

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



PREVALENCIA DE *Anaplasma marginale* y *Borrelia burgdorferi* EN
GARRAPATAS Y EN SUS HOSPEDEROS BOVINOS EN EL ESTADO DE
NUEVO LEÓN

Por

MVZ. JOSÉ ÁNGEL ORTIZ RAMÍREZ

Como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTORADO EN CIENCIAS

Con acentuación en

ENTOMOLOGÍA MÉDICA

2024

PREVALENCIA DE *Anaplasma marginale* y *Borrelia burgdorferi* EN
GARRAPATAS Y EN SUS HOSPEDEROS BOVINOS EN EL ESTADO DE
NUEVO LEÓN

Comité de tesis



Dr. Ildefonso Fernández Salas

Presidente



Dr. Eduardo A. Rebollar Téllez

Secretario



Dra. Violeta A. Rodríguez Castro

Vocal



Dr. Pedro Cesar Cantú Martínez

Vocal



Dra. Beatriz López Monroy

Vocal

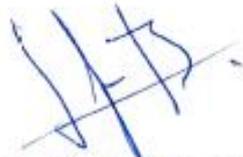


SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

Dra. Katiushka Arévalo Niño
Subdirectora de Posgrado

PREVALENCIA DE *Anaplasma marginale* y *Borrelia burgdorferi* EN
GARRAPATAS Y EN SUS HOSPEDEROS BOVINOS EN EL ESTADO DE
NUEVO LEÓN

Dirección de Tesis



Dr. Ildefonso Fernández Salas

Director



Dr. Gustavo Moreno Degollado

Director externo



Dra. Rosa María Sánchez Casas

Asesor externo

DERECHOS REVERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCION TOTAL O PARCIAL

Todo material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás contenido que sea objeto de protección de derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

A Posgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León quien brindo la preparación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización del estudio de Doctorado en Ciencias con acentuación en Entomología Médica (Becario 593195).

Dr. Sergio D. Rodríguez Coordinador Unidad de Anaplasmosis CENID-PARAVET, INIFAP. PhD. María D. Esteve Gassent del Departamento de Patología Veterinaria de la Universidad de Texas A&M, quienes proporcionaron los controles positivos para el diagnóstico.

Al Centro Nacional de Servicios de Constatación de Salud Animal por la oportunidad de realizar una estancia profesional en sus instalaciones.

Centro de Investigación en Producción Agropecuaria, UANL. Por las facilidades para realizar el muestro.

Al Laboratorio de Microbiología, Laboratorio de Genética y la Unidad de Producción y en general a la Facultad de Veterinaria, UANL. Por las facilitar y proporcionar el uso de sus instalaciones, el diagnóstico molecular y así como el financiamiento del proyecto.

Laboratorio de Artrópodos y al Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Por facilitar el uso de las instalaciones, además de los equipos para hacer el diagnostico serológico.

Los Ganaderos quienes amablemente nos permitieron trabajar con su ganado para esta investigación.

DEDICATORIA

Para ti:

Todo pasa, lo malo pasa, lo bueno pasa. Todo pasa.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA	V
ÍNDICE	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS.....	X
RESUMEN ESPAÑOL E INGLÉS	XI
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES.....	3
Bovinos.....	3
El ganado bovino en México	3
Garrapatas (vectores)	5
Ciclo biológico	5
Anaplasmosis	7
Borreliosis	7
Justificación.....	8
Hipótesis	9
Objetivo General.....	10
Objetivos específicos	10
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
Lugar de estudio.....	11
Tamaño de muestra.....	12
Toma de muestra	12
Colecta de Garrapatas.....	12
Muestras Sanguíneas	12
Diseño Experimental.....	13
Cuantificación de ADN	13
Diagnóstico <i>Anaplasma marginale</i>	14
Diagnóstico de <i>Borrelia burgdorferi</i>	14
RESULTADOS	16
Garrapatas Evaluadas	16
Garrapatas.....	17

Prevalencia.....	20
Abundancia	21
Anaplasma marginale	21
Garrapatas.....	22
Bovinos.....	24
<i>Borrelia burgdorferi</i>	26
Garrapatas (PCR).....	26
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
PERSPECTIVA.....	33
BIBLIOGRAFÍA	34
RESUMEN BIOGRÁFICO	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Población de ganado bovinos carne y leche en México 2021. SIAP 2023	4
Tabla 2. Condiciones de amplificación para PCR de <i>Anaplasma marginale</i>	14
Tabla 3. Condiciones de amplificación para PCR de <i>Borrelia burgdorferi</i>	15
Tabla 4. Especies de garrapatas evaluadas por localidad.	16
Tabla 5. Proporción de hembras y machos por localidad.....	17
Tabla 6. Prevalencia de garrapatas en bovinos (Bush et al 1997). *= Ninfa, -- = Ausencia, (%) = Porcentaje del total.....	20
Tabla 7. Abundancia de garrapatas colectadas (Bush et al 1997). *= Ninfa, -- = Ausencia, (%) = Porcentaje del total.....	21
Tabla 8. Resultados de <i>A. marginale</i> en garrapatas.....	22
Tabla 9. Especies de garrapatas positivas a <i>A. marginale</i> por localidad.....	23
Tabla 10. Bovinos positivos a <i>A. marginale</i> por localidad.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa que muestran las localidades muestreadas: 05. Anáhuac, 22. General Terán, 33. Linares, 38. Montemorelos, 11. Cerralvo, 20. General Bravo y 42. Ramones.....	11
Figura 2. Diagrama de la metodología.....	13
Figura 3. Kit comercial para diagnóstico de <i>Borrelia burgdorferi</i>	15
Figura 4. <i>Rhipicephalus microplus</i> . A) Macho Adulto. B) Hembra Adulta alimentada. C) Comparación entre hembra y macho.....	18
Figura 5. <i>Dermacentor variabilis</i> . D) Base del gnatosoma. E) Vista dorsal.....	18
Figura 6. Genero <i>Amblyoma</i> colectadas. <i>Amblyomma mixtum (cajennese)</i> : F) Macho adulto. G) Hembra adulta repleta. H) Comparación entre hembra semirrepleta y macho adulto. <i>Amblyomma tenellum</i> : I) Hembra adulta, vista frontal. J) Hembra adulta repleta. K) Ausencia de mamelones. <i>Amblyomma inornatum</i> : L) Hembra adulta, vista frontal. M) Hembra adulta.	19
Figura 7. Gráfica porcentaje de garrapatas colectadas por localidad.....	19
Figura 8. Muestras de garrapatas evaluadas para <i>A. marginale</i> . MP: Marcador de Peso Molecular, C+: Control Positivo, C-: Control Negativo. (5, 8 y 10) Muestras positivas	22
Figura 9. Porcentaje de prevalencia de <i>A. marginale</i> por localidad.....	23
Figura 10. Prevalencia de <i>A. marginale</i> en bovinos por localidad.....	25
Figura 11. Muestras de bovinos evaluadas para <i>A. marginale</i> . MP: Marcador de Peso Molecular, C+: Control Positivo, C-: Control Negativo. Muestras negativas de 1 al 15.....	26
Figura 12. Muestra positiva (CONTROL) a <i>B. burgdorferi</i>	27
Figura 13. Muestra negativa a <i>B. burgdorferi</i>	27

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Bbs1: Gen de la flagelina de *B. burgdorferi sensu lato*
EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA: Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (siglas en ingles)
EMBL: Laboratorio de Biología Molecular Europeo (siglas en ingles)
ENA: Encuesta Nacional Agropecuaria
F: Forward
FITC: Isocianato de Fluoresceína
IFI: Inmunofluorescencia Indirecta
Msp1 β : Gen de la proteína de superficie de *A. marginale*
n: Tamaño de muestra
nm: Nanómetro
°C: Grados Centígrados
p: Probabilidad de encontrar un caso positivo
PB: Pares de Bases
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa
q: Probabilidad de encontrar un caso negativo
R: Reverse
SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
TIF: Tipo Inspección Federal
UANL: Universidad Autónoma de Nuevo León
 χ^2 : Chi cuadrada

RESUMEN ESPAÑOL E INGLÉS

Resumen.

En este estudio se trabajó con 404 bovinos y de los cuales se colectaron 2,880 garrapatas, de ellas 2,786 de la especie *Rhipicephalus microplus*, 93 *Amblyomma* spp. y 1 *Dermacentor variabilis*. *Rhipicephalus microplus* representó el mayor número de especímenes con 96.7% dentro de los siete sitios de estudio. Para la evaluación de las muestras de garrapatas y muestras sanguíneas de bovinos utilizamos el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa punto final (PCR por sus siglas en inglés), a partir de estas pruebas se encontró un 10.18% de presencia de *Anaplasma marginale* en las garrapatas; en cuanto a las muestras de sangre se obtuvo un 64.26% (214 de 337 muestras). Cerralvo tuvo la tasa de infección más alta con un 92.45% seguida de Montemorelos con 81.82%, las localidades con tasa más baja resultaron Anáhuac y Los Ramones. Además, hubo una relación significativa χ^2 (N = 404) = 23.71, p = 0.000) entre las localidades (Linares, General Terán, General Bravo, Cerralvo y Montemorelos) y la tasa de infección de *A. marginale* en *Rhipicephalus microplus*. No se encontró la presencia de *B. burgdorferi* en las muestras de garrapatas ni en las de sangre de bovino.

Abstract.

