perºodos. Los venados cola blanca son portadores de las formas adultas de las garrapatas y a partir de ¶stos se infestan otros mamºferos menores, como ratones y liebres, por lo cual es m® comßn en ®eas rurales y suburbanas (Skinner et al. 2007).

En M¶kico, por la diversidad de su flora y fauna se reportaron garrapatas positivas de los g¶neros Ixodes y Amblyomma, mediante PCR, para B. burgdorferi sensu stricto en la vegetaciÆn y hospederos intermediarios como lo son las ardillas y ratones del noreste de M¶kico (V argas et al. 2007). A dem®, se ha reportado seropositividad para anticuerpos contra Borrelia en caballos y perros del ®ea metropolitana de Monterrey (Martinez et al. 1999). Considerando lo anterior, Nuevo LeÆn cuenta con las condiciones propicias para la enfermedad de Lyme, porque se han identificado vectores, hu¶spedes intermediarios y un ambiente propicio para desarrollar la enfermedad por lo que se identificÆ posibles vectores en hospederos intermediarios como lo es el venado cola blanca Odocoileus virginianus couesi y en borrego cimarrÆn Ovis canadensis.

En nuestro paºs se ha observado una prevalencia de infecciÆn por B. burgdorferi del 1.1% en sueros de la poblaciÆn mexicana en 1999 y del 6.3% en la poblaciÆn del noreste de la Repßblica Mexicana en el 2003 (Gordillo-P¶rez et al. 1999, 2003). Debido a la importancia de de esta enfermedad en la salud pßblica, este estudio pretende dar a conocer la prevalencia de B. burgdorferi en garrapatas colectadas de venado cola blanca.

#### **ANTECEDENTES**

## 1- VECTOR

Las garrapatas pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Acarina. Existen dos familias principales de garrapatas, la Familia Argasidae (garrapatas blandas), principalmente par®itos de aves, e Ixodidae (garrapatas duras, por el escudo dorsal que poseen), siendo las ßltimas las que presentan una mayor importancia (Harwood y Maurice 1987).

#### 1.1 CLASIFICACIΦN

Las garrapatas pertenecen al a la superfamilia Ixodoidea, dividida en 2 familias principales

- 1- Ixodidae: o garrapatas duras- con capitulo terminal, escudo, dimorfismo sexual obvio; El escudo en los machos cubre todo el dorso, por lo que no son capaces de una gran expansiÆn; El escudo en las hembras es una placa peque¿a inmediatamente despu¶s detr® del capºtulo, por lo que estas pueden expandirse enormemente.
- 2- Argaside, o garrapatas blandas- sin escudo, dimorfismo sexual no obvio, capitulo ventral y pedipalpos parecidos a patas, ojos laterales y en los surcos supracoxales cuando los hay, y estigmas muy peque; os (Harwood y Maurice 1987).

En la clasificaciÆn m® comßnmente utilizada de garrapatas, la familia Ixodidae comprende 2 grupos principales, los Prostriata y la Metastriata, y dos subfamilias son actualmente reconocidas en Argasidae: la Argasinae y la Ornithodorinae, la familia Nuttalliellidae est® representado por una ßnica especie confinados en el sur Ξ frica (Parola y Raoult 2001) (Fig.1).

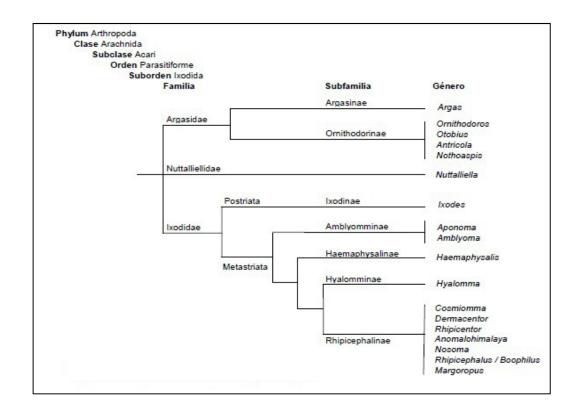


Fig. 1 ClasificaciÆn taxonÆmica de las garrapatas. A daptada de Parola y Raoult (2001)

#### 1.2 MORFOLOGPA

- ¿ Huevos: Son esf¶ricos y marrones oscuros, con una longitud de 0,54 mm y una anchura de 0,39 mm en los reci¶n eclosionados (R. sanguineus).
- ¿ Larvas: 0,5-1 mm de longitud; hex@podos
- ¿ Ninfas: 3-5 mm de longitud; octÆpodos
- ¿ A dultos: 5-10 mm de longitud; son oct/īpodos y presentan un dimorfismo sexual intenso. Las hembras cebadas pueden alcanzar hasta los 30 mm de longitud (Le/īn-Artozqui. 2012).

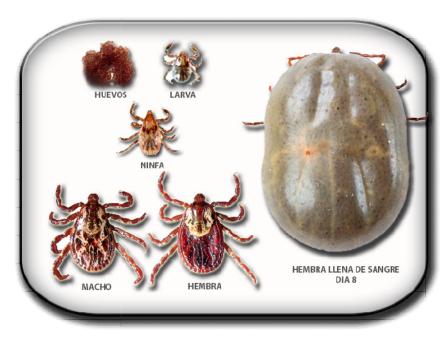


Fig. 2-Morfolog°a de las garrapatas. Tomada de: http://www.vickycan.com/garrapata.html

La morfologºa de los adultos y de los estadios inmaduros (larvas y ninfas) es semejante, diferenci®ndose estos ßltimos por presentar un menor tama¿o. A su vez, los machos suelen ser menores que las hembras, y dado que ingieren cantidades de sangre mucho menores, no suelen incrementar su volumen (Fig 2); tienen una longitud entre 2 y 20 mm y antes de alimentarse presentan un cuerpo comprimido dorsoventralmente, que se encuentra dividido en dos porciones: Gnastoma e idiosoma (M®quez-Jim¶nez et al.2005).

## Extremo anterior: piezas bucales o Gnatosoma

Las piezas bucales se encuentran en el capitulum y consisten de un hipostomo, dos quelºceros y dos pedipalpos. Los pedipalpos tienen una funciÆn t®til. Los quelºceros terminan en ganchos que penetran la dermis como arpones para ayudar a la garrapata a que introduzca el hipostomo dentro de la piel mediante una contracciÆn muscular; las numerosas espinas retrÆgradas del hipostomo ayudan a mantener su posiciÆn. (LeÆn-Artozqui. 2012) (Fig.3).

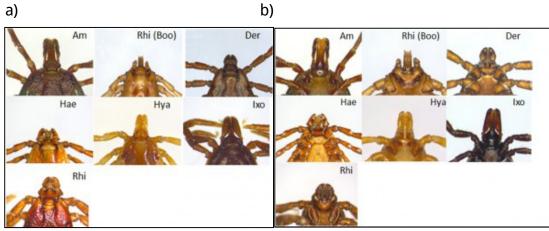


Fig. 3-Diferentes Gnastomas de las garrapatas para identificaciæn de las mismas: a) vista dorsal b) vista ventral. Tomada de: http://bristoltickid.blogs.ilrt.org/key-to-genera/

#### Cuerpo o Idiosoma

ð Cara dorsal: las garrapatas duras se caracterizan por la presencia de un escudo dorsal endurecido (scutum dorsal). En los machos, abarca toda la longitud del cuerpo mientras que en las hembras, ¶ste es m® peque¿o y se encuentra en la parte anterior, lo que les permite poder distenderse de manera considerable durante la toma de sangre (Fig. 4a).

ð Cara ventral: el orificio genital se posiciona entre el segundo par de patas, y el orificio anal entre el cuarto par. Justo detr® de las dos cuartas patas pueden observarse los dos estigmas respiratorios (Fig.4b).

<u>Patas:</u> tienen 6 componentes: coxa, troc®ter, f¶mur, rodilla, tibia, metatarso y tarso. El primer tarso alberga el Ærgano sensorial de Haller que ayuda en la detecciÆn de los hospedadores.

<u>Φrganos sensoriales:</u> (Peas porosas en la superficie dorsal de las hembras a cada lado del capitulum, que sirven para detectar a los machos. Algunas especies contienen ojos u Ærganos fotosensibles (Stiles para la identificaciÆn de los hospedadores (LeÆn-Artozqui. 2012).

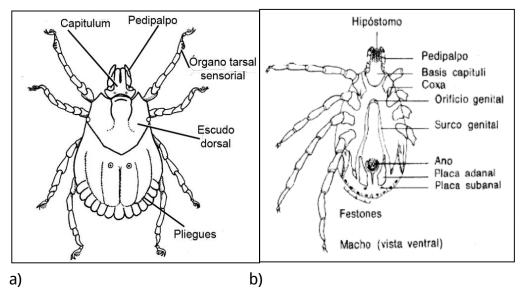


Fig. 4- Estructuras externas de las garrapatas: a) vista dorsal b) vista ventral. Tomadas de: http://www.geocities.ws/ueb2001/Resumen/entomologia/garrapatas.html y http://www.asturnatura.com/articulos/quelicerados/aracnida-aracnidos-acaros.php

#### A natomºa interna de los estados adultos

Disponen de un tracto digestivo consistente en una faringe muscular adaptada para absorber fluido. Cuentan con gl®ndulas salivares ramificadas que se abren en la faringe. Existen numerosos puntos de conexiÆn entre el tracto digestivo y el tracto genital de las hembras (ovarios y ßtero), lo que explica la facilidad de transmisiÆn de patÆgenos desde el tracto digestivo a los ovarios, facilitando de esta manera la transmisiÆn vertical de estos agentes. (LeÆn-A rtozqui. 2012).

