

**CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Rickettsia* EN  
GARRAPATAS (Ixodidae) DEL MUNICIPIO DE VILLETA,  
CUNDINAMARCA Y SU RELACIÓN CON LA EPIDEMIOLOGÍA DE  
LA RICKETTSIOSIS EN EL MISMO MUNICIPIO**

**ÁLVARO ADOLFO FACCINI MARTÍNEZ**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS)  
BOGOTÁ, COLOMBIA  
2014**

**CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Rickettsia* EN  
GARRAPATAS (Ixodidae) DEL MUNICIPIO DE VILLETA,  
CUNDINAMARCA Y SU RELACIÓN CON LA EPIDEMIOLOGÍA DE  
LA RICKETTSIOSIS EN EL MISMO MUNICIPIO**

**ÁLVARO ADOLFO FACCINI MARTÍNEZ**

Trabajo de grado para optar al título de  
**MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS)**

Tutor

**MARYLIN HIDALGO, M.Sc., Ph.D.**  
Docente Departamento de Microbiología

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(ÁREA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS)  
BOGOTÁ, COLOMBIA**

**2014**

**CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Rickettsia* EN  
GARRAPATAS (Ixodidae) DEL MUNICIPIO DE VILLETA,  
CUNDINAMARCA Y SU RELACIÓN CON LA EPIDEMIOLOGÍA DE  
LA RICKETTSIOSIS EN EL MISMO MUNICIPIO**

**ÁLVARO ADOLFO FACCINI MARTÍNEZ**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**



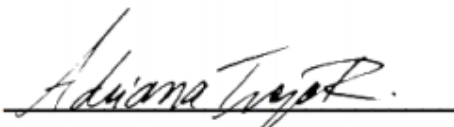
**MARYLIN HIDALGO, M.Sc., Ph.D.**

**Tutor**



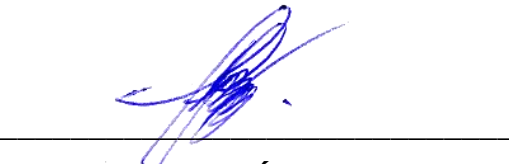
**JOSE M. VENZAL, M.V., Ph.D.**

**Jurado**



**ADRIANA TROYO, Ph.D.**

**Jurado**



**ALFONSO RODRÍGUEZ, M.D., M.Sc., Ph.D. (c)**

**Jurado**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la Resolución No. 13 de Julio de 1946: “La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado”

**CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Rickettsia* EN  
GARRAPATAS (Ixodidae) DEL MUNICIPIO DE VILLETA,  
CUNDINAMARCA Y SU RELACIÓN CON LA EPIDEMIOLOGÍA DE  
LA RICKETTSIOSIS EN EL MISMO MUNICIPIO**

**ÁLVARO ADOLFO FACCINI MARTÍNEZ**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

**CONCEPCION J. PUERTA, Ph.D**

**Decana**

**Facultad de Ciencias**

---

**MANUEL A. FRANCO, M.D., Ph.D**

**Director de Posgrado**

**Facultad de Ciencias**

## DEDICATORIA

A mis papás, mi hermana y Rafa, por el apoyo incondicional durante todo el proceso.

A Marylin Hidalgo por sus enseñanzas, guía y apoyo.

Al Doctor Luis Patiño-Camargo (1891-1978) por ser el pionero en el estudio de las rickettsiosis en Colombia.

“The Rickettsioses follow rickettsiologist” (Merhej et al. 2014)

## AGRADECIMIENTOS

A mis papás, mi hermana y Rafa, por el apoyo incondicional durante todo el proceso.

A Marylin Hidalgo por su confianza en mi y frecuente acompañamiento.

A Colciencias por el aval y el financiamiento del proyecto de investigación “*Caracterización de factores climáticos y ecológicos de una especie de garrapata y su relación con la epidemiología de la rickettsiosis en un área endémica*”, Código 120351929098

Al grupo del Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia por sus enseñanzas, apoyo y colaboración.

A la unidad de desarrollo para el Campo del Municipio de Villeta, en cabeza del Doctor Bejarano, por su invaluable colaboración y apoyo.

Al Hospital Salazar de Villeta, en especial al laboratorio de Microbiología, por su invaluable colaboración y apoyo.

A todos los pacientes involucrados en este estudio por su disposición y colaboración.

A los propietarios y trabajadores de cada una de las fincas del municipio de Villeta visitadas, por su disposición y colaboración.

Al Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, por la clasificación de los mamíferos silvestres capturados.

A mis compañeros y amigos tanto del laboratorio de bacteriología especial como de parasitología, por la colaboración y los buenos momentos.

Al grupo del Laboratorio de Patógenos Especiales del CIBIR en Logroño, España, en cabeza del Doctor Oteo, por la gratificante experiencia de trabajar juntos y de conocer buenos amigos.

Al grupo del Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad de São Paulo, Brasil, en cabeza del Doctor Labruna, por la gratificante experiencia de trabajar juntos y de conocer buenos amigos tanto brasileros como extranjeros (Argentina y Republica Checa).

Al grupo BIOMIGEN de la facultad de medicina veterinaria de la Universidad de la Salle, en cabeza de la Doctora Hernández por el apoyo con las pruebas diagnosticas para *Leptospira*.

A Claudia Cuervo, Alba Alicia Tres Palacios y Hugo Diez, por su apoyo y buenos deseos.

A la Pontificia Universidad Javeriana, por permitir los espacios y condiciones optimas para un adecuado trabajo académico.

A la corporación autónoma regional (CAR) de Villeta y al Ministerio de Medio Ambiente de Colombia, por otorgar los permisos pertinentes para el adecuado desarrollo del proyecto de investigación.



## CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| RESUMEN .....  | 18 |
| ABSTRACT .....   | 20 |
| 1. INTRODUCCIÓN .....  | 22 |
| 2. JUSTIFICACIÓN .....                                       | 24 |
| 3. OBJETIVOS .....   | 25 |
| 3.1. Objetivo General .....                                  | 25 |
| 3.2. Objetivos Específicos .....                             | 25 |
| 4. MARCO TEÓRICO .....                                       | 26 |
| 4.1. Género <i>Rickettsia</i> .....                          | 26 |
| 4.1.1. Historia .....  | 26 |
| 4.1.2. Bacteriología, taxonomía y filogenia .....            | 27 |
| 4.1.3. Patogénesis e inmunología .....                       | 32 |
| 4.1.4. Relación artrópodos y rickettsias .....               | 33 |
| 4.2. Rickettsiosis .....                                     | 35 |
| 4.2.1. Generalidades .....                                   | 35 |
| 4.2.2. Rickettsiosis transmitidas por garrapatas .....       | 43 |
| 4.2.2.1. Generalidades de las garrapatas .....               | 43 |
| 4.2.2.2. Epidemiología general .....                         | 48 |
| 4.2.2.3. Epidemiología en las Américas .....                 | 54 |
| 4.2.2.3.1. Infección por <i>R. rickettsii</i> .....          | 54 |
| 4.2.2.3.2. Infección por <i>R. parkeri</i> .....             | 60 |
| 4.2.2.3.3. Infección por <i>R. massiliae</i> .....           | 64 |
| 4.2.2.3.4. Infección por <i>R. africae</i> .....             | 65 |
| 4.2.2.3.5. Infección por <i>Rickettsia</i> sp. cepa ARF..... | 67 |
| 4.2.2.3.6. Infección por <i>Rickettsia philipii</i> .....    | 69 |
| 4.2.3. Diagnóstico y tratamiento .....                       | 69 |
| 4.2.4. Epidemiología en Colombia .....                       | 73 |

|   |            |
|---|------------|
| <b>5. METODOLOGÍA .....</b>   | <b>74</b>  |
| <b>5.1. Área geográfica del estudio .....</b>   | <b>74</b>  |
| <b>5.2. Muestreo en animales domésticos .....</b>   | <b>76</b>  |
| <b>5.3. Determinación de seropositividad frente al grupo de las<br/>fiebres manchadas en animales domésticos .....</b>  | <b>77</b>  |
| <b>5.4. Clasificación de garrapatas capturadas sobre animales domésticos<br/>en zonas con valores más altos de seropositividad frente el grupo de<br/>las fiebres manchadas .....</b> | <b>78</b>  |
| <b>5.5. Muestreo y clasificación de garrapatas capturadas sobre<br/>mamíferos silvestres y en vida libre .....</b>  | <b>78</b>  |
| <b>5.6. Caracterización molecular de especies de <i>Rickettsia</i> en<br/>garrapatas recolectadas .....</b>   | <b>80</b>  |
| <b>5.7. Seguimiento diagnóstico a los casos humanos de síndrome<br/>febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta .....</b>   | <b>82</b>  |
| <b>6. RESULTADOS .....</b>  | <b>84</b>  |
| <b>6.1. Seropositividad frente a rickettsias del grupo de las<br/>fiebres manchadas en animales domésticos .....</b>  | <b>84</b>  |
| <b>6.2. Especies de garrapatas capturadas sobre animales domésticos<br/>en zonas con valores más altos de seropositividad frente al grupo de<br/>las fiebres manchadas .....</b>      | <b>86</b>  |
| <b>6.3. Especies de garrapatas capturadas sobre mamíferos silvestres y<br/>en vida libre .....</b>  | <b>88</b>  |
| <b>6.4. Especies de <i>Rickettsia</i> en garrapatas recolectadas .....</b>  | <b>89</b>  |
| <b>6.5. Seguimiento diagnóstico a los casos humanos de síndrome<br/>febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta .....</b>   | <b>94</b>  |
| <b>7. DISCUSIÓN .....</b>   | <b>101</b> |
| <b>8. CONCLUSIONES .....</b>  | <b>111</b> |
| <b>9. RECOMENDACIONES .....</b>   | <b>112</b> |
| <b>BIBLIOGRAFIA .....</b>   | <b>114</b> |

## INDICE DE TABLAS

|  |                 |
|--|-----------------|
| <b>Tabla 1:</b> Principales diferencias entre garrapatas de las familias Ixodidae y Argasidae. Basado en Anderson J, et al. 2008 (Anderson & Magnarelli 2008)..  | <b>45</b>       |
| <b>Tabla 2:</b> Especies de <i>Rickettsia</i> relacionadas con el síndrome de rickettsiosis exantemática con baja probabilidad de escara de inoculación y exantema de distribución centripeta (Faccini-Martínez et al. 2014) ..... | <b>50</b>       |
| <b>Tabla 3:</b> Especies de <i>Rickettsia</i> relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y exantema maculopapular/purpúrico (Faccini-Martínez et al. 2014) .....                      | <b>50,51,52</b> |
| <b>Tabla 4:</b> Especies de <i>Rickettsia</i> relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y exantema vesicular (Faccini-Martínez et al. 2014) .....                                    | <b>52</b>       |
| <b>Tabla 5:</b> Especies de <i>Rickettsia</i> relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y linfadenopatía regional (Faccini-Martínez et al. 2014) .....                               | <b>53</b>       |
| <b>Tabla 6:</b> Especies de <i>Rickettsia</i> relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y linfangitis (Faccini-Martínez et al. 2014) .....   | <b>53</b>       |
| <b>Tabla 7:</b> Tratamiento antibiótico de las rickettsiosis (Botelho-Nevers et al. 2012) .....  | <b>72</b>       |
| <b>Tabla 8:</b> Sitios de muestreo definidos para la captura de mamíferos silvestres y garrapatas en vida libre .....  | <b>79</b>       |
| <b>Tabla 9:</b> Protocolos de PCR utilizados a partir del ADN extraído de los grupos de garrapatas .....   | <b>81</b>       |
| <b>Tabla 10:</b> Muestras de caballos seropositivos para anticuerpos IgG contra <i>R. rickettsii</i> (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta .....   | <b>84</b>       |
| <b>Tabla 11:</b> Muestras de caninos seropositivos para anticuerpos IgG contra <i>R. rickettsii</i> (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta .....  | <b>85</b>       |

|   |              |
|---|--------------|
| <b>Tabla 12:</b> Muestras de bovinos seropositivos para anticuerpos IgG contra <i>R. rickettsii</i> (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta .....   | <b>86</b>    |
| <b>Tabla 13:</b> Total de garrapatas capturadas teniendo en cuenta el estadio de las mismas .....   | <b>87</b>    |
| <b>Tabla 14:</b> Grupos de garrapatas evaluadas en este estudio para la presencia de especies de <i>Rickettsia</i> ; noviembre a diciembre de 2011 y julio de 2012, Municipio de Villeta.<br>MIR (siglas en ingles de tasa de infección mínima),<br><sup>a</sup> 28 grupos de <i>A. cajennense</i> s.l. (total de 42 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> , <sup>b</sup> 14 grupos de <i>R. (B). microplus</i> (total de 16 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> ,<br><sup>c</sup> 4 grupos de <i>D. nitens</i> (total de 10 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> , <sup>d</sup> 9 grupos de <i>A. cajennense</i> s.l (total de 51 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> , <sup>e</sup> 17 grupos de <i>R. (B). microplus</i> (total de 229 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> , <sup>f</sup> 8 grupos de <i>Amblyomma</i> sp. (total de 104 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> ,<br><sup>g</sup> 80 grupos ( <sup>a</sup> + <sup>b</sup> + <sup>c</sup> + <sup>d</sup> + <sup>e</sup> + <sup>f</sup> , total de 452 garrapatas) positivos para el gen <i>16s rDNA</i> ..... | <b>93,94</b> |
| <b>Tabla 15:</b> Pacientes con seroconversión única frente a serovares patógenos de <i>Leptospira</i> . En colores y negrilla se resaltan los resultados que demuestran seroconversión; naranja claro (serovar Hardjo), naranja oscuro (serovar Icterohaemorrhagiae), azul claro (serovar Pomona), azul oscuro (serovar Grippotyphosa) y purpura (serovar Canicola) .....   | <b>96</b>    |

**Tabla 16:** Característica demográficas, clínicas y paraclínicas de los 15 pacientes con diagnóstico único probable de rickettsiosis-GFM o en co-infección. Género F (femenino) y M (masculino); Edad (años); C. municipal (cabecera municipal); NE (no especificado), IG (Vereda Ilo Grande); RD (Vereda Rio Dulce); ND (no dato); Síntomas F (fiebre); M (mialgias); A (artralgia); C (cefalea), V (vómito), Da (dolor abdominal); E (exantema); Dr (dolor retrocular); Hc (hiperemia conjuntival); D (diarrea).  
En Negrilla los resultados positivos ..... **98**

**Tabla 17:** Pacientes con seropositividad para rickettsias del GFM, sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas. Zona urbana (urb), No especificado (NE), Cabecera municipal (C. municipal).  
En negrilla y colores azul (*R. rickettsii*) y verde (*R. amblyommii*) se resaltan los resultados de seropositividad; en color naranja claro se resaltan las zonas de procedencia externas al municipio de Villeta ..... **99,100,101**

**Tabla 18:** Pacientes con seropositividad para *A. phagocytophilum*, sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas. No especificado (NE). En negrilla y color azul se resaltan los resultados de seropositividad y en color naranja claro se resaltan las zonas de procedencia externas al municipio de Villeta ..... **101**

## INDICE DE FIGURAS

|   |          |
|---|----------|
| <b>Figura 1:</b> Cultivo de <i>Rickettsia</i> sp. en células vero.<br>Rickettsias (color rojo-rosa), células vero (color azul). Tinción de Giménez,<br>100x. Cortesía de Sonia Santibáñez, CIBIR, Logroño (España), 2013 .....  | 27       |
| <b>Figura 2:</b> Esquema para la clasificación taxonómica <i>Rickettsia</i> sp.<br>a nivel de género y especie. Genes: <i>rrs</i> (16S rDNA); <i>gltA</i> (citrato cintasa);<br><i>ompA</i> (rOmpA); <i>ompB</i> (rOmpB) y <i>sca4</i> (gen D).<br>SPD (por las siglas en ingles de “diferencia en la especificidad<br>en la serotipificación de ratón”) (Raoult et al. 2005) ..... | 29       |
| <b>Figura 3:</b> Inferencia filogenética para <i>Rickettsia</i> spp y <i>O. tsutsugamushi</i><br>basado en quince proteínas. <i>O. tsutsugamushi</i> esta incluido como<br>grupo externo (Fuxelius et al. 2007) .....   | 30       |
| <b>Figura 4:</b> Filogenia rickettsial y potencial patogénico. Cladograma esquemático<br>de todas las especie de <i>Rickettsia</i> reconocidas, obtenido de un árbol<br>consenso construido en base a las secuencias de las proteínas de<br>membrana externa y la citrato cintasa (Merhej et al. 2014) .....  | 31       |
| <b>Figura 5:</b> Escara de inoculación en paciente con rickettsiosis<br>por <i>R. conorii</i> . Cortesía del Dr. José A. Oteo .....   | 36       |
| <b>Figura 6:</b> Distribución geográfica de especies de <i>Rickettsia</i> aisladas a<br>partir de artrópodos (Merhej et al. 2014) .....   | 38       |
| <b>Figura 7:</b> Descubrimiento de especie patógenas del género <i>Rickettsia</i><br>durante la era de la biología molecular. Los años en la línea vertical<br>corresponden al año en el cual determinada especie de <i>Rickettsia</i><br>fue asociada a enfermedad humana (Eremeeva 2012) .....  | 39       |
| <b>Figura 8:</b> Especie de <i>Rickettsia</i> reconocidas como patógenas o con<br>patogenicidad indeterminada. Garrapatas en azul, piojos en negro,<br>pulgas en rojo y ácaros en verde (Merhej & Raoult 2011) .....  | 40,41,42 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 9:</b> <i>Amblyomma cajennense</i> sensu lato (Ixodidae).<br>Larva (superior izquierda), ninfa (inferior izquierda), adulto-macho (central),<br>adulto-hembra (derecha).<br><a href="http://www.tickencounter.org/tick_identification/cayenee_tick">http://www.tickencounter.org/tick_identification/cayenee_tick</a> .....       | <b>44</b> |
| <b>Figura 10:</b> <i>Ornithodoros</i> sp. (Argasidae). Adulto vista ventral (izquierda),<br>adulto vista dorsal (derecha).<br><a href="http://www.lymefight.info/ticks-101/types-of-ticks/">http://www.lymefight.info/ticks-101/types-of-ticks/</a> .....   | <b>44</b> |
| <b>Figura 11:</b> Esquema del ciclo de vida de una garrapata (Ixodidae)<br>de tres hospederos (Parola & Raoult 2001) .....  | <b>47</b> |
| <b>Figura 12:</b> Distribucion geográfica de las principales especies de<br><i>Rickettsia</i> patógenas transmitidas<br>por garrapatas (Faccini-Martínez et al. 2014) .....   | <b>54</b> |
| <b>Figura 13:</b> Algoritmo diagnostico para las<br>rickettsiosis (Faccini-Martínez et al. 2014) .....  | <b>71</b> |
| <b>Figura 14:</b> Ubicación geográfica del municipio de Villeta (Hidalgo et al. 2007) ...   | <b>75</b> |
| <b>Figura 15:</b> División geográfica del municipio de Villeta<br>(Unidad de desarrollo para el campo de Villeta, 2011) .....   | <b>76</b> |
| <b>Figura 16:</b> Ejemplares adultos de las 5 especies de garrapatas capturadas<br>sobre animales domésticos en el estudio. Hembra de<br><i>A. cajennense</i> s.l. (A), Macho de <i>R. (B). microplus</i> (B), Macho de<br><i>A. ovale</i> (C), Hembra de <i>D. nitens</i> (D) y Hembra de<br><i>R. sanguineus</i> (E). Fuente: Autor ..... | <b>88</b> |
| <b>Figura 17:</b> <i>Ixodes luciae</i> . Fase parasítica sobre <i>D. marsupialis</i> (A y B);<br>Hembra vista dorsal (C), Hembra vista ventral (D), Macho vista dorsal (E)<br>y Macho vista ventral (F). Fuente: Autor .....  | <b>89</b> |
| <b>Figura 18:</b> Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de<br>agarosa (previa electroforesis) con bandas de 460pb<br>(tamaño esperado para el gen <i>16s rDNA</i> mitocondrial de garrapata).<br>Fuente: Autor .....   | <b>91</b> |

**Figura 19:** Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de agarosa (previa electroforesis) con bandas de 532pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompA*, Rr190.70p-Rr190.602n) y de 631pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompA*, Rr190.70p-Rr190.701n); PCR semianidada positiva para la muestra “M235” (primera reacción en la parte inferior de la imagen, segunda reacción en la parte superior de la imagen. Fuente: Autor ..... **91**

**Figura 20:** Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de agarosa (previa electroforesis) con bandas de 420pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompB*, rompB SFG IF-rompB SFG IR) y de 511pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompB*, rompB OF-rompB OR); PCR anidada positiva para la muestra “M196” (primera reacción en la parte inferior de la imagen, segunda reacción en la parte superior de la imagen. Fuente: Autor ... **92**



## INDICE DE ANEXOS

|  |            |
|--|------------|
| <b>ANEXO 1: Número de acceso GenBank “M181”:</b>   |            |
| <b>KJ433802 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433802">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433802</a>)</b> .....  | <b>146</b> |
| <b>ANEXO 2: Número de acceso GenBank “M196”:</b>   |            |
| <b>KJ433803 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433803">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433803</a>)</b> .....  | <b>147</b> |
| <b>ANEXO 3: Número de acceso GenBank “M235”:</b>   |            |
| <b>KJ433804 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433804">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433804</a>)</b> .....  | <b>148</b> |
| <b>ANEXO 4: Número de acceso GenBank “M822”:</b>   |            |
| <b>KJ433805 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433805">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433805</a>)</b> .....  | <b>149</b> |
| <b>ANEXO 5: Número de acceso GenBank “M827”:</b>   |            |
| <b>KJ433806 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433806">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433806</a>)</b> .....  | <b>150</b> |
| <b>ANEXO 6: Número de acceso GenBank “M841”:</b>   |            |
| <b>KJ433807 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433807">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KJ433807</a>)</b> .....  | <b>151</b> |
| <b>ANEXO 7: Producción científica #1 “Faccini-Martínez ÁA,</b><br>Forero-Becerra EG, Cortés-Vecino JA, Polo-Teran LJ, Jácome JH,<br>Vargas JJ, Valbuena G, Hidalgo M (2013) Caso probable de fiebre<br>manchada ( <i>Rickettsia felis</i> ) transmitida por pulgas. <i>Biomedica</i> 33:9-13” .....                          | <b>152</b> |
| <b>ANEXO 8: Producción científica #2 “Hidalgo M, Faccini-Martínez A.A,</b><br>Valbuena G (2013) Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las<br>Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el<br>diagnóstico. <i>Biomédica</i> 33:161-78” .....  | <b>157</b> |
| <b>ANEXO 9: Producción científica #3 “Faccini-Martínez AA,</b><br>García-Álvarez L, Hidalgo M, Oteo JA (2014) Syndromic classification<br>of rickettsioses: An approach for clinical practice.<br><i>International Journal of Infectious Diseases (aceptado para publicación)”</i> .....                                     | <b>175</b> |
| <b>ANEXO 10: Producción científica #4 “Faccini-Martínez A.A,</b><br>Costa F.B, Hayama-Ueno T.E, Ramírez-Hernández A, Cortés-Vecino J.A,<br>Labruna M.B, Hidalgo M (2014) <i>Rickettsia rickettsii</i> in<br><i>Amblyomma patinoi</i> , Colombia. <i>Emerging Infectious Diseases</i><br>(en espera de decisión final)” ..... | <b>176</b> |

## RESUMEN

En Colombia, el municipio de Villeta (Cundinamarca) es considerado como una zona endémica para rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas (GFM), dados los casos de mortalidad en humanos por *Rickettsia rickettsii* en el periodo 2003-2004, y las altas tasas de seropositividad frente al GFM tanto en habitantes de zona rural, como en animales domésticos. A pesar de esto, no se conoce la especie o especies de *Rickettsia* que circulan en las garrapatas de este municipio, ni su posible relación con la epidemiología actual de la enfermedad en esta región de Cundinamarca. Es así como el objetivo de este estudio fue caracterizar especies de *Rickettsia* en garrapatas (Ixodidae) procedentes del municipio de Villeta, con el fin de establecer una probable relación con la epidemiología de la rickettsiosis en el mismo municipio.

Se tomaron 254 muestras de suero en animales domésticos (caballos n= 74, caninos n=118 y bovinos n= 62), para la determinación de anticuerpos de tipo IgG contra rickettsias del GFM, mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se capturaron un total de 516 garrapatas (310 en equinos, 126 en caninos y 80 en bovinos), y fueron definidas 17 zonas geográficas en las cuales se capturaron 13 mamíferos silvestres, 27 garrapatas sobre 4 marsupiales y 744 garrapatas en fase de vida libre. Las garrapatas capturadas fueron clasificadas y agrupadas con el fin de extraer ADN y amplificar genes conservados del género *Rickettsia* (*ompA* y *ompB*) mediante PCR; los productos positivos fueron purificados y secuenciados. A su vez, se recolectaron muestras de suero pareadas en pacientes con síndrome febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta, para determinar las posibles causas etológicas, mediante ELISA (IgM) para Dengue en fase aguda, test de microaglutinación (MAT) para *Leptospira* e IFI (IgG) para Rickettsias-GFM, *Anaplasma phagocytophilum* y *Coxiella burnetii* por seroconversión.

La seropositividad frente a rickettsias del GFM fue de 33,7% (caballos), 14,4% (caninos) y 50% (bovinos). Las garrapatas capturadas sobre animales domésticos fueron clasificadas como *Dermacentor nitens* (46,7%), *Rhipicephalus sanguineus* (23,6%), *Amblyomma cajennense* sensu lato (21,3%), *R. (Boophilus) microplus* (8,1%) y *A. ovale* (0,1%). Las garrapatas capturadas sobre los 4 marsupiales fueron clasificadas como *Ixodes luciae* (92,5%) e *Ixodes* sp. (7,4%); y las capturadas en fase de vida libre, clasificadas como *R (B.) microplus* (39,8%), *Amblyomma* sp. (29,8%), *A. cajennense* s.l. (21,8%) y *Dermacentor* sp. (8,6%). Un total de 6 grupos (pooles) de garrapatas fueron positivos para por lo menos uno de los genes rickettsiales evaluados. Mediante la herramienta BLAST, los análisis de las secuencias obtenidas permitieron identificar las siguientes especies de *Rickettsia*: *R. rickettsii* y *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionada con *R. conorii* en *A. cajennense* s.l.; *Candidatus R. amblyommii* y *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionada con *R. monacensis* en *R (B.) microplus*; y *R. rickettsii* en *D. nitens* y *Amblyomma* sp. Por su parte, se obtuvo muestras pareadas en 104 pacientes con síndrome febril agudo, en los cuales se determinó como diagnóstico probable: Leptospirosis (24%), infección por virus Dengue (16%), Rickettsiosis-GFM (2,8%) e infecciones mixtas (28,3%). En el 26,9% no se obtuvo diagnóstico.

En conclusión, es evidente la circulación de especies del género *Rickettsia* tanto en animales domésticos como en garrapatas del municipio de Villeta, Cundinamarca. A si mismo, las rickettsiosis del GFM fueron parte de la etiología del síndrome febril agudo (14,4%) en pacientes que consultaron al Hospital Salazar de Villeta durante el periodo noviembre de 2011 a marzo de 2013.

**Palabras claves:** *Rickettsia* spp., garrapatas, rickettsiosis transmitidas por garrapatas, seropositividad, síndrome febril agudo, Colombia.

## ABSTRACT

In Colombia, Villeta Town (Cundinamarca) is considered endemic zone for Spotted Fever Group (SFG) rickettsioses given the mortality in human cases by *Rickettsia rickettsii* in 2003-2004, and the high rates of seropositivity against SFG in inhabitants of rural areas and domestic animals. In spite of this, the circulating *Rickettsia* species in ticks and its possible relationship with the recent disease epidemiology for this Cundinamarca region is not known. Therefore, the main purpose of this study was to characterize the *Rickettsia* species in ticks (Ixodidae) from Villeta town, with the aim of establishing a probable connection with the rickettsioses epidemiology of the same town.

A number of 254 serum samples were collected for domestic animals (n= 74 horses, n= 118 dogs and n= 62 cattle), and testing by Immunofluorescence Antibody Assay (IFA) for determinate specific IgG antibodies against SFG rickettsiae. A total of 516 ticks (n= 310 in equids, n= 126 in dogs and n= 80 in cattle) were collected, and were defined 17 zones in which were captured a number of 13 wild mammals, 27 ticks removed from 4 marsupials and 744 ticks on vegetation. Ticks were classified and grouped into pools for DNA extraction and tested for rickettsial infection by PCR, targeting the rickettsial *ompA* and *ompB* genes; All PCR products with expected amplicon size were sequenced. Also we took paired serum samples from patients with acute undifferentiated febrile illness that consulted to Hospital Salazar of Villeta, to determine the possible etiological agent using ELISA test (IgM) for Dengue virus in acute disease phase, Microagglutination test (MAT) for *Leptospira*, and IFA (IgG) for SFG-Rickettsiae, *Anaplasma phagocytophilum* and *Coxiella burnetii* (seroconversion).

Seropositivity against SFG was observed in 33.7% of horses, 14.4% of dogs and 50% of cattle. From the total ticks obtained in domestic animals, 46.7% were taxonomic classified as *Dermacentor nitens*, 23.6% as *Rhipicephalus sanguineus*,

21.3% as *Amblyomma cajennense* sensu lato, 8.1% as *R. (Boophilus) microplus* and 0.1% as *A. ovale*. From the total ticks obtained in 4 marsupials, 92.5% were classified as *Ixodes luciae* and 7.4% as *Ixodes* sp; and ticks obtained in vegetation, 39.8% were classified as *R. (B.) microplus*, 29.8% *Amblyomma* sp., 21.8% *A. cajennense* s.l., and 8.6% as *Dermacentor* sp.. Six pools were positive for at least one of the two rickettsial *ompA* or *ompB* genes. The analysis from sequences obtained by BLAST, permitted identification of the following *Rickettsia* species: *R. rickettsii* and *Rickettsia* sp. phylogenetic related with *R. conorii* in *A. cajennense* s.l.; *Candidatus R. amblyommii* and *Rickettsia* sp. phylogenetic related with *R. monacensis* in *R (B.) microplus*; and *R. rickettsii* in *D. nitens* and *Amblyomma* sp. Moreover, we obtained 104 paired serum samples from patients with acute undifferentiated febrile illness, where the probable diagnosis was determined as: Leptospirosis (24%), Dengue virus infection (16%), SFG-Rickettsioses (2.8%) and mixed infections (28.3%). No diagnosis was obtained in 26.9% of the cases.

In conclusion, the presence of *Rickettsia* species in ticks and domestic animals from Villeta town, Cundinamarca is demonstrated. In itself, the SFG-rickettsioses are part of acute undifferentiated febrile illness (14.4%) in patients who attended the Hospital Salazar of Villeta during November 2011 to March 2013.

**Keywords:** *Rickettsia* spp., Ticks, Tick-borne rickettsioses, seropositivity, acute undifferentiated febrile illness, Colombia.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las rickettsiosis son enfermedades infecciosas de carácter zoonótico, causadas por bacterias patógenas del género *Rickettsia* y *Orientia*, transmitidas al hombre a través de artrópodos vectores como garrapatas, pulgas, piojos y ácaros (Renvoisé & Raoult 2009). Actualmente son reconocidas como enfermedades emergentes y re-emergentes alrededor del mundo (Merhej et al. 2014), representando parte de la etiología del síndrome febril agudo, tanto en residentes como en viajeros que retornan de zonas tropicales (Punjabi et al. 2012, Blanton 2013). La epidemiología y distribución geográfica de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas, está estrechamente relacionada con la presencia de sus artrópodos vectores, especialmente cuando estos cumplen el papel de reservorios primarios de la *Rickettsia* (Merhej et al. 2014).

La implementación de métodos de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) con posterior secuenciación, y métodos de cultivo celular de fácil manejo como la técnica del tubo shell-vial, han permitido la caracterización de nuevas especies del género *Rickettsia*, tanto en garrapatas como en muestras clínicas humanas en diferentes regiones del mundo (Parola et al. 2013). Es así como en las Américas durante el siglo XX únicamente eran reconocidas 3 especies causantes de rickettsiosis (*R. rickettsii*, *R. typhi* y *R. prowazekii*), sin embargo en la actualidad, gracias a los métodos diagnósticos nombrados anteriormente, se han logrado caracterizar más de 15 especies, entre patógenas y no patógenas (Hidalgo et al. 2013).

En Colombia, el Doctor Luis Patiño-Camargo fue el pionero en el estudio de estas enfermedades, gracias a sus aportes en la descripción clínica y epidemiológica de la “fiebre de Tobia” en Cundinamarca (1935) (Patino et al. 1937) y el aislamiento de *R. rickettsii* como su agente etiológico (1941) (Patiño-Camargo 1941).

Después de un silencio epidemiológico aproximado de 70 años, se reanudó el interés por estas enfermedades con la descripción de dos casos fatales ocurridos en los años 2003 y 2004, en pacientes procedentes del municipio de Villeta y el corregimiento de Tobia, con diagnóstico confirmado de infección por *R. rickettsii* (Hidalgo et al. 2007a) y posteriormente, en estudios realizados en la misma área geográfica (municipio de Villeta), se demostraron porcentajes de seroprevalencia importantes para rickettsias del GFM en humanos, caninos y equinos (Hidalgo et al. 2007b, Hidalgo et al. 2009).

A pesar de estos antecedentes, no se conoce la especie o especies de *Rickettsia* que circulan en las garrapatas del municipio de Villeta, ni su posible relación con la epidemiología actual de la enfermedad en esta región de Cundinamarca. Es así como el objetivo de este estudio fue caracterizar especies de *Rickettsia* en garrapatas (Ixodidae) procedentes del municipio de Villeta, con el fin de establecer una probable relación con la epidemiología de la rickettsiosis en el mismo municipio.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Desde el área de la medicina humana como de la medicina veterinaria, las garrapatas representan un gran interés, ya que si bien, la picadura por estos artrópodos puede producir cuadros clínicos de parálisis, toxicosis o reacciones alérgicas, su mayor importancia radica en ser reconocidos, después de los mosquitos, como los principales vectores en la transmisión de microorganismos patógenos para el hombre (bacterias, virus, parásitos) (Anderson & Magnarelli 2008, Dantas-Torres et al. 2012). Actualmente las rickettsiosis transmitidas por garrapatas son reconocidas como enfermedades zoonóticas emergentes y re-emergentes alrededor del mundo (Merhej et al. 2014), representando rangos del 2,7-48,5% (Murdoch et al. 2004, Blacksell et al. 2007, Punjabi et al. 2012, Faccini-Martínez et al. 2013a, Arroyave et al. 2013) y del 1,5-5,6% (Leshem et al. 2011, Kotlyar & Rice 2013, Blanton 2013) de la etiología del síndrome febril agudo, tanto en residentes como en viajeros que retornan de zonas tropicales, respectivamente. Algunas de estas enfermedades pueden ser potencialmente mortales si no son tratadas de forma adecuada y oportuna, con tasas de letalidad del 23-85% para el caso de la infección por *R. rickettsii*, siendo la especie más patógena del género, transmitida por garrapatas y restringida geográficamente a las Américas (Hidalgo et al. 2013). En Colombia, a pesar de los brotes recientes de alta letalidad (26-54%) por *R. rickettsii* ocurridos en los departamentos de Cundinamarca, Córdoba y Antioquia (Acosta et al. 2006, Pacheco-García et al. 2008, Hidalgo et al. 2011), las rickettsiosis no son de notificación obligatoria para el sistema de salud colombiano. De esta manera es claro que el hecho de aportar a la caracterización de agentes etiológicos causantes de enfermedades potencialmente mortales enmarcadas dentro del síndrome febril agudo, siendo un diagnóstico frecuente en países tropicales como el nuestro, y el reconocimiento específico de sus vectores en el caso puntual de las rickettsiosis, es de vital importancia para tomar medidas futuras de promoción y prevención en el área de la salud pública.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo General**

Caracterizar especies de *Rickettsia* en garrapatas (Ixodidae) procedentes del municipio de Villeta, Cundinamarca, con el fin de establecer una probable relación con la epidemiología de la rickettsiosis en el mismo municipio.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

**3.2.1.** Determinar la seropositividad para rickettsias del grupo de las fiebres manchadas en animales domésticos.

**3.2.2.** Determinar las especies de garrapatas en fase parasítica de animales domésticos, mamíferos silvestres y en fase de vida libre.

**3.2.3.** Caracterizar molecularmente especies de *Rickettsia* en garrapatas recolectadas.

**3.2.4.** Realizar seguimiento diagnóstico a los casos humanos de síndrome febril agudo que consultaron al hospital Salazar de Villeta, Cundinamarca durante octubre de 2011 a marzo de 2013.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1. Género *Rickettsia*

#### 4.1.1. Historia

Posterior a los estudios realizados en Norte América por Edward Maxey en 1899 sobre una enfermedad febril a la que nombró como “fiebre de Idaho” (Maxey 1899), los patólogos Wilson y Chowning, hicieron los primeros acercamientos a la etiología de la misma en 1902, sugiriendo la presencia de “parásitos” (*Pyroplasma hominis*) que afectaban los capilares sanguíneos de los pacientes afectados (Wilson & Chowning 1904). Cuatro años mas tarde, debido a las altas tasas de mortalidad que causaba esta enfermedad, conocida para la época con el nuevo nombre de fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR), el patólogo Howard T. Ricketts viajó al estado de Montana con el fin de continuar las investigaciones, determinando que se trataba de una enfermedad infecciosa causada por microorganismos transmitidos entre animales silvestres y el hombre, a través de la picadura de garrapatas de la especie *Dermacentor andersoni*, perpetuándose de esta forma en la naturaleza (Ricketts 1907).

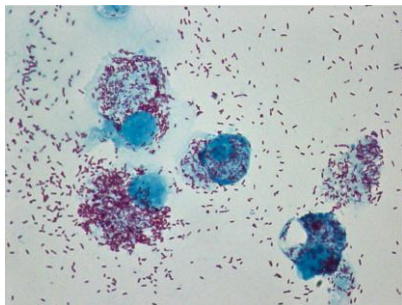
En 1909 Ricketts fue invitado a ciudad de México, donde estudió el “Tabardillo”, el cual consideró como una enfermedad de etiología similar a la FMMR, y finalmente concluyó que se transmitía al hombre por medio del piojo del cuerpo (Ricketts 1909). Para el mismo año, el medico francés Charles Nicolle llegaría a la misma conclusión tras estudios experimentales durante un brote de tifus epidémico en el norte de África, hallazgo que le otorgaría el premio Nobel años mas tarde (Nicolle et al. 1909). El 5 de mayo de 1910 de forma infortunada, Ricketts y tres años mas tarde el bacteriólogo y zoólogo Stanislav von Prowazek, mueren a causa del tifus epidémico mientras intentaban aislar el agente etiológico durante sus investigaciones en México y Serbia, respectivamente (Gross & Schafer 2011). Es así como en honor a estos dos investigadores (Ricketts y Prowazek) y sus valiosos e importantes aportes al estudio de estas enfermedades, el microbiólogo

brasileño Henrique da Rocha-Lima en 1916, después de aislar el microorganismo causante del tifus transmitido por piojos, le dio el nombre de *Rickettsia prowazekii*, siendo posteriormente clasificada como una bacteria intracelular obligada tras los hallazgos de Wolbach en 1922 (Gross & Schafer 2011).

Gracias a estos antecedentes, en la actualidad la comunidad científica avala y reconoce taxonómicamente el orden de los *Rickettsiales*, al cual pertenece la familia Rickettsiaceae, que se subdivide a su vez en los géneros *Rickettsia* y *Orientia* (Raoult et al. 2005).