This study took samples from 404 bovines, obtaining 2,880 ticks, *Rhipicephalus microplus* (2,391 females and 395 males), *Amblyomma* spp. (51 females and 42 males) and *Dermacentor variabilis* (1 female). *Rhipicephalus microplus* represented the largest number of specimens captured with 96.7% within the seven study sites. A 10.18% presence of *Anaplasma marginale* was found in the ticks. Regarding the blood samples, 214 of 337 pools (64.26%) were obtained. Cerralvo had the highest infection rate 92.45% followed by Montemorelos 81.82%, the towns with the lowest rate were Anahuac and Los Ramones. Also, there was a significant χ^2 ($N = 404$) = 23.71, $p = 0.000$ relationship between localities (Linares, General Teran, General Bravo, Cerralvo and Montemorelos) and infection rate of *Anaplasma marginale* in *Rhipicephalus microplus*. *Borrelia burgdorferi* was not found in the ticks or blood samples.

INTRODUCCIÓN

En México existen cerca de 36 millones de cabezas bovinas para la producción de leche y carne (SIAP 2023). Tal cantidad de animales requiere de cuidados específicos para evitar la exposición a diferentes enfermedades asociadas a ectoparásitos, el 74.8% de las unidades de producción bovina en nuestro país utilizan desparasitación interna y el 64.6% baños contra parásitos de la piel (ENA 2019). A pesar de estos métodos, el riesgo de exposición a distintas enfermedades transmitidas por garrapatas como Anaplasmosis y Borreliosis está presente, debido a que México es una zona endémica y se han reportado diversos casos (Rodríguez et al 2009; Colunga et al 2020).

La Anaplasmosis bovina es una enfermedad causada por *Anaplasma marginale*, esta bacteria gram negativa parasita los glóbulos rojos ocasionando diferentes síntomas como: fiebre, anemia hemolítica, abortos, pérdida de peso y disminución de la producción de leche; lo que tiene un gran impacto en la rentabilidad de las unidades de producción (Atif 2015; Kocan et al 2010). Esta bacteria está asociada a las garrapatas *Rhipicephalus* ya que es su principal forma de transmisión, aunque también puede darse de forma mecánica por la presencia de moscas, agujas o equipo contaminado o vía vertical (Atif 2015).

En el caso de la Borreliosis de Lyme, es ocasionada por una espiroqueta microaerófila gram negativa (Johnson et al 1984). Tiene la capacidad de afectar diversos animales domésticos, fauna silvestre y a los humanos. Las manifestaciones clínicas en el ganado bovino son: inflamación de las articulaciones, rigidez, fiebre, laminitis, y al igual que Anaplasmosis, abortos, pérdida de peso y disminución de producción de leche (Parker y White 1992). Esta enfermedad es transmitida por garrapatas el género *Ixodes* principalmente, sin embargo, *Dermacentor variabilis* y *Amblyomma americanum* se han relacionado también a la diseminación de esta bacteria (Colunga et al 2020).

Anaplasmosis bovina está distribuida en todo México, su prevalencia varía del 11 al 70% dependiendo de la región (Rodríguez et al 2009; Ferreira et al 2022), con reportes en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el Estado vecino Tamaulipas

(Almazán et al 2008). En comparación la información sobre *Borrelia burgdorferi* en bovinos es escasa, existen un reporte en México de garrapatas *Amblyomma mixtum* positivas a *Borrelia burgdorferi sensu stricto* obtenidas directo de los bovinos (Gordillo et al 2009).

Son necesarios estudios dirigidos a la vigilancia de las garrapatas y a la presencia de enfermedades que puedan presentar un riesgo para la salud y que pudieran comprometer la producción de alimento. Por lo que este estudio tiene como objetivo la determinar la presencia de las bacterias en diferentes localidades del estado de Nuevo León, utilizando métodos serológicos y moleculares, a partir de muestras de garrapatas y muestras sanguíneas de los bovinos.

ANTECEDENTES

Bovinos

La importancia del ganado bovino y su relación con el desarrollo humano, desde su domesticación hace aproximadamente 10,000 años. Estos animales ya domesticados se convirtieron en una fuente de alimento (carne y leche), esto dio una ventaja de adaptación a los humanos que pasaban de comportamiento nómada a uno sedentario (Vigne 2011), además que se podía aprovechar su piel y huesos para realizar herramientas u otros artículos. Las primeras razas de bovinos que se tiene registro fueran desarrolladas en Europa y Asia, fue la capacidad de adaptación de los grandes rumiantes, así como, la tecnificación de la ganadería bovina hizo de esta actividad importante para la producción de alimento y con su éxito fueron llevadas hacia los diferentes en el mundo (Park et al 2015).

El ganado bovino en México

En México se estima que existen poco más de un millón de unidades de producción dedicadas al aprovechamiento y/o producción bovina (ENA 2019). Con una población cercana a los 36 millones de bovinos a nivel nacional. Destacando Veracruz como principal productor de bovinos tanto de carne como para leche, seguido de Jalisco y Chiapas (Tabla 1).

En la zona norte son los estados de Chihuahua, Durango y Sonora quienes aparecen entre los primeros 10 lugares, mientras que, Nuevo León se encuentra en el lugar 22 aportando cerca de 600 mil cabezas de ganado (SIAP 2023).

Tabla 1. Población de ganado bovinos carne y leche en México 2021. SIAP 2023

Estado	Lugar	Población
1	Veracruz	4,549,067
2	Jalisco	3,430,721
3	Chiapas	2,627,827
4	Chihuahua	2,541,241
5	Michoacán	2,045,972
6	Oaxaca	1,835,040
7	Tabasco	1,699,099
8	Durango	1,622,467
9	Sonora	1,648, 703
10	Sinaloa	1,640, 396
22	Nuevo León	586,979
	Resto	11,731, 373
	Total	35,998,885

Es tan importante la ganadería en Nuevo León que el 86% (5, 535, 938 de hectáreas) del territorio es destinado para esta actividad. Siendo la zona Norte y Centro con mayor presencia de producción en bovinos (Agro NL 2022).

Además, el estado es el primer lugar en ganado de registro ya que se encuentran cinco Asociaciones Ganaderas de este tipo (Beefmaster, Brangus Rojo, Charolais, Razas italianas y Simmental-Simbrah) con un total de 276 socios y 15,283 bovinos de raza pura; Cuenta con 10 rastros Tipo Inspección Federal (TIF) ubicándolo en el segundo lugar a

nivel nacional; Es el sexto lugar en exportaciones hacia Estados Unidos de América de ganado en pie (27,172 cabezas) (Agro NL 2022). También cuenta con un Centro de Investigación especializado en Producción Agropecuaria reconocido a nivel internacional por el desarrollo en la genética de los bovinos productores de carne (Centro de Investigación en Producción Agropecuaria, UANL) con lo que destaca la importancia del ganado bovino en nuestro estado.

Garrapatas (vectores)

Uno de los principales problemas para la ganadería es la presencia de ectoparásitos, particularmente las garrapatas. Estos artrópodos son hematófagos obligados, alimentándose de sangre de los vertebrados, especialmente mamíferos y aves.

El efecto de las garrapatas sobre sus hospederos pueden presentarse de dos maneras, directo e indirecto. El directo está relacionado con las lesiones que causa sobre la piel aumentando el riesgo de algún patógeno oportunista, la pérdida de sangre en infestaciones masivas ocasionando anemias, por consecuencia una reducción en la productividad de los animales, finalmente la sensibilidad de algunos animales a las sustancias que excreta la garrapata durante su alimentación (saliva) teniendo un efecto de toxicidad y/o parálisis en ellos (Espí 2011).

Mientras que el efecto indirecto es la capacidad vectorial que tienen estos parásitos. Espí en el 2011 declara que: “Las garrapatas ocupan el segundo lugar en importancia, siendo superadas solo por los mosquitos. No obstante, las garrapatas transmiten una mayor variedad de agentes (virus, bacterias, hongos, etc.) que los mosquitos.”

Ciclo biológico

Las garrapatas tienen un ciclo hemimetábolo, se consideran de metamorfosis incompleta (Encinas 2000). El desarrollo del ectoparásito pasa por diferentes fases: huevo, larva, ninfa y adulto. En cada fase requiere alimentarse para poder mudar (Anderson y Magnarelli 2008).

Una vez que la hembra adulta está repleta de sangre y grávida baja de su hospedero buscando un sitio ideal para ovipositar sus huevos, de donde después eclosionaran las larvas (Waladde et al 1996). Ya eclosionadas las larvas buscaran mediante sus receptores organolépticos capaces de percibir dióxido de carbono, humedad, luz y calor un hospedero para alimentarse, esta búsqueda puede ser pasiva (esperando en la parte alta de la vegetación) o activa (Cortinas 2007).

A partir de alimentación de la fase de larva, el ciclo biológico de las garrapatas presenta variaciones según la especie. Existen garrapatas de un solo hospedero, lo que significa que una vez que encuentren su hospedero las larvas permanecerán en él hasta su fase adulta y solo se desprenderán en el caso de las hembras para ovipositar en el suelo. Un ejemplo de las garrapatas de un solo hospedero se encuentra *Rhipicephalus microplus* o también llamada garrapata del ganado (Gallardo y Morales 1999).

Las garrapatas de dos hospederos la muda de larva a ninfa se hace sobre el mismo hospedero, la ninfa ya alimentada realiza su mudanza en el suelo y ya como adulta busca su segunda fuente de alimento para poder producir los huevos de la siguiente generación. Algunas garrapatas en Asia y África presentan este ciclo de vida, por ejemplo, *Rhipicephalus evertsi* y las del género *Hyalomma* (Jongejan y Uilenberg 2004).