#### 1.3 CICLO DE VIDA

El ciclo vital de los ix Adidos presenta cuatro estadios (huevo, larva, ninfa y adulto); el paso de un estadio al siguiente implica la ingesta de un gran volumen de sangre de un hospedador, la digesti Afin de la misma, introducci Afin de cambios morfoanat Afinicos que concluyen con la muda del tegumento y un perºodo m® o menos largo de vida libre a la b\(\textit{B}\)squeda de un nuevo hospedador; el desarrollo del ciclo biol Afgico de una garrapata se encuentra estrechamente relacionado con la presencia efectiva de hospedadores adecuados en su \(\textit{B}\)ea biol Afgica, asº como con la existencia de un microh \(\textit{B}\)bitat en el que se den condiciones favorables; de este modo, se pueden distinguir ciclos en los que intervienen tres, dos y un \(\textit{B}\)nico hospedador (LeAfin-Artozqui. 2012).

- ð <u>Ciclo cl®ico</u>: trif®ico. Hay tres hospedadores para cada generaciÆn de garrapatas y una ßnica fase de alimentaciÆn por estado, la cual es seguida por la caºda de la garrapata al suelo y la fase de muda. El nuevo estado reci¶n surgido espera a que un hospedador pase para continuar el ciclo de desarrollo (Fig 5).
- ð <u>Ciclo dif®ico.</u> Hay dos hospedadores para cada generaciÆn de garrapatas. La larva muda a ninfa en el primer hospedador. Es el caso para algunas especies de Rhipicephalus.
- ð <u>Ciclo monof®ico.</u> Todas las mudas se producen en el mismo hospedador. Algunas especies de Dermacentor siguen este ciclo (LeÆn-Artozqui. 2012).

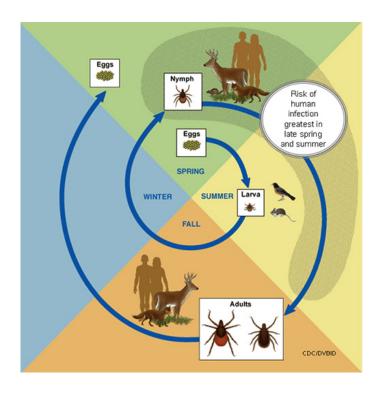


Fig. 5-Ciclo de vida de la garrapata de venado. Tomada de: http://www.cdc.gov/lyme/transmission/index.html

El potencial vectorial de las garrapatas se justifica en raz Æn de:

- ¿ Lo prolongado de su perºodo de alimentaciÆn, que permite la transmisiÆn bidireccional de los agentes patÆgenos.
- ¿ DigestiÆn intracelular de la sangre ingerida.
- ¿ La transmisiÆn transestadial (larva " ninfa " adulto) y vertical (transmisiÆn transov®ica de la hembra a la siguiente generaciÆn a trav¶s del ovario) de distintos agentes (p. ej., distintas Rickettsia).
- ¿ La coincidencia durante la alimentaciÆn de distintos estadios de una misma especie, lo que favorece la transmisiÆn horizontal de los agentes patÆgenos.
- ¿ Su capacidad para alimentarse sobre distintos hospedadores, que permite la transmisiÆn de los agentes patÆgenos de unos hospedadores a otros.
- ¿ Su enorme potencial de dispersi*A*in, firmemente aferradas a la piel de sus hospedadores.

- ¿ El potencial reproductor de las hembras, capaces de depositar cientos o miles de huevos y que posibilita un crecimiento r®ido de las poblaciones de estos par®itos.
- ¿ Su capacidad para mantenerse vivas tras largos perºodos de inaniciÆn (M®quez-Jim¶nez et al. 2005).

Los vectores importantes de enfermedades humanas son las garrapatas de tres hu¶spedes, la duraciÆn promedio del ciclo de vida esta de 1-2 a¿os, variando seg£n las condiciones medioambientales. Dentro del ciclo de vida la garrapata puede adquirir el patÆgeno de manera horizontal (medio ambiente) o de manera vertical (hereditario). Babesia microti, Borrelia burgdoferi y Anaplasma phagocitophilum son ejemplos de patÆgenos adquiridos de manera horizontal. Mientras que R. rickettsii, el agente causal de la fiebre de las monta¿as rocallosas, es adquirido de manera vertical en las hembras de Dermacentor variabilis. En muchas ocasiones las ninfas se consideran el estadio m® idÆneo para la transmisiÆn de enfermedades, ya que debido a su peque¿o tama¿o, pasan desapercibidas y pueden alimentarse sin problemas. Un alto porcentaje de las enfermedades relacionadas con garrapatas se presentan entre finales de primavera y principios de oto¿o por alta actividad ninfal. En la mayorºa de los casos las enfermedades transmitidas por garrapatas son leves y se resuelven con un diagnÆstico temprano y exacto (Koneman y Allen 2008).

Ixodes scapularis es conocido como el principal vector a nivel mundial de la enfermedad de Lyme. A dem® de estar asociado a babesiosis y anaplasmosis granulocºtica humana. Dermacento variabilis es vector de la fiebre de las monta¿ as rocallosas, par®isis por garrapatas y tularemia. La erliquiosis monocºtica humana es transmitida por Amblyomma americanum. Ixodes cookei e Ixodes marxi son vectores de tularemia y el virus de Powassan. Las especies de Ornihtodorus (garrapatas blandas) son transmisores de especies de Borrelia que producen fiebres recurrentes end¶micas. La ricketsiosis 364D es una enfermedad reciente asociada a Dermacentor occidentalis. Center for Disease Control and Prevention (CDC), 2014.

El ciclo de Borrelia se encuentra ligado estrechamente al de la garrapata, estas adquieren la espiroqueta en su estado larval, despu¶s de mudar a su estado ninfal, las garrapatas infectadas pueden alimentarse de una gran gama de animales, los que se convierten en su nuevo hospedero, perpetuando el ciclo; despu¶s de que las ninfas mudan a adultos, estas se alimentan exclusivamente de mamºferos grandes, los cuales no son siempre hospederos competentes para B. burdorferi; las espiroquetas raramente se trasmiten de manera transovarica, por lo que la alimentaciÆn larval y ninfal es crucial para el mantenimiento de la espiroqueta (Tilly et al. 2009).

#### 1.4 DIST RIBUCIΦN

En M¶xico, esta diversidad est® constituida por 2 familias: Argasidae (garrapatas blandas) e Ixodidae (garrapatas duras). Los arg®idos est®n representados por 32 especies en 5 g¶neros: Argas (6 especies), Antricola (3), Ornithodoros (20), Otobius (2) y Nothoaspis (1), mientras que los Ixodidae por 68 especies en 5 g¶neros: Ixodes (26 especies), Amblyomma (26), Dermacentor (10), Haemaphysalis (3) y Rhipicephalus (3).

A ctualmente los g¶neros con mayor riqueza son Amblyomma e Ixodes; las especies del primero est®n asociadas con 43 taxones de vertebrados, lo que representa al 1.9% del total de vertebrados terrestres en el pa®s (2 306 especies). Los mam®feros son los principales hospederos seguidos por reptiles, aves y anfibios. Las especies del g¶nero Amblyomma han sido registradas en 30 de los 32 estados de la Repßblica Mexicana, siendo A. cajennense la especie de mayor distribuciÆn. Las especies del g¶nero Ixodes han sido registradas en asociaciÆn con aves y mam®feros, sÆto 6 y 24 especies respectivamente de las 1 050 especies de aves y 525 de mam®feros, han sido referidas como hospederos de estas garrapatas. Las especies incluidas en este g¶nero se distribuyen en 26 de los 32 estados de la Repßblica Mexicana siendo Ixodes scapularis (Say 1821) la especie con la distribuciÆn m® amplia en 13 entidades (P¶rez et al. 2014).

Otros insectos hematÆagos, como mosquitos, pulgas y ciertas especies de moscas, han sido reportados como vectores potenciales, aunque parecen tener menor importancia en la din®nica de transmisiÆn al humano; los piojos animales y humanos, tan importantes en la transmisiÆn de otras borrelias, no han sido estudiados en la borreliosis de Lyme (Herrera-Lorenzo et al. 2011).

#### 2. ENFERMEDAD DE LYME

A principios del siglo XX, Benjamin Lipschutz y Arvid Afzelius hicieron las primeras descripciones del eritema crÆnico migrans (ECM), que ahora se sabe que es la manifestaciÆn inicial en la piel de la borreliosis de Lyme, en Europa, Afzelius describiÆ la asociaciÆn de las lesiones de ECM con la mordedura de una garrapata en 1910 (Garcºa-Mel¶ndez et al. 2014).

M® tarde Steere en 1975 realizÆla evaluaciÆn epidemiologia de 39 ni¿os y 12 adultos de los pueblos de Old Lyme, Lyme y East Haddam, que desarrollaron hinchazÆn asim¶trica recurrente y dolor en unas pocas articulaciones grandes, la mayorºa en la rodilla, condujo a la completa descripciÆn de la infecciÆn y su asociaciÆn con el vector (Gaumond et al. 2006).