#### 4.1.2. Bacteriología, taxonomía y filogenia

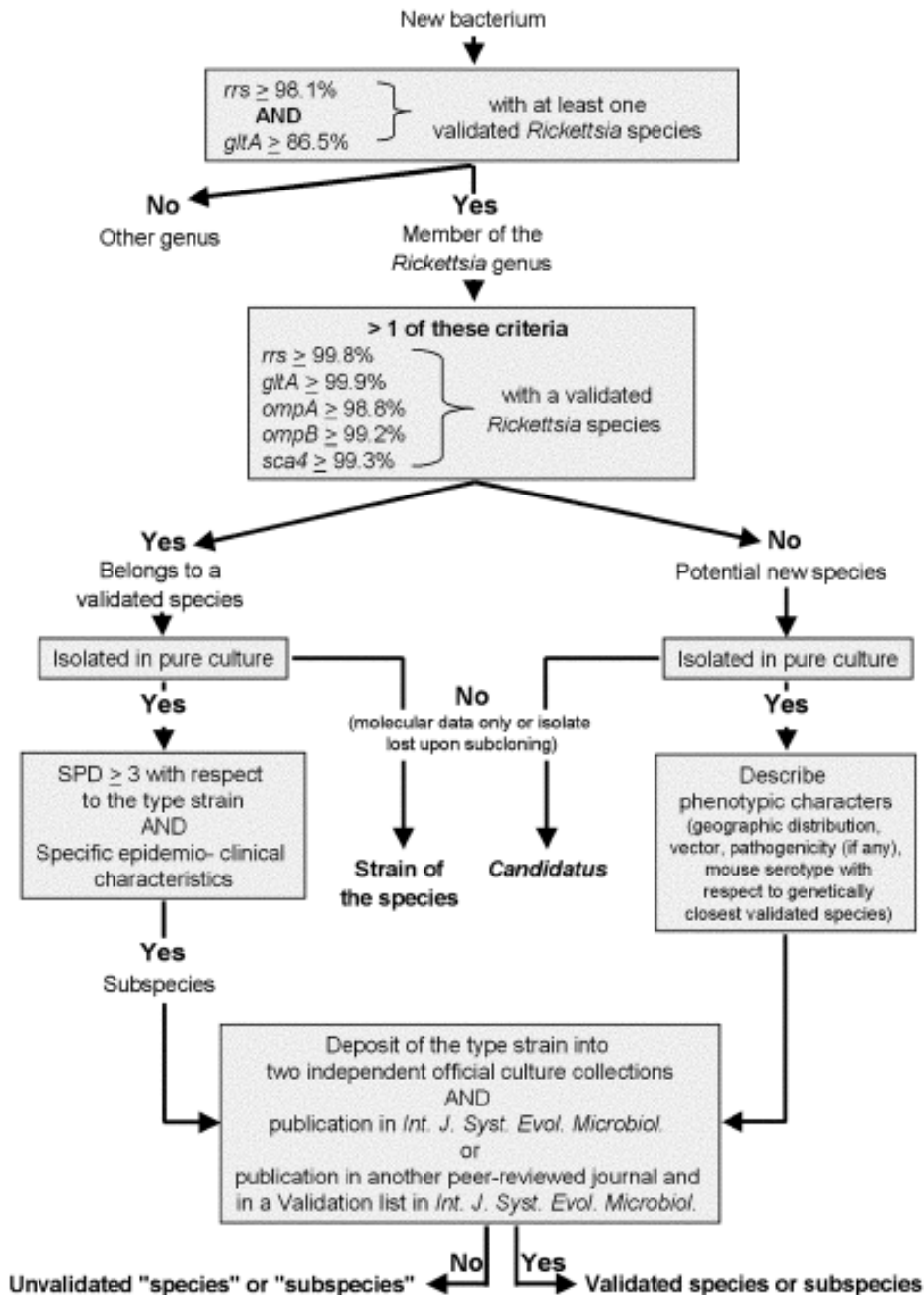
Las bacterias del género *Rickettsia* pertenecen al reino Bacteria; filum *Proteobacteria*; clase  $\alpha$ -proteobacterias; orden *Rickettsiales* y familia Rickettsiaceae (Olano 2005). Se caracterizan por ser pequeños bacilos Gram-negativos (0,3-0,5 x 0,8-2,0  $\mu\text{m}$ ), teñibles por la tinción de Giménez (figura 1), aerobios e intracelulares obligados, los cuales sobreviven y se dividen en las células eucariotas mediante fisión binaria (Xue-Jie & Walker 2006). Su ciclo de vida incluye tanto hospederos vertebrados como invertebrados (artrópodos), los cuales pueden cumplir el papel de vector y/o reservorios primarios para estos microorganismos (Olano 2005).



**Figura 1:** Cultivo de *Rickettsia* sp. en células vero. Rickettsias (color rojo-rosa), células vero (color azul). Tinción de Giménez, 100x. Cortesía de Sonia Santibáñez, CIBIR, Logroño (España), 2013.

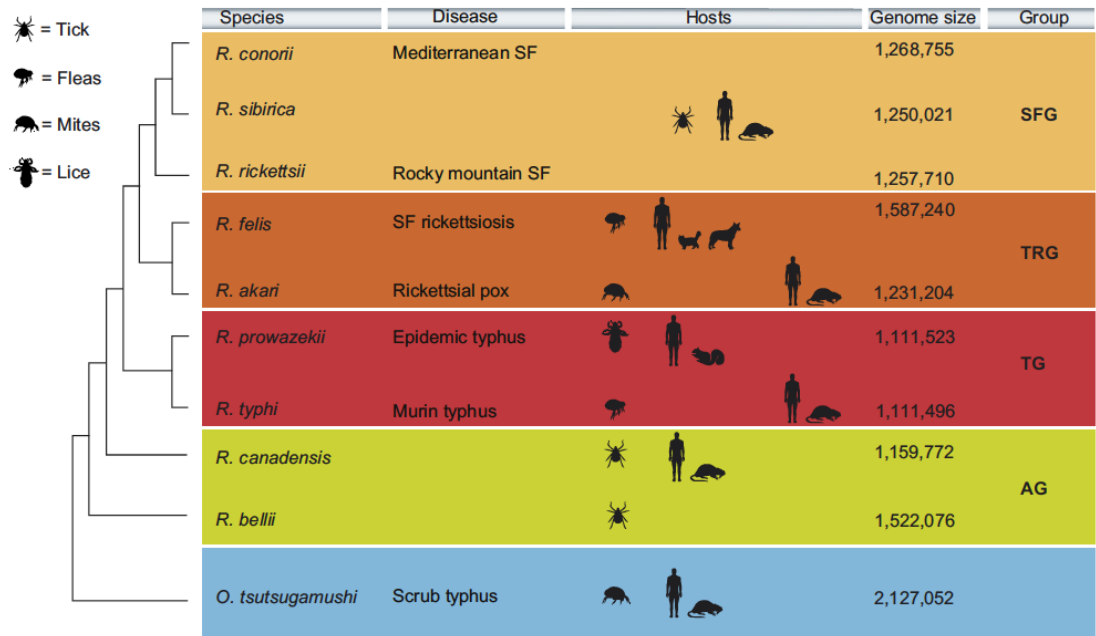
Hasta hace algunos años, las diferentes especies del género *Rickettsia* fueron clasificadas con base en características morfológicas, antigénicas y metabólicas, en tres grupos, de la siguiente manera: 1) Grupo de las fiebres manchadas (GFM), al cual pertenecían las especies transmitidas por garrapatas (*R. rickettsii*, *R. conorii*, entre otras) al igual que *R. felis* y *R. akari*, transmitidas por pulgas y ácaros, respectivamente; con un crecimiento óptimo a 32°C, movimiento intracelular tanto en el citoplasma como en el núcleo a través de polimerización de la actina, reacción cruzada serológica con antígenos somáticos de cepas de *Proteus* OX2 y OX19 (únicamente para *R. rickettsii*) y causantes de fiebres manchadas en humanos. 2) Grupo del tifus (GT), siendo *R. typhi* y *R. prowazekii* las especies representativas; transmitidas por pulgas y piojos, respectivamente, con un óptimo crecimiento a 35°C, ausencia (*R. prowazekii*) o polimerización parcial (*R. typhi*) de actina, reacción cruzada serológica con antígenos somáticos de cepas de *Proteus* OX19 y causantes de tifus en humanos. Y 3) Grupo del tifus de los matorrales, con una única especie (*R. tsutsugamushi*), la cual fue reclasificada posteriormente en el género *Orientia*, también perteneciente a la familia *Rickettsiaceae* (Raoult & Parola 2007a).

Sin embargo, debido a los avances en los métodos de genotipificación, se ha logrado una clasificación más exacta del género *Rickettsia*, basada principalmente en el estudio de las secuencias genéticas (Merhej et al. 2014). De esta manera, porcentajes de similitud superiores a 98,1% y 86,5% para los genes *rrs* (16S rDNA) y *gltA* (proteína citrato sintasa), respectivamente, en relación a especies de *Rickettsia* previamente validadas, determinan que un microorganismo hace parte de este mismo género, y posteriormente, la amplificación y secuenciación de genes más específicos y variables, que codifican proteínas de membrana externa y antígenos de superficie (*ompA*, *ompB*, *sca4*, entre otros), permite la caracterización a nivel de especie y relaciones filogenéticas entre las mismas (Raoult et al. 2005) (Figura 2).

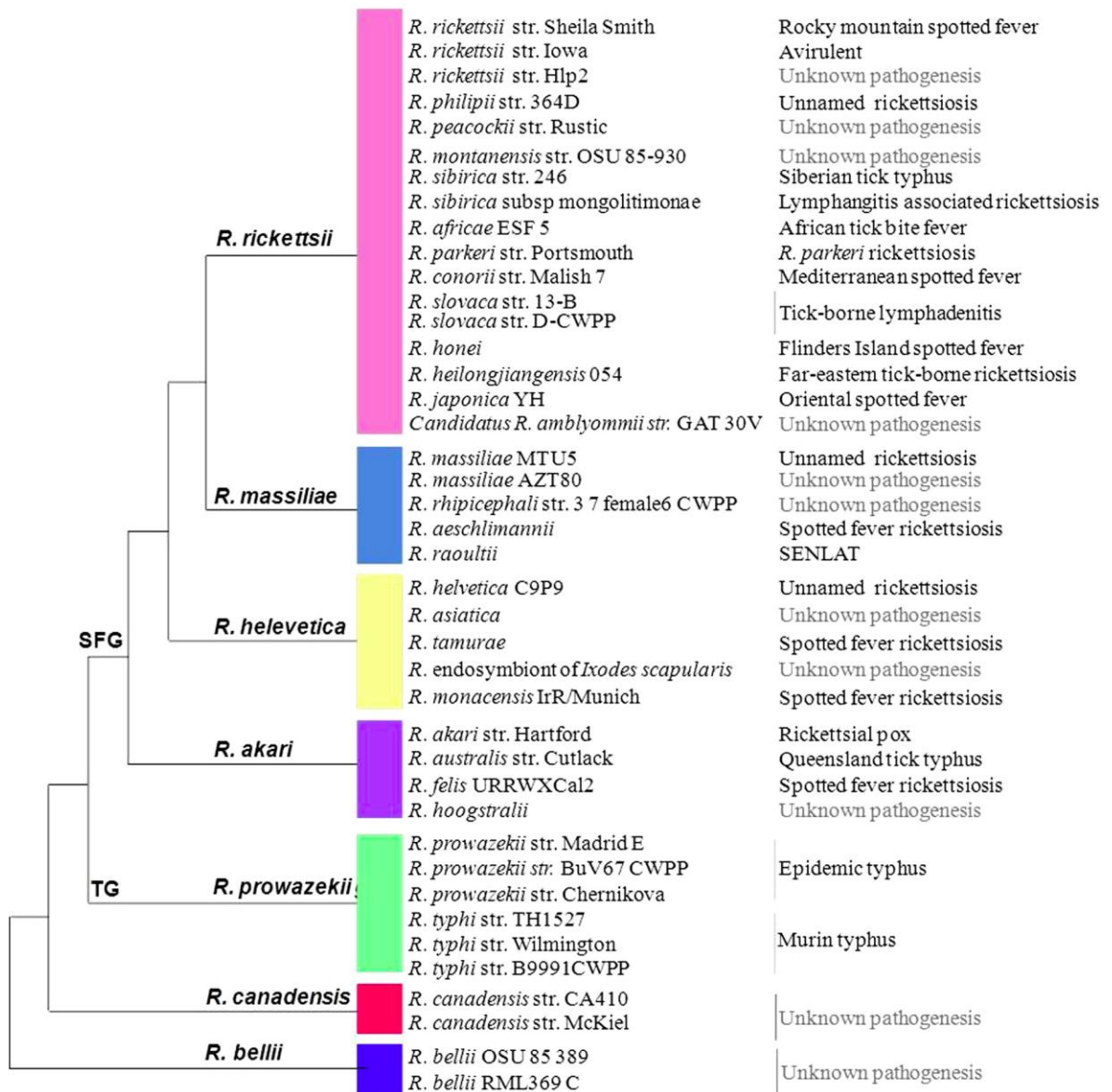


**Figura 2:** Esquema para la clasificación taxonómica *Rickettsia* sp. a nivel de género y especie. Genes: *rrs* (16S rDNA); *gltA* (citrato cintasa); *ompA* (rOmpA); *ompB* (rOmpB) y *sca4* (gen D). SPD (por las siglas en ingles de “diferencia en la especificidad en la serotipificación de ratón”) (Raoult et al. 2005).

Es así como actualmente, con base en análisis filogenéticos, son aceptadas dos clasificaciones para el genero *Rickettsia*. En la primera se describen cuatro grupos: 1) GFM al cual pertenecen especies como *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. sibirica*, entre otras, transmitidas al hombre a través de garrapatas; 2) GT (*R. prowazekii* y *R. typhi*), transmitidas por piojos y pulgas, respectivamente; 3) Grupo transicional-GTr (*R. akari*, *R. felis* y *R. australis*), transmitidas por ácaros, pulgas y garrapatas, respectivamente; y 4) Grupo ancestral-GA (*R. bellii* y *R. canadensis*), relacionadas con garrapatas y sin patogenicidad conocida (Sahni et al. 2013) (Figura 3). La segunda clasificación contempla cuatro grupos, y a su vez describe subgrupos: 1) GFM (subgrupo *R. rickettsii* [17 especies], subgrupo *R. massiliae* [5 especies], subgrupo *R. helvetica* [5 especies] y subgrupo *R. akari* [4 especies]); 2) GT (subgrupo *R. prowazekii* [diferentes cepas de *R. prowazekii* y *R. typhi*]; 3) grupo *R. canadensis*; y 4) grupo *R. bellii* (Merhej et al. 2014) (Figura 4).



**Figura 3:** Inferencia filogenética para *Rickettsia* spp y *O. tsutsugamushi* basado en quince proteínas. *O. tsutsugamushi* esta incluido como grupo externo (Fuxelius et al. 2007).



**Figura 4:** Filogenia rickettsial y potencial patogénico. Cladograma esquemático de todas las especie de *Rickettsia* reconocidas, obtenido de un árbol consenso construido en base a las secuencias de las proteínas de membrana externa y la citrato cintasa (Merhej et al. 2014).

#### 4.1.3. Patogénesis e inmunología

Las especies patógenas del género *Rickettsia* son capaces de infectar al hombre, el cual actúa como un hospedero accidental (a excepción de la infección por *R. prowazekii*), a través de la transmisión por parte de artrópodos vectores (garrapatas, pulgas, piojos y ácaros) durante el proceso de hematofagia (Xue-Jie & Walker 2006).

La inoculación del microorganismo se produce de forma directa desde las glándulas salivares mediante la picadura, en el caso de las rickettsias transmitidas por garrapatas (especies del GFM) y ácaros (*R. akari*), o por medio de la inoculación accidental de heces contaminadas tanto de piojos (*R. prowazekii*) como de pulgas (*R. typhi* y *R. felis*), al entrar en contacto con abrasiones cutáneas o conjuntivas (Xue-Jie & Walker 2006). Dentro del torrente sanguíneo, las células endoteliales son el blanco principal de infección, a excepción de *R. akari* (tropismo por los macrófagos), aunque también otras células se pueden ver afectadas (perivasculares, monocitos y hepatocitos) (Uchiyama 2012). Proteínas como los antígenos de superficie celular (Sca por sus siglas en inglés) y la proteína rickettsial de membrana externa A (rOmpA), actúan como mecanismos de adhesión; sin embargo la rOmpB cumple un papel fundamental al unirse de forma específica al ligando celular Ku70 con el fin de que se inicie el proceso de internalización mediante fagocitosis (Sahni et al. 2013). Dentro del citoplasma, las rickettsias escapan al fagosoma, y en el caso puntual de las especies pertenecientes al GFM, también pueden invadir el núcleo y desarrollar un movimiento intracelular y de dispersión intercelular (posterior replicación por fisión binaria) mediante proteínas polimerizantes de actina como la RickA (asociada al complejo Arp2/3) y Sca2 (Mansueto et al. 2012, Reed et al. 2014). Por el contrario, las especies pertenecientes al GT, aparte de carecer de la rOmpA, no tiene la capacidad de polimerizar actina, por lo cual únicamente se multiplican en el citoplasma (Mansueto et al 2012). La consecuencia final del paso intercelular a través de las células endoteliales (GFM) y la multiplicación excesiva



intracitoplasmática (GT), lleva a la disrupción y daño endotelial directo, lo cual se traduce en una vasculitis de pequeños y medianos vasos, característica patognomónica de la infección por estos microorganismos (Sahni et al. 2013).

Por su parte, el daño endotelial también se ve mediado por factores como la respuesta inmune, a través de la producción de citoquinas proinflamatorias (FNT- $\alpha$  y el INF- $\gamma$ ) y de forma importante por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) y producción de sustancias vasoactivas, con el consecuente estrés oxidativo y cambios en la permeabilidad vascular. traduciéndose en alteraciones de la homeostasis del endotelio, extravasación de líquidos, edemas y exantema, lo cual suele manifestarse en las infecciones severas por especies como *R. rickettsii*, *R. prowazekii* o *R. conorii* (Walker & Ismail 2008, Sahni et al. 2013).

Es de destacar el papel de los receptores TLR-4, ya que cumplen la función de reconocer el LPS rickettsial, con la consecuente activación de las células dendríticas, para inducir el reclutamiento de células NK y la producción de óxido nítrico (ON) a través del INF- $\gamma$ , lo cual se ha relacionado con una adecuada inmunidad protectora y ausencia de desenlaces severos. De igual forma, también se requiere un balance entre la respuesta de tipo TH1 (FNT- $\alpha$ , IL-6, IL-12) y TH2 (IL-10), favoreciendo el aclaramiento rickettsial, disminución del daño tisular, activación de linfocitos (especialmente CD8 citotóxicos) y diferenciación de las células con la consecuente producción de anticuerpos altamente protectores, evitando infecciones futuras (Walker 2007, Mansueto et al. 2012).

#### **4.1.4. Relación artrópodos y rickettsias**

Artrópodos hematófagos del orden Parasitiformes (suborden Gamasida [Mesostigmata] e Ixodida [familia Ixodidae]), Siphonaptera, Anoplura (familia Pediculidae), y Acariformes (suborden Actinedida [familia Trombiculidae]), están implicados en la transmisión vectorial de especies patógenas de la familia

Rickettsiaceae (género *Rickettsia* y *Orientia*) (Parola et al. 2013, Bitam et al. 2010, Badiaga & Brouqui 2012, Fuller 1954, Traub & Wisseman 1974). De esta manera, con base en la clasificación para el género *Rickettsia* descrita en Sahni et al. 2013 (Sahni et al. 2013), diferentes especies de garrapatas de los géneros: *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Ixodes*, *Bothriocroton* y *Hyalomma*, son vectores reconocidos de especies de *Rickettsia* del GFM y *R. australis* (GTr); así como el piojo humano (*Pediculus humanus humanus*) y las pulgas de las especies *Xenopsylla cheopis* y *Ctenocephalides felis* en relación con *R. prowazekii*, *R. typhi* (GT) y *R. felis* (GTr), respectivamente; y el acaro del ratón doméstico (*Liponyssoides sanguineus*) como vector de *R. akari* (GTr) (Parola et al. 2013, Badiaga & Brouqui 2012, Bitam et al. 2010, Fuller 1954). Dicha relación entre especie del GFM y del GT con garrapatas e insectos, respectivamente, se ha fundamentado de forma general, en ensayos de tropismo celular donde se evidencia que las especies del GFM presentan un adecuado crecimiento tanto en células mamíferas (Vero, ECV304) como en líneas celulares de garrapata (DSLBE3, ISE6), y un crecimiento restringido en líneas celulares de insecto (AeA12); de forma contraria a las especies del GT, con crecimiento óptimo en células mamíferas/líneas celulares de insecto y restringido en líneas celulares de garrapata (Uchiyama 2012). De forma importante, cabe resaltar el proceso de “interferencia rickettsial” donde especies no patógenas o con patogenicidad reducida, tienen un efecto negativo y deletéreo sobre especies patógenas, cuando ambas conviven en un micro-habitad (artrópodo), perpetuándose la primera especie (Merhej et al. 2014).

La forma de infección en estos artrópodos por parte de bacterias de la familia Rickettsiaceae, se presenta a través de la transmisión vertical o mediante el proceso de co-alimentación, siendo este último, el momento en que varios individuos llevan a cabo, al mismo tiempo, y de manera muy cercana, su proceso de hematofagia sobre un mismo hospedero coincidiendo con la presencia del microorganismo en el sitio de la picadura (Merhej et al. 2014). A su vez, cuando se

presenta una transmisión vertical eficiente del microorganismo, tanto en forma transtadial (perpetuación de la infección a través de los diferentes estadios), como transovariana (de la madre a su progenie), se considera que el artrópodo, además de su papel vectorial, también es reservorio del patógeno bacteriano (Merhej & Raoult 2011). Sin embargo, en este ciclo vector-rickettsia, suelen intervenir los animales, en especial mamíferos silvestres, como hospederos para el artrópodo y en algunos casos, como hospederos amplificadores, al permitir la multiplicación en sangre del microorganismo (rickettsemia), perpetuando su ciclo de vida (Labruna 2009). La excepción a esta regla se presenta en la ecología del tifus epidémico transmitido por piojos, donde el hombre se comporta como único hospedero de *R. prowazekii* (Sahni et al. 2013).

Recientemente, gracias a la evidencia molecular de *R. felis* en mosquitos de los géneros *Anopheles* y *Aedes*, y la estrecha relación epidemiológica entre casos humanos de rickettsiosis por esta especie y casos de infección por *Plasmodium* (Malaria) en África, se ha sugerido que estos mosquitos podrían ser vectores potenciales de *R. felis* (Mediannikov et al. 2013).

## **4.2. Rickettsiosis**

### **4.2.1. Generalidades**

Las rickettsiosis son enfermedades infecciosas de carácter zoonótico, causadas por bacterias patógenas del género *Rickettsia* y *Orientia*, transmitidas al hombre a través de artrópodos vectores (Renvoisé & Raoult 2009). De esta manera, para que una especie de la familia Rickettsiaceae sea considerada como un patógeno humano, debe aislarse o detectarse molecularmente en sangre o tejidos provenientes de un paciente con manifestaciones clínicas sugestivas de rickettsiosis, el cual a su vez, debe presentar seroconversión contra estos microorganismos mediante pruebas diagnósticas de referencia (Merhej et al. 2014).

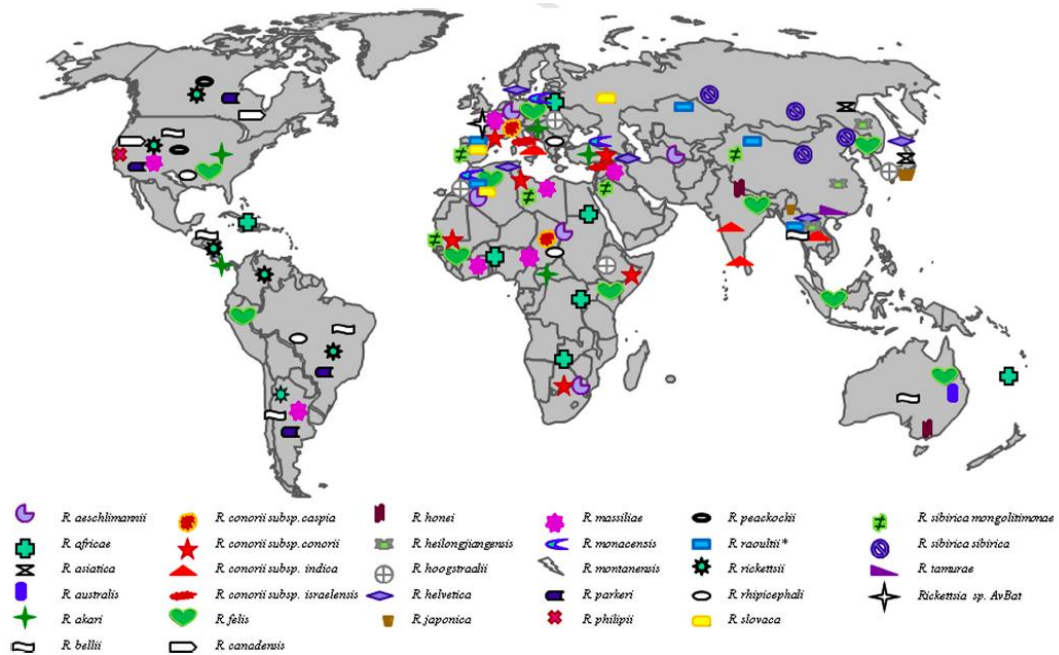
Desde el punto de vista clínico y de forma general, estas enfermedades presentan signos y síntomas comunes tales como fiebre, exantema, linfadenopatía y escara de inoculación (*tache noire*), siendo esta última definida como una lesión costrosa-necrótica con halo eritematoso circundante, la cual indica el sitio de inoculación del agente rickettsial (Figura 5) (Renvoisé & Raoult 2009). Teniendo en cuenta estas manifestaciones clínicas comunes, donde las diferentes especies de la familia Rickettsiaceae pueden producirlas en mayor o menor proporción que otras, y la definición de “síndrome” como un conjunto de signos y síntomas que caracterizan a una enfermedad con múltiples causas o etiologías (situación aplicable a las rickettsiosis), recientemente propusimos una clasificación sindrómica de las rickettsiosis, en la cual se contemplan dos grandes síndromes (síndrome de rickettsiosis exantemática con baja probabilidad de escara de inoculación y el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación con sus respectivas variantes), con el fin de proporcionar un enfoque clínico del posible agente etiológico, teniendo en cuenta a su vez, el área geográfica de procedencia y el vector involucrado (Faccini-Martínez et al. 2014).



**Figura 5:** Escara de inoculación en paciente con rickettsiosis por *R. conorii*. Cortesía del Dr. José A. Oteo.

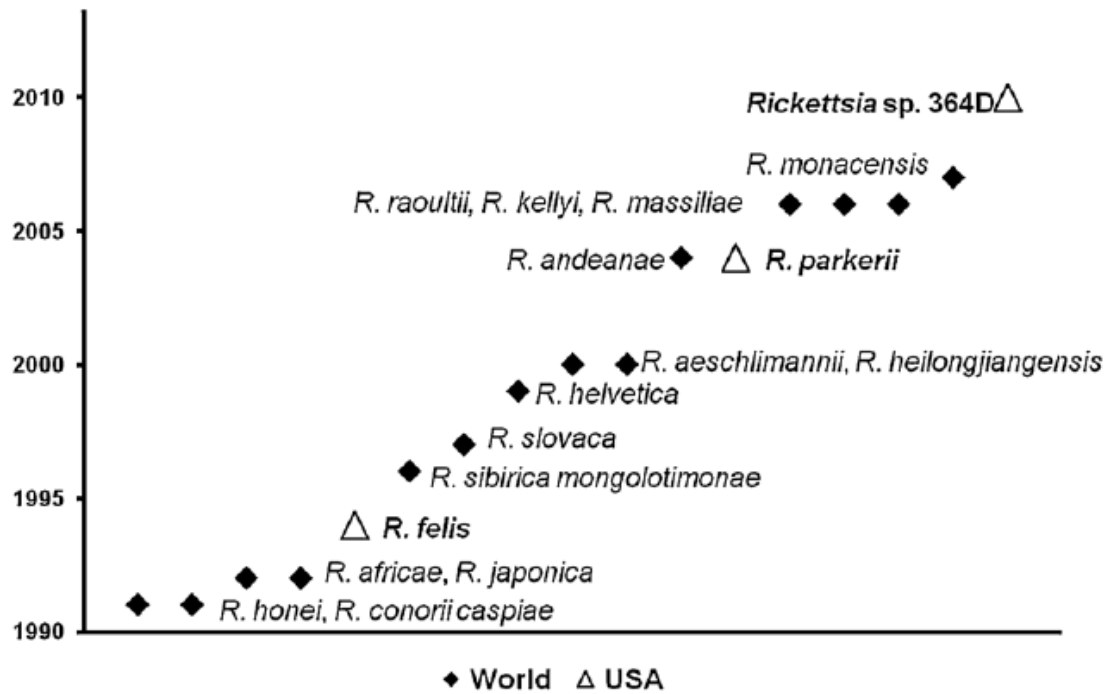
Actualmente las rickettsiosis son reconocidas como enfermedades zoonóticas emergentes y re-emergentes alrededor del mundo (Merhej et al. 2014), representando rangos del 2,7-48,5% (Murdoch et al. 2004, Blacksell et al. 2007, Punjabi et al. 2012, Faccini-Martínez et al. 2013a, Arroyave et al. 2013) y del 1,5-5,6% (Leshem et al. 2011, Kotlyar & Rice 2013, Blanton 2013) de la etiología del síndrome febril agudo, tanto en residentes como en viajeros que retornan de zonas tropicales, respectivamente. Algunas de estas enfermedades pueden ser potencialmente mortales si no son tratadas de forma adecuada y oportuna (Sahni et al. 2013).

La epidemiología de estas enfermedades se encuentra estrechamente relacionada con la presencia, en determinadas zonas geográficas, del vector específico, un posible hospedero amplificador, y algunas condiciones ecológicas y/o sociales que facilitan la exposición del ser humano a los artrópodos vectores (Merhej et al. 2014). Es así como algunas especies de *Rickettsia*, en especial las transmitidas por garrapatas, se restringen geográficamente gracias a la distribución de su vector, como es el caso de *R. rickettsii*, limitada al continente americano, o *R. conorii*, distribuida únicamente en los países alrededor del mar mediterráneo y del mar negro (Parola et al. 2013). Por su parte, especies como *R. typhi* y *R. felis* presentan una distribución mundial, gracias a la presencia cosmopolita de sus vectores (pulgas de las especies *Xenopsylla cheopis* y *Ctenocephalides felis*, principalmente) (Bitam et al. 2010, Peniche-Lara et al. 2012). La figura 6 muestra de forma general, la distribución geográfica de las principales especies de *Rickettsia* aisladas a partir de artrópodos (Merhej et al. 2014).



**Figura 6:** Distribución geográfica de especies de *Rickettsia* aisladas a partir de artrópodos (Merhej et al. 2014).

Con la implementación de la biología molecular y la optimización de las técnicas de cultivo celular (principalmente por el método Shell-vial), en los últimos 25 años ha aumentado notablemente el número de nuevas especies del género *Rickettsia* reconocidas como patógenas para el hombre (más de 30) y en consecuencia se ha logrado un mejor diagnóstico de las mismas alrededor del mundo (Eremeeva 2012, Parola et al. 2013). La figura 7 ilustra el descubrimiento a través del tiempo, de especies patógenas del género *Rickettsia* durante la era de la biología molecular (Eremeeva 2012); y la Figura 8 muestra las principales especies del género *Rickettsia* patógenas o con patogenicidad indeterminada en relación con sus vectores reconocidos o probables, y la enfermedad asociada (Merhej & Raoult 2011).



**Figura 7:** Descubrimiento de especie patógenas del género *Rickettsia* durante la era de la biología molecular. Los años en la línea vertical corresponden al año en el cual determinada especie de *Rickettsia* fue asociada a enfermedad humana (Eremeeva 2012).

|  | Vector   | Disease   |
|--|--|---|
| Pathogenic rickettsiae                         |  |   |
| <i>R. prowazekii</i>                           | - <i>Pediculus humanus</i><br>- <i>Orchopeas howardii</i><br>- <i>Amblyomma cajennense</i>   | Epidemic typhus, Brill-zinsser disease  |
| <i>R. typhi</i>                                | - <i>Xenopsylla cheopis</i><br>- <i>Ctenocephalides felis</i><br>- <i>Leptopsylla segnis</i>   | Endemic murine typhus   |
| <i>R. conorii</i> subsp. <i>conorii</i>        | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i><br>- <i>Haemaphysalis leachii</i>  | Mediterranean spotted fever   |
| <i>R. conorii</i> subsp. <i>israelensis</i>    | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i><br>- <i>Amblyomma maculatum</i>  | Israel tick typhus  |
| <i>R. conorii</i> subsp. <i>caspia</i>         | - <i>Rhipicephalus pumilio</i><br>- <i>Rhipicephalus sanguineus</i>  | Astrakham fever   |
| <i>R. conorii</i> subsp. <i>indica</i>         | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i>  | Indian tick typhus  |
| <i>R. sibirica</i> subsp. <i>sibirica</i>      | - <i>Dermacentor nutalli</i><br>- <i>Dermacentor marginatus</i><br>- <i>Dermacentor silvarum</i><br>- <i>Dermacentor pictus</i><br>- <i>Dermacentor sinicus</i><br>- <i>Dermacentor auratus</i><br>- <i>Haemaphysalis concinna</i> * | Siberian tick typhus  |
| <i>R. sibirica</i> subsp. <i>Mongolitimona</i> | - <i>Hyalomma asiaticum</i><br>- <i>Hyalomma truncatum</i>   | Lymphangitis-associated rickettsioses   |
| Astrakhan fever<br><i>Rickettsia</i>           | - <i>Rhipicephalus pumilio</i>   | Astrakhan fever   |
| <i>R. heilongjiangensis</i>                    | - <i>Dermacentor silvarum</i><br>- <i>Haemaphysalis japonica douglasi</i><br>- <i>Haemaphysalis concinna</i>   | Far-eastern tick-borne rickettsiosis  |
| <i>R. australis</i>                            | - <i>Ixodes holocyclus</i><br>- <i>Ixodes tasmani</i><br>- <i>Ixodes cornuatus</i>   | Queensland tick typhus  |
| <i>R. japonica</i>                             | - <i>Haemaphysalis flava</i><br>- <i>Haemaphysalis longicornis</i><br>- <i>Dermacentor taiwanensis</i><br>- <i>Ixodes ovatus</i>   | Japanese or Oriental spotted fever  |
| <i>R. honei</i>                                | - <i>Aponomma hydrosauri</i><br>- <i>Ixodes granulatus</i>   | Flinders Island spotted fever   |
| <i>R. marmionii</i>                            | - <i>Haemaphysalis novaeguinae</i><br>- <i>Ixodes holocyclus</i>   | Australian spotted fever  |
| <i>R. slovaca</i>                              | - <i>Dermacentor marginatus</i><br>- <i>Dermacentor reticulatus</i>  | Tick-borne lymphadenopathy (Tibola) and Dermacentor-borne-necrosis-erythema-lymphadenopathy (DEBONEL) |
| <i>R. aeschlimannii</i>                        | - <i>Hyalomma m. marginatum</i><br>- <i>Hyalomma m. rufipes</i><br>- <i>Rhipicephalus appendiculatus</i><br>- <i>Haemaphysalis punctata</i>  | Tick-transmitted disease  |

La figura 8 continúa en la siguiente página



|  |  |   |
|--|--|---|
| <i>R. felis</i>  | - <i>Ctenocephalides felis</i><br>- <i>Ctenocephalides canis</i><br>- <i>Archeopsylla erinacei</i><br>- <i>Pulex irritans</i><br>- <i>Xenopsylla cheopis</i><br>- <i>Anomiopsyllus nudata</i>  | Flea-borne spotted fever  |
| <i>R. akari</i>  | - <i>Allodermanyssus sanguineus</i><br>- <i>Liponyssoides sanguineus</i>   | Rickettsial pox   |
| <i>R. australis</i>  | - <i>Ixodes holocyclus</i><br>- <i>Ixodes tasmani</i><br>- <i>Ixodes cornuatus</i>   | Queensland tick typhus  |
| <i>R. parkeri</i>  | - <i>Amblyomma maculatum (triste)</i><br>- <i>Amblyomma americanum</i>   | Tick-transmitted disease skin lesions and lymphadenitis   |
| <i>R. massiliae</i>  | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i><br>- <i>Rhipicephalus turanicus</i><br>- <i>Rhipicephalus mushamae</i><br>- <i>Rhipicephalus lunulatus</i><br>- <i>Rhipicephalus sulcatus</i>  | Spotted fever   |
| <i>R. rickettsii</i>   | - <i>Dermacentor andersoni</i><br>- <i>Dermacentor variabilis</i><br>- <i>Rhipicephalus sanguineus</i><br>- <i>Amblyomma cajennense</i><br>- <i>Amblyomma aureolatum</i>   | Rocky Mountain spotted fever, American spotted fever, or tick typhus  |
| <i>R. africae</i>  | - <i>Amblyomma hebraeum</i><br>- <i>Amblyomma variegatum</i><br>- <i>Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus</i>   | African tick bite fever   |
| <i>R. raoultii</i>   | - <i>Dermacentor nutallii</i><br>- <i>Dermacentor silvarum</i><br>- <i>Dermacentor reticulatus</i><br>- <i>Dermacentor marginatus</i><br>- <i>Dermacentor niveus</i>   | R. slovaca-like infection   |
| <b>Rickettsiae of possible or undetermined pathogenicity</b> |  |   |
| <i>R. bellii</i>   | - <i>Dermacentor variabilis</i><br>- <i>Dermacentor andersoni</i><br>- <i>Dermacentor occidentalis</i><br>- <i>Dermacentor albopictus</i><br>- <i>Haemaphysalis leporipalustris</i><br>- <i>Ornithodoros concanensis</i><br>- <i>Argas cooleyi</i><br>- <i>Amblyomma cooperi</i><br>- <i>Amblyomma aureolatum</i><br>- <i>Amblyomma dubitatum</i><br>- <i>Amblyomma humerale</i><br>- <i>Amblyomma rotundatum</i><br>- <i>Amblyomma oblongoguttatum</i><br>- <i>Amblyomma sculpturatum</i><br>- <i>Amblyomma ovale</i><br>- <i>Ixodes loricatus</i><br>- <i>Haemaphysalis juxtakochi</i> | N.D.  |
| <i>R. canadensis</i>   | - <i>Haemaphysalis leporispalustris</i><br>- <i>Dermacentor andersoni</i><br>- <i>Dermacentor variabilis</i><br>- <i>Amblyomma americanum</i>  | Rocky Mountain spotted fever (RMSF)-like disease in USA (?)<br>Suspected cause of acute cerebral vasculitis in Ohio |

La figura 8 continúa en la siguiente página

|  |  |   |
|--|--|---|
| <i>R. helvetica</i>                                    | - <i>Ixodes ricinus</i><br>- <i>Ixodes ovatus</i><br>- <i>Ixodes persulcatus</i><br>- <i>Ixodes monospinosus</i>               | Tick-transmitted disease<br>Headache and myalgias, and less frequently with rash or an eschar<br>Perimyocarditis (?)<br>Cardiac valve pathology (?),<br>sarcoidosis (?) |
| <i>R. montanensis</i><br>(formerly <i>R. montana</i> ) | - <i>Dermacentor variabilis</i><br>- <i>Dermacentor andersoni</i>  | N.D.  |
| <i>R. asiatica</i>                                     | - <i>Ixodes ovatus</i>   | N.D.  |
| <i>R. tamurae</i>                                      | - <i>Amblyomma testudinarium</i>   | Suspected cause of acute illness in Laos  |
| <i>R. amblyommii</i>                                   | - <i>Amblyomma americanum</i><br>- <i>Amblyomma cajennense</i><br>- <i>Amblyomma coelebs</i><br>- <i>Amblyomma longirostre</i> | Suspected cause of "Texas tick fever", "lone star fever", bullis fever  |
| <i>R. rhipicephali</i>                                 | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i>  | N.D.  |
| <i>R. monacensis</i>                                   | - <i>Ixodes ricinus</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. barbariae</i>                         | - <i>Rhipicephalus turanicus</i>   | N.D.  |
| Candidatus <i>R. paecockii</i>                         | - <i>Dermacentor andersoni</i>   | N.D.  |
| Candidatus <i>R. kotlanii</i>                          | - <i>Haemaphysalis concina</i>   | N.D.  |
| Candidatus <i>R. kulagini</i>                          | - <i>Rhipicephalus sanguineus</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. uilenbergi</i>                        | - <i>Amblyomma thollini</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. andeanae</i>                          | - <i>Amblyomma maculatum</i><br>- <i>Ixodes boliviensis</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. tarasevichiae</i>                     | - <i>Ixodes persulcatus</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. gravesii</i>                          | - <i>Amblyomma triguttatum</i>   | N.D.  |
| Candidatus <i>R. antechini</i>                         | - <i>Ixodes persulcatus</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. principis</i>                         | - <i>Haemaphysalis japonica</i><br>- <i>Haemaphysalis sulcata</i>  | N.D.  |
| Candidatus <i>R. rara</i>                              | - <i>Haemaphysalis concinna</i>  | N.D.  |

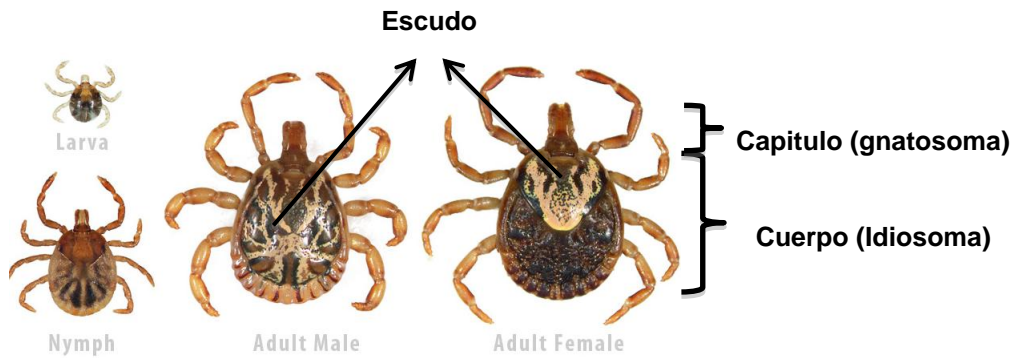
**Figura 8:** Especie de *Rickettsia* reconocidas como patógenas o con patogenicidad indeterminada. Garrapatas en azul, piojos en negro, pulgas en rojo y ácaros en verde (Merhej & Raoult 2011).