Finalmente, las de ciclo más largo en comparación a las anteriores, las de tres hospederos donde las garrapatas necesitan tres alimentaciones distintas entre cada muda, de larva a ninfa, de ninfa a adulta y una vez en fase adulta las hembras y los machos requieren de una alimentación más para poder reproducirse y así concluir su ciclo. El ejemplo de las garrapatas de tres hospederos se encuentran las del género *Amblyomma* e *Ixodes* (Jongejan y Uilenberg 2004).

Anaplasmosis

La bacteria intracelular *Anaplasma marginale* se desarrolla obligatoriamente en los eritrocitos de los bovinos causando la enfermedad Anaplasmosis bovina. Esta enfermedad es común encontrarla en unidades de producción de zonas tropicales y subtropicales ocasionándoles pérdidas considerables (Kocan et al 2010; Atif 2015).

Una de las formas en la que se trasmite de manera horizontal esta enfermedad es por medio de vectores, en el caso de las garrapatas son las del género *Rhipicephalus* quienes se conoce juegan un papel importante en la transmisión. Las moscas también pueden llegar a transmitir la enfermedad, sin embargo, en este caso es de forma mecánica. Mientras que de manera vertical atrás vez de la placenta es como la enfermedad se mantiene en el ambiente (Atif 2015)

Borreliosis

La espiroqueta *Borrelia burgdorferi* es el microorganismo microaerófilo y gram negativo es el responsable de la enfermedad de Lyme o borreliosis de Lime, puede afectar a fauna silvestre, animales domésticos como: caninos, felinos, bovinos, ovino y equinos y también se han reportado casos en humanos. En el caso de la borreliosis de Lyme en bovinos pueden presentarse con signos y síntomas tales: rigidez e inflamación en articulaciones, laminitis, fiebre, así como pérdida de peso crónica y baja producción (Parker y White 1992; Galván 1998; Rojas 1997).

La transmisión de la enfermedad se asocia a distintos vectores entre los que destacan las garrapatas duras (*Ixodes*), específicamente las especies *Ixodes scapularis*, *Dermacentor variabilis* y *Amblyomma americanum* que juegan un papel importante en la propagación de la enfermedad (Colunga et al 2020).

Justificación

Nuevo León es una zona endémica de Anaplasmosis y de la Enfermedad de Lyme, estudios en el área metropolitana han detectado la presencia de las bacterias en equinos y caninos, así con en algunas especies de fauna silvestre (Venado cola blanca). Por lo que conviene extender esta investigación a otras especies domesticas como los bovinos debido a que, es muy poco lo que se conoce sobre la naturaleza de la enfermedad en ellos. Con este trabajo se pretende identificar las garrapatas como potenciales vectores de estas enfermedades en bovinos y posiblemente también en humanos.

Hipótesis

Nuevo León es una zona endémica Anaplasmosis y de la Enfermedad de Lyme, por lo que, existen coinfecciones en las garrapatas y en sus hospederos bovinos.

Objetivo General

Determinar la presencia de *Anaplasma marginale* y *Borrelia burgdorferi* en las especies de garrapatas colectadas y en sus hospederos bovinos, mediante serología y PCR punto final.

Objetivos específicos

- 1.- Identificar las especies de garrapatas obtenidas de los bovinos en las regiones sujetas a estudio.
- 2.- Determinar la presencia de *A. marginale* en bovinos y en sus garrapatas mediante el método PCR.
- 3.- Determinar la presencia de *B. burgdorferi* en bovinos mediante el método de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y PCR punto final en sus garrapatas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El material biológico (garrapatas y sangre) se obtuvo a partir de bovinos infestados con el ectoparásito. La colecta fue llevada a cabo en 7 localidades de distintos municipios del Estado de Nuevo León, ubicado al Norte de México. Anáhuac (27°14'27.5"N, 100°08'01.5"O; altitud 335 m), Linares (25°51'45.2"N, 99°33'52.0"O; altitud 350 m), Montemorelos (25°11'13.0"N, 99°50'05.0"O; altitud 342 m), General Terán (25°15'34.0"N, 99°40'50.7"O; altitud 230 m), General Bravo (25°47'44.2"N, 99°10'44.3"O; altitud 150 m), Ramones (25°41'47.0"N, 99°37'27.9"O; altitud 226 m) y Cerralvo (26°05'24"N, 99°36'53.0"O; altitud 279 m) (Figura 1). Se elaboró una base de datos con la edad, sexo y raza de los bovinos.

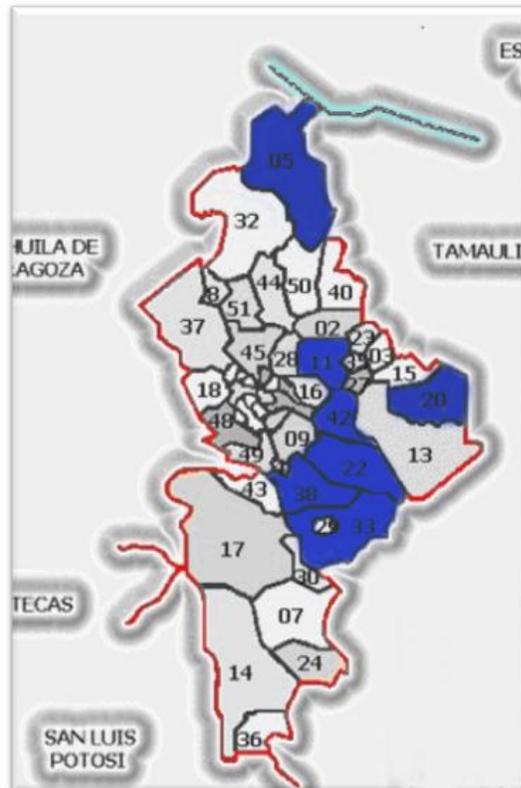


Figura 1. Mapa que muestran las localidades muestreadas: 05. Anáhuac, 22. General Terán, 33. Linares, 38. Montemorelos, 11. Cerralvo, 20. General Bravo y 42. Ramones.

Tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra se calculó con la fórmula para una población infinita:

$$n = \frac{T^2 pq}{E^2}$$

Donde T es el coeficiente de confianza para 95% (1.96), *pq* es la probabilidad de encontrar un caso positivo o negativo, respectivamente (cuando se desconoce la proporción se asignan valores de 0.5 a cada variable) y *E* es el error máximo permitido. Resultando en una *n* de 385.

Toma de muestra

Colecta de Garrapatas

Las garrapatas se colectaron directamente de los bovinos con movimientos de tracción suave a contra pelo para evitar el desprendimiento de piezas bucales al momento de retirarlas y se conservaron en alcohol al 90% hasta el procesamiento en el laboratorio. La identificación de los ejemplares se hizo en base al Capítulo 9 “Garrapatas de importancia veterinaria” del libro Técnicas para el Diagnóstico de Parásitos con Importancia en Salud Pública y Veterinaria de Martínez 2015. Para la identificación taxonómica se inicia por la parte dorsal del ejemplar observando estructuras como el gnatosoma e idiosoma y después por la parte ventral.

Muestras Sanguíneas

Las muestras sanguíneas se tomaron de vena caudal del bovino en tubos estériles para pruebas serológicas con EDTA y para PCR punto final. Dichas muestras se trasladaron al laboratorio de Genética en hieleras con geles fríos. En el caso de las muestras con EDTA se separaron los sueros de los coágulos y posteriormente se guardaron en congelación a -20°C hasta su procesamiento. Se contó con el número de aprobación del Comité Ético CEICANCL21012022-MOLSUNL-06.

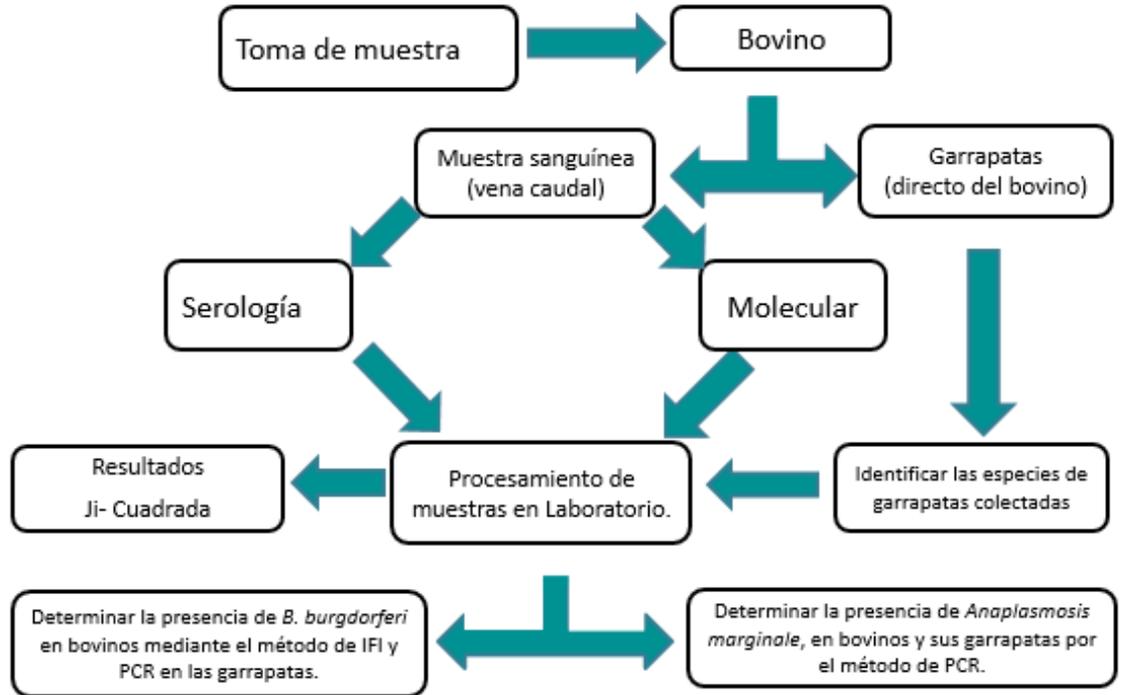


Figura 2. Diagrama de la metodología.