En 1982 Burgdorfer aislÆel microorganismo causal que se encontraba dentro del tracto gastrointestinal de la garrapata Ixodes, concluyendo que se trataba de una espiroqueta, sobre la base de las caracterºsticas ultraestructurales y el an®isis del ADN, la espiroqueta de la enfermedad de Lyme fue identificada como miembro del g¶nero Borrelia, y recibiÆel nombre de B. burgdorferi en honor a su descubridor (Garcºa-Mel¶ndez et al. 2014).

La enfermedad de Lyme causa una amplia gama de sontomas en seres humanos, incluyendo una erupciæn anular (eritema migrans), sontomas de artritis, gripe, y sontomas neurolægicos, incluyendo par@isis del nervio facial (Gaumond et al. 2006).

Los pacientes con la infecciÆn pueden cursar sin sontomas o padecer manifestaciones cardiacas, articulares, cut®neas o neurolÆgicas; sin embargo, la ausencia de datos patognomÆnicos y lo inespecofico de alguno de sus sontomas causa confusiones con otros diagnÆsticos, como fibromialgia y sondrome de fatiga crÆnica (Skinner et al. 2007).

El diagnÆstico cl°nico es dif°cil, ya que un elevado nßmero de enfermos no recuerdan el antecedente de la mordedura de garrapata, y hasta en un 50 % de los afectados tampoco aparece la lesiÆn cut®nea caracter°stica denominada eritema migrans, y las fases posteriores de la enfermedad se caracterizan por la inespecificidad de los signos y s°ntomas (Tabla 1), adem®s la mayor°a de las infecciones son subcl°nicas (Miranda et al. 2009).

Tabla 1 ClasificaciÆn cl°nica de la enfermedad de Lyme. (Portillo et al. 2014).

Fase precoz localizada	Presencia de EM o linfadenosis benigna ESTADIO I cutis con o sin linfadenopatºa u otros signos o sºntomas						
Fase precoz diseminada	Presencia de EM mßltiple y/o manifestaciones neurol Ægicas, cardºacas o articulares agudas	ESTADIO II					
Fase cr <i>Æ</i> nica	Presencia de ACA, neuroborreliosis terciaria o artritis persistente o recidivante de al menos 6 meses de duraciÆn	ESTADIO III					
ACA: acrodermatitis crÆnica atrÆtica; EM: eritema migratorio.							

#### 2.1 AGENTE ETIOLOGPCO

La borreliosis de Lyme es causada por varias especies estrechamente relacionadas que se conocen colectivamente como B. burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi en sentido general). La infecciÆn humana es causada principalmente por 3 genospecies patÆgenas: B.burgdorferi sensu stricto (B. burgdorferi en sentido estricto), B. garinii, y B. afzelii; B. burgdorferi es la ßnica causa de la infecciÆn en los Estados Unidos; las 3 genospecies se encuentran en Europa, y las ßltimas 2 especies se encuentran en Asia (Steere. 2006).

#### 2.2 CARACTERIST PCAS

Las bacterias del g¶nero Borreila pertenecen al orden de los Spiroquetaceae. Las espiroquetas son organismos filamentosos extraordinariamente largos y flexibles y con una forma caracter°stica en espiral. Las especies del genero Borreila son microaerÆilas, mÆviles y se trasmiten por medio de un vector artrÆpodo, caracter°stica fundamental que las distingue de otros g¶neros como Treponema y Leptospira (Escudero-Nieto y Guerrero-Espejo 2005).

La composiciÆn de la pared celular es similar a las bacterias gram negativas, con algunas diferencias importantes, por ejemplo la ausencia de lipopolisacaridos y la abundancia de lipoproteºnas en la pared externa; los mayores componentes de membrana identificados en Borriela son 2 fosfolipidos (fosfatidilcolina y fosfoglicerol) y 2 glucolipidos atºpicos 1-O- Palmitoil -2- O- Oleil-3-O- -D-galactopiranosil-sn-glicerol y Colesteril 6-O-Palmitoil-∮-D-galactopiranosido; Ambos pueden provocar la producciÆn de anticuerpos especºficos en modelos murinos (Krupka et al. 2007).

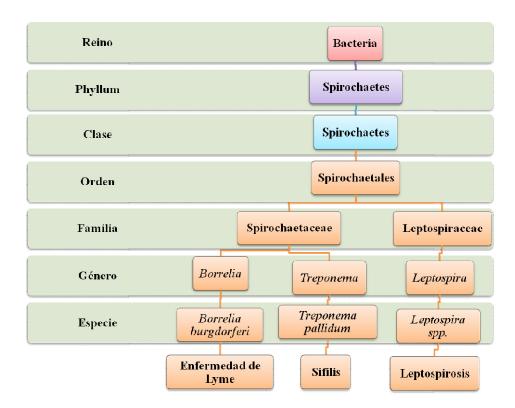


Fig. 6- Taxonomºa de Borrelia bugdorferi. (Karami 2012)

Mientras que la motilidad de las bacterias flageladas se obstaculiza en sustancias viscosas, en las espiroquetas es mejor, y aproximadamente el 6% del genoma codifica proteºnas cromosÆmicas participan en la motilidad y la quimiotaxis. A diferencia de otras bacterias, la membrana externa carece de rigidez, y son los flagelos los que determinan la forma de la espiroqueta. Esto se observÆal inactivar el gen flaB, que codifica para la principal proteºna del filamento flagelar, lo que produjo bacterias que carecen de flagelos, inmÆviles y de forma bacilar (Karami 2012; Garcºa-Mel¶ndez et al. 2014)

Estos flagelos no se encuentran en la superficie de la c¶ula, sino en el espacio peripl®mico entre la membrana celular externa y el cilindro de protoplasma y est®n insertados en los extremos del mismo (Fig.7a) (Barbourt y Hayes, 1986) a diferencia de otras bacterias donde los flagelos consisten en una sola proteºna, la flagelina, los flagelos de las espiroquetas se componen de mßltiples proteºnas. El nßcleo del flagelo peripl®mico est®compuesto de una familia de proteºnas FlaB (41 kDa) cuya secuencia

es similar a la flagelina y FlaA (38 kDa) que forma una vaina que rodea el n\( \text{Scleo FlaB} \) (Fig.7b) y por lo tanto este flagelo es m\( \text{g} \) gruesos (Wolgemuth et al., 2006; K rupka et al. 2007).

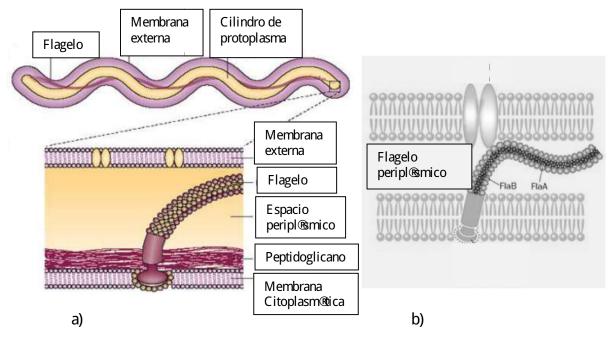


Fig. 7 - Estructura del flagelo de B. burdorferi K arami (2012)

El genoma completo de la cepa B31 de B. burgdorferi s.s. es de aproximadamente 1.5 Mb, y comprende un cromosoma lineal de 950 kb y 9 pl®midos circulares y 12 lineales; las caracter°sticas m® importantes de este genoma residen en el gran nßmero de secuencias que codifican lipoprote°nas, incluyendo las prote°nas de envuelta externa (Osp´s, del ingl¶s Outer Surface Proteins) OspA hasta OspF6, as° como la elevada cantidad de pseudogenes (Escudero-Nieto y Guerrero-Espejo 2005). Tambi¶n tiene pocas prote°nas para actividad biosint¶tica y depende de su hospedero para muchos de sus requerimientos nutricionales; no tiene secuencias reconocidas para toxinas (Steere 2006).

Borreila tiene la habilidad ßnica de poder sobrevivir en ambientes sin hierro, a pesar de que este es una limitante para muchas bacterias patÆgenas; este hecho es causado por la eliminaciÆn de la mayorºa de las metaloproteinas dependientes de Fe y la sustituciÆn por

magnesio en las restantes. Otra caracterºstica tºpica, que no se ha entendido claramente hasta ahora son las formas no helicoidales; varias formas cºsticas, de `ampolla\_ y en L se han descrito repetidamente durante su cultivo en medios con pH no optimo en ausencia de suero, presencia de antibiÆticos y cultivos viejo, es decir, en general bajo condiciones de estr¶s; se ha observado que al menos algunas de estas transformaciones son reversibles; se ha propuesto que estas alteraciones son significativas en la patog¶nesis, evasiÆn inmune y/o resistencia a antibiÆticos de por lo menos B. burgdorferi s. s (K rupka et al. 2007).

A excepciÆn de B. crocidurae y B. hispanica, el resto de estas borrelias son cultivables, aunque en ocasiones necesiten condiciones especiales de crecimiento, crecen en medio l°quido Barbour-Stoenner-Kelly II15 a 30-34 éC en ambiente microaerÆilo y se dividen cada 8-12 h durante la fase logar°tmica de su crecimiento. (Escudero-Nieto y Guerrero-Espejo 2005)

#### 2.3 PATOG§ NESIS

Las borrelias tienen que ser capaces de adherirse y sobrevivir en el intestino de la garrapata, pasar a la hemolinfa y transportarse a trav¶s de las gl®ndulas salivares al flujo sanguºneo del hospedero, evitar la reacciÆn inmune y diseminarse a los Ærganos diana. En todo este proceso tienen un papel importante varias proteºnas de membrana externa y proteºnas adhesivas (Rodrºguez-Gonz®ez 2013).