## **4.2.2. Rickettsiosis transmitidas por garrapatas**

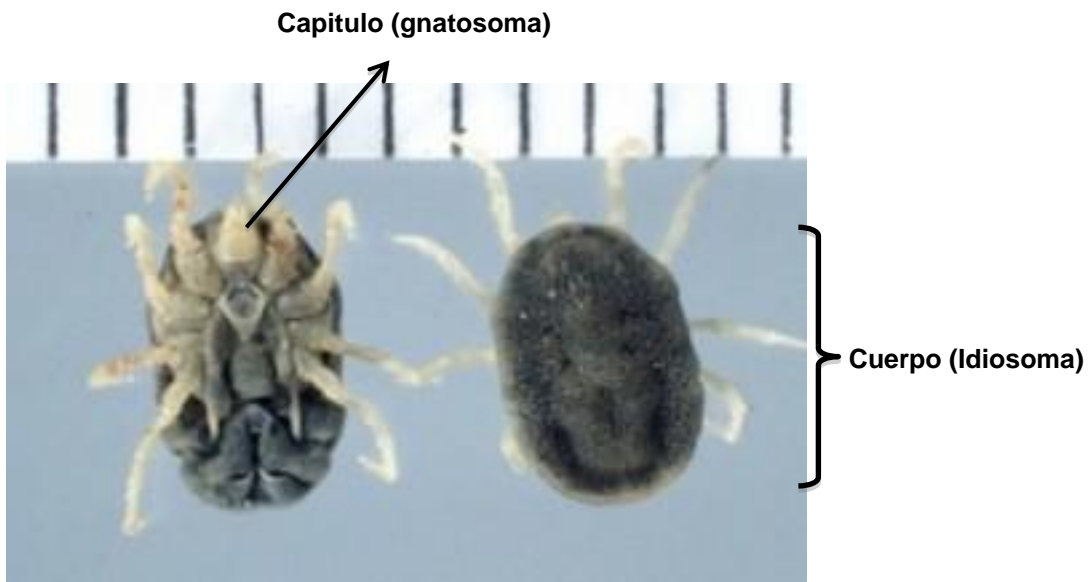
### **4.2.2.1. Generalidades de las garrapatas**

Las garrapatas son artrópodos pertenecientes a la clase Arácnida, subclase Acari, orden Parasitiformes, y suborden Ixodida (Anderson & Magnarelli 2008). Su morfología se caracteriza por la presencia de una región anterior llamada capítulo (gnatosoma), donde se encuentran las piezas bucales, y una posterior o cuerpo (idiosoma) al cual están fusionadas las patas (6 en el caso de los estadios larvales y 8 en las ninfas y adultos) (Anderson & Magnarelli 2008). Actualmente son reconocidas un total aproximado de 900 especies alrededor del mundo, distribuidas en tres familias: Ixodidae ( $\approx$  700 especies), Argasidae ( $\approx$  190 especies) y Nuttalliellidae (1 especie); esta última presente únicamente en África y sin relevancia clínica (Guglielmone et al. 2010, Estrada-Peña et al. 2012, Dantas-Torres et al. 2012).

La familia Ixodidae o “garrapatas de cuerpo duro” se caracterizan por presentar el capítulo en posición anterior en todos sus estadios, un idiosoma con cutícula endurecida, y la presencia de un escudo en la región dorsal, el cual se ubica en la porción anterior en los estadios inmaduros (larvas y ninfas) y hembras; y cubriendo todo el idiosoma en los machos (Figura 9) (Anderson & Magnarelli 2008). Por el contrario las garrapatas de la familia Argasidae o de “cuerpo blando” presentan el capítulo en posición subterminal (excepto en el estadio larval donde es anterior), un idiosoma con cutícula flexible y ausencia de escudo (Figura 10) (Anderson & Magnarelli 2008). En la tabla 1 se describen las principales diferencias entre las familias Ixodidae y Argasidae.



**Figura 9:** *Amblyomma cajennense* sensu lato (Ixodidae). Larva (superior izquierda), ninfa (inferior izquierda), adulto-macho (central), adulto-hembra (derecha). [http://www.tickencounter.org/tick\\_identification/cayenee\\_tick](http://www.tickencounter.org/tick_identification/cayenee_tick)



**Figura 10:** *Ornithodoros* sp. (Argasidae). Adulto vista ventral (izquierda), adulto vista dorsal (derecha). <http://www.lymefight.info/ticks-101/types-of-ticks/>

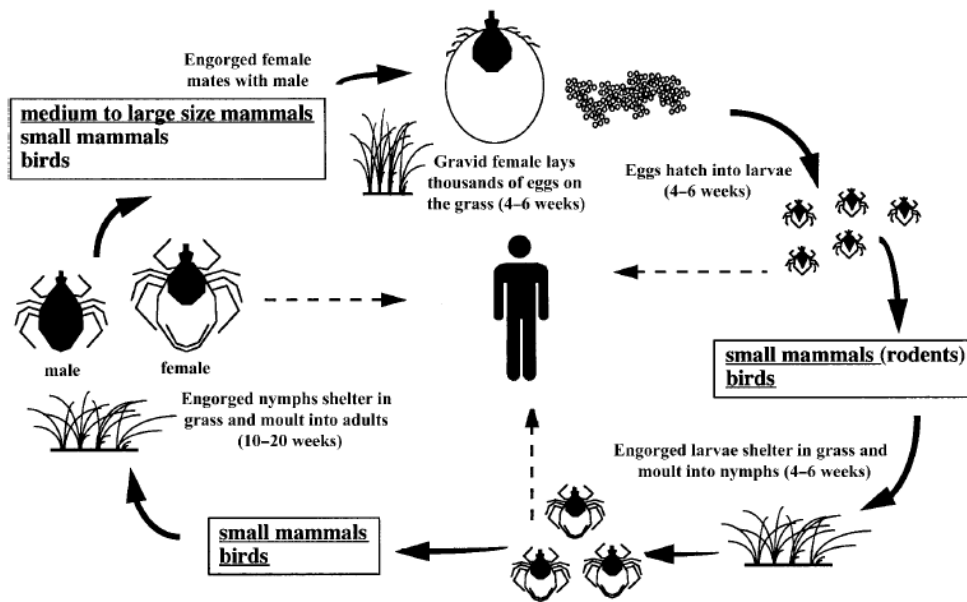
**Tabla 1:** Principales diferencias entre garrapatas de las familias Ixodidae y Argasidae. Basado en Anderson JF, et al. 2008 (Anderson & Magnarelli 2008).

| <b>Características</b>                                 | <b>Ixodidae (cuerpo duro)</b>  | <b>Argasidae (cuerpo blando)</b>   |
|--|--|--|
| <b>Aspectos morfológicos</b>                           |  |  |
| Capítulo   | Visible en vista dorsal  | No visible en vista dorsal (únicamente en vista ventral)                         |
| Escudo   | Presente   | Ausente  |
| <b>Ecología</b>  |  |  |
| Hábitats   | Ambientes abiertos (excepto especies nidícolas)  | Ambientes cerrados (nidos, madrigueras, cuevas, etc.)                            |
| Actividad estacionaria                                 | Presente   | Ausente  |
| Comportamiento de búsqueda de hospedero                | Activo   | Nidícola (en el hábitat de sus hospederos)                                       |
| Hospederos   | Usualmente 3 hospederos (1 por estadio)  | Usualmente patrón de alimentación multi-hospedero                                |
| Periodo de vida  | Varios meses hasta 3 años; menor resistencia a la desecación   | Usualmente mas de 10 años; alta resistencia a la desecación                      |
| <b>Aspectos biológicos</b>                             |  |  |
| Estadios ninfales                                      | Uno  | Varios   |
| Alimentación   | Cada estadio se alimenta lentamente (varios días) y una sola vez   | Ninfas y adultos se alimentan rápidamente (minutos a pocas horas) y varias veces |
| <b>Enfermedades bacterianas transmitidas al hombre</b> | Rickettsiosis transmitidas por garrapatas, Ehrlichiosis, Anaplasmosis, Borreliosis de Lyme, entre otras. | Borreliosis de las fiebres recurrentes   |

Al ser hematófagos obligados, cumplen el papel de ectoparásitos, al alimentarse sobre mamíferos, aves, reptiles y anfibios, hecho necesario para la muda o cambio entre estadios (Anderson & Magnarelli 2008). El ciclo de vida, de forma general, inicia con la eclosión de los huevos (previa oviposición por parte de un adulto-hembra), dando origen a las larvas (primer estadio inmaduro), las cuales, posterior a un periodo de alimentación sobre hospedero, se desprenden para realizar la muda al siguiente estadio inmaduro (ninfas) (Anderson & Magnarelli 2008). En garrapatas de la familia Ixodidae se presenta un único estadio ninfal, mientras que en las Argasidae, pueden presentarse hasta 8 estadios ninfales (Anderson & Magnarelli 2008). A su vez, al igual que las larvas, las ninfas también cumplen un proceso de alimentación sobre hospedero, con el consecuente desprendimiento y muda al último estadio, diferenciándose en adultos machos o hembras (Anderson & Magnarelli 2008). Estos últimos, en el caso de la familia Ixodidae, llevan a cabo el proceso de alimentación y copulación sobre un hospedero, para que finalmente las hembras se desprendan y ovipositen, perpetuando el ciclo (Anderson & Magnarelli 2008). Cabe aclarar que el hombre puede verse involucrado en dicho ciclo como un hospedero accidental, situación que es propicia para la transmisión de agentes infecciosos (Figura 11) (Parola & Raoult 2001).

Típicamente, las garrapatas de la familia Ixodidae puede ser clasificadas de acuerdo al número de veces en que los diferentes estadios cambian de hospedero para llevar el proceso de alimentación, y si el proceso de muda de los estadios inmaduros se presenta sobre o fuera del hospedero; de la siguiente manera: 1) garrapatas de un hospedero, como la especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, donde larvas y ninfas se alimentan y mudan de estadio sobre el hospedero (principalmente bovinos) y únicamente las hembras ingurgitadas se desprenden para ovipositar; 2) de dos hospederos, como la especie *R. bursa*, donde la larva se alimenta y muda a ninfa sobre el hospedero (principalmente ovejas), posteriormente la ninfa se alimenta, se desprende y muda a adulto, el cual busca un nuevo hospedero para el proceso de alimentación, copula,

desprendimiento y oviposición (hembras). 3) de tres hospederos, como la mayoría de especies de los géneros *Ixodes*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, entre otros, donde se lleva a cabo un ciclo de alimentación y desprendimiento en tres hospederos diferentes, como se explicó previamente (Anderson & Magnarelli 2008).



**Figura 11:** Esquema del ciclo de vida de una garrapata (Ixodidae) de tres hospederos (Parola & Raoult 2001).

Actualmente, desde el área de la medicina humana como de la medicina veterinaria, las garrapatas representan un gran interés, ya que si bien, la picadura por estos artrópodos puede producir cuadros clínicos de parálisis, toxicosis o reacciones alérgicas, su mayor importancia radica en ser reconocidos, después de los mosquitos, como los principales vectores en la transmisión de microorganismos patógenos para el hombre (bacterias, virus, parásitos) (Anderson & Magnarelli 2008, Dantas-Torres et al. 2012). Aproximadamente un total de 50 especies (tanto de la familia Ixodidae como de la familia Argasidae) han sido documentadas parasitando humanos, entre las que se destacan las pertenecientes a los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*,

*Hyalomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Argas* y *Ornithodoros* (Guglielmone et al. 2006, Anderson & Magnarelli 2008, Dantas-Torres et al. 2012).

#### **4.2.2.2. Epidemiología general**

Tal como se describió anteriormente, la epidemiología y distribución geográfica de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas, está estrechamente relacionada con la presencia de sus artrópodos vectores, especialmente cuando estos cumplen a su vez, el papel de reservorios primarios de la *Rickettsia* (Merhej et al. 2014). Esta relación ha sido confirmada para especies patógenas como: *R. rickettsii*, *R. africae*, *R. conorii* subespecie *conorii*, *R. honei*, *R. sibirica*, *R. slovacca*, *R. raoultii*, *R. parkeri*, *R. massiliae*, *R. aeschlimannii* y *R. helvetica* (Parola et al. 2013).

Alrededor del mundo, en los últimos años, estas enfermedades han sido reconocidas como parte importante de la etiología del síndrome febril agudo inespecífico (Renvoisé et al. 2009, Blanton 2013), siendo en algunas series, las enfermedades bacterianas de origen zoonótico, junto con la leptospirosis, que más afectan viajeros provenientes de áreas tropicales, resaltando el papel de *R. africae* como la especie mas frecuente de las transmitidas por garrapatas (Leshem et al. 2011).

De igual forma, gracias a la implementación de métodos de biología molecular como la PCR con posterior secuenciación, y métodos de cultivo celular de fácil manejo como la técnica del tubo shell-vial, se ha logrado la caracterización de nuevas especies del género *Rickettsia*, e inclusive subespecies (en el caso de *R. conorii* y *R. sibirica*), tanto en garrapatas como en muestras clínicas humanas en diferentes regiones del mundo, donde por mucho tiempo se había considerado la presencia de una única especie patógena, como fue el caso de *R. rickettsii* en las Américas y de *R. conorii* en Europa durante el siglo XX (Renvoisé et al. 2009, Parola et al. 2013). Actualmente se considera que las nuevas especies de *Rickettsia* aisladas o detectadas únicamente en artrópodos antropofílicos, deben



ser clasificadas como “potencialmente patógenas” (Renvoisé et al. 2009, Parola et al. 2013, Merhej et al. 2014).

También cabe resaltar que con estos avances diagnósticos, se han descrito especies de *Rickettsia* causantes de nuevas manifestaciones clínicas no reconocidas previamente como clásicas de las rickettsiosis (exantema, fiebre y escara de inoculación), como la linfangitis asociada a rickettsiosis (LAR) relacionada con *R. sibirica* subsp. *mongolitimoniae* o el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación asociado a linfadenopatía, enmarcado en las siglas DEBONEL/TIBOLA/SENLAT (DERmacentor-BORne-Necrosis-Erythema-Lymphadenopathy/TICK-BORne-LymphAdenopathy/Scalp-Eschar and Neck-Lymphadenopathy After Tick-bite) y relacionado con *R. slovacica*, *Candidatus R. rioja*, *R. raoultii* y *R. philipii* (Merhej et al. 2014, Faccini-Martínez et al. 2014). En las tablas 2, 3, 4, 5 y 6 se describen las principales especies de *Rickettsia* patógenas transmitidas por garrapatas, su distribución geográfica y sus vectores reconocidos o probables, de acuerdo a la reciente propuesta de clasificación sindrómica de las rickettsiosis; en la figura 12 se ilustra la distribución geográfica de las principales especies de *Rickettsia* patógenas transmitidas por garrapatas (Faccini-Martínez et al. 2014).

**Tabla 2:** Especies de *Rickettsia* relacionadas con el síndrome de rickettsiosis exantemática con baja probabilidad de escara de inoculación y exantema de distribución centripeta (Faccini-Martínez et al. 2014).

| Especies de <i>Rickettsia</i> | Distribución geográfica | Vector reconocido o posible vector   |
|-------------------------------|-------------------------|--|
| <i>R. rickettsii</i>          | <b>América</b>          |  |
|                               | Canadá                  | <i>Dermacentor andersoni</i>   |
|                               | EEUU                    | <i>D. variabilis</i> , <i>D. andersoni</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Amblyomma americanum</i> |
|                               | México                  | <i>R. sanguineus</i> , <i>A. cajennense</i> sensu lato (s.l.)  |
|                               | Costa Rica              | <i>Haemaphysalis leporispalustris</i>  |
|                               | Panamá                  | <i>A. cajennense</i> s.l.  |
|                               | Colombia                | <i>A. cajennense</i> s.l.  |
|                               | Brasil                  | <i>A. cajennense</i> s.l., <i>A. aureolatum</i> , <i>R. sanguineus</i>                                     |
|                               | Argentina               | <i>A. cajennense</i> s.l.  |

**Tabla 3:** Especies de *Rickettsia* relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y exantema maculopapular/purpúrico (Faccini-Martínez et al. 2014).

| Especies de <i>Rickettsia</i>           | Distribucion geográfica   | Vector reconocido o posible vector   |
|---|---|--|
| <i>R. massiliae</i>                     | Casos confirmados en Italia, Francia y Argentina  | Especies pertenecientes al complejo <i>R. sanguineus</i>                                 |
| <i>R. parkeri</i>                       | <b>América</b>  |  |
|   | EEUU, Perú  | <i>A. maculatum</i> , <i>I. scapularis</i> (USA)?  |
|   | Brasil  | <i>A. triste</i> , <i>A. ovale</i> ( <i>Rickettsia</i> sp. genotipo Atlantic rainforest) |
|   | Colombia  | <i>A. ovale</i> ( <i>Rickettsia</i> sp. genotipo Atlantic rainforest)?                   |
|   | Uruguay, Argentina  | <i>A. triste</i>   |
|   | Bolivia   | <i>A. tigrinum</i>   |
| <i>R. conorii</i> subsp. <i>conorii</i> | <b>Europa</b>   | <i>R. sanguineus</i>   |
|   | Países del mediterráneo (Portugal, España, Francia, Italia, Malta, Eslovenia, Croacia, Albania, Grecia, Chipre) |  |

|  |  |   |
|--|--|---|
|  | Países alrededor del Mar negro<br>(Ucrania, Bulgaria, Turquía,<br>Georgia) |   |
|  | <b>África</b>  |   |
|  | Argelia, Marruecos, Túnez, Kenia,<br>Somalia, Chad, Zimbabue,<br>Suráfrica |   |
| <b>R. conorii subsp.<br/>israelensis</b> | <b>Europa</b>  |   |
|  | Portugal, Italia   |   |
|  | <b>África</b>  |   |
|  | Túnez  |   |
|  | <b>Asia</b>  |   |
|  | Israel   |   |
| <b>R. conorii subsp.<br/>indica</b>      | <b>Asia</b>  |   |
|  | India  |   |
| <b>R. conorii subsp.<br/>caspia</b>      | <b>Europa</b>  | <i>R. pumilio, R. sanguineus</i>  |
|  | Astrakán, Kosovo, Francia  |   |
|  | <b>África</b>  |   |
|  | Chad   |   |
| <b>R. sibirica subsp.<br/>sibirica</b>   | <b>Asia</b>  |   |
|  | Siberia  | <i>D. nuttalli, D. marginatus, D. silvarum, D. pictus,<br/>Haemaphysalis concinna</i> |
|  | Kazakstán  | <i>D. marginatus</i>  |
|  | China, Mongolia  | <i>D. nuttalli, D. sinicus, D. auratus, D. silvarum, H.<br/>concinna</i>              |
| <b>R. heilongjiangensis</b>              | <b>Asia</b>  |   |
|  | China and Eastern Siberia  | <i>H. japonica douglasi, H. concinna, D. silvarum</i>                                 |
|  | Japón  | <i>H. concinna</i>  |
| <b>R. japonica</b>                       | <b>Asia</b>  |   |
|  | Japón  | <i>H. flava, H. longicornis, D. taiwanensis, I. ovatus</i>                            |
|  | Tailandia  | <i>H. hystricis (R. japonica-like)</i>  |

|                                |   |  |
|--------------------------------|---|--|
|                                | Corea   | <i>H. longicornis</i>  |
| <b><i>R. honei</i></b>         | <b>Oceanía</b>  |  |
|                                | Islas Flinders y este de Australia<br>( <i>R. honei</i> cepa marmionii) | <i>Bothriocroton hydrosauri</i> , <i>I. tasmani</i> , <i>H. novaeguineae</i>                                   |
|                                | <b>Asia</b>   |  |
|                                | Tailandia   | <i>I. granulatus</i>   |
|                                | Nepal   | <i>R. haemaphysaloides?</i> , <i>I. granulatus?</i>  |
| <b><i>R. aeschlimannii</i></b> | <b>África</b>   |  |
|                                | Marruecos   | <i>Hyalomma marginatum marginatum</i>  |
|                                | Argelia   | <i>Hyalomma marginatum marginatum</i> , <i>Hy. aegyptium</i> , <i>Hy. dromedarii?</i> , <i>Hy. m. rufipes?</i> |
|                                | Suráfrica   | <i>R. appendiculatus</i>   |
|                                | Túnez   | <i>Hy. dromedarii?</i>   |
|                                | <b>Europa</b>   |  |
|                                | Grecia  | <i>R. turanicus?</i>   |

**Tabla 4:** Especies de *Rickettsia* relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y exantema vesicular (Faccini-Martínez et al. 2014).

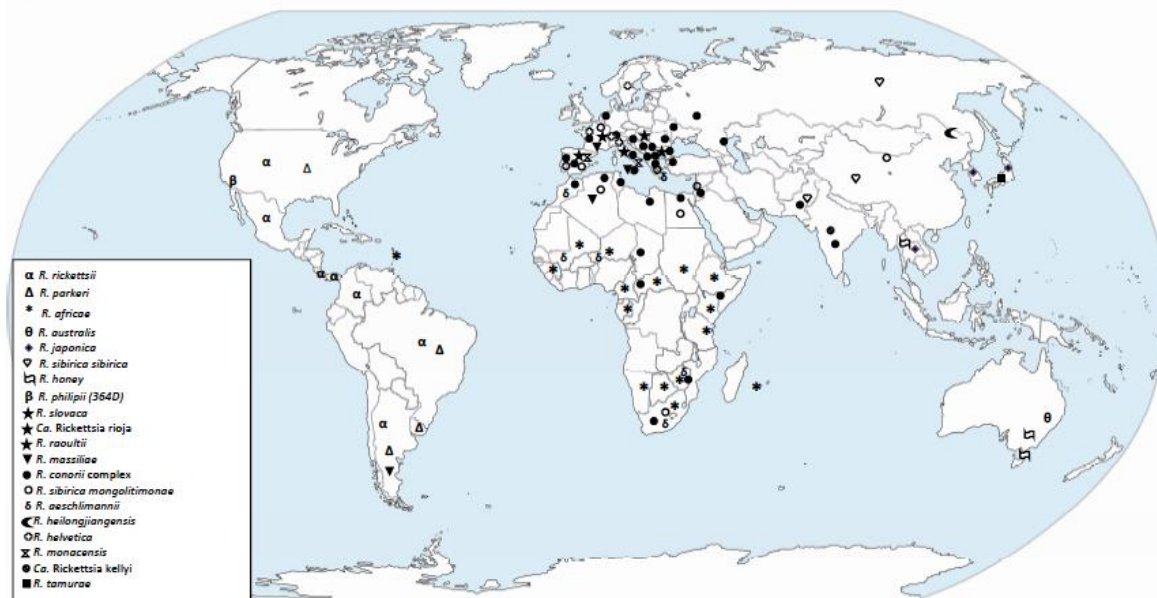
| Especies de <i>Rickettsia</i> | Distribucion geográfica  | Vector reconocido o posible vector                             |
|-------------------------------|--|--|
| <b><i>R. africae</i></b>      | <b>África</b>  |  |
|                               | Regiones central, este y oeste   | <i>A. variegatum</i>   |
|                               | Sur  | <i>A. hebraeum</i> , <i>R. (Boophilus) decoloratus?</i>        |
|                               | <b>América</b>   |  |
|                               | Islas del Caribe   | <i>A. variegatum</i>   |
| <b><i>R. akari</i></b>        | <b>Mundial</b>   | <i>Liponyssoides sanguineus</i>                                |
|                               | Casos confirmados en EEUU, México, Ucrania, Croacia, Holanda, Turquía, Suráfrica and Corea |  |
| <b><i>R. australis</i></b>    | <b>Oceanía</b>   | <i>I. holocyclus</i> , <i>I. tasmani</i> , <i>I. cornuatus</i> |
|                               | Este de Australia, Queensland (entre los meses de Junio a Noviembre)                       |  |

**Tabla 5:** Especies de *Rickettsia* relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y linfadenopatía regional (Faccini-Martínez et al. 2014).

| Especies de <i>Rickettsia</i>                               | Distribucion geográfica   | Vector reconocido o posibles vectores  |
|---|---|--|
| <b><i>R. slovacica</i></b>                                  | <b>Europa</b>   | <i>D. marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i>   |
|   | Casos confirmados en Portugal, España, Francia, Italia, Hungría, Bulgaria, Eslovaquia, Alemania |  |
| <b><i>Candidatus R. rioja</i></b>                           | <b>Europa</b>   | <i>D. marginatus</i>   |
|   | Casos confirmados en España   |  |
| <b><i>R. raoultii</i></b>                                   | <b>Europa</b>   | <i>D. marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> , <i>Dermacentor nutalli</i> (Mongolia), <i>D. silvarum</i> (China) |
|   | Casos confirmados en Eslovaquia y casos sospechosos en España, Francia y Polonia                |  |
| <b><i>Rickettsia</i> sp. cepa 364D (<i>R. philipii</i>)</b> | <b>América</b>  | <i>D. occidentalis</i>   |
|   | EEUU (California)   |  |

**Tabla 6:** Especies de *Rickettsia* relacionadas con el síndrome de rickettsiosis con probabilidad de escara de inoculación y linfangitis (Faccini-Martínez et al. 2014).

| Especies de <i>Rickettsia</i>                          | Distribucion geográfica | Vector reconocido o posibles vectores        |
|--|-------------------------|--|
| <b><i>R. sibirica</i> subsp. <i>mongolitimonae</i></b> | <b>Europa</b>           |  |
|  | Francia y Portugal      | <i>R. pusillus</i>                           |
|  | Grecia                  | <i>Hy. anaticum excavatum</i>                |
|  | España                  | <i>R. pusillus</i> , <i>Hy. marginatum</i> ? |
|  | <b>África</b>           |  |
|  | Egipto and Argelia      | <i>Hyalomma</i> sp.                          |
|  | Suráfrica               | <i>Hy. truncatum</i>                         |



**Figura 12:** Distribución geográfica de las principales especies de *Rickettsia* patógenas transmitidas por garrapatas (Faccini-Martínez et al. 2014).

Recientemente, el papel de las aves migratorias ha tomado gran relevancia en la epidemiología de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas, ya que se ha demostrado su papel como “vehículos” entre largas distancias, pudiendo permitir la expansión geográfica de estos artrópodos y en consecuencia, de patógenos transmisibles (Palomar et al. 2012).

#### 4.2.2.3. Epidemiología en las Américas

##### 4.2.2.3.1. Infección por *R. rickettsii*

*R. rickettsii* es la especie más patógena del GFM, causando una rickettsiosis con tasas de mortalidad documentadas entre 23-85% en la era pre-antibiótica y del 5% con un tratamiento antibiótico adecuado y oportuno (Walker et al. 2008, Chen & Sexton 2008). Clínicamente, presenta un período de incubación entre 2 y 14 días, con una media de 7 días (Lin & Decker 2012). En las fases iniciales predominan síntomas inespecíficos como fiebre de inicio abrupto, malestar general, escalofríos, cefalea intensa, mialgias, artralgias, anorexia, vómito, dolor

abdominal, entre otros (Cunha 2008). La triada clínica clásica es fiebre, cefalea y exantema, presente únicamente en 3-5% en los primeros tres días, aumentando hasta un 60-70% entre el día 7 y 10 de la enfermedad (Dantas-Torres 2007). El exantema inicia típicamente en muñecas y tobillos como lesiones maculares eritematosas pequeñas no pruriginosas, para diseminarse de forma centripeta, alcanzando las extremidades (incluyendo palmas y plantas) y el tronco. En esta fase el exantema suele ser maculopapular asociado a petequias (Myers & Sexton 1994), sin embargo un 10% de los pacientes nunca desarrollan manifestaciones exantemáticas; siendo esta excepción más frecuente en adultos mayores y afrodescendientes (Sexton & Corey 1992). En los casos severos pueden existir zonas de necrosis y gangrena en extremidades sin ser frecuentes las hemorragias o la coagulación intravascular diseminada (CID). Las complicaciones incluyen meningitis o meningoencefalitis, edema pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), falla renal aguda, disfunción hepática, shock hipovolémico y rara vez compromiso cardíaco (Lin & Decker 2012).

La primera descripción de la enfermedad se remonta al año 1899, inicialmente llamada “fiebre manchada de Idaho” por Edward Maxey (Maxey 1899). Posteriormente, con el nuevo nombre de Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas (FMRR) y gracias a estudios realizados en el estado de Montana por el patólogo estadounidense Howard Taylor Ricketts en 1906, se determinó que esta enfermedad era causada por bacterias intracelulares circulantes en garrapatas de la especie *Dermacentor andersoni*, en mamíferos silvestres, y que a su vez, eran transmitidas al hombre a través de la picadura de estos artrópodos (Gross & Schafer 2011). Desde esa época hasta nuestros días, siendo una rickettsiosis restringida al hemisferio occidental, se ha descrito en varios países del continente americano desde Canadá hasta Argentina (Renvoisé et al. 2009, Parola et al. 2009).

En EEUU los principales vectores de *R. rickettsii* son *D. variabilis* en la región centro-este y la costa atlántica y *D. andersoni* en la región oeste (Lin & Decker 2012). Los casos suelen ser mas frecuente en primavera y verano donde la actividad de estos vectores suele incrementarse (Chapman et al. 2006). Según los datos del CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) de Atlanta, la incidencia de FMMR incrementó de menos de dos casos por millón de habitantes en el año 2000 a ocho casos por millón de habitantes en el 2008, con una disminución en la tasa de mortalidad, siendo de 1,4% entre 1997-2002 y 0,5% en el año 2008 (CDC 2011); probablemente explicado por un aumento en la sospecha clínica e inicio de tratamiento adecuado y oportuno. En el año 2005 se reportó la especie *R. sanguineus* en el estado de Arizona como vector de *R. rickettsii* (Demma et al. 2005), situación que ha explicado el aumento de casos en esta región de los EEUU, especialmente en la población de indios americanos que habitan la zona suroeste (Folkema et al. 2012).

Respecto a Suramérica, en Brasil, la FMMR es conocida como Fiebre Maculosa Brasileira (FMB). Es la rickettsiosis de mayor importancia en este país, de notificación obligatoria y bajo vigilancia epidemiológica estricta desde el año 2001 (Pinter et al. 2011). Fue descrita por primera vez en la ciudad de São Paulo en 1929 (“tifo exantemático de São Paulo”) y posteriormente en Minas Gerais y Rio de Janeiro (Del Fiol et al. 2010). Es así como la mayoría de casos se concentran en estas regiones y algunos se han descritos en el estado de Bahia y el Distrito Federal (Pinter et al. 2011). Las tasas de mortalidad son considerablemente mas altas que las reportadas en EEUU, con un porcentaje aproximado de 20-40%, explicado por dificultades en el diagnóstico y en la instauración de un tratamiento temprano (Del Fiol et al. 2010), presentaciones de la enfermedad mas severas (Angerami et al. 2006a) e incluso, cepas de *R. rickettsii* mas virulentas respecto a otras regiones del continente (Eremeeva et al. 2003).



Según datos del Ministerio de Salud de Brasil, en el período de 1997-2010 se notificaron 868 casos confirmados de FMB con 227 muertes relacionadas en todo el territorio (Pinter et al. 2011), donde la mayor incidencia se presentó en la región sudeste entre los meses de junio y octubre, que coincide con el período de mayor actividad de *A. cajennense* s.l., vector reconocido de *R. rickettsii* (Guedes et al. 2005, Del Fiol et al. 2010). Dentro de la ecología de esta garrapata, los chigüiros o capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) juegan el papel de hospederos principales para este artrópodo y amplificadores del microorganismo, siendo la presencia de los mismos, un factor de riesgo para el desarrollo de brotes de FMB (Angerami et al. 2006b). Recientemente se obtuvo el primer aislamiento viable de *R. rickettsii* (cepa ITU) a partir de especímenes de *A. cajennense* s.l. capturados en una zona endémica para FMB en el estado de São Paulo (Krawczak et al. 2014), con una tasa de infección esperada para el binomio *A. cajennense* s.l./*R. rickettsii* (0,2%), consecuente con otros estudios en Brasil (0,2-1,28%) (Guedes et al. 2005, Guedes et al. 2011). Otras especies de garrapatas como *A. aureolatum* y con menor relevancia *R. sanguineus*, también han sido implicadas como vectores de *R. rickettsii* en el estado de São Paulo, especialmente en el área metropolitana, donde los caninos domésticos hacen parte de la ecología de ambas especies (Labruna et al. 2011, Moraes-Filho et al. 2009).

En otros países de centro y Suramérica durante el siglo XX, la infección por *R. rickettsii* ya era reconocida (Bustamante et al. 1946, Fuentes 1979, de Rodaniche & Rodaniche 1950, Patino et al. 1937, Ripoll et al. 1999) y en la última década, al igual que en EEUU y Brasil, esta enfermedad ha presentado un patrón re-emergente principalmente en México, Costa Rica, Panamá, Colombia y Argentina (Parola et al. 2009).

En México el vector principal de *R. rickettsii* es *R. sanguineus*, caracterizado desde los años 40 (Mariotte et al. 1944, Bustamante & Varela 1947), seguido de *A. cajennense* (Parola et al. 2013); en este país las regiones endémicas se restringen

a los estados del norte, centro y suroeste mexicano (Martínez-Medina et al. 2005, Zavala-Castro et al. 2006). En Costa Rica han sido descritos casos humanos desde 1977 hasta 2003, en los cuales fue aislada *R. rickettsii* y se realizó detección molecular de esta especie en garrapatas *Haemaphysalis leporispalustris* (Hun et al. 2008). Recientemente se reportó un caso proveniente de la zona urbana de la ciudad de San José, donde murió una niña de ocho años de edad con presencia de escara de inoculación como hallazgo clínico interesante (Arguello et al. 2012), al ser poco frecuente dentro de las manifestaciones causada por *R. rickettsii* (Walker et al. 1981). En Panamá, posterior a un silencio epidemiológico de la enfermedad y a la descripción de *A. cajennense* como vector principal en los años 50 (de Rodaniche & Rodaniche 1950, de Rodaniche 1953), fue hasta el 2004 y 2007 que se confirmaron nuevos casos de mortalidad en pacientes pediátricos y una mujer embarazada (Estripeaut et al. 2007, Tribaldos et al. 2011). Situaciones similares han ocurrido en Colombia y en Argentina.

La "fiebre de Tobia" fue el nombre dado por el Doctor Patiño-Camargo a un brote febril de alta mortalidad compatible con FMMR ocurrido en el "Valle de Tobia" (departamento de Cundinamarca/Colombia) en 1935 (Patino et al. 1937), del cual aisló su agente etiológico 5 años mas tarde (Patiño-Camargo 1941). Posteriormente en la misma región, después de 70 años, se logró caracterizar molecularmente *R. rickettsii* en estudios post mortem de un paciente con síndrome febril agudo (Hidalgo et al. 2007), y durante tres años consecutivos (2006 a 2008) se registraron nuevos casos en el noroccidente colombiano (municipios de Necoclí, Los Córdoba y Turbo) con tasas de letalidad entre 26-54% (Acosta et al. 2006, Hidalgo et al. 2011, Pacheco-García et al. 2008).

En un estudio recientemente publicado, en el cual se describió la ecoepidemiología de la rickettsiosis en la zona del Urabá antioqueño, se demostraron títulos (IFI, IgG contra *R. rickettsii*) significativamente altos en muestras pareadas correspondientes a dos pacientes con síndrome febril agudo

(1:4096 y 1:131072, 1:8192 y 1:131072, fase aguda y fase convaleciente, respectivamente para cada individuo), lo cual sugirió a *R. rickettsii* como el agente etiológico; sin embargo no se logró aislar esta especie en ectoparásitos ni en roedores capturados en la zona de estudio (Quintero et al. 2013).

En Argentina, posterior a las primeras descripciones de la enfermedad en 1999 (Ripoll et al. 1999), solo se ha reportado un brote con cuatro casos fatales en la provincia de Jujuy entre 2003 y 2004 (Paddock et al. 2008a). Todos los casos refirieron picaduras por garrapatas previo inicio del cuadro febril, desarrollaron exantema petequial, hipotensión severa, convulsiones y finalmente la muerte. Se logró confirmar la infección por *R. rickettsii* en uno de los pacientes y en garrapatas *A. cajennense* recolectadas cerca de la zona del brote.

Gracias a estudios basados en polimorfismos de secuencias y regiones intergénicas aplicados a 36 aislamientos históricos de *R. rickettsii* obtenidos en diferentes regiones de las Américas, se describen siete genotipos diferentes para este microorganismo, distribuidos en tres clados filogenéticos, mostrando una correlación basada en origen geográfico y especie de garrapata vector: Clado I (genotipo 1 [relacionado con garrapatas *R. sanguineus* de Arizona en EEUU] y genotipos 2 y 3 [relacionados con garrapatas *D. variabilis* del este y oeste-medio de los EEUU]); Clado II (genotipos 1 y 2 [relacionados con la cepa Sheila Smith y aislamientos provenientes de *D. andersoni* en el estado de Montana y Carolina del norte en EEUU]); y el clado III (genotipo 1 [aislamientos provenientes de Brasil, Costa Rica y Panamá] y genotipo 2 [aislamiento proveniente de Colombia] probablemente relacionados con garrapatas *A. cajennense* y *A. aureolatum*) (Karpathy et al. 2007).

Una publicación reciente demuestra la presencia y validación de un cuarto clado patógeno (*R. rickettsii* cepa Hlp), tras su caracterización molecular a partir de muestras en parafina procedentes de un caso fatal ocurrido en el norte de los

EEUU (Paddock et al. 2014). A su vez, este mismo estudio corroboró la distribución geográfica previamente propuesta de los otros tres clados, al mostrar una relación directa entre las cepas referencia de *R. rickettsii* y casos fatales en las Américas.

#### **4.2.2.3.2. Infección por *R. parkeri***

La primera descripción de infección probable por *R. parkeri* fue realizada por Spencer en 1926, al documentar el caso de un hombre de 35 años procedente de la costa de Virginia (EEUU) con un cuadro febril de evolución benigna asociado a cefalea, mialgias, exantema maculopapular y escaras de inoculación (Spencer 1926). Estos hallazgos clínicos sugirieron la presencia de una enfermedad similar a la FMMR. Once años mas tarde, el entomólogo y rickettsiólogo Ralph Robinson Parker, logró aislar la *Rickettsia* que llevaría su apellido, en garrapatas *A. maculatum* (garrapata de la costa del golfo) recolectadas sobre ganado en Texas (Parker et al. 1939). Parker demostró a través de sus investigaciones el curso benigno de la enfermedad en animales de experimentación posterior a la inoculación con *R. parkeri*, en comparación a una enfermedad mas severa tras la inoculación de *R. rickettsii* (Parker et al. 1939), y la producción de anticuerpos heterólogos en estos animales (Lackman et al. 1949). Hecho que clasificó a esta nueva especie dentro del GFM.

En el año 2004 se confirmó por primera vez la infección humana por *R. parkeri* en un hombre de 40 años procedente del mismo estado (Virginia) y con manifestaciones clínicas similares al paciente descrito en 1926. Presentó reacción cruzada por medio de la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) contra *R. rickettsii* y se logró aislar *R. parkeri* a partir de una de las escaras de inoculación. El paciente no requirió hospitalización y respondió rápidamente a la terapia con doxiciclina (Paddock et al. 2004). A partir de estos hallazgos, se inició la discusión en cuanto a la posibilidad de que muchos casos sospechosos, mas no confirmados de FMMR en EEUU, con desenlace menos severos y asociados a

escara de inoculación, podrían ser explicados por infecciones subdiagnosticadas causadas por *R. parkeri* (Paddock 2005, Raoult & Paddock 2005).

Típicamente, esta rickettsiosis se caracteriza por presentar un período de incubación de aproximadamente una semana, posterior al cual inicia un cuadro febril agudo asociado a astenia, mialgias, artralgias, cefalea y exantema generalizado maculopapular o vesiculopapular de predominio en tronco y extremidades incluyendo palmas y plantas. De forma importante, se presenta escara de inoculación única o múltiple en más del 90% de los casos, la cual se puede acompañar de linfadenopatía en la zona contigua. La evolución suele ser benigna con bajas tasas de hospitalización o complicaciones (Paddock et al. 2008b).

Actualmente en EEUU, *A. maculatum* es el principal vector de *R. parkeri*, con tasas de infección entre 11-43% (Summer et al. 2007, Wright et al. 2011, Varela-Stockes et al. 2011). Su distribución se restringe a los estados que se encuentran en el borde del golfo de México, región sur y central (Alabama, Arkansas, Carolina del Norte, Carolina del Sur, Florida, Georgia, Kansas, Kentucky, Mississippi, Oklahoma, Tennessee, Texas y Virginia) (Fornadel et al. 2011, Summer et al. 2007, Wright et al. 2011, Varela-Stockes et al. 2011, Goddard & Norment 1983, Jiang et al. 2012, Ferrari et al. 2012). En el año 2011 en el sur del estado de Louisiana, siendo una región sin previos reportes de este microorganismo, se logró amplificar ADN de *R. parkeri* en muestra de sangre de caninos domésticos (Grasperge et al. 2012). Hasta el año 2009 en EEUU se reportaron un aproximado de 19 casos humanos entre probables y confirmados (Paddock et al. 2008b, Cragun et al. 2010).