Diseño Experimental

Distribución de ji cuadrada para observar la relación entre la localidad y la presencia de las enfermedades.

Índice de Bush (et al 1997) para observar la prevalencia y abundancia de las garrapatas colectadas.

Cuantificación de ADN

Para analizar la calidad y concentración del ADN que se obtuvo de las muestras, se hizo una prueba de espectrofotometría en el rango de 260 nm y 280 nm. Para el nivel de 260 nm es para verificar la concentración de ADN, mientras que la relación de 260/280 nm la calidad o pureza del material obtenido (Wilfinger et al 1997).

Diagnóstico Anaplasma marginale

Para la evaluación de las muestras sanguíneas del bovino y las garrapatas colectadas se utilizó el “primer” Msp1β:

F: 5' GCTCTAGCAGGTTATGCGTC 3'

R: 5' CTGCTTGGGAGAATGCACCT 3'

Amplificando a 265 pares de bases (PB), este va dirigido a la proteína de superficie uno de la rickettsia. El programa usado en el termociclador se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de amplificación para PCR de *Anaplasma marginale*.

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Ciclos
Desnaturalización previa	94°	1	1
Desnaturalización	95°	1	30
Alinamiento	53°	1	
Extension	72°	1	
Extension posterior	72°	10	1

El control positivo de *Anaplasma marginale* fue proporcionado por el Dr. Sergio D. Rodriguez, Coordinador de la Unidad de Anaplasmosis del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Diagnóstico de Borrelia burgdorferi

Para las pruebas serológicas usamos un kit comercial (Figura 3) por el método de Inmunofluorescencia indirecta.



Figura 3. Kit comercial para diagnóstico de *Borrelia burgdorferi*.

Para el diagnóstico de las garrapatas colectadas. El “primer” utilizado fue BbsI:

F: 5'AACACACCAGCATCACTTTCAGG 3'

R: 5'GAGAATTA ACTCCGCCTTGAGAAG 3'

Amplificando a 234 PB, dicho “primer” está dirigido al gen de la flagelina del complejo *Borrelia burgdorferi* sensulato según la base de datos del EMBL/GenBank.

Tabla 3. Condiciones de amplificación para PCR de *Borrelia burgdorferi*.

Paso	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Ciclos
Desnaturalización previa	94°	1	1
Desnaturalización	93°	0.5	40
Alinamiento	57°	0.5	
Extension	72°	0.5	
Extension posterior	72°	1	1

El control positivo fue proporcionado por la María D. Esteve Gassent Ph.D. del Departamento de Patología Veterinaria de la Universidad de Texas A&M.

RESULTADOS

Garrapatas Evaluadas

Para diagnóstico de *Anaplasma* y *Borrelia* de las 2,880 garrapatas colectadas evaluamos 442, que corresponden a 404 bovinos. De ellas el 404 (91.4%) correspondieron a *R. microplus*, 37 (8.4%) del género *Amblyomma* y solo un ejemplar del género *Dermacentor* (Tabla 4).

Tabla 4. Especies de garrapatas evaluadas por localidad.

Localidad	<i>R. microplus</i>	<i>A. mixtum</i>	<i>A. tenellum</i>	<i>D. variabilis</i>	Total
Linares	105	0	0	1	106
Gral. Terán	110	0	4	0	114
Gral. Bravo	60	4	0	0	64
Cerralvo	65	0	5	0	70
Montemorelos	52	0	23	0	75
Anáhuac	10	0	0	0	10
Ramones	2	1	0	0	3
Total	404	5	32	1	442

La localidad de General Terán es la que cuenta con mayor número 25.8% (114) del total de individuos muestreados. Seguida de Linares donde además se identificó el único ejemplar de *Dermacentor variabilis*. Mientras que en General Bravo y Ramones se pudieron identificar ejemplares de *A. mixtum*, por su parte en las localidades de Cerralvo y Montemorelos se identificaron *A. tenellum*.

Garrapatas

De 404 bovinos colectamos 2,880 garrapatas de las cuales corresponden a tres géneros, 2,786 *Rhipicephalus* (2,391 hembras y 395 machos), 93 del género *Amblyomma* (51 hembras y 42 machos) y una más del género *Dermacentor* (Tabla 5).

Tabla 5. Proporción de hembras y machos por localidad.

LOCALIDAD	Rhipicephalus (H/M)	Amblyomma (H/M)	Dermacentor (H/M)
Linares	860 (734/126)	1 (0/1)	1 (1/0)
Gral. Terán	653 (584/69)	7 (7/0)	0
Gral. Bravo	256 (182/74)	21 (3/18)	0
Cerralvo	523 (469/54)	10 (8/2)	0
Montemorelos	355 (297/58)	53 (32/21)	0
Anáhuac	134 (120/14)	0	0
Ramones	5 (5/0)	1 (1/0)	0
TOTAL	2786 (2391/395)	93 (51/42)	1 (1/0)

De las 2,786 (96.74%) fueron de género *Rhipicephalus*, 93 (3.22%) *Amblyomma* y solo un ejemplar del género *Dermacentor*.

Genero *Rhipicephalus*

También conocida como garrapata del ganado, es común encontrarla en las infestaciones. Monoxena, tienen dimorfismo sexual, la hembra es de mayor tamaño en relación con el macho (Figura 4C) debido al requerimiento de alimento para llevar a cabo la vitelogenesis. La base del gnatosoma es hexagonal y los palpos son más cortos que el hiposoma, el macho tiene una espina caudal característica (Figura 4A).

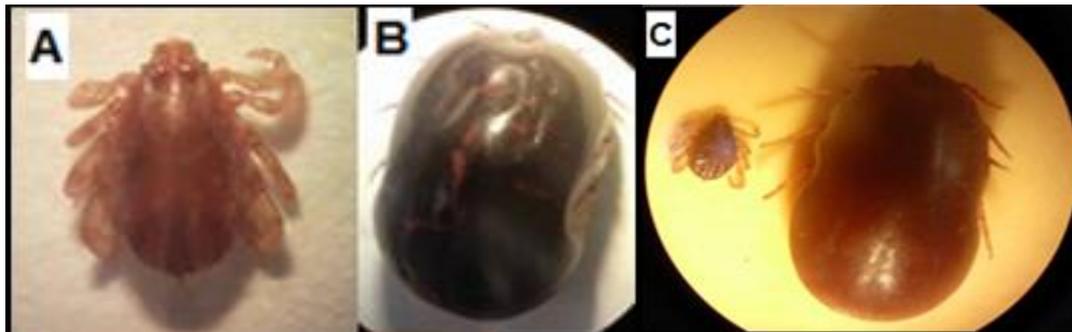


Figura 4. *Rhipicephalus microplus*. A) Macho Adulto. B) Hembra Adulta alimentada. C) Comparación entre hembra y macho.

Género *Dermacentor*

Es heteroxena y aunque los adultos tienen tropismo por los caninos también es común encontrarlas en bovinos. La base del gnatosoma es rectangular, tienen ornamentaciones en el escudo y patas, los palpos son cortos y gruesos a la altura del hiposoma (Figura 5).

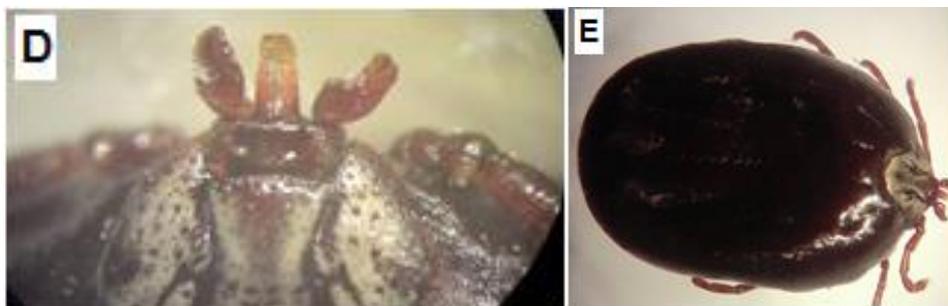


Figura 5. *Dermacentor variabilis*. D) Base del gnatosoma. E) Vista dorsal

Género *Amblyomma*

Son poco selectivos con sus hospederos por lo que se les han encontrado en un gran número de vertebrados sobre todo en mamíferos, además de ser heteroxeno. La base del gnatosoma es pentagonal, pueden o no tener ornamentaciones, los palpos son largos al igual que el hiposoma.



Figura 6. Genero *Amblyomma* colectadas. *Amblyomma mixtum* (*cajennese*): F) Macho adulto. G) Hembra adulta repleta. H) Comparación entre hembra semirrepleta y macho adulto. *Amblyomma tenellum*: I) Hembra adulta, vista frontal. J) Hembra adulta repleta. K) Ausencia de mamelones. *Amblyomma inornatum*: L) Hembra adulta, vista frontal. M) Hembra adulta.