En garrapatas sin alimentar, las espiroquetas expresan la proteºna OspA, que se une a su receptor TROSPA asegurando que se adhiera la bacteria; durante la alimentaciÆn de las garrapatas, aproximadamente de 24 a 48 horas despu¶s de la uniÆn, Borrelia regula a la baja OspA, y expresa OspC y migra a las gl®ndulas salivales; en este punto OspC une a una proteºna de la gl®ndula salival de garrapata de 15 kDa (Salp15), protegiendo la espiroqueta de la respuesta del hospedero (Coumou et al. 2011).

Algunos de los pl®midos de B. burgdorferi s. s no son esenciales para su crecimiento in vitro y pueden perderlos f@ilmente cuando pasan a trav¶s de su hospedero natural; sin embargo algunos de estos genes son necesarios durante el curso natural de la infecciÆn y para la permanencia de Borrelia en su hospedero; adem® los pl®midos lineales tienen caracterºsticas similares al cromosoma linear lo que respalda la idea que al menos algunos pl®midos de B. burgdorferi s. l. deben ser considerados como `microcromosomas\_ (Krupka et al.2007).

En la borreliosis de Lyme el hombre es un hospedero accidental, para la transmisiÆn de esta enfermedad es necesario que la garrapata infectada se mantenga adherida a la piel por un perºodo de no menos de 24 horas. La puerta de entrada es la piel, la diseminaciÆn es cut®nea, linf®tica y hematÆgena. No se conoce que existan diferencias gen¶ticas en humanos relacionadas con la susceptibilidad para la infecciÆn y es tambi¶n desconocido cÆmo puede desarrollarse inmunidad protectora adquirida, por otra parte, no se han reportado casos de reinfecciÆn (Herrera-Lorenzo et al. 2011).

#### 3- RESERVORIOS

B. burgdorferi infecta a una amplia gama de animales vertebrados, incluyendo los peque; os mam<sup>o</sup>feros, lagartos y aves. Las garrapatas del g¶nero Ixodes transmiten B. burgdorferi entre hospederos y son el ßnicos agentes naturales a trav¶s de la cual se ha mostrado que los humanos pueden infectarse (Tilly et al. 2009).

La distribuciÆn la garrapata vector se ve influenciada principalmente por las variaciones clim@icas y geogr@icas, asº como la migraciÆn de aves a las que infestan e incluso la din@nica poblacional normal de los dem® hospederos, lo que hace de la garrapata una especie con un potencial de distribuciÆn muy alto, adem® facilita su introducciÆn en sitios donde no se encontraba naturalmente, lo que aumenta el riesgo en el humano de adquirir enfermedades asociadas a estos @aros (Shaw et al.2003).

#### V enado

El venado cola blanca (Fig. 8a) es considerado un reservorio incompetente para Borrelia burgdorferi, dado que su suero contiene un componente borrelicida, el cual es un anticuerpo contra las manifestaciones de la enfermedad de Lyme, pero la distribuciæn y desarrollo de las poblaciones de venado cola blanca son responsables del establecimiento y mantenimiento de poblaciones del vector ya que se ha demostrado que la densidad de poblaciæn de venados de cola blanca tiene una correlaciæn positiva con la abundancia de garrapatas en diversas regiones de Am¶rica del Norte (Chen et al .2015).

El venado cola blanca mantiene un doble papel en la supervivencia y la proliferaciÆn de las garrapatas, al servir como una fuente de alimento preferido y como un vehoculo para el transporte y la localizaciÆn de su h®bitat preferido (Paddock y Y absley 2007).

El intenso manejo de la vida salvaje para la caza, incrementa los riesgos de patÆgenos zoonÆcos; el aprovechamiento del venado cola blanca se ha incrementado a trav¶s de vallas, alimentaciÆn, bebida y traslados, para aumentar los ingresos de la caza en el noreste de M¶xico (Medrano et al. 2012). Esta zona, que abarca los estados de Coahuila, Nuevo LeÆn y Tamaulipas, constituye la mayor ®ea de granjas para caza del venado cola blanca y por lo general ocupan las mismas a¶reas con el ganado compartiendo pastura (Cantß-Martinez et al. 2008). Por lo que tambi¶n pueden compartir enfermedades infecciosas; los agentes infecciosos pueden ser trasmitidos del venado al ganado y del ganado al venado y ocasionalmente al humano (Martinez et al. 1999).

## Borrego cimarrÆn

El borrego cimarrÆn (Fig. 8b) es uno de los grandes mamºferos silvestres de M¶xico y una de las especies m® importantes por su alto valor ecolÆgico y econÆmico. Sin embargo, la fragmentaciÆn del h®bitat, la introducciÆn de especies dom¶sticas y recientemente, los esfuerzos por construir una cerca fronteriza, han creado preocupaciÆn sobre el impacto que pueda tener a esta especie ya que se encuentra dentro de la lista de especies en peligro.(Buchalski et al. 2015).

El acicalamiento es la primera lonea de defensa de los mamoferos salvajes contra la infestacia infestacia de ectoparositos y mucha de la evidencia apunta al papel central de las garrapatas en la evolucia de este comportamiento. Los animales con este comportamiento pobre o mal desarrollado o invulnerable a una infestacia excesiva de garrapatas dando a los individuos con este comportamiento mejor desarrollado una ventaja selectiva, ya que se ha observado que una carga moderada de garrapatas en terneros para crecimiento puede reducir la ganancia de peso en 10-44kg e inducir a anorexia y pordida de sangre. En poblaciones de borrego cimarra (Ovis canadensis mexicana) del desierto de Chihuahua de Nuevo Morio, aislado de garrapatas durante miles de agos se observa en una tasa de acicalamiento extremadamente baja en este entorno, incluso inferior a la de ungulados en parques zoolagicos libres de garrapatas. (Mooring et al., 2006; Li et al. 2014).

Poblaciones de borrego cimarrÆn (Ovis canadensis) seropositivos para Anaplasma spp fueron identificados en California, lo que sugiere un papel de esta especie en la epidemiologºa de Anaplasma spp (de la Fuente et al. 2006) se ha observado que causa enfermedad grave en el borrego cimarrÆn y puede predisponer al hospedero a otros patÆgenos, ya que la enfermedad aguda se ha asociado a coinfecciones, adem®s de clima c®ido, vacunaciÆn, desparasitaciÆn, grado de infestaciÆn de garrapatas, trasporte y movimiento de los animales por largas distancias (Renneker et al.,2013; Altay et al. 2014).

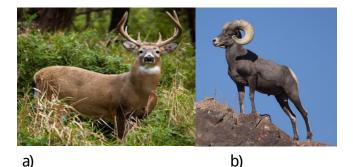


Fig. 8- Reservorios para poblaciones de garrapatas trasmisoras de patÆgenos: a) venado cola blanca, b) borrego cimarrÆn

## JUSTIFICACIΦN

Nuevo LeÆn y el norte del pa°s cuentan con las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad de Lyme, debido a que se han identificado vectores, hu¶spedes intermediarios y un medio ambiente favorable; adem®s el aprovechamiento del venado cola blanca se ha incrementado para aumentar los ingresos de la caza en ranchos cinergistas, y agentes infecciosos pueden ser trasmitidos del venado al ganado y viceversa, y asº tambi¶n, ocasionalmente al humano. A pesar de esto son pocos los estudios realizados que permiten dar un panorama acerca de la distribuciÆn e incidencia de esta enfermedad en el pa°s, el presente estudio analiza los datos actuales acerca de la prevalencia B. burgdorferi en el Norte de M¶xico que ser®de importancia para poder visualizar el riesgo de la poblaciÆn de la zona.

#### ΗΙΡΦΤΕSIS

En la zona del norte de M¶xico se encuentra prevalente B. burgdorferi, dadas las condiciones ambientales propicias que se presentan para su desarrollo.

#### **OBJETIVOS**

## Objetivo general

¿ Determinar la prevalencia de B.burgdorferi en garrapatas de venado cola blanca O. virginianus couesi y borrego cimarrÆn Ovis canadensis.

## Objetivo particulares

- ¿ Determinar la presencia de la bacteria B. burgdorferi en garrapatas por medio de la t¶cnica de la reacciÆn en cadena de la polimerasa (PCR).
- ¿ Identificar taxon/Æmicamente los vectores de mayor importancia de B. burgdorferi en la regiÆn.

#### MATERIAL Y M§TODOS

## C olecta de garrapatas

Las colectas se realizaron en 2 localidades del estado de Sonora: Rancho El Aigame, en el municipio La Colorada (Lat/Lon: 28.73, -110.42) (Directorio cartogr®ico, dices.net) y en Rancho El Plomito (Lat/Lon: 30.25, -112.37) localizado en el municipio de Pitiquito, Sonora, a 70K m de Caborca y 40K m al Oeste de Puerto Libertad, este rancho cuenta con una superficie de 10,375 has. Su clima es des¶rtico o muy seco semic®ido, con ciclo de lluvias bianual. La vegetaciÆn es de tipo: Matorral des¶rtico micrÆilo, Matorral micrÆilo sarcocaule y Matorral alto espinoso. Desde 1996 en esta localidad se iniciÆel programa de conservaciÆn, para lo cual se construyÆun encierro para la reproducciÆn de especies de importancia econÆmica en condiciones de semicautiverio, abarcando una superficie de 961 has, y que para 2014 podrºa contar con una poblaciÆn reproductiva de borrego cimarrÆn, venado cola blanca y venado bura para poder realizar las primeras repoblaciones en Sierra El Viejo, Sonora. (OrganizaciÆn de Vida Silvestre 2011, Directorio cartogr®ico, dices.net)

En Tamaulipas las colectas se realizaron en las @eas de Nuevo Laredo cuya extensiÆn territorial es de 1,201.90 km/J, que representan el 2.08% de la superficie total de Estado, est@situado al norte del Estado de Tamaulipas, y limita al norte con los Estados Unidos de Norteam¶rica y con el Estado de Nuevo LeÆn; al sur y al oeste con el mismo estado, y con el Municipio de Guerrero y al oeste nuevamente con los Estados Unidos de Norteam¶rica.