En Uruguay, desde 1990 hasta el 2003, la enfermedad fue inicialmente confundida con la infección por *R. conorii* en casos clínicos febriles con presencia de escara de inoculación posterior a la picadura de garrapatas *A. triste* y pruebas serológicas

positivas para *R. conorii* (Conti-Díaz et al. 1990, Conti-Díaz 2003). Ante estos resultados, en el año 2004 se realizó un estudio que confirmó la presencia de *R. parkeri* en especímenes de *A. triste* recolectadas en el periodo entre 1999 y 2004 en diferentes regiones de Uruguay; proponiendo a esta especie de *Rickettsia* como la responsable de los casos compatibles con rickettsiosis en este país, con una importante situación de reacción cruzada con *R. conorii* en pruebas serológicas (Venzal et al. 2004). En los años siguientes (2005-2007) fueron confirmados tres casos de infección por *R. parkeri* por medio de la prueba serológica de inmuno-absorción previa evidencia de reacción cruzada con antígenos de *R. rickettsii*. Todos los casos presentaron enfermedad febril, asociada a escara de inoculación, adenopatía regional y evolución favorable (Conti-Díaz et al. 2009). Estudios realizados en la región sur de Uruguay demostraron tasas de infección por *R. parkeri* en *A. triste*, entre 11,8-37,5% (Venzal et al. 2012). Recientemente se publicó el primer caso confirmado molecularmente de rickettsiosis humana por *R. parkeri* en este país, en un viajero español procedente de Uruguay, quien presentó una enfermedad febril aguda asociada a dos escaras de inoculación, la cual resolvió favorablemente posterior manejo antibiótico con doxiciclina (Portillo et al. 2013).

En Brasil, en el año 2007, *R. parkeri* se aisló por primera vez en garrapatas *A. triste* recolectadas en el estado de São Paulo, con una tasa de infección aproximada del 10% (Silveira et al. 2007). Tres años más tarde, en el mismo estado, se reportó el primer caso sugestivo de infección por *R. parkeri* en un hombre con enfermedad febril aguda, exantema macular y escara de inoculación en región lumbar, de la cual se logró amplificar ADN rickettsial estrechamente relacionado con *R. parkeri* y *R. africae*, proponiendo la presencia de una nueva cepa (Atlantic rainforest). El estudio serológico por medio de IFI reveló reacción cruzada contra diferentes especies del GFM (Spolidorio et al. 2010). Estudios en garrapatas recolectadas sobre aves de la región sur de Brasil, demuestran la presencia de nuevas cepas de *R. parkeri* (cepa NOD y cepa apPR), aún con

patogenicidad desconocida (Ogrzewalska et al. 2012a, Ogrzewalska et al. 2012b, Pacheco et al. 2012). El tema de *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest será ampliado mas adelante.

En Argentina, el primer caso publicado como infección probable por *R. parkeri* se presentó en el año 2005 (Seijo et al. 2007), en un hombre procedente de la localidad de Ingeniero Otamendi en la región del delta paranaense, quien presentó un cuadro febril agudo asociado a escalofríos, sudoración nocturna, mialgias, cefalea, astenia, tos no productiva, exantema maculopapular que respetaba palmas y plantas y escara de inoculación en región preauricular izquierda (con adenopatía regional) donde previamente había sido picado por una garrapata no identificada. Su evolución clínica fue favorable posterior tratamiento con doxiciclina de manera ambulatoria. La prueba de IFI fue positiva contra antígenos de *R. rickettsii*, lo cual se interpretó como reacción cruzada, dadas las manifestaciones clínicas benignas y el área de procedencia, donde *A. triste* había sido encontrada parasitando humanos previamente, junto con los reportes relacionados en Uruguay (Guglielmone & Nava 2006, Conti-Díaz et al. 2009). Años mas tarde (2008 y 2011) se confirmó la presencia de *R. parkeri* tanto en garrapatas *A. triste* recolectadas en el zona argentina del delta del Paraná (Nava et al. 2008) como en material genético extraído de escaras de inoculación de pacientes procedentes de esta misma zona y áreas rurales de la provincia de Buenos Aires y provincia del Chaco (Romer et al. 2011). En este último estudio se determinó que las manifestaciones clínicas presentadas por los pacientes argentinos eran muy similares a las de los casos confirmados en EEUU.

En el departamento de Cochabamba (Bolivia) se logró caracterizar *R. parkeri* en garrapatas *A. tigrinum* (tasa de infección de 54,8%) recolectadas sobre caninos domésticos, al igual que en una muestra de sangre tomada de estos animales (Tomassone et al. 2010). Sin embargo, a la fecha no existen reportes de casos clínicos compatibles con infección por *R. parkeri* en Bolivia.

#### **4.2.2.3.3. Infección por *R. massiliae***

*R. massiliae* fue aislada por primera vez cerca a Marsella (Francia) en 1992 a partir de garrapatas *R. sanguineus* (Beati et al. 1992, Beati & Raoult 1993). Posterior a esto, fue descrita en países europeos y africanos como Grecia (Babalits et al. 1994), Portugal (Bacellar et al. 1995, Santos-Silva et al. 2006), España (Beati et al. 1996, Fernández-Soto et al. 2006), Suiza (Bernasconi et al. 2002), República Centroafricana y Mali (Dupont et al. 1994), infectando diferentes especies del género *Rhipicephalus* como *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. muhsamae*, *R. lunulatus* y *R. sulcatus*.

En 1985 se reportó un caso compatible con rickettsiosis inicialmente confundido con fiebre manchada del mediterráneo, en un paciente de 45 años hospitalizado en Palermo (Italia) por presentar enfermedad febril aguda asociada a exantema maculopapular que comprometía palmas y plantas, escara de inoculación en tobillo derecho y ligera hepatomegalia. Fue tratado con tetraciclinas con adecuada evolución clínica y presentó seroconversión por IFI para *R. conorii*. Veinte años más tarde se logró hacer extracción y amplificación de ADN de las muestras de este paciente, encontrando material genético compatible con *R. massiliae* (Vitale et al. 2006). Un segundo caso fue confirmado en el sur de Francia en un paciente que desarrolló fiebre, cefalea, exantema maculopapular, escara de inoculación en axila izquierda y corioretinitis bilateral (Parola et al. 2008). Recientemente se describió un nuevo caso en Italia, en un niño con manifestaciones clínicas compatibles con SENLAT, quien presentó seroconversión para rickettsias del GFM y se logró amplificar ADN de *R. massiliae* a partir de la escara de inoculación (Cascio et al. 2013).

En las Américas, esta especie se detectó inicialmente en garrapatas *R. sanguineus* en la ciudad de Buenos Aires (2004) y posteriormente fue aislada en el estado de Arizona (EEUU) en el año 2006, sin presencia de casos clínicos relacionados (Cicuttin et al. 2004, Ereemeeva et al. 2006). Sin embargo, un año



mas tarde se presentó el primer y único caso de infección humana por *R. massiliae* reportado hasta la fecha en el hemisferio occidental (García et al. 2010). Se trató de una mujer de 56 años procedente de Argentina con cuadro febril agudo, escalofríos, malestar general y exantema purpúrico que comprometía tronco, extremidades, palmas y plantas. La paciente reportó presencia de garrapatas en su perro previa enfermedad, por lo cual se inicio tratamiento con doxiciclina ante la sospecha de rickettsiosis. Al examen físico se observó una escara de inoculación en muslo derecho de la cual se tomó biopsia y se logró amplificar ADN compatible con *R. massiliae*.

En 2011 se reportó por primera vez la presencia de *R. massiliae* en garrapatas *R. sanguineus* en el estado de California (EEUU), las cuales fueron capturadas sobre dos perros con enfermedad sugestiva de FMMR. A pesar de que estos animales presentaron seroconversión por IFI para *R. rickettsii*, se logró determinar en uno de ellos infección por *R. massiliae* mediante la prueba de absorción cruzada y Western Blot (Beeler et al. 2011).

#### **4.2.2.3.4. Infección por *R. africae***

La primera descripción de esta enfermedad se realizó en Mozambique y Suráfrica en 1911, donde se le dio el nombre de “fiebre transmitida por garrapatas” (McNaught 1911). Fue confundida con la fiebre machada del mediterráneo hasta mediados de 1930, cuando el patólogo Pijper, mientras trabajaba en la ciudad de Pretoria (Suráfrica), propuso que se trataba de nueva rickettsiosis transmitida por garrapatas, de predominio rural, de características clínicas menos severas y relacionada con el contacto de las personas con garrapatas del ganado (Pijper & Crocker 1938). A pesar de que el patólogo logró aislar el microorganismo y diferenciarlo de *R. conorii*, sus resultados no fueron reproducibles. Fue así como nuevamente los casos se siguieron diagnosticando de forma errónea como infección por *R. conorii* hasta los años 90 (Parola et al. 2005). Posteriormente, en el período comprendido entre 1991 y 1996, Kelly y cols. lograron aislar el nuevo

microorganismo en garrapatas *A. hebraeum*, *A. variegatum* y en muestras de pacientes de Zimbabue; proponiendo el nombre que aun se conserva para esta especie, *R. africae*, perteneciente al GFM (Kelly & Manson 1991, Kelly et al. 1992, Kelly et al. 1994, Kelly et al. 1996).

La distribución actual de *R. africae* esta determinada por la presencia de sus principales vectores como *A. variegatum* en la región este, oeste y central de África, al igual que en las Islas del Caribe, y *A. hebraeum* en la región sur de África (Parola et al. 2013). A su vez, *R. africae* también ha sido detectada en *A. lepidum* y *A. variegatum* en Sudán (Morita et al. 2004), en *Hyalomma dromedarii* en Argelia (Kernif et al. 2012) y Egipto (Abdel-shafy et al. 2012), en *A. locosum* en Nueva Caledonia (Oceanía) (Eldin et al. 2011), en *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* en la Republica de Botsuana (Portillo et al. 2007), en *Hy. aegyptium* en Estambul (Gargili et al. 2012), y recientemente en *Hy. excavatum* y *H. parva* en Turquía (Orkun et al. 2014), y en *Hy. detritum* en Israel (Waner et al. 2014).

Esta rickettsiosis se caracteriza clínicamente por un período de incubación entre 5-10 días. Suele presentarse fiebre de inicio abrupto, nauseas, cefalea, mialgias en región cervical y presencia de escara de inoculación única o múltiples (en mas del 50% de los casos) de predominio en extremidades inferiores asociada a linfadenopatía regional. El exantema se presenta en la mitad de los casos siendo vesicular o maculopapular (Parola et al. 2013).

*R. africae* ingresó a las Américas durante el siglo XIX en barcos procedentes de Senegal rumbo a la isla de Guadalupe (Islas del Caribe), los cuales traían ganado parasitado con *A. variegatum* (Kelly 2006). El primer caso se describió en 1998, en una mujer francesa que adquirió la enfermedad después de ser picada por una garrapata en la Isla de Guadalupe, y presentó fiebre, astenia, y lesión nodular eritematosa en el sitio de la picadura. Fue tratada con doxiciclina, evolucionó adecuadamente y se determinó a *R. africae* como agente etiológico por medio de

la prueba de inmunoabsorción cruzada (Parola et al. 1998). Un año mas tarde, en la misma Isla, se confirmó la presencia de esta *Rickettsia* en garrapatas *A. variegatum* y alta seroprevalencia en humanos (49%), bovinos (80.8%) y caprinos (86.6%) (Parola et al. 1999).

A partir del año 2002 se han realizados varios estudios que demuestran que las Islas del Caribe son un área endémica para *R. africae* con las siguientes tasas de infección en *A. variegatum*: 84% en isla Antigua (Kelly 2006), 41% en las islas de San Cristóbal y Nieves (Kelly et al. 2003) y 56% en isla de la Martinica (Parola et al. 2003). Otro estudio realizado de 2007 a 2009 (Kelly et al. 2010), también reveló datos similares: 50% en las islas Vírgenes, 30% en isla Dominica, 40% en isla Monserrat y 7% en isla Santa Lucia. Este último estudio también demostró altas tasas de seroprevalencia para rickettsias del GFM en bovinos, caprinos y ovinos.

Hasta la fecha, *R. africae* no ha sido reportada en otras regiones de las Américas diferentes a las islas del Caribe.

#### **4.2.2.3.5. Infección por *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest**

Tal como se describió anteriormente, esta cepa fue caracterizada por primera vez en el año 2010, como un genotipo estrechamente relacionado con *R. africae*, *R. parkeri* y *R. sibirica*, a partir de la escara de inoculación de un paciente procedente de la costa sur del estado de São Paulo, con síntomas compatibles con rickettsiosis (Spolidorio et al. 2010). Un año más tarde, en el estado de Bahía, se reporto otro caso con características clínicas similares, resaltando la presencia de escara de inoculación en muñeca y linfadenopatía axilar ipsilateral. La IFI demostró reacción cruzada entre *R. parkeri* y *R. rickettsii* y el ADN amplificado de la escara presentó una homología del 100% con la cepa Atlantic rainforest (Silva et al. 2011). De forma paralela, en el estado de Santa Catarina, donde investigaciones previas sugerían la presencia de una posible rickettsiosis con un comportamiento clínico diferente al de la FMB (presencia de linfadenopatía, menos

tasas de severidad y ausencia de letalidad) (Angerami et al. 2009); se realizó un estudio en el cual se demostró la presencia de *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest en garrapatas *A. aureolatum*, *A. ovale* y *R. sanguineus* (Madeiros et al. 2011), siendo las dos primeras encontradas frecuentemente parasitando humanos en Brasil (Guglielmone et al. 2006).

Lo anterior planteó la posibilidad de que *A. aureolatum* y/o *A. ovale* fuera el vector de la cepa Atlantic rainforest en la región del bosque húmedo atlántico en los estados de Santa Catarina y São Paulo (Sabatini et al. et al 2010, Barbieri et al. 2011). En consecuencia, los datos de un estudio publicado en 2013, demostraron la obtención del primer aislamiento de esta cepa a partir de garrapatas adultas *A. ovale* capturadas sobre caninos procedentes del mismo municipio donde se presentó el primer caso clínico humano en 2010; describiendo a su vez, una tasa de infección del 12,9% para el binomio *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest/*A. ovale*, seropositividad contra rickettsias del GFM del 88,6% en caninos (la cual se relacionó con el ingreso frecuente de estos animales a zonas boscosas y un mayor parasitismo por dicha especie de garrapata) y la presencia de formas inmaduras de *A. ovale* en roedores silvestres *Euryoryzomys russatus*, los cuales también presentaron una seropositividad del 35,3%, sugiriendo que podría ser el hospedero amplificador de esta nueva cepa de *Rickettsia* (Szabó et al. 2013a).

Recientemente, se detectaron secuencias idénticas a la cepa Atlantic rainforest (tasa de infección del 20%) (Londoño et al. 2013), y se logró su aislamiento (Londoño et al. 2014) a partir de garrapatas *A. ovale* capturadas sobre caninos en el Urabá antioqueño (noroccidente colombiano), convirtiéndose en el primer reporte de la presencia de una segunda especie patógena del GFM en Colombia.

Lo anterior sugiere que en Colombia, al igual que en Brasil (Szabó et al. 2013b), esta rickettsiosis pudiese estar subdiagnosticada.

#### **4.2.2.3.6. Infección por *Rickettsia philipii***

Esta especie fue identificada por primera vez en 1966 en el condado de Ventura, California (EEUU) a partir de garrapatas *D. occidentalis* y asignada como genotipo 364D, filogenéticamente relacionado con *R. rickettsii* (Philip et al. 1981). Estudios moleculares posteriores basados en comparación de regiones intergénicas, demostraron diferencias importantes entre *Rickettsia* 364D y *R. rickettsii*, sugiriendo el estatus de especie para el nuevo genotipo (Karpathy et al. 2007).

Durante más de 40 años fue considerada como una especie no patogénica, con tasas de infección en *D. occidentalis* entre el 7,8-11% (Wikswa et al. 2008). Sin embargo en 2010 fue reportado el primer caso humano confirmado en un hombre de 80 años procedente del estado California (Shapiro et al. 2010), y tres años más tarde, en el mismo estado, se describieron otros tres casos en pacientes pediátricos (Johnston et al. 2013). Todos los casos presentaron una enfermedad de evolución benigna, donde predominaron signos como la presencia de escara de inoculación asociada a linfadenopatía regional; siendo poco frecuente el exantema y otras manifestaciones como fiebre moderada, cefalea, mialgias, artralgias y malestar general.

Actualmente, la infección por *R. philipii* hace parte de los diagnósticos diferenciales de las rickettsiosis asociadas a escara de inoculación en EEUU, junto con las causadas por *R. parkeri* y *R. akari* (Cragun et al. 2010).

#### **4.2.3. Diagnóstico y tratamiento**

Existen métodos directos e indirectos útiles para el diagnóstico de las rickettsiosis, tanto en la fase aguda (pruebas moleculares, inmunohistoquímica y cultivo celular) como en la fase convaleciente (pruebas serológicas) de la enfermedad (La Scola & Raoult 1997). La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es considerada como el método diagnóstico de referencia, en el cual se deben evaluar, idealmente, muestras de suero pareadas, con el fin de detectar seroconversión ( $\geq 4$  títulos o  $\geq$

2 veces la dilución) frente antígenos específicos del género *Rickettsia* (Missailidis et al. 2014). A pesar de que esta prueba serológica es de fácil acceso y manejo, su mayor debilidad radica en la frecuente reacción cruzada que se presenta entre las diferentes especies de *Rickettsia*, especialmente, cuando pertenecen a un mismo grupo filogenético (La Scola & Raoult 1997). Sin embargo, con el fin de solucionar este inconveniente, en algunos centros de referencia, las muestras de suero (posterior prueba de IFI) son evaluadas por la prueba de Western blotting asociada a inmunoabsorción cruzada, logrando determinar de forma específica la especie de *Rickettsia* involucrada en la enfermedad (Parola et al. 2013).

Por su parte, los métodos de diagnóstico directo vienen siendo cada vez más utilizados de forma individual o en combinación, destacándose la amplificación de genes conservados del género *Rickettsia* (*gltA*, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *htrA* y *16S rDNA*) por medio de qPCR o PCR convencional y el aislamiento a través de cultivo celular por el método de shell vial, a partir de muestras humanas como: sangre total, órganos, escara de inoculación (por biopsia o hisopado), biopsias de lesiones dermatológicas e inclusive de garrapatas retiradas de los pacientes (Parola et al. 2013).

De igual forma, también se ha demostrado el gran rendimiento diagnóstico del método de hisopado en las rickettsiosis con escara de inoculación, siendo posible la detección de la especie de *Rickettsia* causante de enfermedad, incluso posterior al inicio de tratamiento antibiótico (Solary et al. 2014, Portillo et al. 2013). En la figura 13 se presenta un algoritmo diagnóstico para las rickettsiosis (Faccini-Martínez et al. 2014).

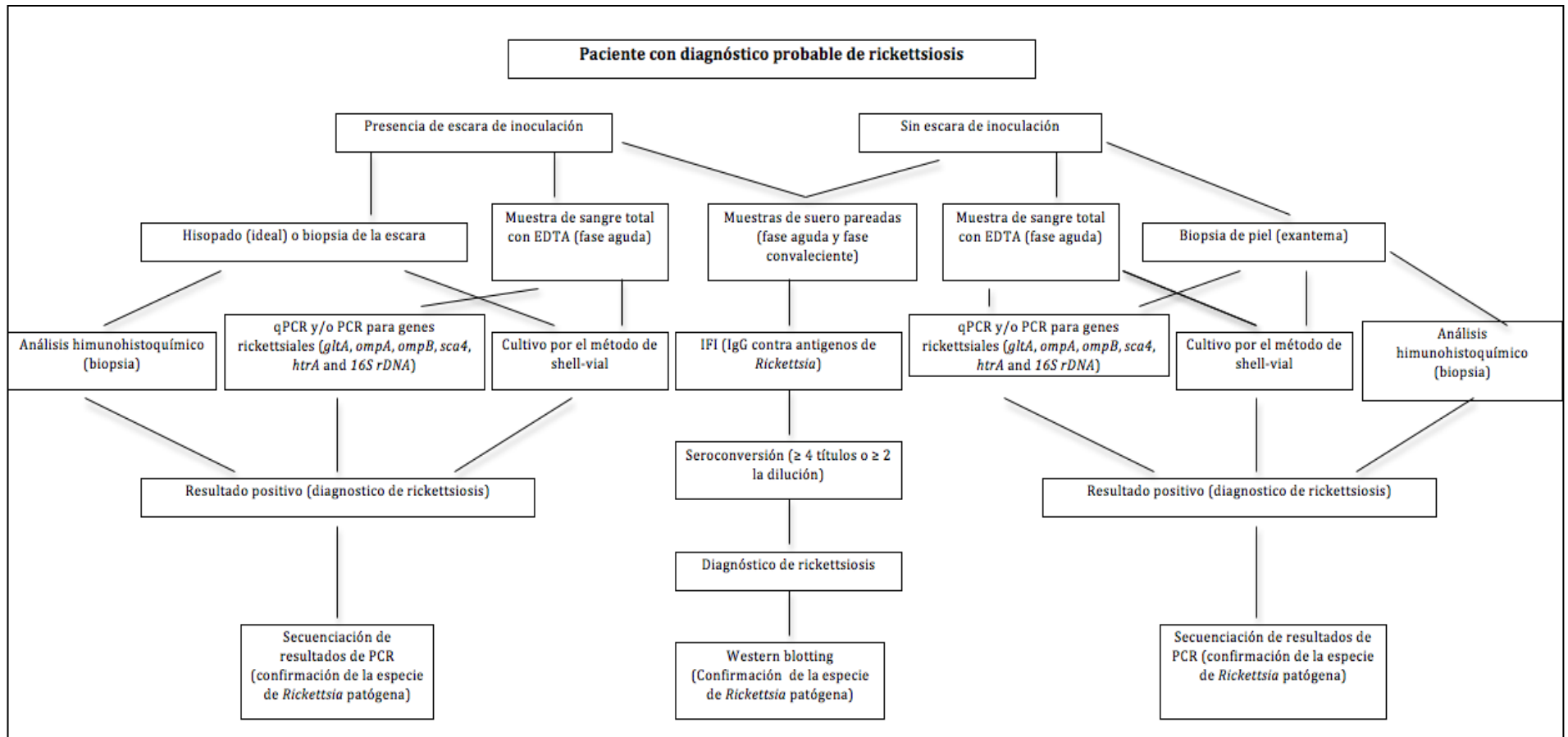


Figura 13: Algoritmo diagnóstico para las rickettsiosis (Faccini-Martínez et al. 2014).

Ante la sospecha diagnóstica, teniendo en cuenta los hallazgos clínicos, antecedentes epidemiológicos y resultados de laboratorio iniciales, debe iniciarse un manejo antibiótico adecuado de forma empírica y oportuna, ya que el retraso en la espera de pruebas confirmatorias puede aumentar el riesgo de mortalidad, en especial si se trata de rickettsiosis con alta probabilidad de severidad como las causadas por *R. rickettsii*, *R. prowazekii*, *O. tsutsugamushi*, entre otras. La doxiciclina continúa siendo el tratamiento de elección para estas enfermedades, inclusive recomendada en niños y mujeres embarazadas con enfermedad severa. Otros antibióticos, como algunos macrólidos (Claritromicina, Josamicina y azitromicina), pueden ser opciones terapéuticas para el tratamiento de las rickettsiosis de comportamiento benigno (Botelho-Nevers et al. 2012). En la tabla 7 se describen las dosis, duración y las respectivas consideraciones del tratamiento antibiótico de las rickettsiosis en adultos, niños y mujeres embarazadas (Botelho-Nevers et al. 2012).

**Tabla 7:** Tratamiento antibiótico de las rickettsiosis (Botelho-Nevers et al. 2012).

| Antibiótico   | Indicaciones   | Dosis  | Duración del tratamiento   |
|---|--|--|--|
| <b>Doxiciclina (tratamiento de elección para las rickettsiosis)</b> | * Rickettsiosis severa (incluyendo mujeres embarazadas y niños), idealmente endovenoso<br>* Adultos o niños > 45kg | * Adultos o niños > 45kg: 100mg dos veces al día<br>* Mujeres embarazadas (ultimo trimestre): 100mg dos veces al día<br>* Niños < 45kg: 2.2mg/kg dos veces al día                                  | Continuar hasta 3 días después de que los síntomas se resuelvan            |
| <b>Macrólidos (Josamicina, Claritromicina y Azitromicina)</b>       | * Opción para las rickettsiosis no severas en niños y mujeres embarazadas  | * Josamicina: niños (50mg/kg dos veces al día), mujeres embarazadas (1g c/8h)<br>* Claritromicina para niños: 15 mg/kg/día en dosis dividida<br>* Azitromicina para niños: 10 mg/kg/día en 1 dosis | Josamicina: 5 días,<br>Claritromicina: 7 días,<br>and Azitromicina: 3 días |
| <b>Cloranfenicol</b>  | * Opción alternativa para las rickettsiosis severas  | * Adultos y mujeres embarazadas (primer y segundo trimestre): 60 a 75 mg/kg/día dividido en 4 dosis<br>* Niños: 12.5-25 mg/kg cada 6h  | 5-10 días  |



#### 4.2.4. Epidemiología en Colombia

El pionero colombiano en el estudio de las rickettsiosis fue el Doctor Luis Patiño-Camargo, gracias a sus aportes en la descripción clínica y epidemiológica del tifus exantemático en Bogotá (1918-1922) (Patiño-Camargo 1922), de la fiebre de Tobia en Cundinamarca (1935) (Patino et al. 1937) y el aislamiento de *R. rickettsii* como su agente etiológico (1941) (Patiño-Camargo 1941).

Después de un silencio epidemiológico aproximado de 70 años, se reanudó el interés por estas enfermedades con la descripción de dos casos fatales ocurridos en los años 2003 y 2004, en pacientes procedentes del municipio de Villeta y el corregimiento de Tobia, con diagnóstico confirmado de infección por *R. rickettsii* tanto por pruebas moleculares como histopatológicas (Hidalgo et al. 2007a).

Posteriormente, en estudios realizados en la misma área geográfica (municipio de Villeta), se demostraron porcentajes de seroprevalencia importantes para rickettsias del GFM en humanos, caninos y equinos (40,3%, 18,2% y 16,3%, respectivamente) (Hidalgo et al. 2007b, Hidalgo et al. 2009), y para el período comprendido entre 2006 y 2008 se presentaron nuevos brotes de alta letalidad (26-54%) por *R. rickettsii* en el noroccidente colombiano (municipios de Necoclí, Los Córdoba y Turbo) (Acosta et al. 2006, Hidalgo et al. 2011, Pacheco-García et al. 2008).

Por otro lado, teniendo en cuenta antecedentes y datos estadísticos por parte del Instituto Nacional de Salud de Colombia, que implicaban, desde los años 90, al departamento de Caldas como una zona endémica para tifus murino a través del reporte de casos febriles diagnosticados por la prueba de Weil-Felix; se realizó en el año 2005 un estudio epidemiológico y de casos con el fin de confirmar la presencia de esta enfermedad en el norte de Caldas, por medio de la prueba de IFI, confirmando 13 casos compatibles (Hidalgo et al. 2008). A su vez, en la misma área geográfica (norte de Caldas), se logró la primera caracterización molecular de

*R. felis* en Colombia, a partir de pulgas recolectadas sobre animales domésticos y roedores sinantrópicos (Ramírez-Hernández et al. 2013), la evidencia de altos porcentajes de seropositividad en la población humana para rickettsias transmitidas por pulgas (17,8% [*R. felis*] y 25,2% [*R. typhi*]), y la descripción por seroconversión de 9 casos de rickettsiosis humana (total de 26 casos de síndrome febril agudo), resaltando que 5 de estos fueron explicados por rickettsias del GFM y 4 por rickettsias transmitidas por pulgas (Hidalgo et al. 2013).

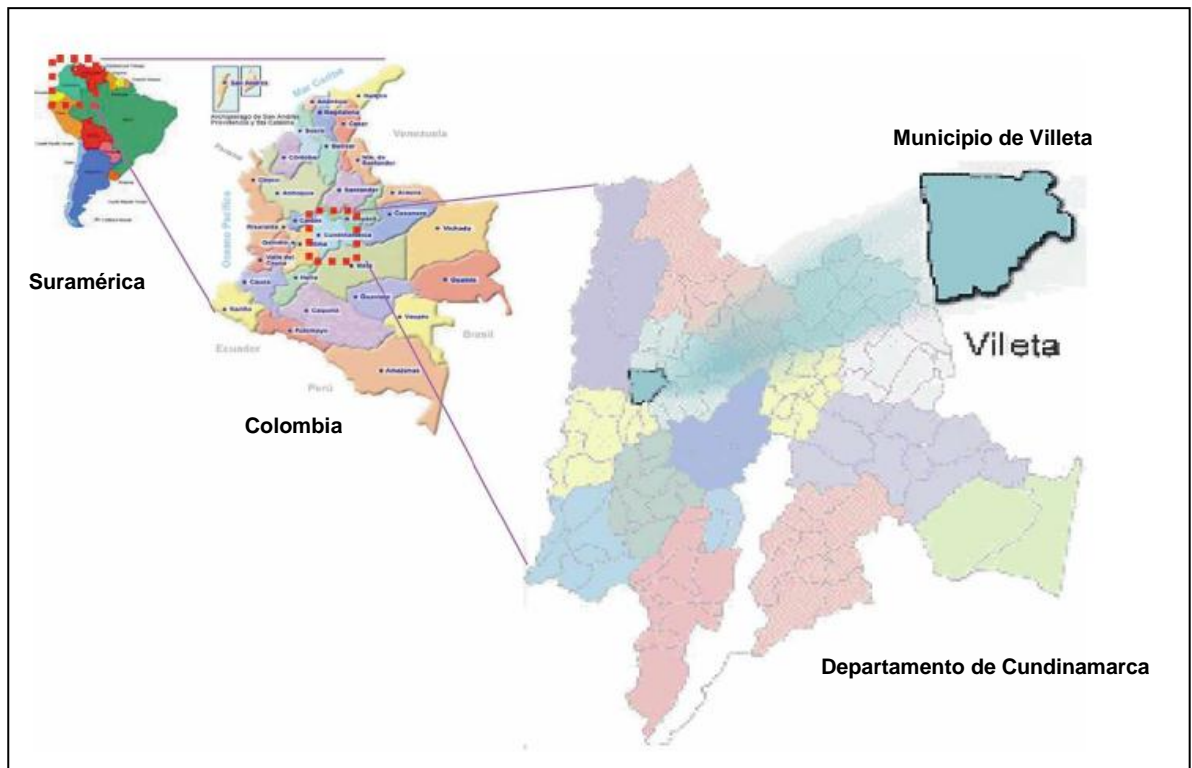
Otros aportes recientes a la epidemiología de las rickettsiosis en Colombia son: la caracterización molecular de *R. belli* y de una nueva especie sugerida como *Candidatus R. colombianensi* en garrapatas del departamento de Córdoba (Miranda et al. 2012, Miranda & Mattar 2014), el reconocimiento de las rickettsiosis como parte de la etiología del síndrome febril agudo inespecífico en Cundinamarca y en el Urabá antioqueño (Suárez et al. 2008, Arroyave et al. 2013) y la caracterización molecular y aislamiento de *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest en garrapatas *A. ovale* capturadas en el Urabá antioqueño (Londoño et al 2013, Londoño et al. 2014).

## **5. METODOLOGÍA**

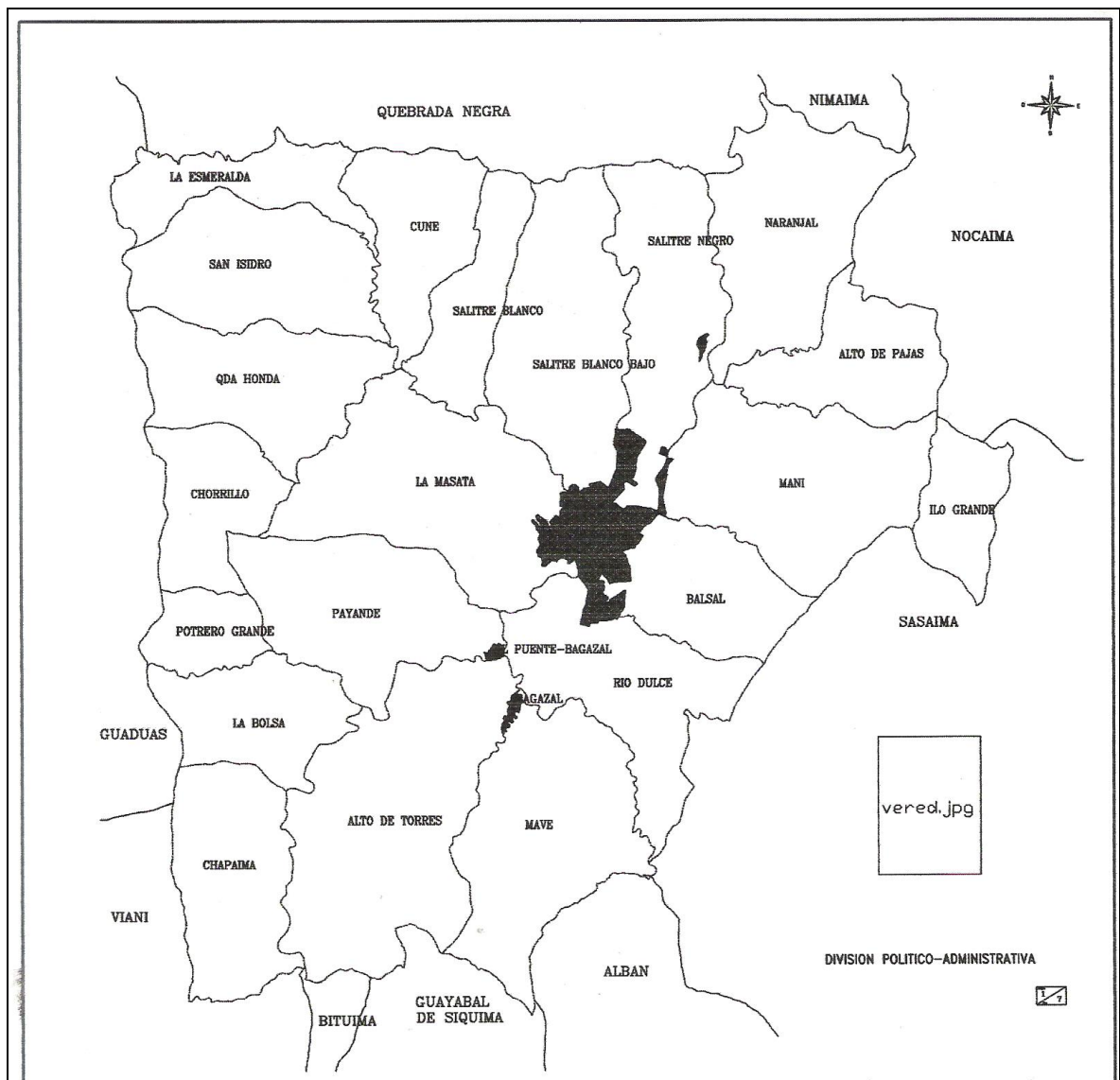
### **5.1. Área geográfica del estudio**

El municipio de Villeta, con una población aproximada de 25061 habitantes (DANE, 2014), es considerado la capital de la provincia del Gaulivá, y se encuentra ubicado a 91 km de Bogotá, en la cordillera oriental, zona noroccidental del Departamento de Cundinamarca (región central de Colombia) (figura 14) ([www.villeta-cundinamarca.gov.co](http://www.villeta-cundinamarca.gov.co)). Su localización geográfica esta a los 5°01´ latitud norte y 74°28´ longitud occidental, con una temperatura media de 25°C, una superficie total de 140km<sup>2</sup>, altitud entre los 700 msnm hasta 1900 msnm, humedad relativa entre 80-85% y clima con variaciones entre seco y templado húmedo ([www.villeta-cundinamarca.gov.co](http://www.villeta-cundinamarca.gov.co)). Se encuentra dividido en 22 veredas (Alto de pajas, Alto de Torres, Bagazal, Cune, Chapaima, El Balsal, El Chorrillo, Ilo

Grande, La Bolsa, La Esmeralda, La Masata, Maní, Mave, Naranjal, Payandé, Potrerogrande, Quebrada Honda, El Puente, Río Dulce, San Isidro, Salitre Blanco y Salitre Negro) y la cabecera municipal (en el centro del municipio) (figura 15) ([www.villeta-cundinamarca.gov.co](http://www.villeta-cundinamarca.gov.co)). Su economía se basa principalmente en la agricultura, destacándose la producción de caña panelera, y en el ecoturismo ([www.villeta-cundinamarca.gov.co](http://www.villeta-cundinamarca.gov.co)).



**Figura 14:** Ubicación geográfica del municipio de Villeta (Hidalgo et al. 2007).



**Figura 15:** División geográfica del municipio de Villeta (Unidad de desarrollo para el campo de Villeta, 2011).

## 5.2. Muestreo en animales domésticos

En colaboración con la Unidad de desarrollo para el campo de Villeta, durante el periodo comprendido entre el 21 de noviembre y el 9 de diciembre del 2011, se realizó un muestreo por conveniencia en animales domésticos (equinos, caninos y bovinos) de las 22 veredas y cabecera municipal del municipio de Villeta, con el fin

de tomar muestras de sangre total y realizar captura de garrapatas sobre hospedero (fase parasítica) de forma manual y con pinzas entomológicas.

Las muestras de sangre fueron almacenadas y conservadas en cadena de frío, y las garrapatas capturadas fueron depositadas en tubos plásticos de 1,5 ml con alcohol al 70%, rotulados individualmente teniendo en cuenta hospedero animal en el cual se realizó la captura. Ambos tipos de muestras fueron llevadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, donde se realizó separación de suero a partir de sangre total por centrifugación (3500 rpm x 10 minutos), el cual fue depositado en tubos plásticos de 1,5 ml rotulados con un código asignado, y posteriormente enviados al Laboratorio de Bacteriología Especial de la Pontificia Universidad Javeriana (sede Bogotá) para su conservación a -20° hasta su procesamiento.

### **5.3. Determinación de seropositividad frente el grupo de las fiebres manchadas en animales domésticos**

Se obtuvo un total de 254 muestras individuales de suero (118 en caninos, 74 en caballos y 62 en bovinos). Siguiendo el protocolo estandarizado y descrito en *Hidalgo et al. 2009* para la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en muestras de animales domésticos, se utilizaron láminas antigenadas con *R. rickettsii* cepa Taiacu (donadas por el Dr. Marcelo Labruna) con el fin de titular anticuerpos de tipo IgG contra rickettsias del GFM, teniendo en cuenta como resultado positivo (punto de corte) una dilución  $\geq 1:64$ .

Como controles positivos se utilizaron sueros reactivos para el GFM (antígeno de *R. rickettsii*) obtenidos a partir de un canino y un caballo procedentes del mismo municipio en un estudio previo (Hidalgo et al. 2009), y un suero reactivo para el GFM (antígeno de *R. africae*) obtenido a partir de un bovino procedente de las Islas del Caribe (donado por el Dr. Patrick Kelly, Ross University, School of Veterinary Medicine, Basseterre, St. Kitts).

#### **5.4. Clasificación de garrapatas capturadas sobre animales domésticos en zonas con valores más altos de seropositividad frente el grupo de las fiebres manchadas**

En las 5 zonas geográficas del municipio de Villeta (Cabecera municipal, vereda Chapaima, vereda Naranjal, vereda Cune y vereda Salitre Blanco) donde se obtuvo los valores más altos de seropositividad contra rickettsias del GFM (datos mostrados más adelante en el punto 6.1.), se capturaron un total de 516 garrapatas sobre animales domésticos (310 en équidos, 126 en caninos y 80 en bovinos). En el Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, fueron organizadas y clasificadas mediante claves taxonómicas (Barros-Battesti et al. 2006), y depositadas nuevamente en tubos plásticos de 1.5ml con etanol al 70%, rotulados teniendo en cuenta zona de procedencia, hospedero, género, especie y estadio. Posteriormente fueron enviadas al Laboratorio de Bacteriología Especial de la Pontificia Universidad Javeriana para su conservación a 4°C hasta su procesamiento.

#### **5.5. Muestreo y clasificación de garrapatas capturadas sobre mamíferos silvestres y en vida libre**

En colaboración con la Unidad de desarrollo para el campo de Villeta, en el mes de julio de 2012, teniendo en cuenta zonas de probable circulación de rickettsias del GFM (seropositividad en animales domésticos y humanos) por estudios previos (Hidalgo et al. 2007b, Hidalgo et al. 2009) y datos altitudinales que lograran abarcar los límites del municipio de Villeta (700-1900 msnm), se definieron 17 sitios de muestreo (tabla 8), en los cuales se realizó la recolección de garrapatas sobre vegetación o en vida libre (fase no parasítica) a través de los métodos de arrastre y bandereo (flagging/dragging) (Terassini et al. 2010) en zonas de potrero y matorrales (única por cada sitio de muestreo) y la captura de 13 mamíferos silvestres utilizando trampas Sherman (n = 30) y Tomahawk (n = 20) ubicadas una vez por noche en cada uno de los sitios, utilizando como cebo una

mezcla de mantequilla de maní con banano, hojuelas de maíz y esencia de vainilla.