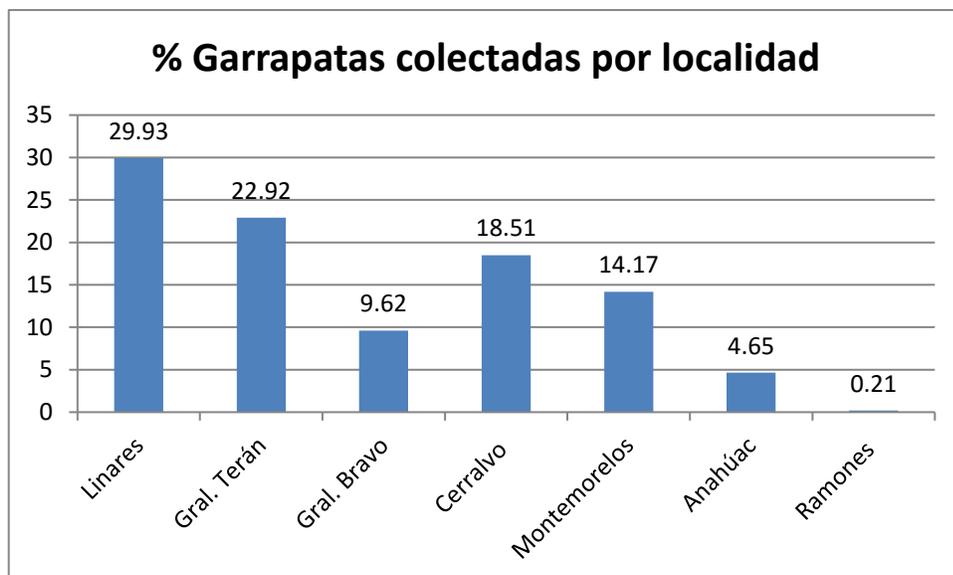


Figura 7. Gráfica porcentaje de garrapatas colectadas por localidad.

Linares fue la localidad donde colectamos la mayor cantidad de garrapatas del total

(29.93%), mientras que Ramones fue la menor (0.21%) del total, esto varía en función de la disponibilidad de los bovinos por localidad que tuvimos al momento del muestreo (Figura 7).

Prevalencia

Tabla 6. Prevalencia de garrapatas en bovinos (Bush et al 1997). *= Ninfa, -- = Ausencia, (%) = Porcentaje del total

404 BOVINOS	Linares	Gral. Terán	Gral. Bravo	Cerralvo	Montemorelos	Anáhuac	Ramones	TOTAL (%)
<i>R.(b). microplus</i>	105	110	60	65	52	10	2	404 (100)
<i>R.(b). microplus. *</i>	--	1	6	9	13	5	--	34 (8.4)
<i>A. mixtum</i>	1	--	13	5	--	--	1	20 (4.9)
<i>A.tenellum</i>	--	6	--	--	23	--	--	29 (7.1)
<i>A. inornatum</i>	--	--	--	--	4	--	--	4 (0.9)
<i>D. variabilis</i>	1	--	--	--	--	--	--	1 (0.2)

De los 404 bovinos de los que se colectaron las garrapatas, observamos que la especie con mayor prevalencia fue *R. microplus* en su fase adulta, ya que se presentó en todos los bovinos, respecto a la fase de ninfa fue el 8.4% del total. Mientras que del género *Amblyomma* la que tuvo mayor prevalencia en los bovinos fue *A. tenellum* (7.1%), esta especie fue colectada en General Terán y Montemorelos, donde se identificó la mayoría de las *Amblyommas*. Finalmente se logró identificar un solo ejemplar de *D. variabilis*. Linares es la localidad donde se identificaron ejemplares de los tres géneros diferentes (Tabla 6).

Abundancia

Tabla 7. Abundancia de garrapatas colectadas (Bush et al 1997). *= Ninfa, -- = Ausencia, (%) = Porcentaje del total

Localidad	Linares	Gral. Terán	Gral. Bravo	Cerralvo	Montemorelos	Anáhuac	Ramones	TOTAL (%)
<i>R.(b). microplus</i>	860	650	244	500	335	125	5	2719 (94.4)
<i>R.(b). microplus.*</i>	--	3	12	23	20	9	--	67 (2.3)
<i>A. mixtum</i>	1	--	21	10	--	--	1	33 (1.15)
<i>A. tenellum</i>	--	7	--	--	49	--	--	56 (1.95)
<i>A. inornatum</i>	--	--	--	--	4	--	--	4 (0.14)
<i>D. variabilis</i>	1	--	--	--	--	--	--	1 (0.03%)
TOTAL	862	660	277	533	408	134	6	2880

En cuanto a la abundancia se refiere el 96.7 % de las garrapatas colectadas fueron *R. microplus* (considerando ninfas y adultas) que fueron identificadas en todas las localidades. Mientras que *A. tenellum*, a pesar que solo se localizó en dos de las siete localidades es la segunda especie con más ejemplares identificados, destacando Montemorelos con mayor presencia. De las *Amblyommas* la que tuvo menor número de capturas fue *A. inornatum* con solo 0.14% (cuatro ejemplares) (Tabla 7).

Anaplasma marginale

A partir de las pruebas de PCR logramos amplificar fragmentos del gen *Msp1β* de 265 pb correspondientes a *A. marginale* (Figura 8), tanto para las garrapatas (GenBank OR050500) como para las muestras de sangre bovina (GenBank OR050501)

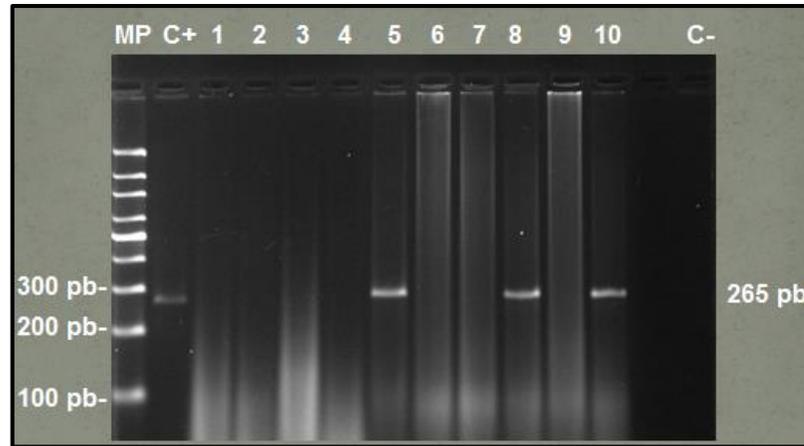


Figura 8. Muestras de garrapatas evaluadas para *A. marginale*. MP: Marcador de Peso Molecular, C+: Control Positivo, C-: Control Negativo. (5, 8 y 10) Muestras positivas

Garrapatas

Encontramos un 10.18% de prevalencia de *A. marginale* en las garrapatas colectadas en las distintas localidades. Hay diferencia significativa (X^2) entre y dentro (excepto Ramones y Anáhuac) de las localidades y el número de garrapatas positivas ($p=0.000$). Siendo Linares quien presentó el mayor número de positivos con un 4.75% (21/442) del total probado (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados de *A. marginale* en garrapatas.

LOCALIDAD	Garrapatas		
	Positivos (%)	Negativos	Total
Linares	21 (19.8)	86	106
Gral. Terán	5 (4.39)	109	114
Gral. Bravo	3 (4.6)	61	64
Cerralvo	2 (2.86)	68	70
Montemorelos	14 (18.67)	61	75
Anáhuac	0	10	10
Ramones	0	3	3
TOTAL	45 (10.18)	398 (89.82)	442

Linares presentó la mayor prevalencia de *A. marginale* en garrapatas con un 19.81% (21/106), seguido de Montemorelos con 18.67% (14/75) (Figura 9).

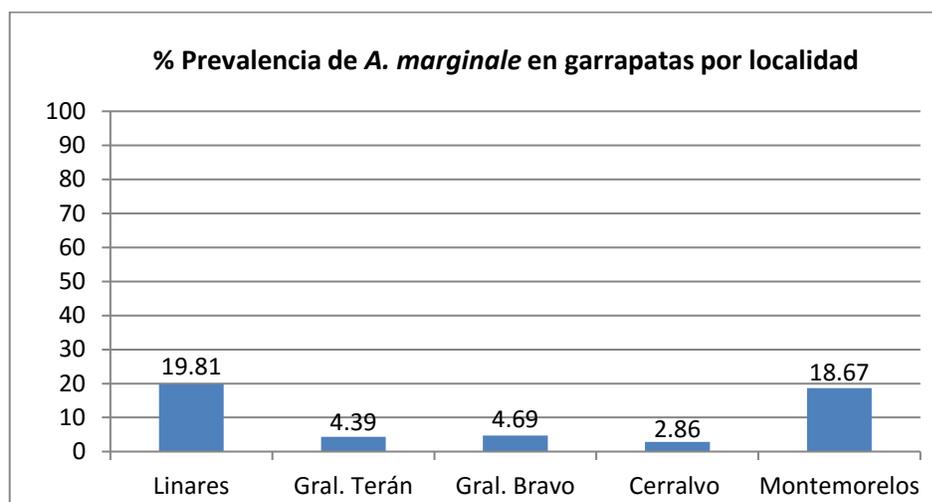


Figura 9. Porcentaje de prevalencia de *A. marginale* por localidad.

De las especies positivas a la rickettsia las que presentaron mayor prevalencia de fueron *R. microplus* con 84.4%, seguida de *A. tenellum* con 13.3% del total de las garrapatas positivas (Tabla 9).

