

Artículo Original

Identificación de *Rickettsia* spp. en garrapatas *Amblyomma cajennense* parasitando bovinos en ranchos del estado de Yucatán

Gaspar Peniche-Lara¹, Karla Dzul-Rosado², Bertha Jiménez-Delgadillo¹, Ignacio Vado-Solis¹, Carlos Pérez-Osorio¹, Jorge Zavala-Castro².

¹Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán.

²Centro de Investigaciones Regionales "Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán.

RESUMEN

Las bacterias del género *Rickettsia* son responsables de un gran número de cuadros febriles agudos en la población yucateca. Usualmente los casos están relacionados a personas que tienen contacto directo con animales domésticos como perros y/o gatos, sin embargo la práctica de la ganadería es también un posible factor de riesgo de adquisición de rickettsiosis. En el estudio se colectaron especies de garrapatas parasitando bovinos en ranchos de municipios de Yucatán. La identificación se realizó por medio de la técnica de tinción de bacterias llamada tinción de Giménez. Se identificaron dos especies de garrapatas parasitando los bovinos: *Amblyomma cajennense* y *Rhipicephalus boophilus*. Se identificó la presencia de *Rickettsia* en ambas especies de garrapatas. La identificación de bacterias del género *Rickettsia* en estas especies de garrapatas sugiere que los trabajadores de esta práctica ganadera pueden estar en riesgo de adquirir una infección por *Rickettsia*.

Palabras clave: *Rickettsia*, fiebre manchada de las Montañas Rocallosas, garrapatas, ganado.

ABSTRACT

Bacteria belonging *Rickettsia* genus are responsible for a large number of acute febrile illness in the Yucatan population. Usually the cases involve people who have direct contact with domestic animals like dogs and / or cats; however the practice of farming is also a possible risk factor for acquisition of rickettsiosis. In the study, ticks species parasitizing cattle ranches municipalities of Yucatan were collected. Identification was performed by a *Rickettsia* spp staining technique: Gimenez staining. Two species of ticks parasitizing cattle were identified: *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus boophilus*. Presence of *Rickettsia* spp. in both tick species were identified. Identification of *Rickettsia* in these tick species suggests that workers in this husbandry practice may be at risk of acquiring infection with *Rickettsia*.

Keywords: *Rickettsia*, Rocky Mountain spotted fever, ticks, cattle.

Autor de correspondencia: Gaspar Peniche-Lara, Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Itzáes 498 Centro, CP 97000 Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: gaspeniche@gmail.com

Fecha de recepción: 23 de enero de 2014. Fecha de aceptación: 2 de abril de 2014

INTRODUCCIÓN.

Las bacterias del género *Rickettsia* son organismos intracelulares obligados con formas polimórficas cuya presencia en humanos causan una infección conocida de manera general como Rickettsiosis, dependiendo de la especie de *Rickettsia* que causa la infección, la rickettsiosis tendrá una denominación específica, por ejemplo: la rickettsiosis causada por *Rickettsia typhi* es conocida como tifo murino y la rickettsiosis causada por *Rickettsia rickettsii* es conocida como fiebre manchada de las montañas rocallosas (1). La distribución geográfica de *Rickettsia* es considerada mundial y en México, la rickettsiosis es una enfermedad presente desde la época prehispánica considerada erradicada en 1960 cuya re-emergencia se dio a inicios del siglo XXI con presencia limitada al sureste de México y hoy día se han reportado diversos casos en el centro (Jalisco, Ciudad de México) y norte (Baja California) de México (2).

Las garrapatas y las pulgas son los vectores rickettsiales y la especie varía dependiendo de la especie rickettsial. En México, se ha reportado que la pulga *Ctenocephalides felis* es el vector de *Rickettsia felis* en el estado de Yucatán (3) y a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* vector de *Rickettsia rickettsii* en Mexicali (2) así como *Rickettsia rickettsii* en *Amblyomma imitator* en Nuevo León (4). Los reservorios rickettsiales comunes son los tlacuaches, roedores y perros, animales presentes en Yucatán tanto en zonas silvestres, urbanas y suburbanas, representando su presencia y convivencia un riesgo de infección en humanos (5).