**Tabla 8:** Sitios de muestreo definidos para la captura de mamíferos silvestres y garrapatas en vida libre.

| Zona geográfica       | Altitud de cada sitio de muestreo (msnm) |          |           |           |           |           |
|-----------------------|--|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Vereda San Isidro     |  |          |           |           |           | 1700-1900 |
| Vereda Chapaima       |  |          | 1100-1300 | 1300-1500 | 1500-1700 |           |
| Vereda Payandé        |  | 900-1100 |           |           |           |           |
| Vereda Salitre Blanco |  |          |           | 1300-1500 | 1500-1700 |           |
| Vereda Mave           | 700-900                                  | 900-1100 |           |           |           |           |
| Vereda Mani           | 700-900                                  | 900-1100 |           |           |           |           |
| Vereda Naranja        | 700-900                                  | 900-1100 |           |           |           |           |
| Cabecera Municipal    | 700-900                                  |          |           |           |           |           |
| Vereda Alto de Torres |  | 900-1100 |           | 1300-1500 |           |           |
| Vereda Ilo Grande     |  |          | 1100-1300 |           |           |           |

Los mamíferos silvestres fueron sedados para la captura de garrapatas en fase parasítica, y posteriormente fueron sacrificados y depositados en un contenedor con alcohol al 90% para su envío al Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, donde fueron clasificados taxonómicamente, de la siguiente manera: *Didelphis marsupialis* (n=5), *Marmosa robinsoni* (n=3), *Mus musculus* (n=3), *Rattus rattus* (n=1) y *Sigmodon hirsutus* (n=1).

Se capturaron 27 garrapatas en fase parasítica (utilizando peines y pinzas), todas removidas a partir de 4 *D. marsupialis*, y 744 garrapatas sobre vegetación. Todos los ejemplares fueron conservados en tubos plásticos de 1,5 ml con etanol al 70% y enviadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, donde fueron organizadas y clasificadas mediante claves taxonómicas (Barros-Battesti et al. 2006), y depositadas nuevamente en tubos plásticos de 1,5 ml con alcohol al 70%, rotulados teniendo en cuenta zona de

procedencia, hospedero, género, especie y estadio. Posteriormente fueron enviadas al Laboratorio de Bacteriología Especial de la Pontificia Universidad Javeriana para su conservación a 4°C hasta su procesamiento.

### **5.6. Caracterización molecular de especies de *Rickettsia* en garrapatas recolectadas**

Con el total de garrapatas capturadas se formaron grupos (pooles) teniendo en cuenta zona de procedencia, hospedero, género, especie y estadio; con un número de individuos según el estadio (hembras de forma individual o a la mitad, machos entre 2 y 4 especímenes, ninfas entre 7 a 12 especímenes y larvas entre 10 a 20 especímenes). Cada grupo fue macerado en tubos plásticos de 1.5ml con adición de solución tamponada de sales PBS 1x y posteriormente procesados para la extracción de ADN mediante el estuche comercial de Qiagen (DNeasy Blood and Tissue; QIAGEN Inc., Valencia, CA) y Tiocianato de Guanidina (DNAzol; Invitrogen™, Life Technologies Corp., Grand Island, NY), como se describe en *Ramírez-Hernández A, et al. 2013* (Ramírez-Hernández et al. 2013). Como controles de extracción, se procesaron todos los reactivos por el mismo protocolo en ausencia de macerado de garrapatas.

El ADN extraído de cada grupo fue cuantificado mediante Nanodrop verificando su concentración en ng/μL y su calidad (relación 260/280 entre 1,8 y 2). Todos los grupos fueron llevados a una concentración estándar de 100 ng/μL (dilución en agua grado molecular si así lo requería).

Asegurando una cantidad de 150 ng/μL por muestra (grupo) en cada reacción de PCR, se llevaron a cabo los siguientes protocolos: Amplificación de un fragmento de 460pb del gen *16s rDNA* mitocondrial de garrapata (Black & Piesman 1994), como control de inhibición. Los grupos positivos para dicho gen fueron procesados mediante dos protocolos de PCR secuencial (semianidada [Rr190.70p-Rr190.701n/Rr190.602n] y anidada [rompB OF-rompB OR/rompB SFG IF-rompB



SFG IR]) con el fin de amplificar un fragmento final de 532pb del gen rickettsial *ompA* (Regnery et al. 1991, Roux et al. 1996) y un fragmento final de 420pb del gen rickettsial *ompB* (Choi et al. 2005), respectivamente (tabla 9). Como control positivo se utilizó ADN puro de *R. slovaca* y como control negativo agua grado molecular. Los resultados fueron verificados previa electroforesis en gel de agarosa (1.5%) y SYBR® Safe como intercalante (Invitrogen™, Life Technologies Corp., Grand Island, NY), mediante fotodocumentador. Los anteriores protocolos de PCR fueron realizados en colaboración con el Laboratorio de Patógenos Especiales (Centro de Rickettsiosis y Enfermedades Transmitidas por Artrópodos Vectores) del Centro de Investigación Biomédica de la Rioja (CIBIR), en Logroño, España.

**Tabla 9:** Protocolos de PCR utilizados a partir del ADN extraído de los grupos de garrapatas.

| Gen blanco   | Secuencias de iniciadores (5' - 3')   | Tamaño del fragmento |
|--|---|----------------------|
| <i>16s rDNA</i> mitocondrial de garrapata<br>(control de inhibición) | 16S+1<br>CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT<br>16S-1<br>GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT                                   | 460pb                |
| <i>ompA</i> (genero <i>Rickettsia</i> )                              | Rr190.70p<br>ATGGCGAATATTTCTCCAAAA<br>Rr190.701n<br>GTTCCGTTAATGGCAGCATCT<br>(primera reacción)         | 631pb                |
|  | Rr190.70p<br>ATGGCGAATATTTCTCCAAAA<br>Rr190.602n<br>AGTGCAGCATTGCTCCCCCT<br>(segunda reacción)          | 532pb                |
| <i>ompB</i> (genero <i>Rickettsia</i> )                              | rompB OF<br>GTAACCGGAAGTAATCGTTTCGTAA<br>rompB OR<br>GCTTTATAACCAGCTAAACCACC<br>(primera reacción)      | 511pb                |
|  | rompB SFG IF<br>GTTTAATACGTGCTGCTAACCAA<br>rompB SFG IR<br>GGTTTGGCCCATATACCATAAG<br>(segunda reacción) | 420pb                |

Todos los productos de PCR con fragmentos esperados (genes rickettsiales; 532 pb y 420 pb) fueron secuenciados (servicio de secuenciación asociado al CIBIR, Logroño, España), y las secuencias resultantes comparadas con las depositadas en el GenBank mediante la herramienta BLAST.

### **5.7. Seguimiento diagnóstico a los casos humanos de síndrome febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta**

En colaboración con el Laboratorio de Bacteriología del Hospital Salazar de Villeta (centro médico de referencia para el municipio), durante el período comprendido entre octubre de 2011 y marzo de 2013, se captaron los pacientes que ingresaron con diagnóstico presuntivo de infección por virus Dengue, con el fin de tomar muestras de suero pareadas (fase aguda y fase convaleciente de la enfermedad) con intervalo entre una y otra  $> 15$  días y  $< 2$  meses (previa firma de consentimiento informado). El anterior protocolo fue aprobado previamente por el comité de ética de la Pontificia Universidad Javeriana.

A su vez, mediante la consulta de historia clínica de cada paciente, se tomaron datos demográficos como género, edad, procedencia y ocupación, y datos clínicos (signos y síntomas) y paraclínicos (conteo de leucocitos y plaquetas) de la fase aguda de la enfermedad. Cabe aclarar que todos los pacientes captados en este estudio fueron tratados por el personal médico del Hospital Salazar en consecuencia con el diagnóstico presuntivo; por lo cual solo recibieron manejo sintomático (reposición de líquidos y medicamentos antipiréticos), sin ningún tratamiento antibiótico específico.

Únicamente se incluyeron en el estudio los pacientes en los cuales se logró obtener muestras pareadas. Estas fueron enviadas, conservando cadena de frío, al Laboratorio de Bacteriología Especial de la Pontificia Universidad Javeriana para su conservación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

Con el fin de determinar la probable etiología infecciosa del síndrome febril agudo en dichos pacientes, se llevaron a cabo las siguientes pruebas diagnósticas a partir de las muestras de suero: 1) IFI utilizando láminas antigenadas con *R. rickettsii* cepa Taiacu y *R. amblyommii* cepa Ac37 (donadas por el Dr. Marcelo Labruna), con el fin de determinar y titular anticuerpos de tipo IgG contra Rickettsias del GFM, teniendo en cuenta como punto de corte una dilución de 1:64, y como seroconversión una diferencia  $\geq$  a 4 títulos o  $\geq$  2 veces la dilución, entre la muestra de fase aguda y fase convaleciente, como se describe en *Hidalgo M, et al. 2013* (Hidalgo et al. 2013). 2) Test de Microaglutinación (por sus siglas en inglés MAT) realizado en colaboración con el grupo BIOMIGEN de la facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de la Salle (sede Bogotá), donde se evaluaron 5 serovares patógenos (*Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Grippotyphosa* y *Canicola*) para la determinación y titulación de anticuerpos de tipo IgG contra *Leptospira*, teniendo en cuenta como punto de corte una dilución de 1:25, y como seroconversión una diferencia  $\geq$  a 4 títulos o  $\geq$  2 veces la dilución, entre la muestra de fase aguda y fase convaleciente. 3) IFI por medio del kit comercial “Q fever IFA IgG” de Focus Diagnostic®, realizado en colaboración con el Laboratorio de Patógenos Especiales del CIBIR, para la determinación y titulación de anticuerpos de tipo IgG contra *Coxiella burnetii* (antígenos de fase I y II), teniendo en cuenta como punto de corte una dilución de 1:16, y como seroconversión una diferencia  $\geq$  a 4 títulos o  $\geq$  2 veces la dilución, entre la muestra de fase aguda y fase convaleciente. 4) IFI por medio del kit comercial “*Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG” de Focus Diagnostic®, realizado en colaboración con el Laboratorio de Patógenos Especiales del CIBIR, para la determinación y titulación de anticuerpos de tipo IgG contra *A. phagocytophilum*, teniendo en cuenta como punto de corte una dilución de 1:64, y como seroconversión una diferencia  $\geq$  a 4 títulos o  $\geq$  2 veces la dilución, entre la muestra de fase aguda y fase convaleciente. 4) ELISA de captura (Panbio Diagnostic®) para la detección de anticuerpos de tipo IgM contra virus Dengue en fase aguda de la enfermedad. Cabe aclarar que el resultado de esta última prueba diagnóstica (realizada por la entidad de salud

gubernamental para el municipio) fue tomado de la historia clínica de cada paciente.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Seropositividad frente a rickettsias del grupo de las fiebres manchadas en animales domésticos

La seropositividad para rickettsias del GFM fue del 33,7% (25/74) en caballos, con títulos de anticuerpos entre 1:64 hasta 1:8192 (tabla 10); del 14,4% (17/118) en caninos, con títulos de anticuerpos entre 1:64 hasta 1:8192 (tabla 11); y del 50% (31/62) en bovinos, con títulos de anticuerpos entre 1:64 hasta 1:128 (tabla 12). Las zonas geográficas del municipio de Villeta donde se obtuvo los valores mas altos de seropositividad, fueron: Cabecera municipal (dos caballos con títulos de 1:4096 y 1:8192, respectivamente), vereda Chapaima (un canino con títulos de 1:4096), vereda Naranjal (un canino con títulos de 1:512), vereda Cune (un canino con títulos de 1:8192) y vereda Salitre Blanco (un canino con títulos de 1:8192).

**Tabla 10:** Muestras de caballos seropositivos para anticuerpos IgG contra *R. rickettsii* (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta.

| Zona geográfica    | No. muestras positivas / No. total de muestras (%) | Dilución máxima de anticuerpos IgG contra antígeno <i>R. rickettsii</i> (GFM) |          |          |          |        |        |          |          |
|--------------------|--|---|----------|----------|----------|--------|--------|----------|----------|
|                    |  | 1:64  | 1:128    | 1:256    | 1:512    | 1:1024 | 1:2048 | 1:4096   | 1:8192   |
| Chapaima           | 3/8 (37,5%)  | 3   |          |          |          |        |        |          |          |
| La Bolsa           | 3/4 (75%)  | 3   |          |          |          |        |        |          |          |
| El Chorrillo       | 1/4 (25%)  | 1   |          |          |          |        |        |          |          |
| Payandé            | 2/2 (100%)   | 2   |          |          |          |        |        |          |          |
| Mave               | 1/5 (20%)  | 1   |          |          |          |        |        |          |          |
| Alto de Torres     | 0/3 (0%)   |   |          |          |          |        |        |          |          |
| Salitre Blanco     | 0/3 (0%)   |   |          |          |          |        |        |          |          |
| Naranjal           | 2/4 (50%)  |   | 2        |          |          |        |        |          |          |
| Salitre Negro      | 2/7 (28,5%)  | 1   | 1        |          |          |        |        |          |          |
| Alto de Paja       | 1/2 (50%)  | 1   |          |          |          |        |        |          |          |
| Mani               | 1/1 (100%)   |   | 1        |          |          |        |        |          |          |
| La Masata          | 0/1 (0%)   |   |          |          |          |        |        |          |          |
| Cune               | 0/5 (0%)   |   |          |          |          |        |        |          |          |
| El Balsal          | 1/3 (33,3%)  |   | 1        |          |          |        |        |          |          |
| El Puente          | 1/4 (25%)  |   |          |          | 1        |        |        |          |          |
| Bagazal            | 0/1 (0%)   |   |          |          |          |        |        |          |          |
| San Isidro         | 1/4 (25%)  |   | 1        |          |          |        |        |          |          |
| Ilo Grande         | 1/6 (16,6%)  | 1   |          |          |          |        |        |          |          |
| Cabecera Municipal | 5/7 (71,4%)  |   | 2        | 1        |          |        |        | 1        | 1        |
| <b>Total</b>       | <b>25/74 (33,7%)</b>                               | <b>13</b>   | <b>8</b> | <b>1</b> | <b>1</b> |        |        | <b>1</b> | <b>1</b> |

**Tabla 11:** Muestras de caninos seropositivos para anticuerpos IgG contra *R. rickettsii* (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta.

| Zona geográfica    | No. muestras positivas / No. total de muestras (%) | Dilución máxima de anticuerpos IgG contra antígeno <i>R. rickettsii</i> (GFM) |       |       |          |        |        |          |          |
|--------------------|--|---|-------|-------|----------|--------|--------|----------|----------|
|                    |  | 1:64  | 1:128 | 1:256 | 1:512    | 1:1024 | 1:2048 | 1:4096   | 1:8192   |
| Chapaima           | 4/5 (80%)  | 3   |       |       |          |        |        | 1        |          |
| La Bolsa           | 0/2 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| El Chorrillo       | 1/8 (12,5%)  | 1   |       |       |          |        |        |          |          |
| Payandé            | 0/4 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Mave               | 3/8 (37,5%)  | 3   |       |       |          |        |        |          |          |
| Alto de Torres     | 0/5 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Salitre Blanco     | 2/11 (18,1%)                                       | 1   |       |       |          |        |        |          | 1        |
| Naranjal           | 1/3 (33,3%)  |   |       |       | 1        |        |        |          |          |
| Salitre Negro      | 0/1 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Alto de Paja       | 0/5 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Mani               | 0/3 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| La Masata          | 1/3 (33,3%)  | 1   |       |       |          |        |        |          |          |
| Cune               | 1/5 (20%)  |   |       |       |          |        |        |          | 1        |
| Río Dulce          | 1/3 (33,3%)  | 1   |       |       |          |        |        |          |          |
| El Balsal          | 0/2 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| El Puente          | 0/6 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Bagazal            | 0/9 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| La Esmeralda       | 0/5 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| San Isidro         | 0/2 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Potrero Grande     | 1/4 (25%)  | 1   |       |       |          |        |        |          |          |
| Quebrada Honda     | 0/4 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Ilo Grande         | 0/6 (0%)   |   |       |       |          |        |        |          |          |
| Cabecera Municipal | 2/14 (14,2%)                                       | 2   |       |       |          |        |        |          |          |
| <b>Total</b>       | <b>17/118 (14,4%)</b>                              | <b>13</b>   |       |       | <b>1</b> |        |        | <b>1</b> | <b>2</b> |

**Tabla 12:** Muestras de bovinos seropositivos para anticuerpos IgG contra *R. rickettsii* (GFM), por la prueba de IFI; noviembre a diciembre de 2011, Villeta.

| Zona geográfica | No. muestras positivas / No. total de muestras (%) | Dilución máxima de anticuerpos IgG contra antígeno <i>R. rickettsii</i> (GFM) |       |
|-----------------|--|---|-------|
|                 |  | 1:64  | 1:128 |
| Chapaima        | 1/4 (25%)  | 1   |       |
| La Bolsa        | 0/1 (0%)   |   |       |
| El Chorrillo    | 0/5 (0%)   |   |       |
| Mave            | 0/1 (0%)   |   |       |
| Salitre Blanco  | 2/9 (22,2%)  | 2   |       |
| Naranjal        | 6/12 (50%)   | 6   |       |
| Salitre Negro   | 0/2 (0%)   |   |       |
| Mani            | 7/8 (87,5%)  | 7   |       |
| Cune            | 3/4 (75%)  | 3   |       |
| Rio dulce       | 1/1 (100%)   | 1   |       |
| Bagazal         | 2/3 (66,6%)  | 2   |       |
| La esmeralda    | 0/2 (0%)   |   |       |
| San isidro      | 7/8 (87,5%)  | 5   | 2     |
| Potrero grande  | 2/2 (110%)   | 2   |       |
| Total           | 31/62 (50%)  | 29  | 2     |

## 6.2. Especies de garrapatas capturadas sobre animales domésticos en zonas con valores más altos de seropositividad frente al grupo de las fiebres manchadas

Del total de garrapatas, las capturadas sobre équidos representaron el 60% (310/516), las capturadas sobre caninos representaron el 24,4% (126/516) y las capturadas sobre bovinos representaron el 15,5% (80/516).

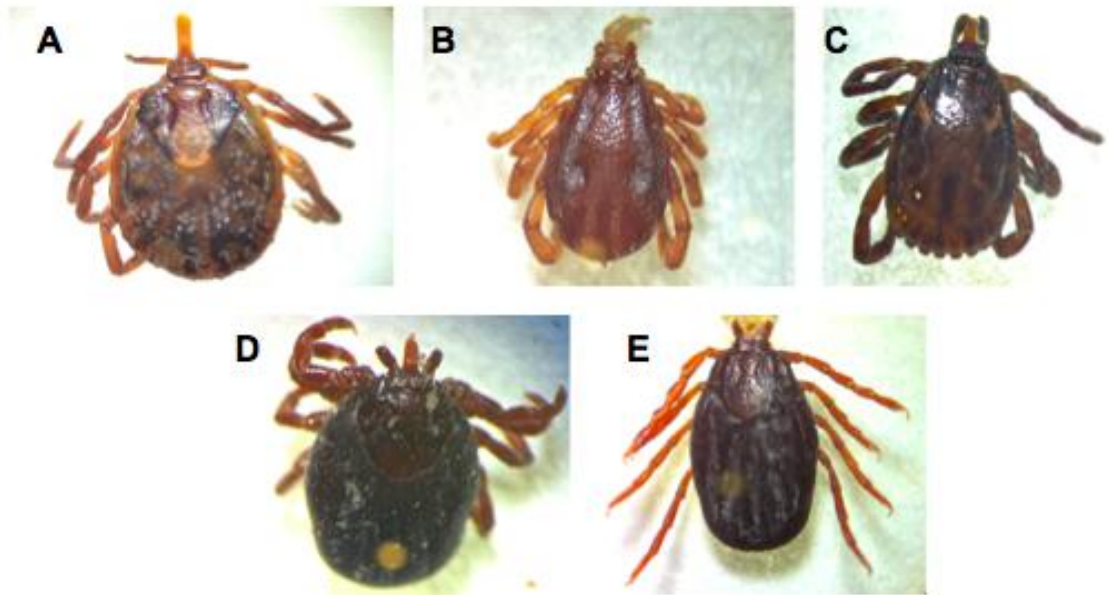
Del total de 310 garrapatas capturadas sobre équidos, el 77,7% (241/310) fueron clasificadas taxonómicamente como *Dermacentor nitens* y el 22,3% (69/310) como *Amblyomma cajennense* sensu lato (s.l.). Del total de 126 garrapatas capturadas sobre caninos, el 96,6% (122/126) fueron clasificadas como *Rhipicephalus sanguineus*, el 2,4% (3/126) como *A. cajennense* s.l., y el 0,8% (1/126) como *A. ovale*. Del total de 80 garrapatas capturadas sobre bovinos, el 52,5% (42/80)

fueron clasificadas como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y el 47,5% (38/80) como *A. cajennense* s.l.. En la tabla 13 se describe el total de garrapatas capturadas teniendo en cuenta el estadio de las mismas.

**Tabla 13:** Total de garrapatas capturadas teniendo en cuenta el estadio de las mismas.

| Animales domésticos         | Estadio de garrapatas capturadas |            |                                 | Especie de garrapata      | Total de especímenes |
|-----------------------------|----------------------------------|------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------|
|                             | Larvas                           | Ninfas     | Adultos (hembra [H], macho [M]) |                           |                      |
| Équidos                     | 10                               | 50         | 120 (H), 61 (M)                 | <i>D. nitens</i>          | 241                  |
|                             | 1                                | 7          | 26 (H), 35 (M)                  | <i>A. cajennense</i> s.l. | 69                   |
| Caninos                     | 0                                | 9          | 47 (H), 66 (M)                  | <i>R. sanguineus</i>      | 122                  |
|                             | 0                                | 0          | 3 (M)                           | <i>A. cajennense</i> s.l. | 3                    |
|                             | 0                                | 0          | 1 (M)                           | <i>A. ovale</i>           | 1                    |
| Bovinos                     | 0                                | 2          | 31 (H), 9 (M)                   | <i>R. (B). microplus</i>  | 42                   |
|                             | 0                                | 1          | 19 (H), 18 (M)                  | <i>A. cajennense</i> s.l. | 38                   |
| <b>Total</b>                | <b>11</b>                        | <b>69</b>  | <b>243 (H), 193 (M)</b>         |                           | <b>516</b>           |
| <b>Mamíferos silvestres</b> |                                  |            |                                 |                           |                      |
| <i>D. marsupialis</i>       | 0                                | 0          | 11 (H), 14 (M)                  | <i>I. luciae</i>          | 25                   |
|                             | 0                                | 0          | 2 (H)                           | <i>Ixodes</i> sp.         | 2                    |
| <b>Total</b>                | <b>0</b>                         | <b>0</b>   | <b>13 (H), 14 (M)</b>           |                           | <b>27</b>            |
| <b>Vida libre</b>           |                                  |            |                                 |                           |                      |
|                             | 296                              | 0          | 0                               | <i>R. (B). microplus</i>  | 296                  |
|                             | 222                              | 0          | 0                               | <i>Amblyomma</i> sp.      | 222                  |
|                             | 0                                | 158        | 2 (H), 2 (M)                    | <i>A. cajennense</i> s.l. | 162                  |
|                             | 64                               | 0          | 0                               | <i>Dermacentor</i> sp.    | 64                   |
| <b>Total</b>                | <b>582</b>                       | <b>158</b> | <b>2 (H), 2 (M)</b>             |                           | <b>744</b>           |

La garrapata *A. cajennense* s.l. fue la única especie que se encontró parasitando los tres tipos de animales domésticos evaluados. Mientras que especies como *R. sanguineus* y *A. ovale* únicamente se encontraron parasitando caninos, al igual que *D. nitens* respecto a équidos, y *R. (B). microplus* respecto a bovinos. La figura 16 muestra fotos de especímenes adultos de cada una de las especies capturadas en animales domésticos durante el estudio.

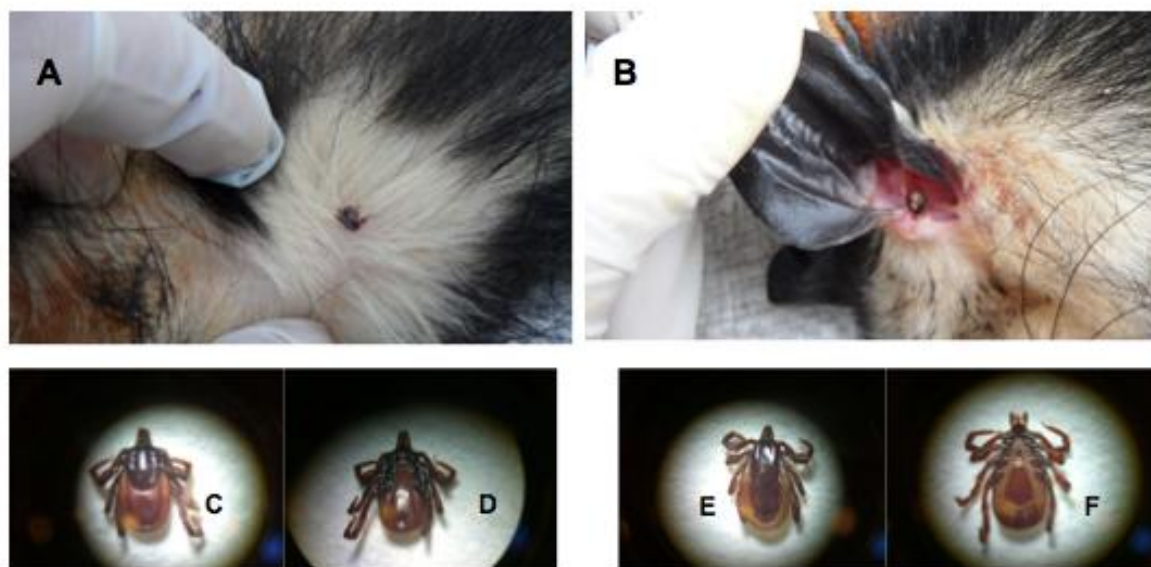


**Figura 16:** Ejemplares adultos de las 5 especies de garrapatas capturadas sobre animales domésticos en el estudio. Hembra de *A. cajennense* s.l. (A), Macho de *R. (B). microplus* (B), Macho de *A. ovale* (C), Hembra de *D. nitens* (D) y Hembra de *R. sanguineus* (E). Fuente: Autor.

### **6.3. Especies de garrapatas capturadas sobre mamíferos silvestres y en vida libre**

De las 27 garrapatas capturadas sobre los 4 *D. marsupialis*, el 92,5% (25/27) fueron clasificadas como *Ixodes luciae*, y el 7,4% (2/27) como *Ixodes* sp (tabla 13). La figura 17 muestra fotos de esta especie de garrapata en fase parasítica y especímenes adultos de forma individual.





**Figura 17:** *Ixodes luciae*. Fase parasítica sobre *D. marsupialis* (A y B); Hembra vista dorsal (C), Hembra vista ventral (D), Macho vista dorsal (E) y Macho vista ventral (F). Fuente: Autor.

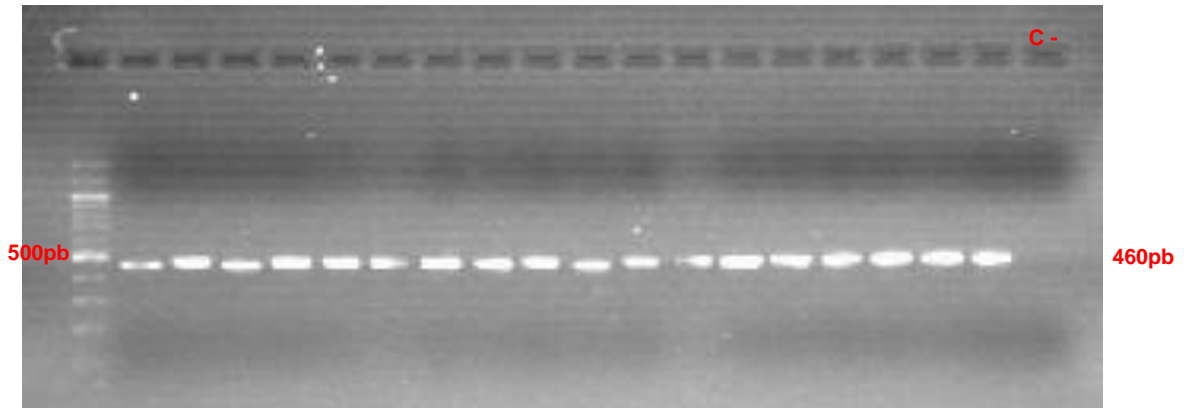
De total de las 744 garrapatas capturadas sobre vegetación (vida libre) el 39,8% (296/744) fueron clasificadas como *R. (B). microplus*, el 29,8% (222/744) como *Amblyomma* sp., el 21,8% (162/744) como *A. cajennense* s.l., y el 8,6% (64/744) como *Dermacentor* sp. (tabla 13).

#### **6.4. Especies de *Rickettsia* en garrapatas recolectadas**

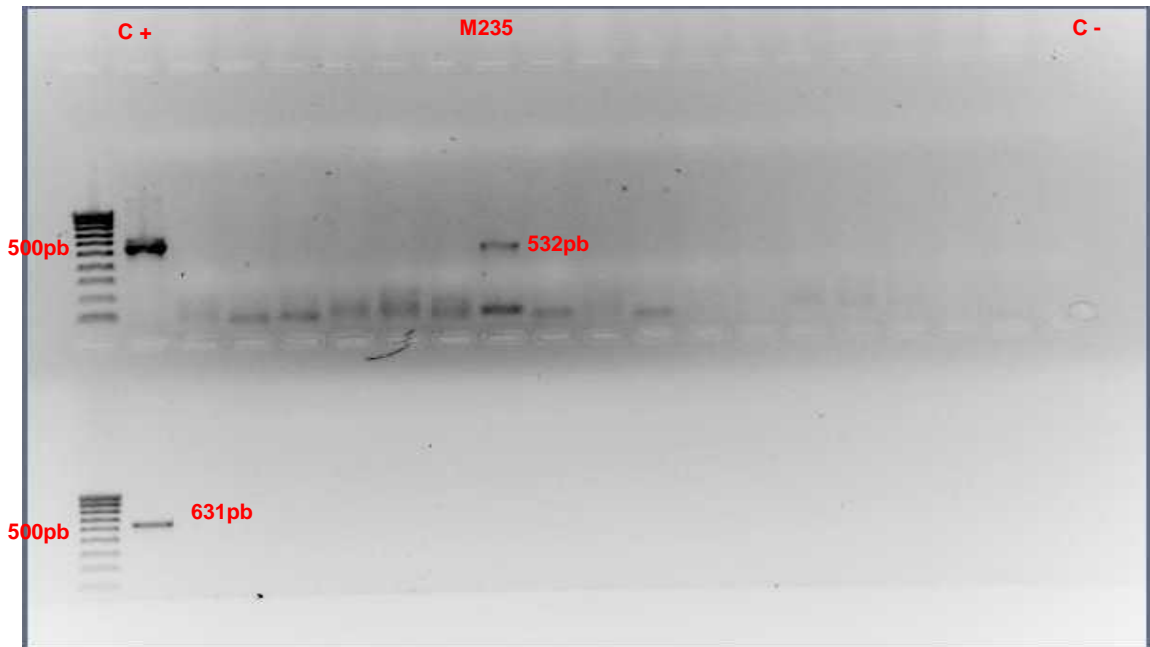
Se procesaron un total de 446 grupos (pooles) de garrapatas: 139 grupos de la cabecera municipal; 90 grupos de la vereda Chapaima; 45 grupos de la vereda Naranjal; 41 grupos de la vereda Cune; 24 grupos de la vereda Salitre Blanco; 18 grupos del genero *Ixodes* (capturadas sobre *D. marsupialis*) y 89 de vegetación. Ver tabla 14.

El 80,2% (358/446) de los grupos fueron positivos para el gen 16s *rDNA* de garrapata (figura 18), de los cuales el 1,7% (6/358) fueron positivos para por lo menos uno de los genes rickettsiales *ompA* u *ompB* (figura 19 y 20). Los

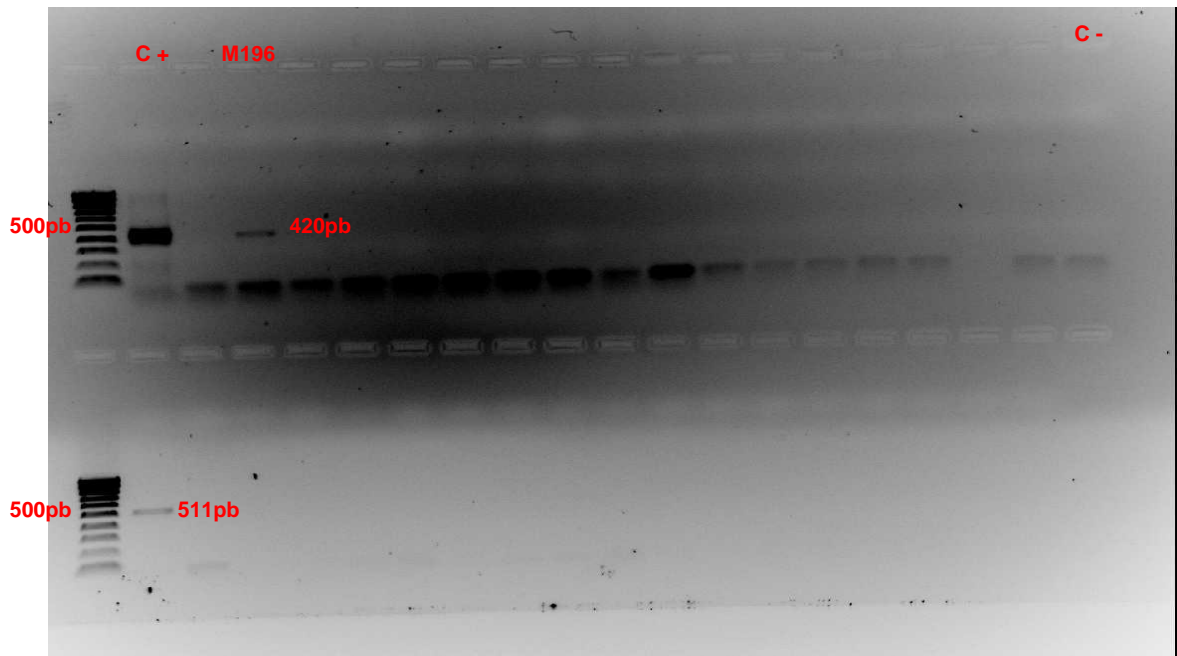
productos de PCR positivos correspondientes a los 6 grupos nombrados anteriormente fueron secuenciados. El análisis de las secuencias a través de la herramienta BLAST demostró los siguientes resultados: grupo “M181” (3 machos de *D. nitens*, vereda Salitre Blanco, Caballo) positivo para el gen *ompA* con una similitud del 99,5% (489/491pb) con *R. rickettsii* strain Hauke (GenBank CP003318.1), strain Hino (Genbank CP003309.1), strain Arizona (GenBank CP003307.1), strain Colombia (GenBank CP003306.1) y strain Brazil (GenBank CP003305.1); grupo “M196” (1 hembra de *R. [B]. microplus*, vereda Salitre Blanco, bovino) positivo para el gen *ompB* con una similitud del 99,7% (381/382pb) con *R. monacensis* strain IrR/Munich (GenBank EF380356.1); grupo “M235” (4 machos de *A. cajennense* s.l., vereda Naranjal, bovino) positivo para el gen *ompA* con una similitud del 94,9% (466/491pb) con *R. conorii* strain Malish 7 (Genbank AE006914.1); grupo “M822” (15 larvas de *Amblyomma* sp., vereda Naranjal, vegetación) positivo para el gen *ompA* con una similitud del 100% (491/491pb) con *R. rickettsii* strain Hauke (GenBank CP003318.1), strain Hino (Genbank CP003309.1), strain Arizona (GenBank CP003307.1), strain Colombia (GenBank CP003306.1) y strain Brazil (Genbank CP003305.1); grupo “M827” (10 ninfas de *A. cajennense* s.l., vereda Naranjal, vegetación) positivo para el gen *ompA* con una similitud del 100% (491/491pb) con *R. rickettsii* strain Hauke (GenBank CP003318.1), strain Hino (Genbank CP003309.1), strain Arizona (GenBank CP003307.1), strain Colombia (GenBank CP003306.1) y strain Brazil (Genbank CP003305.1); y grupo “M841” (15 larvas of *R. [B]. microplus*, vereda Mani, vegetación) positivo para el gen *ompA* con una similitud del 99,7% (487/488pb) con *R. amblyommii* strain Conduru (GenBank HQ231758.1). Ver tabla 14.



**Figura 18:** Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de agarosa (previa electroforesis) con bandas de 460pb (tamaño esperado para el gen *16s rDNA* mitocondrial de garrapata). Fuente: Autor.



**Figura 19:** Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de agarosa (previa electroforesis) con bandas de 532pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompA*, Rr190.70p-Rr190.602n) y de 631pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompA*, Rr190.70p-Rr190.701n); PCR semianidada positiva para la muestra “M235” (primera reacción en la parte inferior de la imagen, segunda reacción en la parte superior de la imagen). Fuente: Autor.



**Figura 20:** Imagen por fotodocumentador que ejemplifica un gel de agarosa (previa electroforesis) con bandas de 420pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompB*, rompB SFG IF-rompB SFG IR) y de 511pb (tamaño esperado para el gen rickettsial *ompB*, rompB OF-rompB OR); PCR anidada positiva para la muestra “M196” (primera reacción en la parte inferior de la imagen, segunda reacción en la parte superior de la imagen). Fuente: Autor.

**Tabla 14:** Grupos de garrapatas evaluadas en este estudio para la presencia de especies de *Rickettsia*; noviembre a diciembre de 2011 y julio de 2012, Municipio de Villeta. MIR (siglas en ingles de tasa de infección mínima), <sup>a</sup> 28 grupos de *A. cajennense* s.l (total de 42 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>b</sup> 14 grupos de *R. (B). microplus* (total de 16 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>c</sup> 4 grupos de *D. nitens* (total de 10 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>d</sup> 9 grupos de *A. cajennense* s.l (total de 51 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>e</sup> 17 grupos de *R. (B). microplus* (total de 229 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>f</sup> 8 grupos de *Amblyomma* sp. (total de 104 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*, <sup>g</sup> 80 grupos (<sup>a</sup> + <sup>b</sup> + <sup>c</sup> + <sup>d</sup> + <sup>e</sup> + <sup>f</sup>, total de 452 garrapatas) positivos para el gen *16s rDNA*.

| Procedencia del grupo de garrapatas | No. de grupos, especies de garrapata | No. de grupos positivos para el gen <i>16S rDNA</i> (%) | Grupos positivos para el gen <i>ompA</i> u <i>ompB</i> (MIR %)                       | <i>Rickettsia</i> spp.                            |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---|--|---|
| <b>Cabecera municipal</b>           |                                      | 121 grupos (87)   |  |   |
|                                     | 69 grupos, <i>R. sanguineus</i>      |   |  |   |
|                                     | 58 grupos, <i>D. nitens</i>          |   |  |   |
|                                     | 12 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l. |   |  |   |
| <b>Vereda Chapaima</b>              |                                      | 89 grupos (98,8)  |  |   |
|                                     | 81 grupos, <i>D. nitens</i>          |   |  |   |
|                                     | 5 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l.  |   |  |   |
|                                     | 3 grupos, <i>R. sanguineus</i>       |   |  |   |
|                                     | 1 grupo, <i>R. (B). microplus</i>    |   |  |   |
| <b>Vereda Naranjal</b>              |                                      | 36 grupos (80)  |  |   |
|                                     | 43 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l. |   | Grupo "M235" (4 machos, bovino), positivo para el gen <i>ompA</i> (2,3) <sup>a</sup> | <i>Rickettsia</i> sp. similar a <i>R. conorii</i> |
|                                     | 1 grupo, <i>A. ovale</i>             |   |  |   |
|                                     | 1 grupo, <i>R. sanguineus</i>        |   |  |   |
| <b>Vereda Cune</b>                  |                                      | 33 grupo (80,4)   |  |   |
|                                     | 22 grupos, <i>R. (B). microplus</i>  |   |  |   |

|                              |                                      |                          |  |   |
|------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|--|---|
|                              | 11 grupos, <i>D. nitens</i>          |                          |  |   |
|                              | 7 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l.  |                          |  |   |
|                              | 1 grupos, <i>R. sanguineus</i>       |                          |  |   |
| <b>Vereda Salitre Blanco</b> |                                      | 22 grupos (91,6)         |  |   |
|                              | 15 grupos, <i>R. (B). microplus</i>  |                          | <b>Grupo "M196" (1 hembra, bovino), positivo para el gen <i>ompB</i> (6,2)<sup>b</sup></b>           | <b><i>Rickettsia</i> sp. similar a <i>R. monacensis</i></b> |
|                              | 5 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l.  |                          |  |   |
|                              | 4 grupos, <i>D. nitens</i>           |                          | <b>Grupo "M181" (3 machos, caballo), positivo para el gen <i>ompA</i> (10)<sup>c</sup></b>           | <b><i>R. rickettsii</i></b>                                 |
| <b><i>D. marsupialis</i></b> |                                      | 17 grupos (94,4)         |  |   |
|                              | 16 grupos, <i>Ixodes luciae</i>      |                          |  |   |
|                              | 2 grupos, <i>Ixodes</i> sp.          |                          |  |   |
| <b>Vegetación</b>            |                                      | 40 grupos (44,9)         |  |   |
|                              | 32 grupos, <i>A. cajennense</i> s.l. |                          | <b>Grupo "M827" (10 ninfas, vereda Naranjal), positivo para el gen <i>ompA</i> (1,9)<sup>d</sup></b> | <b><i>R. rickettsii</i></b>                                 |
|                              | 26 grupos, <i>R. (B). microplus</i>  |                          | <b>Grupo "M841" (15 larvas, vereda Mani), positivo para el gen <i>ompA</i> (0,4)<sup>e</sup></b>     | <b><i>Candidatus R. amblyommii</i></b>                      |
|                              | 23 grupos, <i>Amblyomma</i> sp.      |                          | <b>Grupo "M822" (15 larvas, vereda Naranjal), positivo para el gen <i>ompA</i> (0,9)<sup>f</sup></b> | <b><i>R. rickettsii</i></b>                                 |
|                              | 8 grupos, <i>Dermacentor</i> sp.     |                          |  |   |
| <b>Total</b>                 | <b>446 grupos</b>                    | <b>358 grupos (80,2)</b> | <b>6 grupos (1,3)<sup>g</sup></b>  |   |

Las 6 secuencias parciales de nucleótidos obtenidas en este estudio fueron depositadas en la base de datos GenBank bajo los números de acceso: KJ433802 (M181), KJ433803 (M196), KJ433804 (M235), KJ433805 (M822), KJ433806 (M827), KJ433807 (M841). Ver anexos 1 al 6.