Tabla 9. Especies de garrapatas positivas a *A. marginale* por localidad.

Localidad	<i>R. microplus</i>	<i>A. tenellum</i>	<i>D. variabilis</i>	Positivo
Linares	20	0	1	21
Gral. Terán	5	0	0	5
Gral. Bravo	3	0	0	3
Cerralvo	1	1	0	2
Montemorelos	9	5	0	14
Total	38 (84.4)	6 (13.3)	1 (2.2)	45

Bovinos

Encontramos un 64.26% de prevalencia de *A. marginale* en los bovinos muestreados en las distintas localidades. Hay diferencia significativa (X^2) entre y dentro (excepto Anáhuac y Ramones) de las localidades y el número de bovinos positivos ($p \leq 0.005$). Siendo Linares quien presentó la mayoría de los casos con un 64.89% (61/94) (Tabla 10).

Tabla 10. Bovinos positivos a *A. marginale* por localidad.

LOCALIDAD	Bovinos		
	Positivos (%)	Negativos (%)	Total (%)
Linares	61 (64.89)	33	94
Gral. Terán	34 (38.2)	55	89
Gral. Bravo	32 (71.11)	13	45
Cerralvo	49 (96.08)	2	51
Montemorelos	36 (81.82)	8	44
Anáhuac	1 (20.0)	4	5
Ramones	1 (20.0)	4	5
TOTAL	214 (64.26)	119	333

La mayor prevalencia en bovinos fue para la localidad de Cerralvo 96.08% (49/51), Montemorelos 81.82% (36/44) y 71.11% (32/45) para General Bravo. (Tabla 10).

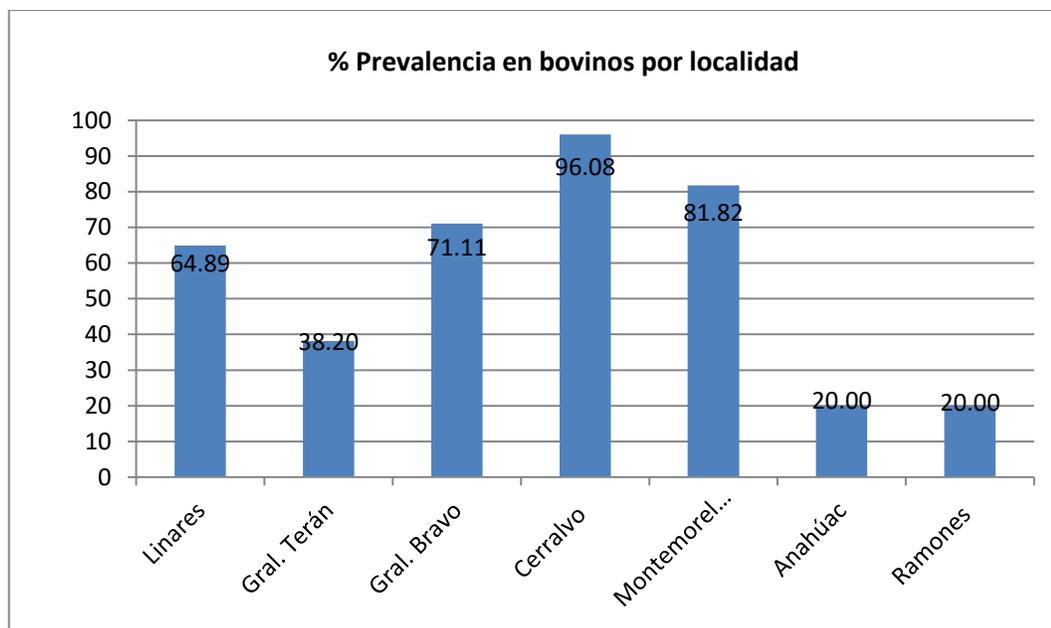


Figura 10. Prevalencia de *A. marginale* en bovinos por localidad.

Cerralvo, Montemorelos y General Bravo presentan mayor porcentaje de prevalencia por localidad (96.08%, 81.82% y 71.11%) en proporción a Linares y General Terán. Sin embargo, el tamaño de muestra es menor en estas tres localidades. Para en ambas localidades Anáhuac y Ramones se reporto un 20% aunque las garrapatas probadas fueron cinco y un solo ejemplar positivo (Figura 10).

Borrelia burgdorferi

Garrapatas (PCR)

A partir de las pruebas de PCR realizadas a las garrapatas colectadas (Tabla 4) no se presentó amplificación de fragmentos del gen BbsI de 234 pb correspondientes a *B. burgdorferi sensulato* (Figura 11).

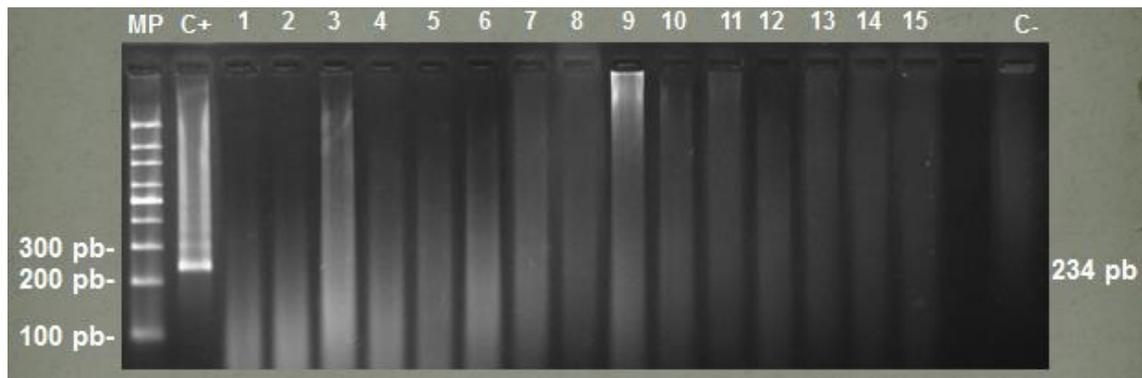


Figura 11. Muestras de bovinos evaluadas para *A. marginale*. MP: Marcador de Peso Molecular, C+: Control Positivo, C-: Control Negativo. Muestras negativas de 1 al 15.

Bovinos (Serología)

Evaluamos 367 muestras de suero bovino por el método de Inmunofluorescencia Indirecta, colorante isotiocianato de fluoresceína (FITC). No se presentaron positivos.

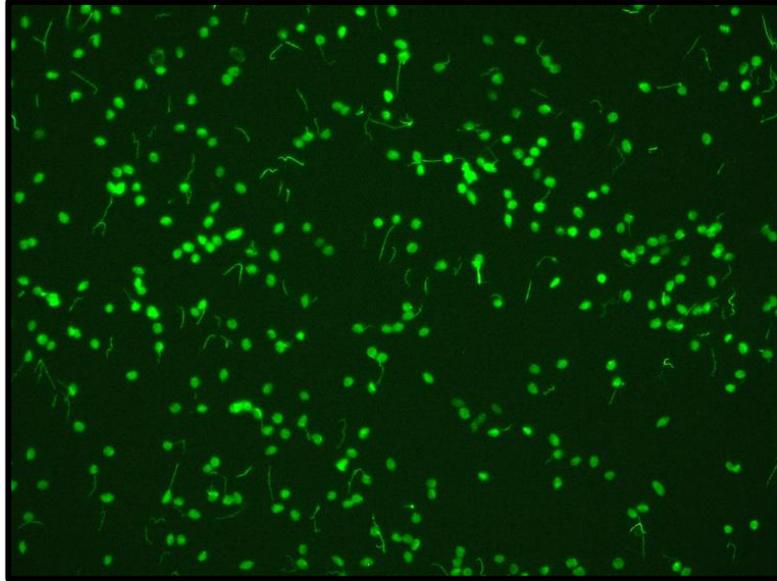


Figura 12. Muestra positiva (CONTROL) a *B. burgdorferi*.

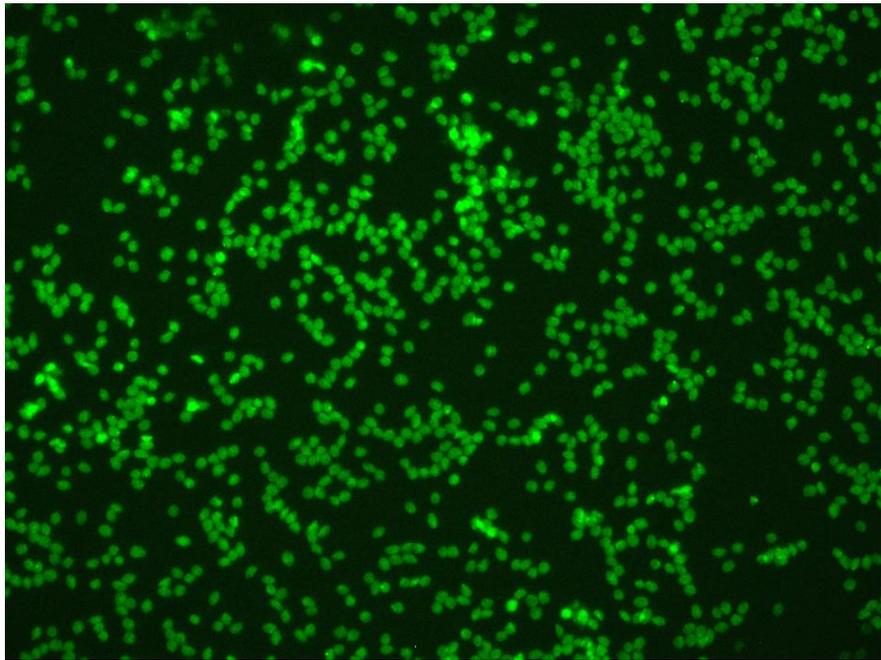


Figura 13. Muestra negativa a *B. burgdorferi*.