La Cuenca del R°o Bravo o R°o Grande del Norte le sirve de l°nea divisoria entre M¶xico y los Estados Unidos de Norteam¶rica. El clima se caracteriza por ser el m® seco y extremoso del estado, con grandes oscilaciones en la temperatura de que varºan desde los 14ł C bajo cero en invierno, hasta los 40ł C sobre cero en verano; su precipitaciÆn pluvial media anual es de 472.5 mmE y los vientos predominantes provienen del sur. La flora consiste en pastos forrajeros, yerbas salitradas, cactus de

diferentes especies y arbustos. Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, (2010)

Tambi¶n se realizaron colectas en a¶reas del municipio de Guerrero, que Colinda al norte con el municipio de Nuevo Laredo; al sur con el municipio de Mier y al oeste con el estado de Nuevo LeÆn. Su extensiÆn territorial es de 2,427.1879 K m/L, se ubica sobre la cuenca del rºo Bravo, y un 50% del territorio del municipio se encuentra cubierto por la presa FalcÆn. Su clima se considera de tipo seco, muy c®ido y con una precipitaciÆn media anual de 440mm³. La vegetaciÆn se clasifica como matorral crasirodurifolio espinoso y matorral bajo espinoso Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (2010)

En Nuevo LeÆn las colectas se realizaron en el Rancho Mamulique en el municipio de Salinas Victoria. (Lat/Lon: 26.1333, -100.333) (Directorio cartogr®ico, dices.net). A dem® de Taxidermia Rodrºguez y Taxidermia Internacional. A mbas ubicadas en San Nicol® de los Garza, N.L.

Todos los ejemplares obtenidos fueron de la temporada de caza noviembre 2015febrero 2016, regulada por las autoridades correspondientes.



Fig. 9 UbicaciÆn Geogr®ica de las zonas de muestreo a) Ranchos El plomito y el Aigame en Sonora b) Rancho Mamulique en Nuevo LeÆn c) Nuevo Laredo y Guerrero Tams.

Las garrapatas se obtuvieron de los hospederos colectados, retir@ndolos de forma manual o con pinzas por un espacio de 5 minutos de las zonas con m® densidad de garrapatas, segßn la t¶cnica descrita por A merasinghe et al., en 1992 Posteriormente las garrapatas se introdujeron en viales de 12 mL, previamente etiquetados, y sumergidas en alcohol etºlico absoluto como preservador. En el caso de las taxidermias las pieles fueron trasportadas en refrigeraciÆn hasta el momento de su inspecciÆn, para asº realizar el mismo procedimiento antes de que estas pasen a los diversos procesos de conservaciÆn.

## IdentificaciÆn de garrapatas

La identificaciÆn taxonÆmica se realizÆcon las claves del Manual de IdentificaciÆn de las Especies de Garrapatas de Importancia en M¶xico de la Secretaria de Agricultura, Ganaderºa y Desarrollo Rural de la ComisiÆn Nacional de Sanidad Agropecuaria de la DirecciÆn General de Salud Animal (1996), adem® de las claves de (Keirans y Litwak., 1989; Walker et al. 2014)

## Ficha entomol Ægica

Este formato se utilizÆcomo bit®cora de las colectas e identificaciÆn de los ejemplares obtenidos.

Fecha	L ocalidad	Identificador	Hospedero					V ector					
	·		No	Sexo	No	de	Ξrea	de	No	de	No	de	E specie
					garrapatas		localizaci <i>A</i> fn		machos		hembras		

## ExtracciÆn del ADN de B. burgdorferi a partir de garrapatas

Para su an@isis las garrapatas se distribuyeron en pools de m@ximo 10 ejemplares, del mismo hospedero y g¶nero clasificado. Posteriormente a las garrapatas de cada pool se les realizÆdisecciÆn y extracciÆn de 50mg de tracto digestivo La obtenciÆn del ADN se realizÆmediante el protocolo del DNAzol ÷ (Molecular Research Center, Inc 2001) de la siguiente manera:

Se tomaron los pool de muestra, mismos que se pasaron a microtubos de 1.5mL, se a¿adieron 800 L de reactivo DNAzol÷ por tubo, y se calentaron a 95éC en el multiblock ÷ por espacio de 10 minutos. Posteriormente se centrifugaron las muestras a 12,000 rpm por 10 minutos y en seguida se transfirieron 400 L de sobrenadante a otro microtubo limpio y est¶ril, al cual se a¿adieron 500 L de alcohol al 100%, se mezclÆy centrifugÆa 12,000 rpm durante 5 minutos. El contenido del tubo se decantÆ para quedar solo con el pellet en el fondo del tubo, se dejÆsecar por 15 min para despu¶s resuspender con 150 L de agua bidestilada. Al final este se conservÆa -35éC hasta el momento de ser utilizado para la PCR (Galaviz-Silva et al. 2013)

## Cepa de referencia

Se usÆuna muestra de ADN de la cepa B31 donada por la Dra. Cinco del Laboratorio Spirochete, Dipartimento di Scienze Biomediche, Universit di Trieste, Trieste, Italy. Como control positivo para la PCR.

#### S°ntesis de iniciadores

La amplificaciÆn de muestras se realizÆutilizando los iniciadores sint¶ticos dise¿ados por Shih y Chao (2002), los cuales pertenecen a la regiÆn OspA de la cepa de referencia B. burgdorferi B31 y J D1 y denominados como SL-For y SL-Rev. Estos se obtuvieron de un fragmento de 1725 pares de bases de la cepa B31, situados entre los nucleÆtidos 21 y 328. El primer iniciador se encuentra en la secuencia nuclotºdica 21 a 47, 5ˇ-AAT AGG TCT AAT AGC CTT AAT AGC-3ˇ y el segundo iniciador presenta una secuencia oligonucleÆtido en la posiciÆn 201 a 228 pb, 5ˇ-CTA GTG TTT TGC CAT CTT CTT TGA AAA-3ˇ. Donde para un volumen final de 50mL se utilizaron 5ml de buffer, 1.5mL de MgCl₂, 1mL de dNTPús, 0.5 mL de Taq DNA polimerasa, 1mL de cada primer y 5ml de la muestra (Galaviz-Silva et al. 2013).

Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 2%, que se ti¿ eron con bromuro de etidio, y se visualizaron en trasiluminador 2000 de BioRad÷ y se tomÆfoto para registro digital.

## An®isis estadostico

Los datos obtenidos en el estudio fueron ingresados a una base de datos de Microsoft Excel. Para determinar los °ndices de densidad de garrapatas por hospederos, se realizaron medidas de prevalencia, abundancia e intensidad utilizando los criterios de (Bush et al., 1997; Pagano 1999)

Prevalencia= <sup>吱째宝温观测器温观测</sup>侪证证

A bundancia = 中那時空中國海空學所規模學學所可以

#### **RESULTADOS**

#### IdentificaciÆn taxonÆmica del vector

De las localidades muestreadas en del norte de la Republica de M¶kico, se inspeccionaron un total de 116 hospederos: 113 venados de los cuales 23/113 (20.35%) estaban infestados, y 3/3 (100%) borregos cimarrÆn estaban infestados. Se colectaron un total de 215 garrapatas pertenecientes a 4 especies distintas: R. microplus, D. nitens, O. megnini, D. hunteri, los datos obtenidos se muestran resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2- Datos obtenidos de las localidades del norte de la Republica Mexicana

	Nuevo L eÆn		Sonora		Tamaulipas
Hospedero	O. virginianus		O. virginianus	O. canadensis	O. virginianus
N de hospederos	13/82 (15.8%)		4/16 (25%)	3/3 (100%)	6/15 (40%)
E species	R. microplus	D. nitens	O. megnini	D. hunteri	R. microplus
No. garrapatas	76	10	19	93	17
Ninfas			19/19 (100%)		
ii	65/76 (85.5%)	4/10 (40%)		14/93 (15%)	13/17(76.5%)
iii	11/76 (14.5%)	6/10 (60%)		79/93 (85%)	4/17(23.5%)
A bundancia	0.93	0.12	1.18	31	1.13
Intensidad	5.8	0.77	4.75	31	2.83
TOTALES	TOTALES				
Total de	26/116 (22.4%)				
hospederos					
Total garrapatas	215				
Ninfas	19/215 (8.8%)				
ii	96/215 (44.7%)				
iii	100/215 (46.5 %)				
A bundancia	1.85				
Intensidad	8.27				

En el estado de Sonora se colectaron un total de 112 garrapatas de las especies Dermacentor hunteri y Otobius megnini en 2 hospederos distintos: 3 borrego cimarrÆn (Ovis canadensis), y 16 venado cola blanca (O. virginianus). Los datos obtenidos se resumen en la Tabla 3 y las caracteristicas taxÆnomicas de las especies identificadas se muestran en las Fig.s 10 y 11.