### **6.5. Seguimiento diagnóstico a los casos humanos de síndrome febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta**

En el mes de octubre de 2011 detectamos un caso probable de infección por *R. felis* mediante seroconversión, en un adolescente de 16 años de edad procedente del área urbana del municipio de Utica (Cundinamarca), quien consultó al Hospital

Salazar de Villeta por un cuadro clínico de 3 días de evolución consistente en fiebre subjetiva, asociado a astenia, adinamia, mialgias, odinofagia, tos seca y sensación de desvanecimiento. El diagnóstico probable se determinó tras un resultado de IgM negativo para Dengue, titulación de anticuerpos por IFI para diferentes especies de *Rickettsia* (algunas de las cuales no se evaluaron durante la totalidad del estudio por motivos de accesibilidad a las mismas [*R. felis*, *R. akari*, *R. parkeri* y *R. typhi*]) y la evolución benigna de la enfermedad sin necesidad de manejo antibiótico (Faccini-Martínez et al. 2013b); ver el manuscrito publicado en el anexo 7.

Por su parte, desde el mes de noviembre de 2011 hasta el mes de marzo de 2013, logramos captar un total de 335 casos humanos de síndrome febril agudo (impresión diagnóstica de infección por virus Dengue), de los cuales únicamente se obtuvo muestras de suero pareadas en 104 pacientes (31%). De estos, el 24% (25/104) de los pacientes presentaron seroconversión única para serovares patógenos de *Leptospira* (uno o mas serovares), siendo el serovar Icterohaemorrhagiae el mas representativo de forma individual o con reacción cruzada con los otros serovares (Tabla 15).

**Tabla 15:** Pacientes con seroconversión única frente a serovares patógenos de *Leptospira*. En colores y negrilla se resaltan los resultados que demuestran seroconversión; naranja claro (serovar Hardjo), naranja oscuro (serovar Icterohaemorrhagiae), azul claro (serovar Pomona), azul oscuro (serovar Grippotyphosa) y púrpura (serovar Canicola).

|    | Títulos MAT Leptospira Hardjo |                    | Títulos MAT Leptospira Icterohaemorrhagiae |                    | Títulos MAT Leptospira Pomona |                    | Títulos MAT Leptospira Grippotyphosa |                    | Títulos MAT Leptospira Canicola |                    |
|----|-------------------------------|--------------------|--|--------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------|
|    | Fase aguda                    | Fase convaleciente | Fase aguda                                 | Fase convaleciente | Fase aguda                    | Fase convaleciente | Fase aguda                           | Fase convaleciente | Fase aguda                      | Fase convaleciente |
| 1  | <1:25                         | 1:100              | 1:50                                       | 1:400              | <1:25                         | 1:25               | 1:100                                | 1:100              | 1:50                            | 1:100              |
| 2  | 1:50                          | <1:25              | 1:50                                       | 1:200              | <1:25                         | <1:25              | 1:25                                 | 1:100              | <1:25                           | 1:200              |
| 3  | 1:50                          | 1:400              | 1:50                                       | 1:400              | 1:200                         | 1:400              | 1:50                                 | 1:25               | 1:50                            | 1:400              |
| 4  | <1:25                         | 1:100              | <1:25                                      | 1:200              | <1:25                         | 1:25               | <1:25                                | 1:400              | <1:25                           | 1:200              |
| 5  | 1:200                         | 1:50               | 1:400                                      | 1:100              | 1:25                          | <1:25              | <1:25                                | 1:50               | 1:50                            | 1:50               |
| 6  | 1:100                         | 1:100              | 1:400                                      | 1:400              | <1:25                         | 1:25               | 1:100                                | 1:1600             | 1:100                           | 1:400              |
| 7  | <1:25                         | 1:50               | 1:400                                      | 1:800              | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                | <1:25              | 1:50                            | 1:50               |
| 8  | <1:25                         | 1:100              | 1:100                                      | 1:100              | 1:200                         | <1:25              | 1:25                                 | 1:50               | 1:50                            | 1:100              |
| 9  | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                      | 1:50               | <1:25                         | <1:25              | 1:25                                 | <1:25              | <1:25                           | <1:25              |
| 10 | 1:25                          | 1:25               | <1:25                                      | 1:50               | <1:25                         | 1:100              | 1:25                                 | 1:200              | 1:50                            | 1:200              |
| 11 | <1:25                         | 1:100              | <1:25                                      | 1:25               | 1:50                          | 1:50               | 1:25                                 | 1:100              | 1:25                            | 1:50               |
| 12 | <1:25                         | 1:200              | 1:50                                       | 1:100              | 1:50                          | 1:50               | 1:50                                 | 1:100              | 1:25                            | 1:100              |
| 13 | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                      | 1:200              | <1:25                         | 1:200              | 1:50                                 | 1:100              | <1:25                           | 1:50               |
| 14 | 1:200                         | 1:400              | 1:200                                      | 1:400              | 1:25                          | 1:200              | 1:200                                | 1:400              | 1:50                            | 1:100              |
| 15 | 1:50                          | 1:200              | 1:50                                       | 1:200              | 1:25                          | 1:50               | 1:50                                 | 1:200              | 1:100                           | 1:100              |
| 16 | <1:25                         | 1:100              | 1:50                                       | 1:200              | 1:25                          | <1:25              | 1:50                                 | <1:25              | 1:50                            | <1:25              |
| 17 | <1:25                         | 1:200              | 1:800                                      | 1:400              | 1:50                          | 1:100              | 1:100                                | <1:25              | 1:100                           | 1:200              |
| 18 | <1:25                         | 1:50               | 1:50                                       | 1:100              | 1:25                          | 1:50               | 1:50                                 | 1:100              | 1:50                            | 1:400              |
| 19 | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                      | 1:100              | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                | 1:100              | <1:25                           | 1:50               |
| 20 | <1:25                         | <1:25              | <1:25                                      | 1:50               | <1:25                         | 1:50               | <1:25                                | <1:25              | 1:25                            | 1:50               |
| 21 | <1:25                         | 1:50               | <1:25                                      | <1:25              | 1:100                         | 1:100              | 1:100                                | 1:100              | 1:25                            | 1:25               |
| 22 | <1:25                         | 1:50               | <1:25                                      | 1:100              | <1:25                         | 1:50               | <1:25                                | 1:25               | 1:25                            | 1:50               |
| 23 | 1:100                         | <1:25              | <1:25                                      | 1:50               | 1:25                          | <1:25              | 1:100                                | <1:25              | <1:25                           | <1:25              |
| 24 | 1:50                          | 1:100              | 1:50                                       | 1:200              | 1:50                          | 1:100              | 1:100                                | 1:100              | <1:25                           | 1:200              |
| 25 | <1:25                         | 1:50               | <1:25                                      | 1:200              | 1:50                          | 1:50               | 1:50                                 | 1:50               | <1:25                           | 1:50               |



El 16% (17/104) de los pacientes presentaron, de forma única, IgM positiva para Dengue en fase aguda de la enfermedad. Con el mismo porcentaje (16%) se presentó co-infección probable leptospirosis/Dengue (seroconversión para *Leptospira* e IgM positiva para Dengue de forma concomitante). El 5,7% (6/104) de los pacientes presentaron co-infección probable leptospirosis/rickettsiosis-GFM (seroconversión para *Leptospira* y rickettsias-GFM de forma concomitante). El 4,8% (5/104) de los pacientes presentaron co-infección probable leptospirosis/rickettsiosis-GFM/Dengue (seroconversión para *Leptospira*, rickettsias-GFM e IgM positiva para Dengue de forma concomitante). El 2,8% (3/104) de los pacientes presentaron seroconversión única para Rickettsias del GFM (un paciente frente a *R. rickettsii* y los dos restantes frente a *R. amblyomii*). El 0,9% (1/104) de los pacientes presentaron co-infección probable rickettsiosis-GFM/Dengue (seroconversión para rickettsias-GFM e IgM positiva para Dengue de forma concomitante). Con el mismo porcentaje (0,9%) se presentó co-infección probable Anaplasmosis/Dengue en un paciente procedente de la cabecera municipal del municipio de Villeta (seroconversión para *A. phagocytophilum* [ $<1:64$  y  $1:128$  para fase aguda y fase convaleciente, respectivamente] e IgM positiva para Dengue de forma concomitante). Ninguno de los sueros pareados evaluados demostraron seroconversión frente a *C. burnetii* (antígenos de fase I y II). En el 26,9% (28/104) de los pacientes no se logró determinar un diagnóstico etiológico probable (todas las pruebas diagnósticas evaluadas fueron negativas). En la tabla 16 se describen las características demográficas, clínicas y paraclínicas de los 15 pacientes con diagnóstico único probable de rickettsiosis-GFM o en co-infección.

**Tabla 16:** Características demográficas, clínicas y paraclínicas de los 15 pacientes con diagnóstico probable de rickettsiosis-GFM. F (femenino) y M (masculino); Edad (años); C. municipal (cabecera municipal); NE (no especificado), IG (Vereda Ilo Grande); RD (Vereda Rio Dulce); ND (no dato); F (fiebre); M (mialgias); A (artralgia); C (cefalea), V (vómito), Da (dolor abdominal); E (exantema); Dr (dolor retrocular); Hc (hiperemia conjuntival); D (diarrea).

|    | Datos demográficos |      |               |               | Síntomas                 | Paraclínicos      |                  | Títulos IFI <i>R. rickettsii</i> | Títulos IFI <i>R. amblyommii</i> | IgM Dengue | Títulos MAT Leptospira                             | Diagnóstico probable                   |
|----|--------------------|------|---------------|---------------|--------------------------|-------------------|------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------|--|--|
|    | Género             | Edad | Procedencia   | Ocupación     |                          | Leucocitos (xmm3) | Plaquetas (xmm3) | fase aguda / fase convaleciente  | fase aguda / fase convaleciente  | fase aguda | fase aguda / fase convaleciente                    |  |
| 1  | F                  | 7    | C. municipal  | Estudiante    | F, M, A                  | ND                | ND               | < 1:64/1:128                     | 1:128/256                        | (-)        | < 1:25/1:100 (Hardjo)                              | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 2  | F                  | 30   | C. municipal  | Hogar         | F, M, A, C, V, Da        | 9400              | 133000           | < 1:64/1:256                     | 1:128/256                        | (-)        | 1:25/1:100 (Hardjo)                                | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 3  | F                  | 62   | C. municipal  | Hogar         | F, M, A, C               | 4300              | 135000           | < 1:64/1:128                     | < 1:64/<1:64                     | (-)        | < 1:25/1:100 (Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa) | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 4  | M                  | 11   | C. municipal  | Estudiante    | F, M, C                  | 3100              | 120000           | < 1:64/<1:64                     | 1:64/1:256                       | (+)        | < 1:25/1:400 (Icterohaemorrhagiae)                 | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis/Dengue |
| 5  | F                  | 23   | C. municipal  | Hogar         | F, M, V, Dr, A, E, Da, C | 2000              | 140000           | < 1:64/1:128                     | 1:64/1:128                       | (+)        | 1:50/1:200 (Hardjo)                                | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis/Dengue |
| 6  | F                  | 8    | C. municipal  | Estudiante    | F, M, A, C               | 3700              | 130000           | < 1:64/1:128                     | 1:64/1:128                       | (+)        | 1:50/1:200 (Grippotyphosa)                         | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis/Dengue |
| 7  | F                  | 12   | C. municipal  | Estudiante    | F, V, D                  | 2400              | 130000           | < 1:64/<1:64                     | < 1:64/1:128                     | (+)        | Ausencia de seroconversión                         | Rickettsiosis GFM/Dengue               |
| 8  | M                  | 7    | Utica (rural) | ND            | F, M, Hc, V, C           | 2400              | 180000           | < 1:64/1:128                     | 1:128/1:128                      | (-)        | Ausencia de seroconversión                         | Rickettsiosis GFM                      |
| 9  | M                  | 43   | C. municipal  | Agricultor    | F, M, Dr, A, C           | 6100              | 137000           | < 1:64/<1:64                     | < 1:64/1:128                     | (-)        | 1:25/1:400 (Pomona y Grippotyphosa)                | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 10 | F                  | 33   | C. municipal  | Recepcionista | ND                       | ND                | ND               | < 1:64/1:128                     | < 1:64/<1:64                     | (-)        | 1:100/1:800 (Icterohaemorrhagiae)                  | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 11 | F                  | 28   | C. municipal  | Abogado       | F, M, A, E, C            | 2500              | 150000           | < 1:64/<1:64                     | 1:64/1:256                       | (-)        | Ausencia de seroconversión                         | Rickettsiosis GFM                      |
| 12 | F                  | 44   | C. municipal  | ND            | F, M, A, C               | 3400              | 87000            | < 1:64/1:128                     | < 1:64/1:64                      | (-)        | < 1:25/1:50 (Hardjo)                               | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis        |
| 13 | F                  | 19   | Villeta (NE)  | Estudiante    | ND                       | ND                | ND               | < 1:64/1:64                      | 1:64/1:256                       | (+)        | < 1:25/1:50 (Icterohaemorrhagiae)                  | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis/Dengue |
| 14 | M                  | 73   | IG (Villeta)  | Agricultor    | F, M, Dr, E, Da, C       | 5000              | 135000           | < 1:64/<1:64                     | < 1:64/1:128                     | (-)        | Ausencia de seroconversión                         | Rickettsiosis GFM                      |
| 15 | F                  | 7    | RD (Villeta)  | Estudiante    | ND                       | ND                | ND               | < 1:64/1:128                     | < 1:64/1:64                      | (+)        | <1:25/1:50 (Hardjo)                                | Rickettsiosis GFM/Leptospirosis/Dengue |

Cabe resaltar que el 67,3% (70/104) de los pacientes presentaron seropositividad para rickettsias del GFM en por lo menos una de las dos muestras de suero (fase aguda y/o fase convaleciente), frente a por lo menos una de las dos especies de *Rickettsia* evaluadas (*R. rickettsii* y/o *R. amblyommii*), sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas (tabla 17). El 6,7% (7/104) de los pacientes presentaron seropositividad para *A. phagocytophilum* en por lo menos una de las dos muestras de suero (fase aguda y/o fase convaleciente) sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas (tabla 18).

No se presentaron complicaciones clínicas o muertes asociadas en los 104 pacientes evaluados.

**Tabla 17:** Pacientes con seropositividad para rickettsias del GFM, sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas. Zona urbana (urb), No especificado (NE), Cabecera municipal (C. municipal). En negrilla y colores azul (*R. rickettsii*) y verde (*R. amblyommii*) se resaltan los resultados de seropositividad; en color naranja claro se resaltan las zonas de procedencia externas al municipio de Villeta.

|    | Procedencia                     | IgG anti- <i>R. rickettsii</i> |                    | IgG anti- <i>R. amblyommii</i> |                    |
|----|---------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|
|    |                                 | Fase aguda                     | Fase convaleciente | Fase aguda                     | Fase convaleciente |
| 1  | C. municipal                    | 1:64                           | < 1:64             | 1:64                           | 1:128              |
| 2  | Municipio Utica (Urb)           | 1:64                           | < 1:64             | < 1:64                         | < 1:64             |
| 3  | C. municipal                    | < 1:64                         | < 1:64             | < 1:64                         | 1:64               |
| 4  | C. municipal                    | < 1:64                         | < 1:64             | < 1:64                         | 1:64               |
| 5  | Villeta (NE)                    | 1:64                           | 1:128              | 1:64                           | 1:128              |
| 6  | Vereda Alto de Paja (Villeta)   | 1:64                           | < 1:64             | 1:64                           | 1:64               |
| 7  | Vereda Alto de Torres (Villeta) | 1:64                           | 1:128              | < 1:64                         | 1:64               |
| 8  | Corregimiento de Tobia (rural)  | 1:64                           | 1:128              | < 1:64                         | 1:64               |
| 9  | Departamento de Antioquia (NE)  | < 1:64                         | < 1:64             | 1:64                           | 1:128              |
| 10 | C. municipal                    | 1:64                           | 1:128              | 1:64                           | 1:128              |
| 11 | C. municipal                    | < 1:64                         | < 1:64             | 1:128                          | 1:128              |
| 12 | C. municipal                    | < 1:64                         | 1:64               | < 1:64                         | < 1:64             |
| 13 | Municipio Utica (rural)         | < 1:64                         | 1:64               | 1:128                          | 1:128              |
| 14 | Vereda Payandé (Villeta)        | < 1:64                         | 1:64               | < 1:64                         | < 1:64             |
| 15 | C. municipal                    | 1:64                           | 1:64               | 1:128                          | 1:128              |

|    |                            |               |               |              |              |
|----|----------------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| 16 | C. municipal               | <b>1:128</b>  | <b>1:256</b>  | <b>1:256</b> | <b>1:256</b> |
| 17 | C. municipal               | < 1:64        | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 18 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:128</b> | <b>1:128</b> |
| 19 | Vereda Payandé (Villeta)   | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:128</b> | <b>1:128</b> |
| 20 | C. municipal               | <b>1:64</b>   | <b>1:128</b>  | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 21 | C. municipal               | <b>1:64</b>   | <b>1:128</b>  | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 22 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 23 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:256</b> | <b>1:256</b> |
| 24 | Vereda la Mazata (Villeta) | < 1:64        | <b>1:64</b>   | <b>1:512</b> | <b>1:512</b> |
| 25 | Vereda el Balsal (Villeta) | < 1:64        | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 26 | Vereda el Balsal (Villeta) | < 1:64        | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 27 | Municipio Sasaima (rural)  | < 1:64        | <b>1:64</b>   | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 28 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 29 | Municipio Nimaima (rural)  | < 1:64        | < 1:64        | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 30 | C. municipal               | <b>1:1024</b> | <b>1:1024</b> | <b>1:128</b> | <b>1:256</b> |
| 31 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 32 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 33 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 34 | Vereda Mani (Villeta)      | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 35 | Vereda Naranjal (Villeta)  | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 36 | C. municipal               | < 1:64        | <b>1:64</b>   | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 37 | Vereda la Mazata (Villeta) | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>   | < 1:64       | < 1:64       |
| 38 | C. municipal               | < 1:64        | <b>1:64</b>   | < 1:64       | < 1:64       |
| 39 | Vereda Cune (Villeta)      | < 1:64        | < 1:64        | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 40 | C. municipal               | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 41 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:128</b> | <b>1:128</b> |
| 42 | Municipio Nimaima (NE)     | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 43 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:128</b> | <b>1:128</b> |
| 44 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 45 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 46 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | < 1:64       | <b>1:64</b>  |
| 47 | Municipio Utica (NE)       | <b>1:256</b>  | <b>1:512</b>  | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 48 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:128</b> | <b>1:128</b> |
| 49 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 50 | C. municipal               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 51 | Vereda Naranjal (Villeta)  | <b>1:128</b>  | <b>1:256</b>  | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 52 | Municipio Utica (NE)       | <b>1:128</b>  | <b>1:128</b>  | <b>1:64</b>  | <b>1:128</b> |
| 53 | C. municipal               | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>   | < 1:64       | < 1:64       |
| 54 | C. municipal               | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>   | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |
| 55 | Villeta (NE)               | < 1:64        | < 1:64        | <b>1:64</b>  | <b>1:64</b>  |

|    |                                  |        |        |        |        |
|----|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| 56 | Municipio Quebrada Negra (rural) | < 1:64 | < 1:64 | 1:64   | 1:64   |
| 57 | Municipio La Peña (NE)           | 1:64   | 1:64   | < 1:64 | 1:64   |
| 58 | Vereda Mani (Villeta)            | < 1:64 | < 1:64 | < 1:64 | 1:64   |
| 59 | Municipio Quebrada Negra (urb)   | < 1:64 | < 1:64 | 1:64   | 1:64   |
| 60 | Corregimiento de Tobia (rural)   | < 1:64 | < 1:64 | 1:64   | 1:128  |
| 61 | C. municipal                     | 1:256  | 1:512  | 1:256  | 1:512  |
| 62 | Vereda Payandé (Villeta)         | 1:128  | 1:256  | < 1:64 | 1:64   |
| 63 | Corregimiento de Tobia (rural)   | 1:128  | 1:128  | 1:64   | 1:64   |
| 64 | C. municipal                     | 1:64   | 1:128  | < 1:64 | < 1:64 |
| 65 | Municipio Nimaima (rural)        | 1:64   | 1:128  | 1:64   | 1:128  |
| 66 | Municipio Quebrada Negra (rural) | 1:128  | 1:256  | 1:64   | 1:128  |
| 67 | Municipio Quebrada Negra (rural) | 1:64   | 1:64   | 1:128  | 1:128  |
| 68 | C. municipal                     | 1:64   | 1:128  | < 1:64 | 1:64   |
| 69 | C. municipal                     | 1:64   | 1:64   | < 1:64 | 1:64   |
| 70 | Municipio Quebrada Negra (NE)    | < 1:64 | < 1:64 | < 1:64 | 1:64   |

**Tabla 18:** Pacientes con seropositividad para *A. phagocytophilum*, sin evidencia de seroconversión en las muestras pareadas. No especificado (NE). En negrilla y color azul se resaltan los resultados de seropositividad y en color naranja claro se resaltan las zonas de procedencia externas al municipio de Villeta.

|   | Procedencia                   | IFI (focus) IgG anti- <i>A. phagocytophilum</i> |                    |
|---|-------------------------------|---|--------------------|
|   |                               | Fase aguda                                      | Fase convaleciente |
| 1 | Municipio Utica (rural)       | 1:64  | 1:128              |
| 2 | C. municipal                  | < 1:64  | 1:64               |
| 3 | Municipio Quebrada Negra (NE) | 1:64  | 1:64               |
| 4 | Corregimiento de Tobia (NE)   | 1:64  | 1:64               |
| 5 | Corregimiento de Tobia (NE)   | 1:64  | 1:64               |
| 6 | C. municipal                  | 1:128   | 1:128              |
| 7 | C. municipal                  | < 1:64  | 1:64               |

## 7. DISCUSIÓN

A pesar de los brotes de alta letalidad por *R. rickettsii* en el departamento de Cundinamarca, ocurridos en 1935 (Patino et al. 1937), en el período 2003-2004, y las altas tasas de seropositividad para rickettsias del GFM tanto en humanos como en animales domésticos del municipio de Villeta, descritas en los años 2007 y 2009 (Hidalgo et al. 2007b, Hidalgo et al. 2009); hasta la fecha no se han reportado nuevos casos compatibles con la enfermedad causada por dicha especie, en pacientes procedentes de esta región geográfica.

Lo anterior ha sugerido que otras especies del género *Rickettsia* (patógenas y/o no patógenas), especialmente del GFM, pudiesen estar presentes en el municipio de Villeta, explicando los altos porcentajes de seroprevalencia (basado en el efecto de reacción cruzada que existe entre especies filogenéticamente relacionadas por la prueba de IFI) (Chapman et al. 2006), y posibles casos humanos con infecciones asintomáticas o cuadros clínicos benignos subdiagnosticados o desapercibidos para el personal médico, en comparación con una enfermedad severa usualmente presente en la rickettsiosis por *R. rickettsii* (Walker 2013).

Nuestros resultados corroboran la continua circulación de rickettsias del GFM en caballos y caninos del municipio de Villeta, con porcentajes de seropositividad considerables (33,7% y 14,4%, respectivamente) y títulos de anticuerpos de hasta 1:8192, similares a los reportados para la misma población y en la misma zona geográfica para el año 2009 (Hidalgo et al. 2009).

A su vez, se demuestra la primera evidencia en Suramérica de seropositividad frente al GFM en bovinos, con títulos de 1:64 en la mayoría de individuos y de 1:128 en una pequeña proporción, representando un 50% de positividad. Este porcentaje es compatible con los rangos reportados en bovinos de las Islas del Caribe (3-81%) (Parola et al. 1999, Kelly et al. 2010), donde estos animales son frecuentemente parasitados por garrapatas *A. variegatum*, siendo el principal vector de *R. africae*, con tasas de infección (binomio *Rickettsia*/garrapata) del 41-84%, en el hemisferio occidental (Kelly et al. 2003, Kelly et al. 2006). En nuestra área de estudio, del total de garrapatas capturadas sobre bovinos, el 52,5% fueron clasificadas como *R. (B.) microplus* y el 47,5% como *A. cajennense* s.l., de las cuales, dos de los grupos formados (M196 [1 hembra *R. microplus*] y M235 [4 machos de *A. cajennense* s.l.]) mostraron infección por una *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionada con *R. monacensis* y *R. conorii* (pertenecientes al GFM), respectivamente; y a su vez, estas garrapatas fueron recolectadas en dos

veredas (Salitre Blanco y Naranjal) en las cuales el 22% (2/9) y el 50% (6/12) de los bovinos evaluados presentaron seropositividad contra el GFM, respectivamente; situaciones que pueden explicar nuestros resultados. Por su parte y de forma interesante, un reciente estudio en el Ecuador demostró la presencia y caracterización de un posible *Candidatus Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionado con *R. monacensis*, *R. tamurae* y *R. africae* en garrapatas *R. (B.) microplus* capturadas sobre bovinos (Pesquera et al. 2013). En consecuencia y teniendo en cuenta nuestros hallazgos, a pesar de que la *Rickettsia* sp. detectada en el grupo de garrapatas M196 se caracterizó únicamente por el gen *ompB*, podría tratarse de la misma especie detectada en el Ecuador al presentar hospederos y vectores en común.

De otro lado, con la reciente reasignación del estatus taxonómico de *A. cajennense* s.l. para un complejo de 6 especies diferentes distribuidas desde el sur de los EEUU hasta el norte de Argentina (*A. mixtum* [desde Texas hasta el este de Ecuador], *A. cajennense* sensu stricto [región amazónica], *A. patinoi* [cordillera oriental de Colombia], *A. interandinum* [valle interandino de Perú], *A. sculptum* [norte de Argentina, Bolivia, Paraguay y Brasil] y *A. tonelliae* [regiones secas del norte de Argentina, Bolivia y Paraguay]) (Nava et al. 2014), es muy probable que las garrapatas capturadas en nuestro estudio y clasificadas taxonómicamente como *A. cajennense* s.l., sean realmente ejemplares de *A. patinoi*, ya que los especímenes colombianos prototipo utilizados y nombrados en el estudio de Nava S, et al. 2014 fueron también recolectados en el municipio de Villeta y en su mayoría a partir de bovinos (Nava et al. 2014), lo cual es consecuente con nuestros hallazgos, donde *A. cajennense* s.l. fue la única especie que se encontró parasitando los tres tipos de animales domésticos evaluados, representando el mayor porcentaje de infestación en bovinos (47,5%).

Este parasitismo multihospedero por parte de dicha garrapata (Estrada-Peña et al. 2004), podría representar un mayor riesgo de exposición y contacto para la

población humana del municipio de Villeta, explicado por el carácter doméstico de los animales, sumado al importante comportamiento antropofílico de *A. cajennense* s.l. en Suramérica (Guglielmone et al. 2006) y su papel como vector reconocido de *R. rickettsii* para esta región de Cundinamarca (Patiño-Camargo 1941).

Respecto a las otras garrapatas capturadas, cabe destacar que la caracterización de ejemplares adultos de *A. ovale* e *I. luciae* (asociados a sus respectivos hospederos) en el municipio de Villeta, representa una nueva área geográfica en Colombia para la presencia y distribución de estas especies. Según datos de la literatura científica, *I. luciae* únicamente había sido descrita en los llanos orientales parasitando *D. marsupialis* en 1981 (Wells et al. 1981) y *A. ovale* parasitando caninos en el departamento de Sucre (Paternina et al. 2009) y en el Urabá antioqueño (Londoño et al. 2013). En esta misma región del departamento de Antioquia fue aislada recientemente *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest a partir de garrapatas *A. ovale* (Londoño et al. 2014), siendo el vector reconocido en Brasil para dicha cepa de *Rickettsia* (Szabó et al. 2013a), causante de rickettsiosis asociada a escara de inoculación (Spolidorio et al. 2010, Silva et al. 2011). Lo anterior podría significar nuevas perspectivas respecto a la posible circulación de esta *Rickettsia* en el municipio de Villeta teniendo en cuenta la presencia de su vector; sin embargo no logramos detectar ADN rickettsial en el único espécimen de *A. ovale* capturado, situación que podría ser explicada por la poca cantidad de ejemplares.

En cuanto a las especies del género *Rickettsia* detectadas en este estudio, la presencia de *Candidatus R. amblyommii* en garrapatas *R. (B.) microplus* (grupo M841) y de *R. rickettsii* en garrapatas *D. nitens* (grupo M181), es compatible con los hallazgos en Panamá reportados en 2009, donde se demostró el mismo resultado (Bermúdez et al. 2009, Ereemeeva et al 2009). La detección de *R. rickettsii* en *D. nitens*, siendo esta garrapata no reconocida como vector para dicha



*Rickettsia*, podría ser explicada por un proceso de transmisión por co-alimentación sobre hospedero (Merhej 2014), ya que tanto *D. nitens* como *A. cajennense* s.l. (vector principal de *R. rickettsii* en esta región de Cundinamarca) (Patiño-Camargo 1941), son ectoparásitos frecuentes de equinos en Suramérica (Barros-Battesti et al. 2006). A su vez, reafirmamos la circulación de *Candidatus R. amblyommii*, recientemente caracterizada en *A. cajennense* s.l. (Faccini-Martínez et al, manuscrito en preparación) y de *R. rickettsii* en *D. nitens* (Ramírez-Hernández et al 2013) en el municipio de Villeta.

Tal como se describió anteriormente, logramos amplificar ADN de dos especies de *Rickettsia* filogenéticamente relacionadas con *R. monacensis* en *R. (B.) microplus* (grupo M196) y *R. conorii* en *A. cajennense* s.l. (grupo M235), con porcentajes de similitud de secuencias del 99,7% (gen *ompB*) y del 94,9% (gen *ompA*), respectivamente; lo cual podría sugerir, por lo menos para la especie filogenéticamente relacionada con *R. conorii* (especie restringida al hemisferio oriental del mundo), que se trate de un posible *Candidatus*, ya que según el algoritmo de clasificación taxonómica del género *Rickettsia* (Raoult et al. 2005), para postular una nueva *Rickettsia* sp., son necesarios porcentajes de similitud inferiores a los establecidos en por lo menos 3 genes rickettsiales, (99,8%/gen *rrs*, 99,9%/gen *gltA*, 98,8%/gen *ompA*, 99,2%/gen *ompB* y 99,3%/gen *sca4*) respecto a una especie ya caracterizada, y como *Candidatus*, si no es posible su aislamiento. De esta manera, a pesar de que para el grupo de garrapatas M235 no fue posible la amplificación de otros dos genes rickettsiales, el porcentaje de similitud para el gen *ompA* fue inferior a lo establecido. En consecuencia, la presencia de una posible nueva especie del GFM (con potencial patógeno desconocido) en *A. cajennense* s.l. del municipio de Villeta, siendo la garrapata que mas parasita humanos en Suramérica (Guglielmone et al. 2006), podría explicar parte de los altos porcentajes de seropositividad para el GFM en población humana, reportados en estudios previos (40.3%) (Hidalgo et al. 2007b), los obtenidos en

este estudio (67,3%) y la seroconversión en pacientes con síndrome febril agudo de evolución benigna, también documentados en este estudio.

De manera importante, es resaltable la detección molecular de *R. rickettsii* en ninfas de la especie *A. cajennense* s.l. y en larvas *Amblyomma* sp. (probablemente de la especie *A. cajennense* s.l.) capturadas en la vereda Naranjal, ya que se trata de la primera evidencia molecular en Colombia de dicha especie de *Rickettsia* en su vector sugerido para esta región de Cundinamarca (Patiño-Camargo 1941), y se corrobora el resultado recientemente obtenido, donde logramos el aislamiento viable de *R. rickettsii* (cepa Villeta) a partir de un espécimen adulto-hembra de *A. patinoi* (especie del complejo *A. cajennense* s.l. presente en el municipio de Villeta) también capturado en la vereda Naranjal (Faccini-Martínez et al, sometido *Emerging Infectious Diseases* 2014).

La tasa de infección mínima determinada en este estudio para el binomio *R. rickettsii/A. cajennense* s.l. fue del 1.,9%, siendo superior a la reportada en los estudios brasileros (0,2-1,28%) (Guedes et al. 2005, Guedes et al. 2011, Krawczak et al. 2014), pero concordante (sin ser porcentajes cercanos) con la mayor tasa de infección hallada para *R. rickettsii* cepa Villeta/*A. patinoi* (6,6%) (Faccini-Martínez et al, sometido *Emerging Infectious Diseases* 2014). Lo anterior confirma la presencia de *R. rickettsii* en nuestra área de estudio, e incluso sugeriría una mayor probabilidad de transmisión para los seres humanos, teniendo en cuenta las tasas de infección en su vector. Sin embargo, desde el año 2004 a la fecha no se han vuelto a reportar casos humanos de rickettsiosis por *R. rickettsii* procedentes del municipio de Villeta. Esta situación podría ser explicada por tres razones principales: 1) Subdiagnóstico de la enfermedad, al no ser de notificación obligatoria en Colombia, 2) Posible inmunoprotección cruzada en humanos, dada por exposiciones previas a otra especies del GFM menos patógenas que *R. rickettsii* (Raoult & Parola 2007b), y 3) el mantenimiento de *R. rickettsii* en un ciclo

enzoótico estable en la naturaleza aun no alterado por el hombre (Ogrzewalska et al. 2012b).

Respecto a la etiología probable del síndrome febril agudo de pacientes que consultaron al Hospital Salazar de Villeta durante el periodo octubre-2011 hasta marzo-2013, la leptospirosis se destacó como la principal causa, con un 24% de casos por seroconversión mediante la prueba de MAT, principalmente frente al serovar Icterohaemorrhagiae. En un estudio publicado en 2013 donde se describió el comportamiento de la vigilancia epidemiológica de leptospirosis humana en Colombia entre 2007 y 2011, el serovar Icterohaemorrhagiae representó el cuarto lugar (7,56%) después de Australis (24,89%), Hebdomadis (9,33%) y Sejroe (8%), siendo los serovares de mayor circulación (Bello et al. 2013). En este mismo estudio también se destacaron los departamentos/distritos con mayor incidencia de la enfermedad, donde los 5 principales, en orden descendente fueron Guaviare (267,3 casos x 100.000 habitantes), Risaralda (46,4 casos x 100.000 habitantes), San Andrés (45,4 casos x 100.000 habitantes), Santa Marta (36,9 casos x 100.000 habitantes) y Barranquilla (27,2 casos x 100.000 habitantes); sin mostrarse datos respecto al departamento de Cundinamarca. Es así como nuestros resultados serían compatibles con la presencia de uno de los serovares circulantes predominantes en Colombia, teniendo en cuenta que no evaluamos los serovares Australis, Hebdomadis y Sejroe por motivos de accesibilidad, y que a su vez representa la primera evidencia de circulación de serovares de *Leptospira* en Cundinamarca o por lo menos puntualmente para el municipio de Villeta. En consecuencia, no es sorprendente que la leptospirosis haga parte de la etiología del síndrome febril agudo en nuestra población de estudio, ya que esta catalogada como la zoonosis de mayor distribución y prevalencia a nivel mundial, de predominio en zonas tropicales y subtropicales (como lo es el municipio de Villeta), y como causa frecuente de fiebre de origen indeterminado (Bharti et al. 2003, Hartkeerl et al. 2011).

En cuanto a los casos de rickettsiosis, logramos diagnosticar un caso probable de fiebre manchada transmitida por pulgas (*R. felis*) y 15 casos con seroconversión para el GFM (etiología única o en co-infección). Actualmente se conoce que *R. felis* presenta una distribución mundial (Pérez-Osorio et al. 2008) y es reconocida como causa de síndrome febril agudo inespecífico, principalmente en África (Parola 2011). Recientemente *R. felis* fue identificada como causa probable de enfermedad febril en el norte del departamento de Caldas, Colombia (Hidalgo et al. 2013) y se caracterizó molecularmente en pulgas de la misma región (Ramírez-Hernández et al. 2013), al igual que en una pulga *C. felis* capturada en la cama de un habitante de la vereda Naranjal; siendo la primera descripción de esta especie de *Rickettsia* para el departamento de Cundinamarca (Faccini-Martínez et al, manuscrito en preparación). De esta manera, a pesar de que el paciente con diagnóstico probable de infección por *R. felis* fue procedente del municipio de Utica, y que en dicha región no se ha determinado la circulación de esta especie de *Rickettsia*, geográficamente es muy cercana al municipio de Villeta (aproximadamente 20 km), sugiriendo que podría existir la presencia del microorganismo.

Por su parte, la mayoría de características tanto clínicas como paraclínicas de los 15 pacientes con seroconversión para el GFM son compatibles con las descritas para las enfermedades causadas por rickettsias (fiebre, mialgias, artralgias, cefalea, exantema, trombocitopenia, leucocitos variables), e inclusive para las otras etiologías que se determinaron en los casos de co-infección (Leptospirosis y Dengue) (Gulati & Maheshwari 2012); sin embargo llama la atención la evolución favorable de la enfermedad en estos casos clínicos, ya que no se documentaron complicaciones o mortalidad, lo cual sería frecuente en la rickettsiosis por *R. rickettsii* (Lin & Decker 2012). La posible explicación a este respecto podrían ser infecciones asintomáticas o de comportamiento benigno causadas por otras especies del GFM menos patógenas que *R. rickettsii*, como se ha sugerido en relación a *R. amblyommii* (Walker 2013).

De hecho, nuestros resultados diagnósticos para el GFM evidenciaron que 7 de 9 pacientes que presentaron seroconversión para *R. rickettsii* también mostraron reacción cruzada con *R. amblyommii*, y por el contrario, 5 de 6 pacientes que presentaron seroconversión para *R. amblyommii* no mostraron reacción cruzada con *R. rickettsii*; lo cual podría reafirmar que *R. rickettsii* no fue el agente etiológico probable y en cambio si *R. amblyommii* (siendo su papel patógeno discutido), recientemente caracterizada en *A. cajennense* s.l. del municipio de Villeta (Faccini-Martínez et al, manuscrito en preparación), u otra especie del GFM como la descrita en este estudio (*Rickettsia* sp. similar a *R. conorii*) también detectada en *A. cajennense* s.l., o inclusive por *R. felis* (Faccini-Martínez et al, manuscrito en preparación), con base en el principio de reacción cruzada que existe entre las diferentes especies del género *Rickettsia* mediante la prueba diagnóstica de IFI (La Scola & Raoult 1997), la cual fue utilizada en nuestro estudio.

A su vez, llama la atención el alto porcentaje (67,3%) de seropositividad (sin seroconversión) para el GFM en pacientes que consultaron al Hospital Salazar de Villeta en el periodo 2011-2013, siendo consecuente con las altas tasas (40,3%) documentadas en población rural del mismo municipio en el año 2005 (Hidalgo et al. 2007b). Sin embargo, en el presente estudio, el 25,7% (18/70) de la seropositividad fue aportada por sujetos procedentes de zonas geográficas cercanas al municipio de Villeta, entre las cuales se encuentra el corregimiento de Tobia (primeros casos humanos por *R. rickettsii* en Colombia) (Patino 1937); lo cual podría indicar que la provincia del Gualiva presenta un carácter endémico para las rickettsias del GFM.

De igual forma, cabe resaltar la posible presencia de *A. phagocytophilum* en el municipio de Villeta y en regiones aledañas (municipio de Utica, Quebrada Negra y corregimiento de Tobia), dado por un único caso probable (definido por seroconversión) y por el porcentaje de seropositividad hallado en este estudio (6,7%), el cual es inferior al reportado (20%) para habitantes de zona rural de 5

municipios del departamento de Córdoba (Mattar & Parra 2006); convirtiéndose en el segundo reporte de anticuerpos reactivos para este agente patógeno en población humana de Colombia.