En la figura 12 se muestra el control positivo de la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Se observan dos estructuras fluorescentes, las ovaladas corresponden a eritrocitos de borrego, estas son incluidas como parte del extendido celular por el laboratorio, la función de ellos es como auxiliar en la búsqueda del plano correcto de las espiroquetas. También podemos observar las espiroquetas (en caso de ser positivo), al ser método indirecto las espiroquetas se encuentran también en el extendido celular de la prueba, en caso de que el suero sujeto a evaluación presente anticuerpos se adhieren al microorganismo que a su vez se adhieren los anti-anticuerpos produciendo la reacción que revela su presencia.

La figura 13 es un ejemplo de la una muestra negativa, donde solo se observan los eritrocitos, esto indica la ausencia de anticuerpos contra la espiroqueta, con lo que podemos descartar que al momento de la toma de muestra del bovino su sistema inmune estuviera pasando por un proceso infeccioso contra la espiroqueta.

DISCUSIÓN

R. (b). microplus es considerado el ectoparásito más importante en términos económicos y de salud animal (FAO, 2004), así como, en la densidad y frecuencia de infestaciones en bovinos (Solís 1991). Coincide con lo reportado ya que del total de las garrapatas colectadas se observó que la prevalencia fue del 96.74% de *R. microplus*. (incluyendo adultas y juveniles) Y solo el 3.22% son *Amblyomma spp.*

Utilizando el método de PCR punto final encontramos un 10.18% de positivos en garrapatas. Cinco de las siete localidades presentaron positivas, las localidades con mayor prevalencia fueron Linares 19.8% y Montemorelos 18.7% y a pesar de que se encontraron casos positivos a *A. marginale* en Anáhuac y Los Ramones en bovinos, en los ectoparásitos evaluados fueron negativos. El número de garrapatas muestreadas en Anáhuac (10) y Los Ramones (3) es muy bajo en comparación de otras localidades. Esto reduce la probabilidad de detección de la bacteria, caso contrario en Montemorelos y Cerralvo. Particularmente en Montemorelos, ambos hospederos (81.82%) y huésped (18.7%) presentaron casos positivos.

En México, se ha reportado dos especies de garrapatas *R. microplus* y *R. annulatus* (Say 1821) como vectores de *A. marginale* (Osorno y Ristic 1977; Kocan et al 2010). Solo un estudio realizado en el estado de Tamaulipas demostró que el 40% de infección natural de *A. marginale* en *R. microplus* (Almazán et al 2008). En este trabajo es el primero que muestra la infección de *A. marginale* en *R. microplus* colectado directamente de bovinos en Nuevo León. También reportamos la presencia de la bacteria en garrapatas *A. tenellum* y *D. variabilis* (Tabla 9). A su vez muestran que *A. marginale* en *R. microplus* y *A. tenellum* tienen un rol distinto dependiendo de la localidad. Este resultado sugiere que tal vez *R. microplus* actúa como vector de *A. marginale* en Linares, General Terán, General Bravo, Cerralvo y Montemorelos. Sin duda, este hallazgo reafirma que *R. microplus* como la garrapata del ganado, y que es una especie con distribución en todo América, causa severos daños en el ganado debido a la acción directa del parásito y como vector de patógenos (Estrada et al 2006).

Un estudio en Aldama, Tamaulipas mostró un 11.11% de prevalencia para *A. marginale* en bovinos por método indirecto (López et al 1984), cabe mencionar que esta localidad está a 330 km de nuestra zona de estudio (Linares) donde obtuvimos un 64.89%, sin embargo, en nuestro estudio se utilizó un método directo, el cual es más específico.

El estudio de López et al (1984) también menciona una prevalencia de 33.6% en Chiapas, 35.4% en Veracruz y 36.1% en Puebla. En la investigación se encontró 64.26% de prevalencia, casi el doble de lo reportado por López, consideramos que esta diferencia entre lo obtenido puede deberse a las distintas condiciones ambientales entre las localidades, la raza y edad del ganado, el tamaño de muestra y susceptibilidad del ganado a la infestación por garrapatas.

El rango de infección de *A. marginale* en México es del 10 al 78% en bovinos (Vega et al 2007; Castañeda et al 2015). En nuestro estudio obtuvimos una prevalencia de 64.26% para el estado.

Las regiones costeras de los estados de Jalisco, Nayarit y Sinaloa, Región este de Oaxaca, Veracruz y la península sur presenta seroprevalencia mayor al 50%, centro sur entre 10 y 50% y el resto de la zona norte presenta seroprevalencia menor al 10% (García et al 1996). Los datos reportados son contrarios a los nuestros ya que creemos que la susceptibilidad del ganado ante el vector influye en la presencia del patógeno, ya que reduce la exposición al patógeno.

Un método preciso de diagnóstico son el siguiente paso para la confirmar la presencia del patógeno. Varios métodos tradicionales y modernos han sido desarrollados: microscopía directa, ELISA, prueba de aglutinación en placa y más recientemente PCR (Atif 2015). Sin embargo, el método de PCR usado en este estudio ha ganado mayor popularidad debido a su especificidad. Por ello se ha usado como método diagnóstico en recientes estudios epidemiológicos (Estrada et al 2020).

En este estudio muestra resultados negativos para *B. burgdorferi* tanto en ganado como en garrapatas, en una revisión sistemática encontramos un total de 1,347 reportes de *Borrelia* en México (Colunga et al 2020). Adicionalmente, Nuevo León es uno de los tres estados con un alto número de reportes 253 en humanos (Arroyave y Tamez 1994; Skinner et al 2016), perros (Salinas et al 1995; Salinas et al 1999) roedores silvestres (Rodríguez et al 2020) y garrapatas (Gordillo et al 2009; Galaviz et al 2013). Sin embargo, no hay reportes de esta espiroqueta en bovinos en el estado.

Para futuros estudios es necesario secuenciar las muestras positivas de acuerdo a las zonas de colecta, especies de garrapatas e incidencia de la enfermedad para obtener la filogenia y análisis clínico. Ahora que conocemos la diversidad genética de *A. marginale* en México (Almazán 2008; Jiménez et al 2012; Martínez et al 2020), y así establecer coinfecciones (Castañeda et al 2015) en lugares con alta incidencia de infección como Cerralvo y Montemorelos. Por lo tanto, la vigilancia molecular de estas dos enfermedades debe continuar.

En este estudio, hicimos el primer reporte de *A. marginale* infectado de forma natural a las siguientes especies de garrapatas: *R. microplus*, *A. tenellum* y *D. variabilis*; estas especies fueron colectadas de ganado bovino en Nuevo León. Con el método de PCR punto final confirmamos la presencia de *A. marginale* en muestras de sangre de bovino. En cambio, no encontramos *B. burgdorferi* en las mismas muestras de garrapatas y sangre de bovino.

CONCLUSIONES

Del total de las garrapatas colectadas (2,880) se observó que solo el 1.7% son del género *Amblyomma* y el 98.3% son *Rhipicephalus microplus* que es la especie más común en infestaciones de ganado bovino.

La especie con mayor prevalencia de la rickettsia fue *Rhipicephalis (bophilus) microplus* con 84.4% lo que reduce el riesgo de exposición en los humanos, debido al tropismo por los bovinos.

Linares es la localidad que presentó la mayor prevalencia de *Anaplasma marginale* en garrapatas y bovinos, la importancia de establecer estrategias para el control de la enfermedad en esta zona.

En este estudio se reportó 64.26% de *Anaplasma* en bovinos y 10.18% en garrapatas.

Recomendamos hacer estudios para *A. marginale* en otros estados del país para validar el rango de prevalencia reportado que va del 10 hasta 76%.

Basado en los resultados obtenidos podemos concluir que el bovino (serología) y las garrapatas (PCR punto final) no tiene función dentro del ciclo biológico de la borrelia como reservorio de la enfermedad de Lyme.

PERSPECTIVA

La falta de relación entre los casos positivos en garrapatas y bovinos para *A. marginale* nos da la pauta para sospechar la participación de otro vector en la diseminación de la enfermedad, o cuestionar la capacidad vectorial de *R. microplus* en el ciclo biológico del patógeno. Utilizar otro método diagnóstico con más sensibilidad pudiera ayudar a contrastar los resultados.

En Linares se tienen casos positivos (por serología) a *B. burgdorferi* en Venado cola blanca, Sin embargo, a pesar de la presencia de la enfermedad y compartir el espacio físico con los bovinos no encontramos el patógeno presente. Extender el diagnóstico hacia otras especies de mamíferos nos darían más información de la interacción del patógeno con los animales, y conocer el posible riesgo de exposición a la enfermedad tanto de los animales como de las personas relacionadas a las actividades ganaderas.