Tabla 3- IdentificaciÆn de vectores de O.virginianus y O. canadensis en Ranchos de Sonora, M¶xico.

	Rancho el Plomito		R ancho el A igame		
Hospedero	O.virginianus	O. canadensis	O. virginianus		
N de hospederos	3/13 (23.1%)	3/3 (100%)	1/3 (33.3%)		
E species	O. megnini	D. hunteri	O. megnini		
No. garrapatas	15	93	4		
Ninfas	15 (100%)		4(100%)		
ii		14(15%)			
iii		79(85%)			
Abundancia	1.5	31	1.3		
Intensidad	5	31	4		
TOTALES	TOTALES				
Total hospederos	7/19 (36.8%)				
Total garrapatas	112				
Ninfas	19/112 (17.0%)				
ii	14/112 (12.5%)				
iii	79/112 (70.5%)				
A bundancia	5.8				
Intensidad	16				

En Nuevo LeÆn se colectaron garrapatas en Rancho Mamulique localizado en el municipio de Salinas Victoria N.L. donde se capturaron 5 venados. A dem® se inspeccionaron un total de 77 pieles de venado cola blanca en 2 taxidermias. Se

colectaron un total de 86 garrapatas, de las especies Boophilus microplus, y Dermacentor nitens. Los datos obtenidos se resumen en la Tabla 4 y las caracter<sup>o</sup>sticas taxonÆmicas de las especies halladas se muestran en las figuras 11 y 12.

Tabla 4- Datos obtenidos en las localidades de Nuevo LeAn, M¶xico

	T axider mia internacional		T axidermia R odr°guez	R ancho M amulique
Hospedero	Odocoileus virginianus			
N de hospederos	9/65 (13.8%)		2/12 (16.6%)	2/5 (40%)
No. garrapatas	55		26	5
E species	R. microplus	D. nitens	R. microplus	R. microplus
n	45/55 (81.8%)	10/55 (18.2%)	26/26 (100%)	5/5 (100%)
ii(%)	41(90.1%)	4(40%)	19 (73.1%)	5(100%)
iii(%)	4 (8.9%)	6 (60%)	7 (26.9%)	
A bundancia	0.84		2.7	1.0
Intensidad	6.1		13	2.5
TOTALES				
N hospederos	13/82 (15.8%)			
Total garrapatas	86			
ii(%)	69/86 (80.2%)			
iii(%)	17/86 (19.8%)			
A bundancia	1.05			
Intensidad	6.6			

En el estado de Tamaulipas se realizaron las colectas de garrapatas de venado cola blanca en las localidades de Nuevo Laredo y Guerrero donde se capturaron un total de 15 venados y se colectaron 17 garrapatas de la especie Boophilus microplus. Los datos obtenidos se resumen en la Tabla 5 y as caracter<sup>o</sup>sticas taxon/Æmicas de B. microplus se muestran en la Fig. 12.

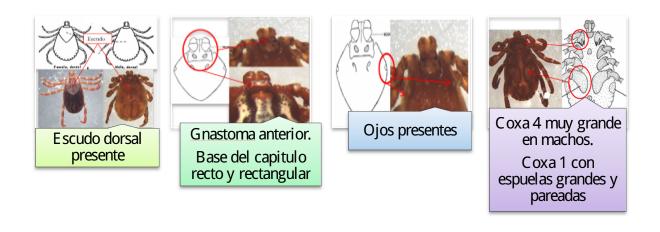
Tabla 5- Datos obtenidos de Tamaulipas, M $\P$ xico

	Nuevo L aredo	Guerrero			
Hospedero	Odocoileus virginianus				
N de hospederos	2/6 (33.3%)	4/9 (44.4%)			
E species	R.microplus	R.microplus			
No. garrapatas	4/4 (100%)	13/13(100%)			
ii	3(75%)	10(76.9%)			
iii	1(25%)	3(26.1%)			
A bundancia	0.67	1.4			
Intensidad	2	3.25			
TOTALES					
N	6/15(40%)				
Total garrapatas	17				
ii	13/17(76.5%)				
iii	4/17(23.5%)				
A bundancia	1.13				
Intensidad	tensidad 2.83				

Las garrapatas se identificaron en base a las siguientes estructuras segßn las claves taxon/Emicas de (K eirans y Litwak, 1989; Walker et al. 2014). Los datos se distribuci/Em, hospederos y principales enfermedades trasmitidas las especies identificadas en este estudio se resumen en la Tabla 6.



Fig. 10. Caracterºsticas taxon/Emicas de Otobius megnini



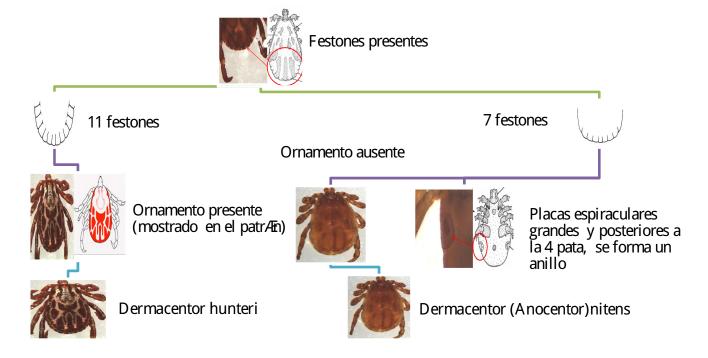


Fig. 11. Caracter°sticas morfolÆgicas para la identificaciÆn taxonÆmica de las especies de Dermacentor sp.

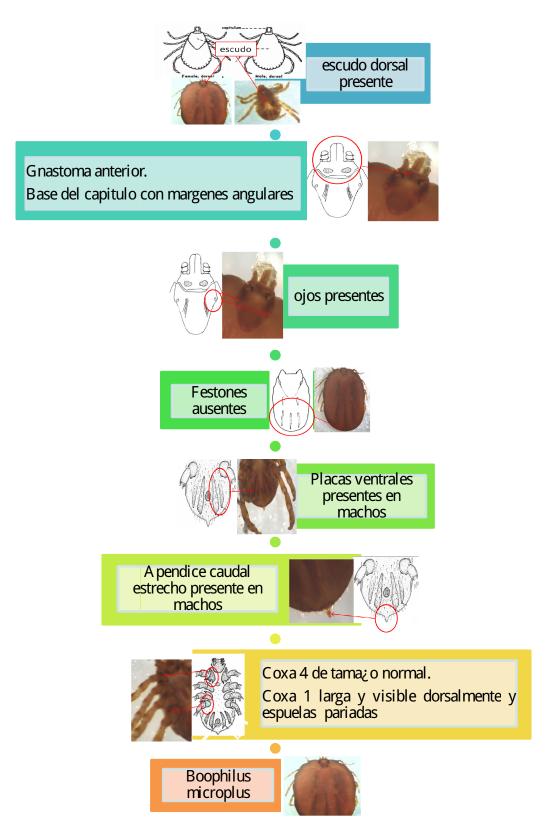


Fig. 12. . Caracter°sticas morfolÆgicas para la identificaciÆn taxonÆmica de Boophilus microplus

## Diagnostico molecular de B. burgdorferi

Las garrapatas colectadas e identificadas para B. burgdorferi fueron NEGATIVAS para la amplificaciæn del gen OspA.

En la Fig. 13 se muestra uno de los geles de agarosa al 2%, te¿idos con bromuro de etidio, en el cual se corriÆ un marcador molecular HyperLadderù 100pb, controles positivo y negativo adem® de 5 muestras



Fig. 13- Gel de electroforesis de agarosa 2% te¿ido con bromuro de etidio

Tabla 6- Resumen de las especies de garrapatas muestreadas en este estudio

V ector	DistribuciÆn Geogr®fica	Hospederos	Pat/genos trasmitidos	Literatura
Dermacentor hunteri	Sonora, Baja California	Borrego cimarrÆn	Anaplasma marginale	(Crosbie et al., 1997; Guzm®n- Cornejo et al., 2016)
Dermacentor nitens	Campeche, Chiapas, Chihuahua, Colima, CDMX, Durango, Estado de M¶xico, Guerrero, Hidalgo, Michoac®n, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, SLP,Tamps, Ver, Yucatan	E quinos, ganado, perros	Babesia caballi, Anaplasma marginale	(Dias Uzedo- Ribeiroa et al., 2014; Guzm®n- Cornejo et al., 2016)
Otobius megnini	Suroeste de E.U y M¶kico. Sudam¶rica, Sud®rica, Haw®, India	Ganado, Ungulados, perros	A ctßan como vectores de rickettsias causantes de fiebre moteada y fiebre Q	(Niebuhr et al., 2013; Diyes & Rajakaruna, 2016)
R. microplus	Mundial: Regiones tropicales y subtropicales	Ganado, ungulados	Babesia bovis , Babesia bigem ina, Anaplasma marginale	(Merino et al., 2011)

#### DISCUSIΦN

A unque el venado cola blanca se asocia a la enfermedad de Lyme, las garrapatas no fueron positivas a la enfermedad, debido a que el g¶nero identificado como vector de la enfermedad es Ixodes sp, y en este estudio no se identificÆeste vector, cabe se¿ alar que en el noreste de M¶xico se ha reportado Ixodes sp. positivo para Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l.) en hospederos intermediarios como ardillas y ratones (V argas et al., 2007).