En Yucatán se ha reportado 4 distintas rickettsiosis en humanos: *Rickettsia felis*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi* y *Rickettsia akari* (6-9), teniendo conocimiento de solamente al vector de *Rickettsia felis*: la pulga *Ctenocephalides felis* (3), la cual, se identificó su presencia en viviendas de distintos municipios de Yucatán considerando a los patios de viviendas así como los animales presentes en estas mismas viviendas, factores que favorecen

la infección por *Rickettsia*. Sin embargo, las prácticas de agricultura y ganadería son actividades muy comunes en la región, siendo estas, factores que contribuyen a la convivencia de vectores (pulgas y garrapatas) de bacterias del género *Rickettsia* con el ser humano. El objetivo del trabajo fue identificar la presencia de bacterias del género *Rickettsia* en especies de garrapata obtenidas de ganado bovino de ranchos en distintos municipios de Yucatán.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Área de estudio. En el período de Enero a Marzo de 2012 se visitaron 12 ranchos de distintos municipios de Yucatán: Tekantó (21°01'00"N, 89°06'00"W) Progreso (20°07'00"N, 88°51'00"W) Mérida (20°58'00"N, 89°37'00"W) y Tizimín (21°09'00"N, 88°09'00"W).

Recolección de muestras. Las distintas especies de garrapata fueron removidas de los bovinos utilizando pinzas de disección procurando obtener al ectoparásito lo más completo posible. Los ectoparásitos removidos por cada bovino fueron almacenados en bolsas de plástico con perforaciones para mantener vivas las muestras y transportarlas inmediatamente al laboratorio para su clasificación taxonómica y su posterior análisis.

Clasificación taxonómica de los ectoparásitos. Las garrapatas obtenidas fueron clasificadas utilizando claves de identificación de garrapatas actualizadas (10).

Tinción de Gimenez para la identificación de *Rickettsia* spp.

Se analizaron las garrapatas individualmente siguiendo el protocolo estandarizado de identificación de bacterias del género *Rickettsia* diseñado por Giménez en 1964 (11). Previo a la realización de la técnica, se prepararon los reactivos a utilizar: Solución Stock (100 ml de fushina básica al 10% en etanol al 95%; 250 ml de fenol acuoso al 4% y 650 ml de agua destilada), solución tampón de trabajo (35 ml de NaH₂PO₄ al 0.2M; 155 ml de Na₂HPO₄ al 0.2M y 190 ml de agua destilada, ajustando el pH a 7.45), solución de trabajo (4 ml de solución

stock y 10 ml de solución tampón de trabajo que posteriormente se filtraran al menos dos veces en papel filtro siendo esta solución estable por un tiempo máximo de 24 horas) y solución de verde malaquita al 0.8% (0.8 g de oxalato verde de malaquita en 100 ml de agua destilada).

Se diseccionaron dos patas de cada garrapata para la obtención de linfa, la cual fue colocada en un portaobjetos dejando que esta seque durante al menos 10 minutos para después agregar 2 gotas de solución de trabajo y dejando reposar durante 2 minutos para posteriormente lavar el porta objetos por inmersión en un contenedor con agua destilada. Al término de este lavado se agregaron 3 a 5 gotas de solución de verde malaquita permitiendo dejando reposar por un máximo de no más de 9 segundos. Inmediatamente después se lavo cuidadosamente el portaobjetos por inmersión en un contenedor con agua destilada y dejando que el portaobjetos se seque a temperatura ambiente. Una vez que se encuentren completamente secos los portaobjetos estos se encontraron listos para ser visualizados en un microscopio a un objetivo de 100x utilizando aceite de inmersión. La *Rickettsia* se identificó por el color rojo adquirido por esta técnica.