A pesar de que *A. phagocytophilum* típicamente es transmitido por garrapatas del género *Ixodes* (Rar & Golovljova 2011), estas garrapatas no parecen tener gran importancia como ectoparásitos de humanos en Suramérica (Guglielmone et al. 2006). Frente a este respecto, recientemente en Brasil se hizo la caracterización molecular de *A. phagocytophilum* en *A. cajennense* s.l. (Santos et al. 2013), la cual, como ya se ha descrito anteriormente, es la especie de garrapata que mas infesta humanos en esta región de las Américas, situación que podría explicar nuestros hallazgos.

Finalmente, nuestros datos generales de posibles etiologías del síndrome febril agudo en la población humana, pueden ser comparables con un estudio similar desarrollado en el Urabá Antioqueño (Arroyave et al. 2013), siendo también una zona con casos previos de rickettsiosis por *R. rickettsii* (Acosta et al. 2006, Pacheco-García et al. 2008). Es así como en dicho estudio, el principal diagnóstico fue infección por virus Dengue (37,3%) versus un 16% (como segunda etiología) determinado para el municipio de Villeta, lo cual es consecuente con la mayor incidencia de esta enfermedad viral en el departamento de Antioquia respecto a Cundinamarca (Ministerio de Salud y Protección Social & Federación Médica Colombiana 2012-2013). Los resultados para rickettsiosis como diagnóstico único fueron similares (2,7% [Urabá antioqueño] vs 2,8% [Villeta]) y también se presentaron casos de infección Rickettsiosis-GFM/Dengue (0,9% [Urabá antioqueño] vs 0,9% [Villeta]) o Rickettsiosis-GFM/Dengue/Leptospirosis (0,4% [Urabá antioqueño] vs 4,8% [Villeta]). Este último porcentaje más alto del 4,8% es dado por la mayor incidencia de leptospirosis documentada en nuestro estudio.

## 8. CONCLUSIONES

- Se demuestra la continua circulación y presencia de por lo menos 4 especies diferentes del género *Rickettsia* pertenecientes al GFM (*R. rickettsii*, *Candidatus R. amblyommii*, *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionada con *R. conorii* y *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionada con *R. monacensis*), tanto en animales domésticos (por primera vez en bovinos de Suramérica) como en garrapatas del Municipio de Villeta.
- Se demuestra la primera evidencia molecular para Colombia de *R. rickettsii* en garrapatas *A. cajennense* s.l. capturadas en el municipio de Villeta; siendo la especie mas patógena del género en asociación con la garrapata que más parasita humanos en Suramérica; determinando al municipio como una zona geográfica de riesgo para la transmisión de este microorganismo.
- Por razones que deben ser esclarecidas, la rickettsiosis por *R. rickettsii* no representó una enfermedad común en la población humana del municipio de Villeta, estudiada entre octubre de 2011 hasta marzo de 2013, y por el contrario, es más probable que otras especies del GFM hayan sido las responsables, en una baja proporción, del síndrome febril agudo o inclusive infecciones asintomáticas.
- Se demuestra un alto porcentaje de casos probables de leptospirosis humana (primera evidencia), por encima de la infección por virus Dengue, en el contexto del síndrome febril agudo en la población humana del municipio de Villeta, estudiada entre octubre de 2011 hasta marzo de 2013.

- Se demuestra la presencia de microorganismos bacterianos susceptibles de manejo antibiótico (*Leptospira*, *Rickettsia* y *Anaplasma*) como etiología frecuente (de forma única o en co-infección) del síndrome febril agudo en la población humana del municipio de Villeta, estudiada entre octubre de 2011 hasta marzo de 2013; lo cual estaría a favor de recomendar el tratamiento empírico con doxiciclina ante la evidencia de dicho síndrome en esta región de Cundinamarca, previa valoración médica minuciosa y criterios conceptuales que sugieran esta etiología bacteriana-zoonótica.

## 9. RECOMENDACIONES

- Se deben realizar nuevos estudios de investigación con el fin de esclarecer el papel de los bovinos dentro la epidemiología de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en el municipio de Villeta, Cundinamarca.
- Se deben realizar nuevos estudios de investigación con el fin de caracterizar completamente las dos especies de *Rickettsia* sp. filogenéticamente relacionadas con *R. conorii* y *R. monacensis*, detectadas en el municipio de Villeta.
- Se deben realizar nuevas capturas de garrapatas *A. ovale*, con el fin de determinar su posible infección con *Rickettsia* sp. cepa Atlantic rainforest, en el municipio de Villeta, Cundinamarca.
- Se deben realizar nuevos estudios de investigación en el municipio de Villeta, con el fin de determinar en posible hospedero amplificador de *R. rickettsii*, pieza clave en la epidemiología de la enfermedad causada por dicha especie.



- Se deben iniciar estudios de diagnóstico molecular en pacientes con síndrome febril agudo del municipio de Villeta, con el fin de lograr una determinación directa del agente etiológico, teniendo en cuenta los hallazgos de nuestro estudio.
- Se deben realizar nuevos estudios de investigación, con el fin de determinar la presencia de *A. phagocytophilum* en garrapatas del municipio de Villeta.
- Se deben iniciar estudios de investigación con el fin de determinar la presencia de especies de *Rickettsia* y de posibles casos de rickettsiosis en las diferentes regiones geográficas que componen la provincia del Gualiva, Cundinamarca.
- Se deben iniciar acciones frente al gobierno colombiano, con el fin de establecer a las rickettsiosis como enfermedades de notificación obligatorio.

## BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Shafy S, Allam NA, Mediannikov O, Parola P, Raoult D (2012) Molecular detection of spotted fever group rickettsiae associated with ixodid ticks in Egypt. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 12:346-59.

Acosta J, Urquijo L, Díaz A, Sepúlveda M, Mantille G, Heredia D, Gonzalez M, Parra E, Rey G, Munera G, Hidalgo M, Castañeda E, Segura O, Bolivar J, Galeano A, Giraldo MR, Rodriguez E, Cedeño N, Perez C, Bayard V, Hernandez I, Villalobos R (2006) Brote de Rickettsiosis en Necoclí, Antioquia, febrero-marzo de 2006. *Informe Quincenal Epidemiológico Nacional* 11:177-92

Anderson JF, Magnarelli LA (2008) Biology of Ticks. *Infectious Diseases Clinics of North America* 22:195-215.

Angerami RN, da Silva AM, Nascimento EM, Colombo S, Wada MY, dos Santos FC, Mancini DM, de Oliveira RC, Katz G, Martins EC, da Silva LJ (2009) Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. *Clinical Microbiology and Infection* 15:207-8.

Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, Silva LJ (2006a) Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil: clinical aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1078:252-4.

Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, Silva LJ (2006b) Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil: epidemiological aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1078:170-2.

Arguello AP, Hun L, Rivera P, Taylor L (2012) A fatal urban case of rocky mountain spotted Fever presenting an eschar in San Jose, Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 87:345-8.

Arroyave E, Londoño AF, Quintero JC, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, Díaz FJ, Rodas JD (2013) Etiología y caracterización epidemiológica del síndrome febril no palúdico en tres municipios del Urabá antioqueño, Colombia. *Biomedica* 33:99-107.

Babalis T, Tselentis Y, Roux V, Psaroulaki A, Raoult D (1994) Isolation and identification of a rickettsial strain related to *Rickettsia massiliae* in Greek ticks. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50:365-72.

Bacellar F, Regnery RL, Nuncio MS, Filipe AR (1995) Genotypic evaluation of rickettsial isolates recovered from various species of ticks in Portugal. *Epidemiology & Infection* 114:169-78.

Badiaga S, Brouqui P (2012) Human louse-transmitted infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection* 18:332-7.

Barbieri ARM, Szabó MPJ, Nieri-Bastos FA, Souza Junior JC, Labruna MB (2011) Detección of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) from Blumenau, souther Brazil. *Biomédica* 31:103-13.

Barros-Battesti D, Arzua M, Bechara G (2006) Carrapatos de Importancia Medico-Veterinaria da Regiao Neotropical: Um Guia Ilustrado para Identificacao de Especies. International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases, Sao Paulo, pp. 223.

Beati L, Finidori JP, Gilot B, Raoult D (1992) Comparison of serologic typing, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis protein analysis, and genetic restriction fragment length polymorphism analysis for identification of rickettsiae: characterization of two new rickettsial strains. *Journal of Clinical Microbiology* 30:1922-30.

Beati L, Raoult D (1993) *Rickettsia massiliae* sp. nov., a new spotted fever group *Rickettsia*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 43:839-40.

Beati L, Roux V, Ortuño A, Castella J, Porta FS, Raoult D (1996) Phenotypic and genotypic characterization of spotted fever group Rickettsiae isolated from Catalan *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Journal of Clinical Microbiology* 34:2688-94.

Beeler E, Abramowicz KF, Zambrano ML, Sturgeon MM, Khalaf N, Hu R, Dasch GA, Eremeeva ME (2011) A focus of dogs and *Rickettsia massiliae*-infected *Rhipicephalus sanguineus* in California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 84:244-9.

Bello S, Rodríguez M, Paredes A, Mendivelso F, Walteros D, Rodríguez F, Realpe ME (2013) Comportamiento de la vigilancia epidemiológica de leptospirosis humana en Colombia, 2007-2011. *Biomedica* 33:153-60.

Bermúdez SE, Eremeeva ME, Karpathy SE, Samudio F, Zambrano ML, Zaldivar Y, Motta JA, Dasch GA (2009) Detection and identification of rickettsial agents in ticks from domestic mammals in eastern Panama. *Journal of Medical Entomology* 46:856-61.

Bernasconi MW, Casati S, Péter O, Piffaretti JC (2002) *Rhipicephalus* ticks infected with *Rickettsia* and *Coxiella* in Southern Switzerland (Canton Ticino). *Infection, Genetics and Evolution* 2:111-20.

Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM, Peru-United States Leptospirosis Consortium. *Lancet Infectious Diseases* 3:757-71.

Bitam I, Dittmar K, Parola P, Whiting MF, Raoult D (2010) Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases* 14:667-76.

Black WC 4th, Piesman J (1994) Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) base on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:10034-8.

Blacksell SD, Sharma NP, Phumratanaprapin W, Jenjaroen K, Peacock SJ, White NJ, Pukrittayakamee S, Day NP (2007) Serological and blood culture investigations of Nepalese fever patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101:686-690.

Blanton LS (2013) Rickettsial infections in the tropics and in the traveler. *Current Opinion in Infectious Diseases* 26:435-40.

Botelho-Nevers E, Socolovschi C, Raoult D, Parola P (2012) Treatment of *Rickettsia* spp. infections: a review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 10:1425-37.

Bustamante ME, Varela G (1947) Estudios de fiebre manchada en Mexico. Papel del *Rhipicephalus sanguineus* en la transmisión de la fiebre manchada en la Republica Mexicana. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 8:139-41.

Bustamante ME, Varela G, Mariotte CO (1946) Estudios de fiebre manchada en Mexico. Fiebre manchada en la Laguna. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 7:39-49

Cascio A, Torina A, Valenzise M, Blanda V, Camarda N, Bombaci S, Iaria C, De Luca F, Wasniewska M (2013) Scalp eschar and neck lymphadenopathy caused by *Rickettsia massiliae*. *Emerging Infectious Diseases* 19:836-7.

CDC (2011) Summary of notifiable diseases—United States 2009. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 58:1-104.

Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, Sexton DJ, Buckingham SC, Marshall GS, Storch GA, Dasch GA, McQuiston JH, Swerdlow DL, Dumler SJ, Nicholson WL, Walker DH, Ereemeeva ME, Ohl CA; Tickborne Rickettsial Diseases Working Group; CDC (2006) Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recommendations and Reports* 55:1-27.

Chen LF, Sexton DJ (2008) What's new in Rocky Mountain spotted fever?. *Infectious Diseases Clinics of North America* 22:415-32.

Choi YJ, Jang WJ, Ryu JS, Lee SH, Park KH, Paik HS, Koh YS, Choi MS, Kim IS (2005) Spotted fever group and typhus group rickettsioses in humans, South Korea. *Emerging Infectious Diseases* 11:237-44.

Cicuttin GL, Rodríguez M, Jado I, Anda P (2004) Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. Resultados preliminares. *Revista Argentina de Zoonosis* 1:8-10.

Conti-Díaz IA (2003) Rickettsiosis caused by *Rickettsia conorii* in Uruguay. *Annals of the New York Academy of Sciences* 990:264-6.

Conti-Díaz IA, Moraes-Filho J, Pacheco RC, Labruna MB (2009) Serological evidence of *Rickettsia parkeri* as the etiological agent of rickettsiosis in Uruguay. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 51:337-9.

Conti-Díaz IA, Rubio I, Somma-Moreira RE, Perez-Bormida G (1990) Lymphatic cutaneous rickettsiosis caused by *Rickettsia conorii* in Uruguay. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 32:313-8.

Cragun WC, Bartlett BL, Ellis MW, Hoover AZ, Tying SK, Mendoza N, Vento TJ, Nicholson WL, Eremeeva ME, Olano JP, Rapini RP, Paddock CD (2010) The expanding spectrum of eschar-associated rickettsioses in the United States. *Archives of Dermatology* 146:641-8.

Cunha BA (2008) Clinical features of Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infectious Diseases* 8:143-4.

Dantas-Torres F (2007) Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infectious Diseases* 7:724-32.

Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D (2012) Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in Parasitology* 28:437-46.

Del Fiol FS, Junqueira FM, Rocha MCP, Toledo MI, Barberato Filho S (2010) A febre maculosa no Brasil. *Revista Panamericana de Salud Publica* 27:461-6.

Demma LJ, Traeger MS, Nicholson WL, Paddock CD, Blau DM, Eremeeva ME, Dasch GA, Levin ML, Singleton J Jr, Zaki SR, Cheek JE, Swerdlow DL, McQuiston JH (2005) Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. *New England Journal of Medicine* 353:587-94.

de Rodaniche E (1953) Natural infection of the tick, *Amblyomma cajennenses*, with *Rickettsia rickettsii* in Panama. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2:696-9.

de Rodaniche EC, Rodaniche A (1950) Spotted fever in Panama; isolation of the etiologic agent from fatal case. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30:511-7.

Dupont HT, Cornet JP, Raoult D (1994) Identification of rickettsiae from ticks collected in the Central African Republic using the polymerase chain reaction. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50:373-80.



Eldin C, Mediannikov O, Davoust B, Cabre O, Barré N, Raoult D, Parola P (2011) Emergence of *Rickettsia africae*, Oceania. *Emerging Infectious Diseases* 17:100-2.

Eremeeva ME (2012) Molecular epidemiology of rickettsial diseases in North America. *Ticks and Tick Borne Diseases* 3:332-7.

Eremeeva ME, Bosserman EA, Demma LJ, Zambrano ML, Blau DM, Dasch GA (2006) Isolation and identification of *Rickettsia massiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected in Arizona. *Applied and Environmental Microbiology* 72:5569-77.

Eremeeva ME, Karpathy SE, Levin ML, Caballero CM, Bermudez S, Dasch GA, Motta JA (2009) Spotted fever rickettsiae, Ehrlichia and Anaplasma, in ticks from peridomestic environments in Panama. *Clinical Microbiology and Infection* 15:12-4.

Eremeeva ME, Klemm RM, Santucci-Domotor LA, Silverman DJ, Dasch GA (2003) Genetic analysis of isolates of *Rickettsia rickettsii* that differ in virulence. *Annals of the New York Academy of Science* 990:717-22.

Estrada-Peña A, Ayllón N, de la Fuente J (2012) Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Frontiers in Physiology* 3:64.

Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Mangold AJ (2004) The distribution and ecological 'preferences' of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 98:283-92.

Estripeaut D, Aramburú MG, Sáez-Llorens X, Thompson HA, Dasch GA, Paddock CD, Zaki S, Eremeeva ME (2007) Rocky Mountain spotted fever, Panama. *Emerging Infectious Diseases* 13:1763-5.

Faccini-Martínez AA, Barreto C, Forero-Becerra E, Cortés-Vecino JA, Polo L, Jácome J, Vargas J, Valbuena G, Salcedo P, Hidalgo M (2013a) Rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas en pacientes con síndrome febril agudo que consultaron al Hospital Salazar de Villeta, Colombia. *Acta Médica Costarricense* 55:64.

Faccini-Martínez AA, Forero-Becerra EG, Cortés-Vecino JA, Polo-Teran LJ, Jácome JH, Vargas JJ, Valbuena G, Hidalgo M (2013b) Caso probable de fiebre manchada (*Rickettsia felis*) transmitida por pulgas. *Biomedica* 33:9-13.

Faccini-Martínez AA, García-Álvarez L, Hidalgo M, Oteo JA (2014) Syndromic classification of rickettsioses: An approach for clinical practice. *International Journal of Infectious Diseases* (aceptado para publicación).

Fernández-Soto P, Pérez-Sánchez R, Díaz-Martin V, Encinas-Grandes A, Alamo-Sanz R (2006) *Rickettsia massiliae* in ticks removed from humans in Castilla y León, Spain. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 25:811-3.

Ferrari FAG, Goddard J, Paddock C, Varela-Stokes AS (2012) *Rickettsia parkeri* and *Candidatus Rickettsia andeanae* in Gulf Coast Ticks, Mississippi, USA. *Emerging Infectious Diseases* 18:1705-6.

Folkema AM, Holman RC, McQuiston JH, Cheek JE (2012) Trends in clinical diagnoses of Rocky Mountain spotted fever among American Indians, 2001-2008. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 86:152-8.

Fornadel CM, Zhang X, Smith JD, Paddock CD, Arias JR, Norris DE (2011) High Rates of *Rickettsia parkeri* Infection in Gulf Coast Ticks (*Amblyomma maculatum*) and Identification of “Candidatus *Rickettsia Andeanae*” from Fairfax County, Virginia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 11:1535-9

Fuentes LG (1979) Primer caso de fiebre manchada de las Montañas Rocosas en Costa Rica, América Central. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 21:167-72.

Fuller HS (1954) Studies of rickettsialpox. III. Life cycle of the mite vector, *Allodermanyssus sanguineus*. *American Journal of Hygiene* 59:236-9.

Fuxelius HH, Darby A, Min CK, Cho NH, Andersson SG (2007) The genomic and metabolic diversity of *Rickettsia*. *Research in Microbiology* 158(10):745-53.

García JC, Portillo A, Núñez MJ, Santibáñez S, Castro B, Oteo JA (2010) Case report: a patient from Argentina infected with *Rickettsia massiliae*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 82:691-92.

Gargili A, Palomar AM, Midilli K, Portillo A, Kar S, Oteo JA (2012) *Rickettsia* species in ticks removed from humans in Istanbul, Turkey. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 12:938-41.

Goddard J, Norment BR (1983) Notes on the geographical distribution of the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* (Koch) [Acari:Ixodidae]. *Entomological News* 94:103-4.

Grasperge BJ, Wolfson W, Macaluso KR (2012) *Rickettsia parkeri* infection in domestic dogs, Southern Louisiana, USA, 2011. *Emerging Infectious Diseases* 18:995-7.

Gross D, Schafer G (2011) 100th anniversary of the death of Ricketts: Howard Taylor Ricketts (1871-1910). The namesake of the *Rickettsiaceae* family. *Microbes and infection* 13(1):10-3.

Guedes E, Leite RC, Pacheco RC, Silveira I, Labruna MB (2011) *Rickettsia* species infecting *Amblyomma* ticks from an area endemic for Brazilian spotted fever in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 20:308-11.

Guedes E, Leite RC, Prata MC, Pacheco RC, Walker DH, Labruna MB (2005) Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 100:841-5.

Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, Mangold AJ, Szabó MP, Martins JR, Gozález-Acuña D, Estrada-Peña A (2006) Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Experimental and Applied Acarology* 40:83-100.

Guglielmone AA, Nava S (2006) Las garrapatas argentinas del genero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae): Distribución y hospederos. *RIA* 35:133-53.

Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Peña A, Horak IG (2010) The Argasidae, Ixodidae and Nutalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa* 2528:1-28.

Gulati S, Maheshwari A (2012) Dengue fever-like illnesses: how different are they from each other?. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44:522-30.

Hartskeerl RA, Collares-Pereira M, Ellis WA (2011) Emergence, control and re-emerging leptospirosis: Dynamics of infection in the changing world. *Clinical Microbiology and Infection* 17:494-501.

Hidalgo M, Faccini-Martínez AA, Valbuena G (2013) Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomedica* 33:161-78.

Hidalgo M, Miranda J, Heredia D, Zambrano P, Vesga JF, Lizarazo D, Mattar S, Valbuena G (2011) Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 106:117-8.

Hidalgo M, Montoya V, Martínez A, Mercado M, De la Ossa A, Vélez C, Estrada G, Pérez JE, Faccini-Martínez AA, Labruna MB, Valbuena G (2013) Flea-Borne Rickettsioses in the North of Caldas Province, Colombia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 13:289-94.

Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernandez J, Parra E, Keng C, Small M, Olano JP, Bouyer D, Castaneda E, Walker D, Valbuena G (2007a) Rocky Mountain spotted fever, Colombia. *Emerging Infectious Diseases* 13:1058-60.

Hidalgo M, Sánchez R, Orejuela L, Hernández J, Walker DH, Valbuena G (2007b) Prevalence of antibodies against spotted fever group rickettsiae in a rural area of Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77:378-80.

Hidalgo M, Salguero E, de la Ossa A, Sánchez R, Vesga JF, Orejuela L, Valbuena G (2008) Murine Typhus in Caldas, Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 78:321-322.

Hidalgo M, Vesga JF, Lizarazo D, Valbuena G (2009) A survey of antibodies against *Rickettsia rickettsii* and *Ehrlichia chafeensis* in domestic animals from a rural area of Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 80:1029-30.

Hun L, Cortés X, Taylor L (2008) Molecular characterization of *Rickettsia rickettsii* isolated from human clinical samples and from the rabbit tick *Haemaphysalis leporispalustris* collected at different geographic zones in Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 79:899-902.

Jiang J, Stromdahl EY, Richards AL (2012) Detection of *Rickettsia parkeri* and *Candidatus Rickettsia andeanae* in *Amblyomma maculatum* Gulf Coast ticks collected from humans in the United States. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 12:175-82.

Johnston SH, Glaser CA, Padgett K, Wadford DA, Espinosa A, Espinosa N, Eremeeva ME, Tait K, Hobson B, Shtivelman S, Hsieh C, Messenger SL (2013) *Rickettsia* spp. 364D Causing a Cluster of Eschar-associated Illness, California. *Pediatric Infectious Disease Journal* 32:1036-9.

Karpathy SE, Dasch GA, Ereemeeva ME (2007) Molecular typing of isolates of *Rickettsia rickettsii* by use of DNA sequencing of variable intergenic regions. *Journal of Clinical Microbiology* 45:2545-53.

Kelly PJ (2006) *Rickettsia africae* in the West Indies. *Emerging Infectious Diseases* 12:24-6.

Kelly PJ, Beati L, Manson P, Matthewman L, Roux V, Raoult D (1996) *Rickettsia africae* sp. nov., the etiological agent of African tick bite fever. *International Journal of Systematic Bacteriology* 46:611-4.

Kelly PJ, Beati L, Matthewman L, Manson P, Dasch GA, Raoult D (1994) A new pathogenic spotted fever group rickettsia from Africa. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 97:129-37.

Kelly PJ, Fournier PE, Parola P, Raoult D (2003) A survey for spotted fever group rickettsiae and ehrlichiae in *Amblyomma variegatum* from St. Kitts and Nevis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69:58-9.

Kelly P, Lucas H, Beati L, Yowell C, Mahan S, Dame J (2010) *Rickettsia africae* in *Amblyomma variegatum* and domestic ruminants on eight Caribbean islands. *Journal of Parasitology* 96:1086-88.

Kelly PJ, Manson P (1991) Transmission of spotted fever group rickettsia by *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 28:596-600.

Kelly PJ, Matthewman L, Beati L, Raoult D, Manson P, Dreary M, Makombe R (1992) African tick-bite fever: a new spotted fever group Rickettsiosis under an old name. *Lancet* 340:982-3.

Kernif T, Socolovschi C, Bitam I, Raoult D, Parola P (2012) Vector-Borne Rickettsioses in North Africa. *Infectious Diseases Clinics of North America* 26:455-78.

Krawczak FS, Nieri-Bastos FA, Nunes FP, Soares JF, Moraes-Filho J, Labruna MB (2014) Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasites and Vectors* 7:1-7.

Kotlyar S, Rice BT (2013) Fever in the returning traveler. *Emergency Medicine Clinics of North America* 31:927-44.

Labruna MB (2009) Ecology of Rickettsia in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1166:156-66.

Labruna MB, Ogrzewalska M, Soares JF, Martins TF, Soares HS, Moraes-Filho J, Nieri-Bastos FA, Almeida AP, Pinter A (2011) Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. *Emerging Infectious Diseases* 17:829-34.

Lackman DB, Parker RR, Gerloff RK (1949) Serological characteristics of a pathogenic *Rickettsia* occurring in *Amblyomma maculatum*. *Public Health Reports* 64:1342-9



La Scola B, Raoult D (1997) Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *Journal of Clinical Microbiology* 35:2715-27.

Leshem E, Meltzer E, Schwartz E (2011) Travel-associated zoonotic bacterial diseases. *Current Opinion in Infectious Diseases* 24:457-63.

Lin L, Decker CF (2012) Rocky Mountain spotted fever. *Disease a Month* 58:361-9.

Londoño AF, Díaz J, Valbuena G, Labruna M, Hidalgo M, Rodas JD (2013) *Rickettsia* spp. en *Amblyomma ovale* de Colombia. *Acta Médica Costarricense* 55:66-67.

Londoño AF, Díaz FJ, Valbuena G, Gazi M, Labruna M, Hidalgo M, Mattar S, Contreras V, Rodas JD (2014) Infection of *Amblyomma ovale* by *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, Colombia. *Ticks and Tick Borne Diseases* (aceptado para publicación).

Mansueto P, Vitale G, Cascio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A, di Rosa S, Rini GB, Cillari E, Walker DH (2012) New insight into immunity and immunopathology of Rickettsial diseases. *Clinical and Developmental Immunology* 2012:967852.

Madeiras AP, de Souza AP, de Moura AB, Lavina MS, Bellato V, Sartor AA, Nieri-Bastos FA, Richtzenhain LJ, Labruna MB (2011) Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 106:926-30.

Mariotte CO, Bustamante ME, Varela G (1944) Hallazgos del *Rhipicephalus sanguineus* Latreille infectado naturalmente con fiebre manchada de las Montañas Rocosas, en Sonora (Mexico) 1944. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 5:297-300.

Martínez-Medina MA, Padilla-Zamudio G, Solís-Gallardo LP, Guevara-Tovar M (2005) Rocky mountain spotted fever: report of two cases. *Gaceta Médica Mexicana* 141:309-12

Mattar S, Parra M (2006) Detection of antibodies to *Anaplasma*, *Bartonella*, and *Coxiella* in rural inhabitants of the Caribbean area of Colombia. *Revista MVZ Córdoba* 11:781-789.

Maxey EE (1899) Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. *Medical Sentinel* 7:433-8.

McNaught JG (1911) A tick-borne fever in the Union of South Africa. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 16:505.

Mediannikov O, Socolovschi C, Edouard S, Fenollar F, Mouffok N, Bassene H, Diatta G, Tall A, Niangaly H, Doumbo O, Lekana-Douki JB, Znazen A, Sarih M, Ratmanov P, Richet H, Ndiath MO, Sokhna C, Parola P, Raoult D (2013) Common epidemiology of *Rickettsia felis* infection and Malaria, Africa. *Emerging Infectious Diseases* 19(11):1775-83.

Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D (2014) Genotyping, Evolution and Epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infection, Genetics and Evolution* 25:122-37.

Merhej V, Raoult D (2011) Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biological Reviews* 86:379-405.

Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, Federación Médica Colombiana (2012-2013) Dengue, Memorias. p.7.

Miranda J, Mattar S (2014) Molecular detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia* sp. strain Colombianensi in ticks from Cordoba, Colombia. *Ticks and Tick Borne Diseases* 5:208-12.

Miranda J, Portillo A, Oteo JA, Mattar S (2012) *Rickettsia* sp. strain colombianensi (Rickettsiales: Rickettsiaceae): a new proposed *Rickettsia* detected in *Amblyomma dissimile* (Acari: Ixodidae) from iguanas and free-living ticks from vegetation. *Journal of Medical Entomology* 49:960-5.

Missailidis S, Godoy DT, Mares-Guia MAM, Favacho ARM, Lemos ERS (2014) Current and Future Trends in the Clinical Diagnosis of Rickettsioses *Sensu Lato*. *International Journal of Tropical Disease & Health* 4:147-181.

Moraes-Filho J, Pinter A, Pacheco RC, Gutmann TB, Barbosa SO, Gonzáles MA, Muraro MA, Cecilio SR, Labruna MB (2009) New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 9:73-8.

Morita C, El Hussein AR, Matsuda E, Abdel Gabbar KM, Muramatsu Y, Abdel-Rahman MB, Eleragi AM, Hassan SM, Chitambo AM, Ueno H (2004) Spotted fever group rickettsiae from ticks captured in Sudan. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57:107-9.

Murdoch DR, Woods CW, Zimmerman MD, Dull PM, Belbase RH, Keenan AJ, Scott RM, Basnyat B, Archibald LK, Reller LB (2004) The etiology of febrile illness in adults presenting to Patan hospital in Kathmandu, Nepal. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 70:670-5.

Myers SA, Sexton DJ (1994) Dermatologic manifestations of arthropod-borne diseases. *Infectious Diseases Clinics of North America* 8:689-712.

Nava S, Beati L, Labruna MB, Caceres AG, Mangold AJ, Guglielmone AA (2014) Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. And *Amblyomma patinoi* n. sp., and resurrection of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and Tick Borne Diseases* 5:252-76.

Nava S, Elshenawy Y, Ereemeeva ME, Summer JW, Mastropaolo M, Paddock CD (2008) *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerging Infectious Diseases* 14:1894-7.

Nicolle C, Comte C, Conseil L (1909) Transmission expérimentale du typhus exanthématique par le pou du corps. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences* 149:486-9.

Ogrzewalska M, Martins T, Miroslav C, Literak I, Labruna MB (2012a) A *Rickettsia parkeri*-like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Ticks and Tick Borne Diseases* 07:1-10.

Ogrzewalska M, Saraiva DG, Moraes-Filho J, Martins TF, Costa FB, Pinter A, Labruna MB (2012b) Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. *Parasitology* 139:1283-300.

Olano JP (2005) Rickettsial infections. *Annals New York Academy of Sciences* 1063:187-96.

Orkun O, Karaer Z, Çakmak A, Nalbantoglu S (2014) Spotted fever group rickettsiae in ticks in Turkey. *Ticks and Tick Borne Diseases* 5:213-8.

Pacheco RC, Arzua M, Nieri-Bastos FA, Moraes-Filho J, Marcili A, Richtzenhain LJ, Barros-Battesti DM, Labruna MB (2012) Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. *Journal of Medical Entomology* 49:710-6.

Pacheco-García OE, Giraldo MR, Hidalgo M, Galeano A, Echeverri I, Echavarría-Rodríguez L, Parra E, Rey G (2008) Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimiento de Alto de Mulatos – Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia, enero de 2008. *Informe Quincenal Epidemiológico Nacional* 13:145-60.

Paddock CD (2005) *Rickettsia parkeri* as a paradigm for multiple causes of tick-borne spotted fever in the western hemisphere. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1063:315-26.

Paddock CD, Dension AM, Lash RR, Liu L, Batten BC, Dahlgren FS, Kanamura CT, Angerami RN, Pereira Dos Santos FC, Brasil Martines R, Karpathy SE (2014) Phylogeography of *Rickettsia rickettsii* genotypes associated with fatal rocky mountain spotted fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [Epub ahead of print]

Paddock CD, Fernández S, Echenique GA, Summer JW, Reeves WK, Zaki SR, Remondegui CE (2008a) Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 78:687-92.

Paddock CD, Finley RW, Wright CS, Robinson HN, Schrodt BJ, Lane CC, Ekenna O, Blass MA, Tamminga CL, Ohl CA, McLellan SL, Goddard J, Holman RC, Openshaw JJ, Sumner JW, Zaki SR, Ereemeeva ME (2008b) *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. *Clinical Infectious Diseases* 47:1188-96

Paddock CD, Summer JW, Comer JA, Zaki SR, Goldsmith CS, Goddard J, McLellan SL, Tamminga CL, Ohl CA (2004) *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 38:805-11.

Palomar AM, Santibáñez P, Mazuelas D, Roncero L, Santibáñez S, Portillo A, Oteo JA (2012) Role of birds in dispersal of etiologic agents of tick-borne zoonoses, Spain, 2009. *Emerging Infectious Diseases* 18:1188-91.

Parker RR, Kohls GM, Cox GW, Davis GE (1939) Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. *Public Health Reports* 54:1482-4.

Parola P (2011) *Rickettsia felis*: from a rare disease in the USA to a common cause of fever in sub-Saharan Africa. *Clinical Microbiology and Infection* 17:996-1000.

Parola P, Attali J, Raoult D (2003) First detection of *Rickettsia africae* on Martinique, in the French West Indies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 97:535-37.

Parola P, Jourdan J, Raoult D (1998) Tick-borne infection caused by *Rickettsia africae* in the West Indies. *New England Journal of Medicine* 338:1391.

Parola P, Labruna M, Raoult D (2009) Tick-Borne Rickettsioses in America: Unanswered Questions and Emerging Diseases. *Current Infectious Disease Reports* 11:40-50.

Parola P, Paddock CD, Raoult D (2005) Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clinical Microbiology Reviews* 18:719-56.

Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, Abdab MY, Stenos J, Bitam I, Fournier PE, Raoult D (2013) Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical Microbiology Reviews* 26:657-702

Parola P, Raoult D (2001) Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* 32:897-928.

Parola P, Socolovschi C, Jeanjean L, Bitam I, Fournier PE, Sotto A, Labauge P, Raoult D (2008) Warmer Weather Linked to Tick Attack and Emergence of Severe Rickettsioses. *Plos Neglected Tropical Diseases* 2:e338.

Parola P, Vestris G, Martinez D, Brochier B, Roux V, Raoult D (1999) Tick-borne rickettsiosis in Guadeloupe, the French West Indies: isolation of *Rickettsia africae* from *Amblyomma variegatum* ticks and serosurvey in humans, cattle, and goats. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 60:888-93.

Paternina LE, Díaz-Olmos Y, Paternina-Gómez M, Bejarano EE (2009) *Canis familiaris*, Un nuevo hospedero de *Ornithodoros (A.) puertoricensis* FOX, 1947 (Acari: Ixodida) en Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 14:153-160.

Patiño-Camargo L (1922) El Tifo Negro o Exantemático en Bogotá. *Editorial Cromos* p.1-164.

Patiño-Camargo L (1941) Nuevas observaciones sobre un tercer foco de fiebre petequial (maculosa) en el hemisferio americano. *Boletín De la Oficina Sanitaria Panamericana*. 20:1112-24.

Patino L, Afanador A, Paul JH (1937) A spotted fever in Tobia, Colombia. *American Journal of Tropical Medicine* 17:639-53.

Peniche-Lara G, Dzul-Rosado KR, Zavala-Velázquez JE, Zavala-Castro J (2012) Murine typhus: Clinical and epidemiological aspects. *Colombia Médica* 43:175-80.



Pérez-Osorio CE, Zavala-Velázquez JE, Arias-León JJ, Zavala-Castro JE (2008) *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. *Emerging Infectious Diseases* 14:1019-23.

Pesquera C, Portillo A, Palomar AM, Santibáñez S, Venzal JM, Oteo JA (2013) Detección de *Rickettsia* spp. en garrapatas (Ixodidae) retiradas de tapires de montaña, vacas y vegetación en un área protegida de Ecuador. *Acta Médica Costarricense* 55:82-83.

Philip RN, Lane RS, Casper EA (1981) Serotyped of tick-borne spotted fever group rickettsiae from western California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30:722-7.

Pijper A, Crocker GC (1938) Rickettsioses of South Africa. *South African Medical Journal* 12:613-60.

Pinter A, França AC, de Souza CE, Sabbo C, Mendes do Nascimento EM, Pereira dos Santos FC, Katz G, Labruna MB, Moreira-Holcman M, Chinelatto MJ, Horta MC, Mascheretti M, Caporalle-May R, Angerami RN, Brasil RA, Moreira-Leite R, Aparecida-Lacerra de Souza SS, Colombo S, Matias-Oliveira VL (2011) FEBRE MACULOSA BRASILEIRA. Volume 8. São Paulo: Centro de Produção e Divulgação Científica 1-34.

Portillo A, García-García C, Sanz MM, Santibáñez S, Venzal JM, Oteo JA (2013) A Confirmed case of *Rickettsia parkeri* infection in a traveler from Uruguay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 89:1203-5.

Portillo A, Pérez-Martínez L, Santibáñez S, Blanco JR, Ibarra V, Oteo JA (2007) Detection of *Rickettsia africae* in *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks from the Republic of Botswana, South Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77:376-7.

Punjabi NH, Taylor WR, Murphy GS, Purwaningsih S, Picarima H, Sisson J, Olson JG, Baso S, Wangsasaputra F, Lesmana M, Oyoyo BA, Simanjuntak CH, Subekti D, Corwin AL, Richie TL (2012) Etiology of acute, non-malaria, febrile illnesses in Jayapura, northeastern Papua, Indonesia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 86:46-51.

Quintero JC, Londoño AF, Díaz FJ, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, Rodas JD (2013) Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica* 33:38-51.

Ramírez-Hernández A, Escandón P, Cortés-Vecino JA, Rodas JD, Hidalgo M (2013) Detección Molecular de *Rickettsia* spp. (Da Rocha-Lima, 1916) en Garrapatas Recolectadas en Tres Regiones de Colombia. *Acta Médica Costarricense* 55:83-4.

Ramírez-Hernández A, Montoya V, Martínez A, Pérez JE, Mercado M, de la Ossa A, Vélez C, Estrada G, Correa MI, Duque L, Ariza JS, Henao C, Valbuena G, Hidalgo M (2013) Molecular Detection of *Rickettsia felis* in Different Flea Species from Caldas, Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 89:453-459.

Raoult D, Fournier PE, Eremeeva M, Graves S, Kelly PJ, Oteo JA, Sekeyova Z, Tamura A, Tarasevich I, Zang L (2005) Naming of Rickettsiae and rickettsial diseases. *Annals New York Academy of Sciences* 1063:1-12.

Raoult D, Paddock CD (2005) *Rickettsia parkeri* infection and other spotted fevers in the United States. *New England Journal of Medicine* 353:626-7.

Raoult D, Parola P (2007a) Rickettsial Diseases. New York: Informa. p. 1-13.

Raoult D, Parola P (2007b) Rickettsial Diseases. New York: Informa. p. 15-26.

Rar V, Golovljova I (2011) Anaplasma, Ehrlichia, and “*Candidatus Neorhlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution* 11:1842-61.

Reed SC, Lamason RL, Risca VI, Abernathy E, Welch MD (2014) *Rickettsia* actin-based motility occurs in distinct phases mediated by different actin nucleators. *Current Biology* 24:98-103.

Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD (1991) Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *Journal of Bacteriology* 173:1576-89.

Renvoisé A, Mediannikov O, Raoult D (2009) Old and new tick-borne rickettsioses. *International Health* 1:17-25.

Renvoisé A, Raoult D (2009) An update on rickettsiosis. *Médecine et maladies infectieuses* 39:71-81.

Ricketts HT (1909) A micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever. A preliminary report. *Journal of the American Medical Association* 52:379-380.

Ricketts HT (1907) Observations on the virus and means of transmission of Rocky Mountain spotted fever. *The Journal of Infectious Diseases* 4:141-153.

Ripoll CM, Remondegui CE, Ordonez G, Arazamendi R, Fusaro H, Hyman MJ, Paddock CD, Zaki SR, Olson JG, Santos-Buch CA (1999) Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in subtropical territory of Jujuy, Argentina. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61:350-4.

Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RR, Paddock CD (2011) *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis, Argentina. *Emerging Infectious Diseases* 17:1169-73.

Roux V, Fournier PE, Raoult D (1996) Differentiation of spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. *Journal of Clinical Microbiology* 34:2058-65.

Sabatini GS, Pinter A, Nieri-Bastos FA, Marcili A, Labruna MB (2010) Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the State of São Paulo, Brazil. *Journal of Medical Entomology* 47:913-6.

Sahni SK, Narra HP, Sahni A, Walker DH (2013) Recent molecular insights into rickettsial pathogenesis and immunity. *Future Microbiology* 8(10):1265-88.

Santos HA, Thomé SM, Baldani CD, Silva CB, Peixoto MP, Pires MS, Vitari GL, Costa RL, Santos TM, Angelo IC, Santos LA, Faccini JL, Massard CL (2013) Molecular epidemiology of the emerging zoonosis agent *Anaplasma phagocytophilum* (Foggie, 1949) in dogs and ixodid ticks in Brazil. *Parasites and Vectors* 6:348.