Las garrapatas identificadas fueron: Otobius megnini, Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Dermacentor (Anocentor) nitens y Dermacentor hunteri. Actualmente el manejo del venado cola blanca es en ranchos cinerg¶ticos, debido a los ingresos que se perciben con la caza del venado, las pieles y la carne de consumo. Asº los venados en los ranchos, comparten con el ganado, las mismas @eas de alimentaciÆn (pastura), bebida y traslados para obtener mejores ingresos con la caza de este hospedero (Medrano et al., 2012; Cantß-Martinez et al., 2008). Por lo cual, tambi¶n comparten vectores como O. megnini, R. microplus y D. nitens reportados en este estudio que se asocian a agentes infecciosos como Anaplasma spp, Babesia spp y Rikettsia spp. Que pueden ser trasmitidos del venado al ganado y viceversa, ocasionalmente al humano.

En el caso de R. microplus (Wang et al., 2016) menciona que durante los perºodos de tratamiento para el control de esta especie en ganado, el venado de cola blanca participa como refugio de garrapatas y a su vez dispersa las garrapatas hembras con larvas hacia h®bitats favorables para su supervivencia en las etapas de desarrollo fuera del hu¶sped, lo que facilita el recrudecimiento de las infestaciones despu¶s de la terminaciÆn de los perºodos de tratamiento.

Otobius megnini es una especie de garrapata blanda de importancia medica y veterinaria, que infesta una amplia variedad de animales salvajes y domesticados (por ejemplo cabra, ganado, ciervo, cerdo, potro, mula, caballo, burro, perro, gato) y ocasionalmente. Se le asocia: a par®isis, irritaciones, condiciones tÆxicas, alergias, perforaciÆn del tºmpano, espasmos musculares, miotonºa, otitis severa y tambi¶n actßan como vectores de rickettsias causantes de fiebre moteada y fiebre Q (Diyes & Rajakaruna, 2016).

De las especies identificadas del g¶nero Dermacentor, la especie Dermacentor hunteri se ha observado casi exclusivamente en borrego cimarrÆn (Crosbie et al., 1997). A sociado como vector de Anaplasma y otras rikettsias como por lo que esta especie es tambi¶n de importancia econÆmica y veterinaria. D.nitens se considera el principal vector natural de Babesia caballi, uno de los agentes etiolÆgicos de la piroplasmosis equina en las Am¶ricas, adem® ha sido incriminado como vector para la transmisiÆn de Anaplasma marginale (Dias Uzedo- Ribeiroa et al., 2014)

Y a pesar de que las dos especies reportadas en este estudio no se asociaron a Lyme, la especie D. variabilis si se ha asociado a Lyme en perros en el estado de Nuevo LeÆn (Galaviz <sup>-</sup> Silva et al., 2013).

Debido al impacto que causan estos vectores en la salud humana y en animales dom¶sticos, es importante la necesidad de realizar m® estudios que identifiquen a posibles vectores en el paºs, conocer la epidemiologºa de los mismos y poder prevenir riesgos epidemiolÆgicos en la poblaciÆn mexicana.

#### CONCLUSIONES

Las 4 especies de garrapatas identificadas en los 2 distintos hospederos fueron negativas para presencia de la espiroqueta causante de Lyme.

Se identificaron 3 especies de garrapatas asociadas a ganado: Otobius megnini, Rhipicephalus (Boophilus) microplus, Dermacentor (Anocentor) nitens adem®s de Dermacentor hunteri que es la garrapata m®s comßn del borrego cimarrÆn. Todas estas especies, que anteriormente han sido reportadas en la Repßblica Mexicana, est®n asociados a patÆgenos como: Anaplasma spp, Babesia spp y Rikettsia spp, entre otros, por lo que son de importancia econÆmica, veterinaria, e inclusive m¶dica.

#### **PERSPECTIVAS**

- ¿ De acuerdo con los resultados de este estudio se recomienda seguir con estudios de vigilancia epidemiol Agica de la enfermedad de Lyme en la poblaci Afin para conocer el riesgo de esta enfermedad en la poblaci Afin humana.
- ¿ Dado que las garrapatas son trasmisoras de diversas enfermedades existe el riesgo otros patÆgenos (Anaplasma spp, Babesia spp, Rikettsia spp, entre otros) trasmitidos por las mismas asº como de coinfecciones.
- ¿ A sº tambi¶n es posible estudiar como estos patÆgenos interactßan con la microbiota del vector para el establecimiento de los mismos y su trasmisiÆn.
- ¿ Por otra parte, por su papel como reservorios de las garrapatas es posible continuar el muestreo de las garrapatas en fauna silvestre como el venado cola blanca y borrego cimarrÆn

#### BIBLIOGRAFPA

- Altay, K., Dumanli, N., AktaQ M., a zæbek, S., 2014. Survey of Anaplasma Infections in Small Ruminants from East Part of Turkey. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 20, 1-4. doi:10.9775/kvfd.2013.9189
- Amerasinghe, F., Breisch, N., Azad, A., 1992. Distribution, density, and Lyme disease spirochete infection in Ixodes dammini (Acari: Ixodidae) on white-tailed deer in Maryland. J. Med. Entomol. 29(1), 54<sup>-</sup>61.
- Buchalski, M.R., Navarro, A.Y., Boyce, W.M., Vickers, T.W., Tobler, M.W., Nordstrom, L.A., Alanoz, J., Gille, D.A., Cecilia, M., Penedo, T., Ryder, O.A., Ernest, H.B., 2015. Genetic population structure of Peninsular bighorn sheep (Ovis canadensis nelsoni) indicates substantial gene flow across US Mexico border. Biol. Conserv. 184, 218-228. doi:10.1016/j.biocon.2015.01.006
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J. Parasitol. 83, 575<sup>-</sup>583. doi:10.2307/3284227
- Cantß-Martinez, M.., Salinas-Mel¶ndez, J.A., Zarate-Ramos, J.., Ξ valos-Ram<sup>o</sup>rez, R., Mart<sup>o</sup>nez-Mu¿oz, A., Segura-Correa, J.., 2008. Prevalence of antibodies against Babesia bigemina and B. bovis in white-tailed deer (Odocoileus virginianus texanus) in farms of northeastern Mexico. J. Anim. V et. Adv. 7, 121<sup>-</sup>123.
- Chen, D., Wong, H., Belanger, P., Moore, K., Peterson, M., Cunningham, J., 2015.

  A nalyzing the Correlation between Deer Habitat and the Component of the Risk for Lyme Disease in Eastern Ontario, Canada: A GIS-Based Approach. ISPRS Int. J. Geo-Information 4, 105<sup>-</sup>123.
- Coumou, J., Poll, T. van der, Speelman, P., Hovius, J.W.., 2011. Tired of Lyme borreliosis: Lyme borreliosis in the Netherlands. Neth. J. Med. 63, 101<sup>-</sup>108.
- Crosbie, P., Goff, W., Stiller, D., Jessup, D., 1997. The distribution of Dermacentor hunteri and Anaplasma sp. in desert bighorn sheep (Ovis canadensis). J. Parasitol. 31<sup>-</sup>37.

- de la Fuente, J., Atkinson, M.W., Hogg, J.T., Miller, D.S., Naranjo, V., Almaz®n, C., Anderson, N., Kocan, K.M., 2006. Genetic characterization of Anaplasma ovis strains from bighorn sheep in Montana. J. Wildl. Dis. 42, 381<sup>-</sup>385. doi:10.7589/0090-3558-42.2.381
- Dias Uzedo- Ribeiroa, C.C., De Azevedo-Ba¸ taa, B., Rodrigues-De Almeida Valim, J., C°mara-Teixeiraa, R., Barizon-Cepedaa, P., Barbosa-Da Silva, J., Henrique-Da Fonsecaa, A., 2014. Use of plastic tips in artiEcial feeding of Dermacentor (Anocentor) nitens females Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae). Ticks Tick-borne Dis. j 1-5. doi:10.1016/j.talanta.2011.11.033
- Diyes, G.C.P., Rajakaruna, R.S., 2016. Seasonal dynamics of spinose ear tick Otobius megnini associated with horse otoacariasis in Sri Lanka. Acta Trop. 159, 170<sup>-175</sup> 175. doi:10.1016/j.actatropica.2016.03.025
- Escudero-Nieto, R., Guerrero-Espejo, A., 2005. Enfermedades producidas por Borrelia. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 23, 232<sup>-</sup>240.
- Galaviz-Silva, L., P¶rez-Trevi¿o, K.C., Molina-Garza, Z.J., 2013. Distribution of ixodid ticks on dogs in Nuevo LeÆn, Mexico, and their association with Borrelia burgdorferi sensu lato. Exp. Appl. A carol. 61, 491<sup>-</sup>501.
- Garc°a-Mel¶ndez, M., Taylor, C.S., Salas-Alan°s, J., 2014. Enfermedad de Lyme咨 actualizaciones. Gac. Med. Mex. 150, 84<sup>-</sup>95.
- Gaumond, G., Tyropolis, A., Grodzicki, S., Bushmich, S., 2006. Comparison of direct fluorescent antibody staining and real-time polymerase chain reaction for the detection of Borrelia burgdorferi in Ixodes scapularis ticks. J. Vet. Diagnostic Investig. 586, 583<sup>-</sup>586.
- Gordillo-P¶rez, G., Torres, J., SolÆrzano-Santos, F., Gardu¿o-Bautista, V., Tapia-Conyer, R., Mu¿oz, O., Alberdi, M.P., Walker, a R., Urquhart, K. a, Miranda, J., Mattar, S., Perdomo, K., Palencia, L., 2003. Estudio seroepidemiolÆgico de borreliosis de Lyme en la Ciudad de M¶xico y el noreste de la Repßblica Mexicana. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 11, 480<sup>-</sup>489.
- Gordillo-P¶rez, G., Torres, J., Solorzano, F., Cedillo-Rivera, R., Tapia-Conyer, R.,