RESULTADOS.

Obtención de ectoparásitos

Se colectaron 150 garrapatas de las cuales: 50 fueron obtenidas bovinos de ranchos de Tizimín (2 ranchos y 28 bovinos inspeccionados, 100 obtenidas de ranchos de Tekantó (2 ranchos y 33 bovinos inspeccionados) y 50 obtenidas de bovinos de un rancho de Progreso. No se encontraron garrapatas o ectoparásitos en 1 rancho visitado en el municipio de Mérida.

Clasificación taxonómica de los ectoparásitos.

De las 150 garrapatas colectadas, 92 pertenecieron a la especie *Rhipicephalus microplus* y 58 pertenecieron a la especie *Amblyomma cajennense* estas especies se encontraron presentes en todos los ranchos

visitados encontrándose en la mayoría de los casos co-existencia de estas especies de garrapatas en un mismo bovino.

Identificación de *Rickettsia* spp.

Por medio de la técnica de tinción de Giménez se identificó la presencia de bacterias del género *Rickettsia* en 20 garrapatas, todas de la especie *Amblyomma cajennense* (Figura 1), todas obtenidas de ranchos de Tizimín.

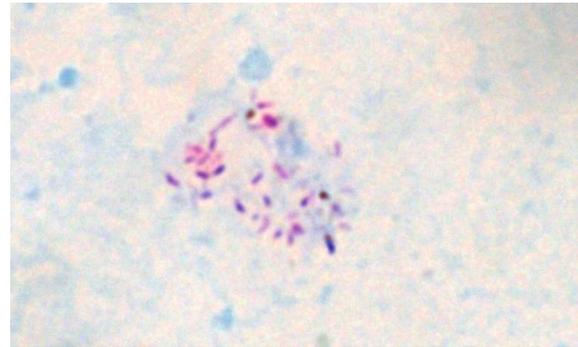


Figura 1. Bacterias del género *Rickettsia* observadas al microscopio en el estudio por medio de la técnica de tinción de Giménez. La *Rickettsia* se puede identificar por su color rojo.

DISCUSIÓN.

En Yucatán, los cuadros febriles agudos causados por rickettsiosis cada vez son más comunes siendo la presencia y/o convivencia de roedores, tlacuaches o animales domésticos con ectoparásitos en la vivienda del paciente, un referente obligado en la entrevista con el paciente como indicador de una posible infección por esta bacteria aunado a los signos y síntomas característicos de la enfermedad como lo es la presencia de exantemas y fiebres de 39 °C de temperatura (12). El presente estudio identificó la presencia de *Rickettsia* spp. en garrapatas del género *Amblyomma cajennense*, especie de garrapata que se ha reportado y demostrado en distintas partes del Continente Americano como lo son Brasil, Argentina e inclusive el norte de México (4, 13, 14), ser el vector de *Rickettsia rickettsii*, misma especie de *Rickettsia* que podría ser la identificada en el estudio.

La fiebre manchada de las Montañas Rocallosas

es causada por *Rickettsia rickettsii*. Esta enfermedad presenta signos y síntomas comunes de un cuadro febril agudo como lo son el malestar general, la fiebre, la cefalea y las mialgias. Durante los días siguientes las manifestaciones reflejan la afección sistémica: anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, fotofobia y tos así como la presentación de exantema generalmente a partir del cuarto día de evolución. Las características clínicas de esta enfermedad fácilmente pueden ser confundidas con un cuadro por fiebre de dengue en el cual, si no es tratada adecuadamente esta rickettsiosis a partir de la segunda semana de evolución de la enfermedad puede fallecer el paciente. El tratamiento contra esta rickettsiosis son dosis controladas de doxiciclina mediante la cual posterior a 72 horas de haber iniciado el tratamiento el paciente inicia a presentar mejoría.