BIBLIOGRAFÍA

- AgroNL 2022. Estadísticas Sectoriales Nuevo León. <http://campo.nl.gob.mx/>
http://campo.nl.gob.mx/pdf/documentos/Estadisticas_Sectoriales.pdf
- Almazán, C., C. Medrano, M. Ortiz, and J. de la Fuente. 2008. Genetic diversity of *Anaplasma marginale* strains from an outbreak of bovine anaplasmosis in an endemic area. *Vet. Parasitol.* 158: 103-109.
- Anderson JF, Magnarelli LA. 2008. Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am.* 22(2):195-215.
- Arroyave, C. M., and R. Tamez-González. 1994. Enfermedad de Lyme. Informe de dos casos. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 51: 117-121.
- Atif, F. A. 2015. *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*: Rickettsiales pathogens of veterinary and public health significance. *Parasitol. Res.* 114: 3941-3957.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. and Shostak, A. W. 1997. Parasitology meets ecologist on its own terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.* 83 (4): 575-583.
- Castañeda-Ortiz, E. J., M. W. Ueti, M. Camacho-Nuez, J. J. Mosqueda, M. R. Mousel, W. C. Johnson, and G. H. Palmer. 2015. Association of *Anaplasma marginale* strain superinfection with infection prevalence within tropical regions. *PLoS One*, 10(3), e0120748. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120748>
- Colunga-Salas, P., S. Sánchez-Montes, P. Volkow, A. Ruíz-Remigio, and I. Becker. 2020. Lyme disease and relapsing fever in Mexico: An overview of human and wildlife infections. *PloS ONE*, 15: e0238496.
- Cortinas, M. R. (2007). Investigation of white-tailed deer infestation by *Ixodes scapularis* on the Illinois River, USA. Dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign.
- ENA, 2019. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Encuesta Nacional Agropecuaria 2019.
- Encinas A. 2000. Artrópodos. En: Cordero M, Rojo FA. *Parasitología Veterinaria*. Madrid: Mc Graw-Hill, Interamericana. p. 134-151.
- Espí-Felgueroso A. 2011. “Las garrapatas como agentes transmisores de enfermedades para los animales y el hombre”. En *Tecnología Agroalimentaria*, editado Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario: 9, pp:21-24.

Estrada-Peña, A., Z. García, and H. F. Sánchez. 2006. The distribution and ecological preferences of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexico. *Exp Appl Acarol.* 38: 307-316. <https://doi.org/10.1007/s10493-006-7251-2>

Estrada-Peña, A., M. Szabó, M. Labruna, J. Mosqueda, O. Merino, E. Tarragona, J. M. Venzal, and J. de la Fuente. 2020. Towards an effective, rational and sustainable approach for the control of cattle ticks in the Neotropics. *Vaccines.* 8: 9. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010009>

FAO, 2004. Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants – Guidelines, Module 1 – Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. Food and Agriculture Organization, Animal Production and Health Division, Rome, p. 53.

Ferreira, G. C. M., M. E. A. Canozzi, V. Peripolli, G. de Paula Moura, J. Sánchez, and C. E. N. Martins. 2022. Prevalence of bovine *Babesia* spp., *Anaplasma marginale*, and their co-infections in Latin America: systematic review-meta-analysis. *Ticks Tick Borne Dis.* 13: 101967.

Galaviz-Silva, L., K. C. Pérez-Treviño, Z. J. Molina-Garza. 2013. Distribution of ixodid ticks on dogs in Nuevo León, Mexico, and their association with *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Exp Appl Acarol.* 61: 491–501. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9707-5>

Gallardo JS, Morales J. 1999. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. En: *Bioagro.* 11(3):77-87.

Galván de la Garza, S. (1998). Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en equinos del área metropolitana de Monterrey, NL. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N.L.

García-Tapia, D. G., M. L. Rojas, R. C. Bayugar, Z. G. Vazquez, M. A. G. Ortiz, P. D. Jalil, and R. A. Torres. 1996. Seroprevalencia de anaplasmosis en explotaciones bovinas de 18 municipios de la zona norte de Veracruz. *Rev Mex Cienc Pecu.* 34: 38-45. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/viewFile/698/696>

Gordillo-Pérez, G., M. Vargas, F. Solórzano-Santos, A. Rivera, O. J. Polaco, L. Alvarado, O. Muñoz, and J. Torres. 2009. Demonstration of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto infection in ticks from the northeast of Mexico. *Clin Microbiol Infect.* 15: 496-498.

Jiménez-Ocampo, R., C. A. Vega y Murguía, N. Oviedo-Ortega, E. E. Rojas-Ramírez, M. A. García-Ortiz, J. F. Preciado de la Torre, and S. D. Rodríguez Camarillo, S. D. 2012. Diversidad genética de la región variable de los genes *msp1a* y *msp4* en cepas de *Anaplasma marginale* de México. *Rev Mex Cienc Pecu.* 3: 373-386.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242012000300008&script=sci_arttext

Johnson, R. C., G. P. Schmid, F. W. Hyde, A. G. Steingerwalt, and D. J. Brenner. 1984. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiological agent of Lyme disease. *Int J Syst Bacterio.* 34: 496-497.

Jongejan F, Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology.* 129(S1): S3-S14.

Jonsson N., Mayer D.G., Matschoss A.L., Green P.E. and Ansell J. 1998. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Vet. Parasitol.* 78: 65–77.

Kocan, K. M., J. de la Fuente, E. F. Blouin, J. F. Coetzee, and S. A. Ewing. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasitol.* 167: 95-107.

Martínez-Ibáñez, F. 2015. Garrapatas de importancia veterinaria. En: Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en la salud pública y veterinaria, Rodríguez V., R.I. México, pp. 258-305.

Martínez-Ocampo, F., R. E. Quiroz-Castañeda, I. Amaro-Estrada, E. Dantán-González, J. F. P. de la Torre, and S. Rodríguez-Camarillo. 2020. Whole-genome sequencing of mexican strains of *Anaplasma marginale*: an approach to the causal agent of bovine anaplasmosis. *Int. J. Genom.* 2020: 5902029. <https://doi.org/10.1155/2020/5902029>

Osorno, M. B., and M. Ristic. 1977. Anaplasmosis bovina con énfasis en control, diagnostico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de *Anaplasma marginale*. *Vet. México.* 8: 85-98.

Park, S. D. E., Magee, D. A., McGettigan, P. A., Teasdale, M. D., Edwards, C. J., Lohan, A. J., Murphy, A., Braud, M., Donoghue, M. T., Liu, Y., Chambberlain, A. T., Rue-Albrecht, K., Schroeder, S., Spillane, C., Tai, S., Bradley, D. G., Sonstegard, T. S., Loftus, B. J. and MacHugh, D.E. 2015. Genome sequencing of the extinct Eurasian wild aurochs, *bos primigenius*, illuminates the phylogeography and evolution of cattle. *Genome Biology.* 16: 234. DOI 10.1186/s13059-015-0790-2

Parker, J. L., and K. K. White. 1992. Lyme borreliosis in cattle and horses: a review of the literature. *Cornell Vet.* 82: 253-274.

Rodríguez Rojas, J.J., Rodriguez- Moreno, A., Sanchez-Casas, R.M., Hernadez-Escareño, J.J. 2020. Molecular detection of *Leptospira interrogans* and *Borrelia burgdorferi* in wild rodents from Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 20, 860-863.

Rodríguez, S. D., M. A. G. Ortiz, R. J. Ocampo, and C. A. V. Murguía. 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect Genet Evol.* 9: 1092-1101.

Rojas-Martínez, J.A. (1997). Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus var. texanus*) del Noreste de México. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.N.L.

Salinas-Meléndez, J. A., R. Tamez-González, O. Welsh-Lozano, and H. A. Barrera-Saldaña. 1995. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in human skin biopsies and dog synovial fluid by the polymerase chain reaction. *Rev Latinoam Microbiol.* 37: 7-10.

Salinas-Meléndez J. A., R. Avalos-Ramírez, V. M. Riojas-Valdez, A. Martínez-Muñoz. 1999. Serological survey of canine borreliosis. *Rev Latinoam Microbiol.* 41: 1–3. <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-1999/mi991a.pdf>

SIAP, 2023. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Bovinos carne y leche población ganadera 2013-2022.

Skinner-Taylor, C. M., M. S. Flores, J. A. Salinas, K. Arevalo-Niño, L. J. Galán-Wong, Maldonado G, and M. A. Garza-Elizondo. 2016. Antibody profile to *Borrelia burgdorferi* in veterinarians from Nuevo León, Mexico, a non-area of this zoonosis. *Reumatología.* 54: 97–102. <https://doi.org/10.5114/reum.2016.61208>

Solís S S. 1991. Ecología de las garrapatas Boophilus: Perspectivas de un panorama. Memorias del II Seminario Internacional de Parasitología Animal. Garrapatas y enfermedades que transmiten. Morelos, México. Pp. 19-30.

Vigne J. D. 2011. The origins of animal domestication and husbandry: a major change in the history of humanity and the biosphere. *C. R. Biol.* 334: 171- 181. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.009>

Waladde SM, Young AS, Morzaria SP. 1996. Artificial feeding of ixodid ticks. *Parasitol Today.* 12(7):272-278.

Wilfinger W., Mackey K., and Chomezynski P. 1997. Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity. *Bio Techniques.* 22: 474 – 481.

RESUMEN BIOGRÁFICO

José Ángel Ortiz Ramírez

Candidato para el Grado de
Doctor en Ciencias con Acentuación en Entomología Médica.

Tesis: PREVALENCIA DE *Anaplasma marginale* y *Borrelia burgdorferi* EN GARRAPATAS Y EN SUS HOSPEDEROS BOVINOS EN EL ESTADOS DE NUEVO LEÓN.

Campo de Estudio: Entomología Médica.

Datos Personales: Nacido en Monterrey, N. L., el 14 de junio del 1989.

Educación: Médico Veterinario Zootecnista egresado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido en junio del 2011.