- Mu¿oz, O., 1999. Serologic evidences suggesting the presence of Borrelia burgdorferi infection in Mexico. Arch. Med. Res. 30, 64<sup>-</sup>68.
- Guzm®n-Cornejo, C., Robbins, R.G., Guglielmone, A.A., Montiel-Parra, G., Rivas, G., P¶rez, T.M., 2016. The Dermacentor (Acari, Ixodida, ixodidae) of Mexico: Hosts, geographical distribution and new records. Zookeys 2016, 1<sup>-</sup>22. doi:10.3897/zookeys.569.7221
- Harwood, R., Maurice, T., 1987. Entomologo m¶dica y veterinaria.
- Herrera Lorenzo, O., Infante-Ferrer, J., Ram<sup>o</sup>rez-Reyes, C., 2011. Enfermedad de Lyme 当Historia, Microbiolog<sup>o</sup>a, Epizootiolog<sup>o</sup>a y Epidemiolog<sup>o</sup>a. Rev. Cubana Hig. Epidemiol. 50, 231<sup>-</sup>244.
- K arami, A., 2012. Molecular Biology of Borrelia burgdorferi 1<sup>-</sup>27.
- Keirans, J.E., Litwak, T.R., 1989. Pictorial key to the adults of hard ticks, family Ixodidae (Ixodida: Ixodoidea), east of the Mississippi River. J. Med. Entomol. 26, 435<sup>-</sup>448.
- Koneman, E., Allen, S., 2008. Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas.
- Krupka, M., Raska, M., Belakova, J., Horynova, M., Novotny, R., Weigl, E., 2007. Biological aspects of Lyme disease spirochetes: unique bacteria of the Borrelia burgdorferi species group. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub. 151, 175<sup>-</sup>186.
- LeÆn-Artozqui, M., 2012. Garrapatas (Ixodidae) IশAnatomºa, biologºa y ecologºa. ConsultDifusV et 185, 25<sup>-</sup>30.
- Li, Z., Beauchamp, G., Mooring, M.S., 2014. Relaxed selection for tick-defense grooming in Pe`re David`s deer? Biol. Conserv. 178, 12<sup>-</sup>18. doi:10.1016/j.biocon.2014.06.026
- M®quez-Jim¶nez, F.J., Hidalgo-Pontiveros, A., Contreras-Chova, F., Jesßs Rodr°guez-Li¶bana, J., Ξ ngel Muniain-Ezcurra, M., 2005. Las garrapatas (A carina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patÆgenos en Espa¿a.

- Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 23, 94<sup>-</sup>102.
- Martinez, A., Salinas, A., Martinez, F., Cantu, A., Miller, D.K., 1999. Serosurvey for selected disease agents in white-tailed deer from Mexico. J. Wildl. Dis. 35, 799-803.
- Medrano, C., Boadella, M., Barrios, H., Cantß, A., Garcºa, Z., de la Fuente, J., Gortazar, C., 2012. Zoonotic pathogens among white-tailed deer, northern Mexico, 2004-2009. Emerg. Infect. Dis. 18, 1372<sup>-</sup>1374.
- Merino, O., Almaz®n, C., Canales, M., Villar, M., Moreno-Cid, J.A., Estrada-Pe¿a, A., Kocan, K.M., de la Fuente, J., 2011. Control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus infestations by the combination of subolesin vaccination and tick autocidal control after subolesin gene knockdown in ticks fed on cattle. Vaccine 29, 2248-2254. doi:10.1016/j.vaccine.2011.01.050
- Miranda, J., Mattar, S., Perdomo, K., Palencia, L., 2009. Seroprevalencia de Borreliosis, o Enfermedad de Lyme, en una PoblaciÆn Rural Expuesta de CÆrdoba, Colombia. Rev. Salud Pßblica 11, 480<sup>-</sup>489.
- Mooring, M.S., Hart, B.L., Fitzpatrick, T.A., Reisig, D.D., Nishihira, T.T., Fraser, I.C., Benjamin, J.E., 2006. Grooming in desert bighorn sheep (Ovis canadensis mexicana) and the ghost of parasites past. Behav. Ecol. 17, 364<sup>-</sup>371. doi:10.1093/beheco/arj039
- Niebuhr, C.N., Breeden, J.B., Lambert, B.D., Eyres, A.I., Haefele, H.J., Kattes, D.H., 2013. Off-host collection methods of the Otobius megnini (Acari: Argasidae). J. Med. Entomol. 50, 994<sup>-</sup>998. doi:10.1603/ME13020
- Paddock, C.D., Y absley, M.J., 2007. Ecological Havoc, the Rise of White-Tailed Deer, and the Emergence of Amblyomma americanum -Associated Zoonoses in the United States 289<sup>-</sup>324.
- Pagano, R., 1999. Estadºstica para las ciencias del comportamiento.
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. Clin. Infect. Dis. 32, 897<sup>-</sup>928.

- P¶rez, T.M., Guzm®n-cornejo, C., Montiel-parra, G., Gerardo, R.P., 2014. Biodiversidad de ®caros en M¶xico Biodiversity of Acari in Mexico. Rev. Mex. Biodivers. 85, 399<sup>-</sup>407.
- Portillo, A., Santiba¿ez, S., Oteo, J.A., 2014. Enfermedad de Lyme. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 32, 37<sup>-</sup>42.
- Renneker, S., Abdo, J., Salih, D.E.A., Karagen´, T., Bilgi´, H., Torina, A., Oliva, A.G., Campos, J., Kullmann, B., Ahmed, J., Seitzer, U., 2013. Can Anaplasma ovis in Small Ruminants be Neglected any Longer? Transbound. Emerg. Dis. 60, 105<sup>-112</sup>. doi:10.1111/tbed.12149
- Rodr<sup>o</sup>guez- Gonz<sup>®</sup>ez, I., 2013. A ctualizaciÆn acerca de Borrelia burgdorferi sensu lato y enfermedad de Lyme Update on Borrelia burgdorferi sensu lato and Lyme disease. Rev. Cubana Med. Trop. 65, 149<sup>-</sup>165.
- Shaw, M.T., Keesing, F., McGrail, R., Ostfeld, R.S., 2003. Factors influencing the distribution of larval blacklegged ticks on rodent hosts. Am. J. Trop. Med. Hyg. 68, 447<sup>-</sup>452.
- Shih, C.-M., Chao, L.-L., 2002. An OspA-based genospecies identification of Lyme disease spirochetes (Borrelia burgdorferi) isolated in Taiwan. Am. J. Trop. Med. Hyg. 66, 611<sup>-5</sup>.
- Skinner, T.C.M., Flores-Gonzalez, M.S., Esquivel- Valerio, J.A., Salinas-Mel¶ndez, J.A., Salinas- Palacios, C.K., Rodroguez-Amado, J., Garza-Elizondo, M.A., 2007. Evidencia de la enfermedad de Lyme en una poblaciÆn de alto riesgo del noreste de M¶xico. Med. Universiitaria 9, 105-111.
- Steere, A.C., 2006. Lyme borreliosis in 2005, 30 years after initial observations in Lyme Connecticut. Wien. Klin. Wochenschr. 118, 625<sup>-</sup>633.
- Tilly, K., Rosa, P., Stewart, P., 2009. Biology of infection with Borrelia burgdorferi. Infect. Dis. Clin. North Am. 22, 1<sup>-</sup>17.
- Vargas, M., Gordillo-P¶rez, G., SolÆzano, F., 2007. Evidencias de Borrelia burgdorferi Sensu stricto en garrapatas del Noreste de M¶xico. Entomol. Mex. 6, 830<sup>-</sup>835.

- Walker, A.R., Bouattor, A., Camicas, J., Estrada-Pena, Horak, I.G., Latiff, A.A., Pegram, R.G., Preston, P.M., 2014. Ticks of domestic animals in Africa, a guide to identification of species.
- Wang, H., Teel, P., Grant, W., Schuster, G., 2016. Simulated interactions of white-tailed deer (Odocoileus virginianus), climate variation and habitat heterogeneity on southern cattle tick (Rhipicephalus (Boophilus). Ecological.
- Wolgemuth, C.W., Charon, N.W., Goldstein, S.F., Goldstein, R.E., 2006. The Flagellar Cytoskeleton of the. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 3505, 221<sup>-</sup>227. doi:10.1159/000094056

### P@ginas web:

Thermofisher Sientific: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/10503.pdf
OrganizaciÆn de Vida Silvestre:http://ovis.org.mx/programas/
Directorio cartogr®ico: http://www.dices.net/mapas/mexico/
Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal: http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/

#### RESUMEN BIOGREFICO

## Mariana Cuesy LeAn

# Candidato para el grado de Maestrºa en Ciencias con orientaciÆn en Microbiologºa

Tesis: Prevalencia de Borrelia burgdorferi en garrapatas de venado cola blanca (Odocoileus virginianus) y borrego cimarrÆn (Ovis canadensis) de localidades del norte de la Repßblica Mexicana

Campo de estudio: Epidemiologºa de las parasitosis

EducaciÆn: Egresada de la Facultad de Ciencias BiolÆgicas, obteniendo el grado de Quºmico BacteriÆtogo ParasitÆtogo en 2005

Experiencia Profesional: Quºmico A nalista Clºnico del 2006 al 2015