La utilización de una técnica de tinción como herramienta para identificación de bacterias del género *Rickettsia* posee la ventaja de ser una técnica de bajo costo, fácil implementación y permitiría, en estudios epidemiológicos de garrapatas, mediante su aplicación previo al análisis molecular, una herramienta de identificación de muestras positivas a *Rickettsia* traduciéndose en un ahorro en gastos de reactivos para realizar técnicas de diagnóstico molecular como lo es la reacción en cadena de la polimerasa. Sin embargo, esta técnica tiene como inconveniente que requiere de tiempo para identificar las muestras así como del análisis individual de cada muestra así como de un número considerable de personal que se encuentre realizando la técnica simultáneamente así como de requerir analizar las muestras cuando estas se encuentren vivas aún.

La identificación reportada, representa también un posible riesgo para toda persona que tiene contacto directo con los bovinos, ya que *Amblyomma cajennense* es considerada una especie de garrapata agresiva cuyo posible fuente de alimentación puede ser el ser humano por lo que el control de garrapatas en este tipo

de práctica de campo no solo tiene importancia en el cuidado de los bovinos sino también en el personal que labora con estos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perlman SJ, Hunter MS, Zchori-Fein E. The emerging diversity of *Rickettsia*. Proc Biol Sci. 2006;273(1598):2097-106.
2. Eremeeva ME, Zambrano ML, Anaya L, Beati L, Karpathy SE, Santos-Silva MM, et al. *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus ticks*, Mexicali, Mexico. J Med Entomol. 2011;48(2):418-21.
3. Zavala-Velázquez JE, Zavala-Castro JE, Vado-Solís I, Ruiz-Sosa JA, Moron CG, Bouyer DH, et al. Identification of *Ctenocephalides felis* fleas as a host of *Rickettsia felis*, the agent of a spotted fever rickettsiosis in Yucatán, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis. 2002;2(2):69-75.
4. Medina-Sanchez A, Bouyer DH, Alcantara-Rodriguez V, Mafra C, Zavala-Castro J, Whitworth T, et al. Detection of a typhus group *Rickettsia* in *Amblyomma* ticks in the state of Nuevo Leon, Mexico. Ann N Y Acad Sci. 2005;1063:327-32.
5. Azad AF, Beard CB. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. Emerg Infect Dis. 1998;4(2):179-86.
6. Zavala-Velázquez JE, Ruiz-Sosa JA, Sanchez-Elias RA, Becerra-Carmona G, Walker DH. *Rickettsia felis* rickettsiosis in Yucatan. Lancet. 356. England2000. p. 1079-80.
7. Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Ruiz Arcila EE, Laviada-Molina H, Olano JP, et al. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico. Emerg Infect Dis. 2006;12(4):672-4.
8. Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Sulú Uicab JE. Murine typhus in child, Yucatan, Mexico. Emerg Infect Dis. 2009;15(6):972-4.
9. Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Peniche-Lara GF, Sulú Uicab JE. Human rickettsial pox, southeastern Mexico. Emerg Infect Dis. 2009;15(10):1665-7.
10. Faccioli V. Garrapatas (Acari: *Ixodidae* y *Argasidae*) del la colección de invertebrados del Museo Provincial de Ciencias Naturales

"Florentino Ameghino". In: Ameghino MPdCNF, editor. Argentina2011. p. 38.

11. Gimenez DF. Staining Rickettsiae in Yolk-Sac Cultures. *Stain Technol.* 1964;39:135-40.

12. Bernabeu-Wittel M, Segura-Porta F. [Rickettsioses]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23(3):163-72.

13. Angerami RN, Camara M, Pacola MR,

Rezende RC, Duarte RM, Nascimento EM, et al. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3(5-6):346-8.

14. Paddock CD, Fernandez S, Echenique GA, Sumner JW, Reeves WK, Zaki SR, et al. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 78. United States2008. p. 687-92.