Santos-Silva MM, Sousa R, Santos AS, Melo P, Encarnação V, Bacellar F (2006) Ticks parasitizing wild birds in Portugal: detection of *Rickettsia aeschlimannii*, *R. helvetica* and *R. massiliae*. *Experimental and Applied Acarology* 39:331-8.

Seijo A, Picollo M, Nicholson W, Paddock C (2007) Rickettsial spotted fever in the Paraná Delta. An emerging disease. *Medicina (B Aires)* 67:723-6.

Sexton DJ, Corey GR (1992) Rocky Mountain "spotless" and "almost spotless" fever: a wolf in sheep's clothing. *Clinical Infectious Diseases* 15:439-48.

Shapiro MR, Fritz CL, Tait K, Paddock CD, Nicholson WL, Abramowicz KF, Karpathy SE, Dasch GA, Sumner JW, Adem PV, Scott JJ, Padgett KA, Zaki SR, Ereemeva ME (2010) *Rickettsia* 364D: a newly recognized cause of eschar-associated illness in California. *Clinical Infectious Diseases* 50:541-8.

Silva N, Ereemeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EA, Favacho AR, Reis MG, Dasch GA, de Lemos ER, Ko AI (2011) Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 17:275-8.

Silveira I, Pacheco RC, Szabó MP, Ramos HG, Labruna MB (2007) *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 13:1111-3.

Solary J, Socolovschi C, Aubry C, Brouqui P, Raoult D, Parola P (2014) Deteccion of *Rickettsia sibirica mongolitimonae* by Using Cutaneous Swab Samples and Quantitative PCR. *Emerging Infectious Diseases* 20:716-8.

Spencer RR (1926) A case of typhus-like fever following tick bite. *Public Health Reports* 41:2523-4.

Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandao PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH (2010) Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 16:521-3.

Suárez R, Hidalgo M, Niño N, González C, Vesga JF, Orejuela L, Sánchez R, Castañeda E, Valbuena G (2008) Las rickettsias como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia. *Ediciones Uniandes* 31-34.

Summer JW, Durden LA, Goddard J, Stromdahl EY, Clark KL, Reeves WK, Paddock CD (2007) Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. *Emerging Infectious Diseases* 13:751-3.

Szabó MP, Nieri-Bastos FA, Spolidorio MG, Martins TF, Barbieri AM, Labruna MB (2013a) In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. *Parasitology* 140:719-28.

Szabó MP, Pinter A, Labruna MB (2013b) Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3:27.

Tomassone L, Conte V, Parrilla G, De Meneghi D (2010) Rickettsia infection in dogs and *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tigrinum* ticks, Cochabamba Department, Bolivia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 10:953-8.

Terassini F, Barbieri FS, Albuquerque S, Szabó MPJ, Camargo LMA, Labruna MB (2010) Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazon forest. *Ticks and Tick Borne Diseases* 1:194-6.

Traub R, Wisseman CI Jr (1974) The ecology of chigger-borne rickettsiosis (scrub typhus). *Journal of Medical Entomology* 11:237-303.

Tribaldos M, Zaldivar Y, Bermudez S, Samudio F, Mendoza Y, Martinez AA, Villalobos R, Eremeeva ME, Paddock CD, Page K, Smith RE, Pascale JM (2011) Rocky Mountain spotted fever in Panama: a cluster description. *The Journal of Infection in Developing Countries* 5:737-41.

Uchiyama T (2012) Tropism and pathogenicity of rickettsiae. *Frontiers in Microbiology* 3:230.

Varela-Stockes AS, Paddock CD, Engber B, Toliver M (2011) *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma maculatum* ticks, North Carolina, USA, 2009-2010. *Emerging Infectious Diseases* 17:2350-3.

Venzal JM, Estrada-Peña A, Portillo A, Manglod AJ, Castro O, De Souza CG, Félix ML, Pérez-Martínez L, Santibáñez S, Oteo JA (2012) *Rickettsia parkeri*: a Rickettsial pathogen transmitted by ticks in endemic areas for spotted fever rickettsiosis in southern Uruguay. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 54:131-4.

Venzal JM, Portillo A, Estrada-Peña A, Castro O, Cabrera PA, Oteo JA (2004) *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. *Emerging Infectious Diseases* 10:1493-5.

Vitale G, Mansuelo S, Rolain JM, Raoult D (2006) *Rickettsia massiliae* human isolation. *Emerging Infectious Diseases* 12:174-5.

Walker DH (2013) Los desafíos en el diagnóstico, la investigación y la concientización sobre las rickettsiosis en América Latina. *Acta Médica Costarricense* 55:4-6.

Walker DH (2007) Rickettsiae and rickettsial infections: the current state of knowledge. *Clinical Infectious Diseases* 45 Suppl 1:S39-44.

Walker DH, Gay RM, Valdes-Dapena M (1981) The occurrence of eschars in Rocky Mountain spotted fever. *Journal of the American Academy of Dermatology* 4:571-6.

Walker DH, Ismail N (2008) Emerging and re-emerging rickettsioses: endothelial cell infection and early disease events. *Nature Reviews* 6(5):375-86.

Walker DH, Paddock CD, Dumler JS (2008) Emerging and re-emerging tick-transmitted rickettsial and ehrlichial infections. *Medical Clinics of North America* 92:1345-61.

Waner T, Keysary A, Eremeeva ME, Din AB, Mumcuoglu KY, King R, Atiya-Nasagi Y (2014) *Rickettsia africae* and *Candidatus Rickettsia barbariae* in ticks in Israel. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [Epub ahead of print]



Wells EA, D'Alessandro A, Morales GA, Angel D (1981) Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an área of the Llanos Orientales of Colombia. *Journal of Wildlife Diseases* 17:153-62.

Wikswo ME, Hu R, Dasch GA, Krueger L, Arugay A, Jones K, Hess B, Bennett S, Kramer V, Eremeeva ME (2008) Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor* species from southern California. *Journal of Medical Entomology* 45:509-16.

Wilson LB, Chowning WM (1904) Studies in *Pyroplasmosis hominis* ("spotted fever" or "tick fever" of the Rocky Mountains). *Journal of Infectious Diseases* 1:31-57.

Wright CL, Nadolny RM, Jiang J, Richards AL, Sonenshine DE, Gaff HD, Hynes WL (2011) *Rickettsia parkeri* in gulf coast ticks, southeastern Virginia, USA. *Emerging Infectious Diseases* 17:896-8.

Xue-Jie Y, Walker DH (2006) The Order *Rickettsiales*. *Prokaryotes* 5:493-528.

Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Ruiz-Arcila EE, Laviada-Molina H, Olano JP, Ruiz-Sosa JA, Small MA, Dzúl-Rosado KR (2006) Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 12:672-4.

# ANEXO 1

Número de acceso GenBank "M181": KJ433802

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/KJ433802>)

**Rickettsia rickettsii strain M181 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds**

GenBank: KJ433802.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

**LOCUS** KJ433802 491 bp DNA linear DEC 28-APR-2014  
**DEFINITION** Rickettsia rickettsii strain M181 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds.  
**ACCESSION** KJ433802  
**VERSION** KJ433802.1 GI:618627814  
**KEYWORDS**  
**SOURCE** Rickettsia rickettsii  
**ORGANISM** Rickettsia rickettsii  
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales; Rickettsiaceae; Rickettsiinae; Rickettsia; spotted fever group.  
**REFERENCE** 1 (bases 1 to 491)  
**AUTHORS** Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,H., Porero-Becerra,H., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** New molecular and serologic evidence of spotted fever group rickettsiae in Villota, Colombia  
**JOURNAL** Unpublished  
**REFERENCE** 2 (bases 1 to 491)  
**AUTHORS** Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,H., Porero-Becerra,H., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** Direct Submission  
**JOURNAL** Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82, Bogotá D.C., Bogotá, Colombia  
**COMMENT** ##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
**FEATURES** Location/Qualifiers  
source 1..491  
/organism="Rickettsia rickettsii"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="M181"  
/isolation\_source="3 males pool attached to a horse"  
/host="Dermacestor nitens"  
/db\_xref="taxon:783"  
/country="Colombia: Villota"  
/collection\_date="24-Nov-2011"  
gene <1..491  
/gene="ompA"  
CDS <1..491  
/gene="ompA"  
/codon\_start=1  
/translation\_table=11  
/product="outer membrane protein A"  
/protein\_id="MK01553.1"  
/db\_xref="GI:618627815"  
/translation="LPEKALQQGLKALPPTTFAAINLSEGGALGVAGVVIATSSNA  
PSSNVGSSSSSEITCAAGVANGCPAGGPNMMAPTGGDTTVVADAAARIIKALNVAGT  
TPVGLNITQNTVVGSIITEGNLLPVTLAGKSLTLGNSNAVAANIKGFDAPADNYGLG  
NIA"  
**ORIGIN**  
1 ttatttaaaa aagcaatca acaaggtctt aaagccgctt tattcaacc ctcaaccgca  
61 gcgataatgc tggtagtag cggggcactc ggtgtgcta caggtgtat tctactaat  
121 aataatggcg catttagta taatgttggc aataataat ggaatgagat aacggctgca  
181 gggtagtcta atgtactcc tgcctggcgt cctcaaaaca attgggcatt taactacgtt  
241 ggtgattata ctgtactgc agatgcagcc gatcgtatta ttaagcgtat aatgtttgoc  
301 ggtactactc ccgtaggtct aatattact caaataactg tegtgggttc gattataagc  
361 aaaggtacat tgttgcctgt tacttttaac gccggcaaaa gcttaacttt aatggtaat  
421 aatgctgttg ctgcaatca tggttttgat ggcctgccc ataatatac aggttagga  
481 aatagcttt t  
//

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Protein

Taxonomy

Recent activity

Your browsing activity is temporarily unavailable.

## ANEXO 2

Número de acceso GenBank "M196": KJ433803

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/KJ433803>)

**Rickettsia sp. M196 outer membrane protein B (ompB) gene, partial cds**

GenBank: KJ433803.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

**LOCUS** KJ433803 382 bp DNA linear DEC 28-APR-2014  
**DEFINITION** Rickettsia sp. M196 outer membrane protein B (ompB) gene, partial cds.  
**ACCESSION** KJ433803  
**VERSION** KJ433803.1 GI:618627816  
**KEYWORDS** .

**SOURCE** Rickettsia sp. M196  
**ORGANISM** Rickettsia sp. M196  
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales; Rickettsiaceae; Rickettsiaseae; Rickettsia; spotted fever group. 1 (bases 1 to 382)

**REFERENCE**  
**AUTHORS** Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** New molecular and serologic evidence of spotted fever group rickettsiae in Villeta, Colombia  
**JOURNAL** Unpublished  
2 (bases 1 to 382)  
**AUTHORS** Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** Direct Submission  
**JOURNAL** Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82, Bogotá D.C., Bogotá, Colombia

**COMMENT**  
##Assembly-Data-ETAC##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##

**FEATURES**  
**source** Location/Qualifiers  
1..382  
/organism="Rickettsia sp. M196"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="M196"  
/isolation\_source="female attached to a cow"  
/host="Rhipicephalus microplus"  
/db\_xref="taxon:1489324"  
/country="Colombia: Villeta"  
/collection\_date="24-Nov-2011"  
/note="Rickettsia cf. monacensis"  
**gene** 1..382  
/gene="ompB"  
**CDS** 1..382  
/gene="ompB"  
/codon\_start=1  
/transl\_table=11  
/product="outer membrane protein B"  
/protein\_id="AKK01554.1"  
/db\_xref="GI:618627817"  
/translation="DYVITRTNNAANVVDLGGQIFAGIAPVGGQMYVTFVACNFAA  
YNNLLLAENEADSANIYVGLVYVGTSAVFTNVLQVSKDIQAQLGSRIGALRYLGTPTT  
VINGIPEAGNVPANVAAGDIAVNV"

**ORIGIN**  
1 gattatgtaa taacacgtac taacastgca gcaastgtag ttactaatga tattgcaggt  
61 agcaastttg caggtgcacc ggggttaggt cagacagtta caacatttgt aatgcaact  
121 aatctgcag catatastaa tcttctttta gctasasata gtgctgatic tgetaacctt  
181 gtggagctca tegtaccgg tacastgtag gcoctaacata atgtacaatt agatgatca  
241 aaagatatac aagctcaact tggtaacaga ttsggtgctc ttgatattt aggtactct  
301 gaacatgttg aatggctgg aactgaagct gsgcagctac cggctgcggt cgtgcaggt  
361 gacgagctg ttgataatgt ag  
//

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Protein

Taxonomy

Recent activity

Your browsing activity is temporarily unavailable.

## ANEXO 3

Número de acceso GenBank "M235": KJ433804

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/KJ433804>)

### Rickettsia sp. M235 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds

GenBank: KJ433804.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

```
LOCUS       KJ433804                467 bp    DNA     linear   BCF 28-APR-2014
DEFINITION  Rickettsia sp. M235 outer membrane protein A (ompA) gene, partial
            cds.
ACCESSION   KJ433804
VERSION     KJ433804.1   GI:618627818
KEYWORDS    .
SOURCE      Rickettsia sp. M235
            Rickettsia sp. M235
ORGANISM    Rickettsia; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales;
            Bacteria; Rickettsiaceae; Rickettsiense; Rickettsia; spotted fever group.
            1 (bases 1 to 467)
REFERENCE   1 (bases 1 to 467)
AUTHORS     Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,H.,
            Porero-Becerra,H., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L.,
            Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A.,
            Oteo,J.A. and Hidalgo,M.
TITLE       New molecular and serologic evidence of spotted fever group
            rickettsiaemia in Villeta, Colombia
JOURNAL     Unpublished
REFERENCE   2 (bases 1 to 467)
AUTHORS     Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,H.,
            Porero-Becerra,H., Ramirez-Hernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L.,
            Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.M., Portillo,A.,
            Oteo,J.A. and Hidalgo,M.
TITLE       Direct Submission
JOURNAL     Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de
            Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82,
            Bogotá D.C., Bogotá, Colombia
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source           1..467
                     /organism="Rickettsia sp. M235"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="M235"
                     /isolation_source="4 males pool of attached to a cow"
                     /host="Amblyomma cajennense sensu lato"
                     /db_xref="taxon:1489325"
                     /country="Colombia: Villeta"
                     /collection_date="25-Nov-2011"
                     /note="Rickettsia cf. conorii"
     gene             1..467
                     /gene="ompA"
     CDS              1..467
                     /gene="ompA"
                     /codon_start=1
                     /transl_table=11
                     /product="outer membrane protein A"
                     /protein_id="AIK01555.1"
                     /db_xref="GI:618627818"
                     /translation="LFDQAQQQLKAAIPTTPTAAIMLSGGALGLAVSGVLAQNNNA
            APSDNVGNNSNHITGANGVANGTPARGPQSNMAYTYGGDYITADVADHITPAISVADP
            TPVGLNIAQNTVVGSLVVTGAGESLTLGNSADAAASGKGFAPADNYVGLGNIA"
```

```
ORIGIN
1 ttattcaaa aagcaatca scasaggtett aasgcogctt tattcacacc ctoaacogca
61 gqataatgc taqtaqtgag cggggcactc ggtattgctg tticaggtgt tattgctact
121 aataaataag caqcathtag tqtatattgt ggcataatt ggaatgagat aacggctgca
181 ggggtagcta atggtactcc tgcctoggtt cctcaasaca attggcgatt tactaacgtt
241 ggtgattata ctctactcgc agatgtagcc gatcatatta ttacggctat aatgttgcg
301 gttactactc ccataggtct aatattgctt caaataacog togttggttc gattgttact
361 attactgcgc gcaaaagctt aactttaacc ggtataatg ctgctgctgc aatcatggt
421 ttgtgtgctc ctgcaagtas ttatcacggt ttggaasata taqcttt
//
```

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Protein

Taxonomy

Recent activity

Your browsing activity is temporarily unavailable.

## ANEXO 4

Número de acceso GenBank "M822": KJ433805

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KJ433805>)

**Rickettsia rickettsii strain M822 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds**

GenBank: KJ433805.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

**LOCUS** KJ433805 491 bp DNA linear D01 28-APR-2014  
**DEFINITION** Rickettsia rickettsii strain M822 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds.  
**ACCESSION** KJ433805  
**VERSION** KJ433805.1 GI:618627820  
**KEYWORDS** .  
**SOURCE** Rickettsia rickettsii  
**ORGANISM** Rickettsia rickettsii  
Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales; Rickettsiaceae; Rickettsiinae; Rickettsia; spotted fever group. 1 (bases 1 to 491)

**REFERENCE**  
**AUTHORS** Paccini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** New molecular and serologic evidence of spotted fever group rickettsiae in Villets, Colombia  
**JOURNAL** Unpublished  
2 (bases 1 to 491)

**REFERENCE**  
**AUTHORS** Paccini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.  
**TITLE** Direct Submission  
**JOURNAL** Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82, Bogotá D.C., Bogotá, Colombia

**COMMENT**  
##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##

**FEATURES**  
Location/Qualifiers  
**source**  
1..491  
/organism="Rickettsia rickettsii"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="M822"  
/isolation\_source="15 larvae pool from vegetation"  
/host="Amblyomma sp."  
/db\_xref="taxon:783"  
/country="Colombia: Villets"  
/collection\_date="18-Jul-2012"  
**gene**  
1..491  
/gene="ompA"  
**CDS**  
1..491  
/gene="ompA"  
/codon\_start=1  
/transl\_table=11  
/product="outer membrane protein A"  
/protein\_id="AI021556.1"  
/db\_xref="GI:618627821"  
/translation="LPEFAQQGLEAALPTSTAAINLSSGALGVAGVIAENNA  
PENNNGNSMNEICAGVANGTPAGGPNMMAFTYGGDTVYADAAQRILKAINVAG  
CPVGLNITQNTVVGSHITQGNLLPVVLAAGKSLTLAGNSVAVAANKIPDAPADVTGLG  
NIA"

**ORIGIN**  
1 ttatttaaaa aagcaataca acaaggtctt aaagcogctt tattcaacc ctcacaocga  
61 gcataatgc tgaatgctg cggggcactc ggtgttgta caggtgttat tgcactaat  
121 aataatgcaq catttaqta taatgttgc aataaatt ggaatgagat aacggctga  
181 gggtagcta atgtactcc tgcctgggt ctcacaaca atgggcat tactacggt  
241 ggtgattata ctgtcactgc agatgcagc gatcgtatta ttaaggtat aatgttgc  
301 ggtactactc cagtactct asatattct caaactactc tctgtgttc gattataag  
361 aaagtaactc tgttgctgt tactctaat gcggcaaaa gtttaactt aatggta  
421 aatgctgtg ctgcaatca tggttttgat ggcctgcag aatattatc aggtttagga  
481 aatagctt t  
//

Change region shown  
Customize view  
Analyze this sequence  
Run BLAST  
Pick Primers  
Highlight Sequence Features  
Find in this Sequence  
Related information  
Protein  
Taxonomy  
Recent activity  
Your browsing activity is temporarily unavailable.

## ANEXO 5

Número de acceso GenBank "M827": KJ433806

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/KJ433806>)

### Rickettsia rickettsii strain M827 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds

GenBank: KJ433806.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS KJ433806 491 bp DNA linear DEC 28-APR-2014  
DEFINITION Rickettsia rickettsii strain M827 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds.

ACCESSION KJ433806

VERSION KJ433806.1 GI:618627822

KEYWORDS .

SOURCE

ORGANISM Rickettsia rickettsii

Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales; Rickettsiaceae; Rickettsiinae; Rickettsia; spotted fever group.

1 (bases 1 to 491)

REFERENC 1  
AUTHORS Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.

TITLE New molecular and serologic evidence of spotted fever group rickettsiae in Villets, Colombia

JOURNAL Unpublished

2 (bases 1 to 491)

REFERENC 2  
AUTHORS Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E., Forero-Becerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L., Jacobs,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A., Oteo,J.A. and Hidalgo,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82, Bogotá D.C., Bogotá, Colombia

COMMENT

##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##

FEATURES

Location/Qualifiers  
source 1..491  
/organism="Rickettsia rickettsii"  
/mol\_type="genomic DNA"  
/strain="M827"  
/isolation\_source="10 nymphs pool from vegetation"  
/host="Amblyomma cajennense"  
/db\_xref="taxon:782"  
/country="Colombia: Villets"  
/collection\_date="18-Jul-2012"  
c1..>491  
/gene="ompA"  
c1..>491  
/gene="ompA"  
/codon\_start=1  
/transl\_table=11  
/product="outer membrane protein A"  
/protein\_id="AHR81557.1"  
/db\_xref="GI:618627822"  
/translation="LIFEKALQQCLEAALPTTSTPAANLLESDGALGVAGVYATKNSAA  
FENNNGNSNSNRTGANGANGTPAGGPGNSNAPTYGGDYVYDAAADRILKALNAGT  
GPNLNTTQNTVWGSITTKNLLPPLMAGGSLPLKNSNVAANRKPDAFADNTVGLG  
NIA"

ORIGIN

```
1 ttatttaaa aagcaatac acaaggtctt aaagcgcgtt tattacacc ctcaacccgca
61 ccgqtaatgc tgaqtatgag cggggcactc gytgttgcta caagtggtat tgcactaat
121 aataatcgag catttatgaa taatgttggc aataataatt gaaatgagat aaagcgtgca
181 ggggtagcta atgtactacc tgcctggcgt cctcaaaaca attggcgatt tactatcgtt
241 gttgattata ctgtcactgc agatgcagcc gatcgtatta ttaaggetat aaatgttgcg
301 gttactactc ccgtaggtct aatatattct caaaactctg tcgttggctc gattataacg
361 aaagtaactc tgttgcctgt tactttaact gcggcgcaaa gcttaacctt aaatggtat
421 aatgctgttg ctgcaaatca tggttttgat ggcgcctgcg atattatcac aggtttagga
481 aatatagctt t
```

//

Change region sizes

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Protein

Taxonomy

Recent activity

Your browsing activity is temporarily unavailable.

## ANEXO 6

Número de acceso GenBank "M841": KJ433807

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/KJ433807>)

### Candidatus Rickettsia amblyommii strain M841 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds

GenBank: KJ433807.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS KJ433807 488 bp DNA linear DEC 28-APR-2014  
DEFINITION Candidatus Rickettsia amblyommii strain M841 outer membrane protein A (ompA) gene, partial cds.

ACCESSION KJ433807

VERSION KJ433807.1 GI:618627824

KEYWORDS .

SOURCE Candidatus Rickettsia amblyommii

ORGANISM Candidatus Rickettsia amblyommii

Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rickettsiales;

Rickettsiaceae; Rickettsiinae; Rickettsia; spotted fever group.

1 (bases 1 to 488)

REFERENCE 1

AUTHORS Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E.,

Forero-Decerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L.,

Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A.,

Oteo,J.A. and Hidalgo,M.

TITLE New molecular and serologic evidence of spotted fever group

rickettsiae in Villets, Colombia

JOURNAL Unpublished

2 (bases 1 to 488)

REFERENCE 2

AUTHORS Pascini-Martinez,A.A., Barreto,C., Millan,D., Valbuena,E.,

Forero-Decerra,E., Ramirez-Bernandez,A., Cortes-Vecino,J., Polo,L.,

Jacome,J., Vargas,J., Valbuena,G., Palomar,A.N., Portillo,A.,

Oteo,J.A. and Hidalgo,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (07-FEB-2014) Departamento de Microbiología, Facultad de

Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 No. 43 - 82,

Bogotá D.C., Bogotá, Colombia

COMMENT ##Assembly-Data-STAMP##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-INFO##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..488

..... /organism="Candidatus Rickettsia amblyommii"

..... /mol\_type="genomic DNA"

..... /strain="M841"

..... /isolation\_source="15 larvae pool from vegetation"

..... /host="Rhhipicephalus microplus"

..... /db\_xref="taxon:33989"

..... /country="Colombia: Villets"

..... /collection\_date="28-Jul-2012"

..... <1..488

..... /gene="ompA"

..... <1..488

..... /gene="ompA"

..... /codon\_start=1

..... /transl\_table=11

..... /product="outer membrane protein A"

..... /protein\_id="AKK01558.1"

..... /db\_xref="GI:618627825"

..... /translation="LIVQAQQQLKALPTTSTAAINLRRGALGVAVGVDFENNAF

NGLAVVNSMSEIAGGVANGPFPANGPQNSRATPTKGDITITAMVAGRIITAINVAGTT

FWLNTIQNTVAVGIVTIGKLLPPTTAGKSLITLNGTNAVAANIKIIPAPADNVYGLGN

IQ"

ORIGIN

1 ttattcaca aagcaatac acaaggtctt aaagccgctt tattcaaac ctcaaccga

61 cagataatg tgaatgtag cgggacacg ggtgttgct caggtgttat ttctactat

121 aatgcaagc ttactgatc tgcgtgttc ataattgga atgagatac ggcggaggg

181 gtagtaatg gtactctgc taagcctct caagacaata ggcatttac ttacrtggt

241 gatcatact taactgcaca tgaagccggt cgtattatta cggatataa tgttcgggt

301 actactccg taggtctaaa tattactcaa ataccctgc ttggttcat tgtgcaggc

361 ggttaactgt tgcctgttc tattactgac ggcacaagc taacttaaa cgtactaat

421 cgtgttctg caactatgg tttgatgct cctgcagta attatacag tttaggaat

481 atacttt

//

Unchange region number

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Protein

Taxonomy

Recent activity

Your browsing activity is temporarily

unavailable.

## ANEXO 7

**Producción científica #1 “Faccini-Martínez ÁA, Forero-Becerra EG, Cortés-Vecino JA, Polo-Teran LJ, Jácome JH, Vargas JJ, Valbuena G, Hidalgo M (2013) Caso probable de fiebre manchada (*Rickettsia felis*) transmitida por pulgas. *Biomedica* 33:9-13”**

Biomedica 2013;33(Supl.1):9-13  
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.723>

### PRESENTACIÓN DE CASO

#### **Caso probable de fiebre manchada (*Rickettsia felis*) transmitida por pulgas**

Álvaro A. Faccini-Martínez<sup>1</sup>, Elkin G. Forero-Becerra<sup>2</sup>, Jesús A. Cortés-Vecino<sup>3</sup>, Luis J. Polo-Teran<sup>4</sup>, Jorge H. Jácome<sup>5</sup>, Jimmy J. Vargas<sup>6</sup>, Gustavo Valbuena<sup>1</sup>, Marilyn Hidalgo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Pathology Department, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA

*Rickettsia felis* es el agente etiológico de la fiebre manchada transmitida por pulgas, cuyo principal vector y reservorio es *Ctenocephalides felis*. Típicamente, la enfermedad se presenta como fiebre aguda asociada a cefalea, astenia, exantema maculo-papular generalizado y, en algunos casos, con escara de inoculación. En los últimos años, *R. felis* ha venido adquiriendo un papel importante en la etiología del síndrome febril agudo, calificándola como una enfermedad emergente y subdiagnosticada. La inmunofluorescencia indirecta es actualmente el método diagnóstico de referencia. Sin embargo, esta técnica presenta limitaciones relacionadas con la reacción cruzada que existe entre las diferentes especies del género *Rickettsia*. En el presente reporte se describe el caso de un paciente de 16 años con síndrome febril agudo secundario a infección probable por *R. felis*.

**Palabras clave:** estudios de casos, *Rickettsia felis*, fiebre, infecciones por *Rickettsia*, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.723>

#### **Probable case of flea-borne spotted fever (*Rickettsia felis*)**

*Rickettsia felis* is the etiologic agent of flea-borne spotted fever, with *Ctenocephalides felis* as its main vector and reservoir. Typically, the disease presents as acute fever associated with headache, asthenia, generalized maculo-papular rash, and in some cases, an inoculation eschar. In recent years, *R. felis* has acquired an important role in the etiology of the acute febrile syndrome; it is indeed an emerging infectious disease, albeit underdiagnosed. Indirect immunofluorescence assay (IFA) is currently the reference diagnostic method. However, this technique has limitations related to the cross reactivity among different species of rickettsiae. Herein, we describe a case of a 16 year-old patient with an acute febrile syndrome secondary to probable infection with *R. felis*.

**Key words:** Case studies, *Rickettsia felis*, fever, *Rickettsia* infections, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.723>

Las rickettsiosis son entidades clínicas causadas por bacterias intracelulares del género *Rickettsia* que afectan al hombre al ser transmitidas por artrópodos vectores (1). Los miembros de este género bacteriano se clasifican actualmente en

#### **Correspondencia:**

Marilyn Hidalgo, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N° 49-82, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 920 8920, extensión 4152  
[hidalgo.m@javeriana.edu.co](mailto:hidalgo.m@javeriana.edu.co)

Recibido: 30/04/12; aceptado: 04/10/12

#### **Contribución de los autores:**

Álvaro Adolfo Faccini se encargó de la revisión de la literatura científica y la redacción del manuscrito. Marilyn Hidalgo asesoró la revisión, sugirió modificaciones de estilo, corrigió el manuscrito y suministró ideas para la discusión. Elkin G. Forero, Jesús A. Cortés, Luis J. Polo, Jorge H. Jácome, Jimmy J. Vargas y Gustavo Valbuena, asesoraron la revisión y son coinvestigadores del proyecto del cual es producto este manuscrito.

cuatro grupos según sus características genéticas: grupo de las fiebres manchadas (*R. rickettsii*, *R. conorii* y *R. parkeri*, entre otras), grupo del tifo (*R. prowazekii* y *R. typhi*), grupo transicional (*R. felis*, *R. akari* y *R. australis*) y grupo ancestral (*R. bellii* y *R. canadensis*); este último no tiene un carácter patógeno conocido (1).

*Rickettsia felis* es el agente etiológico de la fiebre manchada transmitida por pulgas. *Ctenocephalides felis* es el principal vector y reservorio. Tanto animales domésticos (por ejemplo, gatos y perros)



como peridomésticos (por ejemplo, zangüeyas) son los huéspedes principales utilizados por este artrópodo para desarrollar su ciclo biológico (2).

La primera evidencia de infección humana por *R. felis* data de principios de los años noventa en los Estados Unidos (3); fue descrita como una nueva especie capaz de producir un cuadro clínico similar al del tifo murino (sic.) (*R. typhi*) consistente en fiebre aguda asociada a cefalea, mialgias, astenia y exantema máculo-papular (4).

La fiebre manchada transmitida por pulgas ha sido descrita desde entonces en muchos países, incluyendo Egipto, Francia, Alemania, Corea del Sur, España, Taiwán, Tailandia y los de Norteamérica, entre otros (2,5-8). En Latinoamérica y el Caribe, actualmente se destaca como la especie reportada en el mayor número de países (9). Es evidente, entonces, que *R. felis* está emergiendo y es importante en la etiología del síndrome febril agudo (10-12).

A continuación se presenta la descripción clínica de un adolescente con infección probable por *R. felis* (fiebre manchada transmitida por pulgas).

#### Presentación del caso

Se trata de un adolescente de 16 años de edad, procedente del área urbana del municipio de Útica (Cundinamarca), estudiante de secundaria, de raza mestiza, que consultó por un cuadro clínico de tres días de evolución consistente en fiebre subjetiva asociada a astenia, adinamia, mialgias, odinofagia, tos seca y sensación de desvanecimiento en las últimas dos horas. La revisión por sistemas fue negativa. El paciente recibió tratamiento con acetaminofén y amoxicilina, sin presentar mejoría. Los antecedentes clínicos no fueron relevantes. El paciente refirió presencia de caballos, gatos y perros en la zona de potrero ubicada en el peridomicilio. Negó picadura por artrópodos o viajes a otras regiones en el último mes.

Al ingreso hospitalario, el paciente se encontraba en aceptables condiciones generales, hidratado, con una temperatura de 37 °C, mucosas húmedas congestivas y cuello móvil sin adenopatías. No se evidenció exantema en piel ni déficit neurológico. El resto del examen físico era normal. Se dejó en observación con diagnóstico de laringitis viral aguda y se inició tratamiento con acetaminofén y líquidos intravenosos.

En los exámenes iniciales de laboratorio, se encontró: 4,5 leucocitos por 10<sup>9</sup>/L (neutrófilos, 65,2 %; linfocitos, 30,2 %); plaquetas, 173.000/

mm<sup>3</sup>; hemoglobina, 16,8 g/dl, y hematocrito, 51,5%. Después de 12 horas del ingreso, en el cuadro hemático se encontró leucopenia (2,8 leucocitos por 10<sup>9</sup>/L; neutrófilos, 48,3 %; y linfocitos, 44,3 %) y trombocitopenia (plaquetas, 145.000/mm<sup>3</sup>).

Para este momento, el paciente continuaba en aceptables condiciones generales sin cambios en el examen físico, hidratado y afebril. Debido al cuadro clínico de ingreso, la zona de procedencia y la leucopenia asociada a trombocitopenia evidenciada en el cuadro hemático de control, se determinó una sospecha clínica de dengue sin signos de alarma. Se hospitalizó y se continuó igual manejo con líquidos intravenosos, antipiréticos y cuadro hemático de control cada 12 horas.

Entre los diagnósticos diferenciales se consideró la infección por rickettsias, dado su papel como causa de síndrome febril agudo en la zona geográfica.

En el quinto día de hospitalización, se tomó una muestra de sangre con consentimiento del paciente para separación de suero y análisis diagnóstico de dengue (IgM ELISA de captura-Panbio Diagnostics®) y de rickettsiosis (inmunofluorescencia indirecta para la identificación de anticuerpos IgG contra *R. rickettsii*, cepa Tajaçu, *R. felis* y *R. amblyommii*, cepas donada por Marcelo Labruna; *R. akari*, *R. parkeri* y *R. typhi*, cepas donadas por la *University of Texas Medical Branch*, considerándose una dilución de 1:64 o mayor como positivo).

El paciente permaneció hospitalizado durante seis días hasta evidenciarse resolución tanto de la leucopenia como de la trombocitopenia (cuadro 1). Durante el mismo periodo, permaneció en aceptable estado general salvo por la presencia de náuseas sin vómito en los dos últimos días de hospitalización por lo cual requirió metoclopramida. Tampoco se documentaron nuevos picos febriles, cambios en el examen físico, ni manifestaciones hemorrágicas. Se decidió, entonces, dar al paciente de alta, con cita de control por consulta externa después de 15 días.

Durante la cita de control (15 días después del egreso) se tomó una nueva muestra de suero para procesarlo como fase de convalecencia de rickettsiosis. Se observaron los siguientes resultados: IgM para dengue negativa y elevación significativa de títulos contra *R. felis* (diferencia de cuatro o más títulos entre la muestra de fase aguda y la de convalecencia) (cuadro 2). Los resultados sugirieron el diagnóstico de fiebre manchada transmitida por pulgas.

**Cuadro 1.** Evolución de leucocitos y plaquetas durante el tiempo de hospitalización

|                | Leucocitos (por 10 <sup>9</sup> /l) | Plaquetas (por mm <sup>3</sup> ) |
|----------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Día de ingreso | 4,5                                 | 179.000                          |
| Día 1          | 2,9                                 | 145.000                          |
|                | 2,4                                 | 146.000                          |
| Día 2          | 3,0                                 | 199.000                          |
|                | 3,7                                 | 152.000                          |
| Día 3          | 3,4                                 | 151.000                          |
|                | 4,1                                 | 139.000                          |
| Día 4          | 4,0                                 | 159.000                          |
|                | 4,9                                 | 159.000                          |
| Día 5          | 4,0                                 | 169.000                          |
| Alta           | 4,9                                 | 195.000                          |

**Discusión**

Desde sus primeras descripciones, la fiebre manchada transmitida por pulgas (también conocida como el tifus de la pulga del gato) (4) se ha considerado como una enfermedad muy similar al tifus murino (sic.) por su presentación clínica y la asociación con los mismos vectores. Actualmente, gracias a la descripción cada vez más frecuente de esta enfermedad en varios países del mundo, es calificada como una rickettsiosis emergente (5). Típicamente, se caracteriza por producir un cuadro febril agudo, asociado a cefalea, astenia, exantema máculo-papular generalizado y, en algunos casos, una lesión costrosa con halo eritematoso circundante, conocida como escara de inoculación (4). Sin embargo, en los estudios llevados a cabo en Kenia y Senegal en los últimos dos años (10-12), se describen casos confirmados de infección por *R. felis*, en los cuales la principal manifestación clínica fue la fiebre no asociada a exantema ni a escara de inoculación y, por el contrario, sí a síntomas como los de nuestro caso, que incluyen tos, náuseas, mialgias y odinofagia. Por otro lado, a pesar de no administrar un antibiótico específico contra rickettsias, se evidenció una evolución

clínica satisfactoria, sin picos febriles durante toda la hospitalización ni manifestaciones hemorrágicas; esta situación es indicativa del típico curso benigno de esta enfermedad (13).

Dados los hallazgos de laboratorio predominantes en este paciente (leucopenia y trombocitopenia) asociados a un cuadro febril de tres días de evolución y procedencia de área endémica (14), es claro que la primera aproximación diagnóstica debe ser una infección por el virus del dengue, tal cual como se hizo en este caso. Sin embargo, si se observan con detenimiento los cambios en los leucocitos y las plaquetas a lo largo del tiempo, no se apreció una disminución progresiva de estas dos líneas celulares que luego aumentaron de la misma forma, ni una trombocitopenia tan acentuada (característica del dengue) (15); en cambio, se evidenciaron fluctuaciones de la misma bicitopenia, hallazgo también descrito en las infecciones por *R. felis* (4).

Es de resaltar el antecedente epidemiológico de presencia de animales domésticos en el peridomicilio como un factor de riesgo debido al posible contacto con sus ectoparásitos, ya que *R. felis* no solo se ha encontrado infectando pulgas de la especie *C. felis*, sino también de *C. canis* y otros géneros de pulgas (*Pulex*, *Echidnophaga*, *Tunga* y *Xenopsylla*, entre otros), incluso, garrapatas y ácaros (2,16).

Respecto al diagnóstico de las rickettsiosis, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (muestras pareadas, por lo menos, con 15 días de diferencia entre una y otra), es actualmente el método de referencia. No obstante, esta prueba presenta limitaciones en cuanto a la reacción cruzada que existe entre las diferentes especies de *Rickettsia*, siendo necesario utilizar métodos más precisos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el *Western blot*, este último asociado a la

**Cuadro 2.** Resultado de IgG contra especies de *Rickettsia* por inmunofluorescencia indirecta (IFI) en fase aguda y en fase de convalecencia (15 días de diferencia)

| Especie de <i>Rickettsia</i> | IgG fase aguda (IFI) | IgG fase de convalecencia (IFI) | Interpretación                                      |
|------------------------------|----------------------|---------------------------------|---|
| <i>R. rickettsii</i>         | 1:64                 | 1:64                            | Exposición previa al grupo de las fiebres manchadas |
| <i>R. felis</i>              | <1:64                | 1:256                           | Aumento significativo de títulos                    |
| <i>R. amblyomni</i>          | <1:64                | <1:64                           | Dilución negativa para esta especie                 |
| <i>R. akari</i>              | <1:64                | <1:64                           | Dilución negativa para esta especie                 |
| <i>R. parkeri</i>            | 1:64                 | <1:64                           | Exposición previa al grupo de las fiebres manchadas |
| <i>R. typhi</i>              | 1:64                 | 1:129                           | Reacción cruzada con el grupo del tifus             |

\* Dilución ≥1:64 (positivo)

prueba de absorción cruzada, para la adecuada caracterización de especies (13).

Tratando de prever estos inconvenientes, se procesó el suero (muestra de fase aguda y de convalecencia) frente a diferentes especies de *Rickettsia* (*R. rickettsii*, *R. felis*, *R. amblyommii*, *R. akari*, *R. parkeri* y *R. typhi*); a pesar de observarse reacción cruzada (excepto con *R. amblyommii* y *R. akari*), fue claro el aumento y la diferencia significativa de títulos (de cuatro o más títulos entre las muestras de ambas fases) (17) contra *R. felis* (menos de 1:64 y 1:256 en la fase aguda y la de convalecencia, respectivamente). Este hallazgo es importante, ya que se tienen en cuenta para descartarlo, antígenos de especies de *Rickettsia* pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas que podrían estar circulando en el departamento de Cundinamarca, dadas las altas tasas de seroprevalencia previamente reportadas en este departamento (18,19).

Por otra parte, es evidente que la presentación y la evolución clínica de este paciente fueron benignas (disminución de la fiebre sin necesidad de manejo antibiótico, ausencia de gravedad o complicaciones) (13), contrario a los cuadros febriles abruptos con necesidad de manejo antibiótico oportuno, manifestaciones exantemáticas y frecuentes complicaciones de tipo neurológico o pulmonar, característicos de la infección por *R. rickettsii*, especie que ya ha sido aislada en casos mortales de Villeta y Tobía, Cundinamarca (20).

Lo anterior, asociado a un resultado negativo para infección por virus del dengue (IgM), apoya el diagnóstico probable de fiebre manchada transmitida por pulgas.

Finalmente, al ser *R. felis* la especie reportada en el mayor número de países de Latinoamérica y el Caribe (9), incluso ya caracterizada en el departamento de Caldas (Colombia) (21), se hace oportuno tenerla en cuenta como agente etiológico de síndrome febril agudo de naturaleza zoonótica, sin dejar a un lado otros agentes del orden de los rickettsiales (*Anaplasma* y *Ehrlichia*), especialmente en el departamento de Cundinamarca, región donde, según los estudios de seroprevalencia, es evidente la circulación del género *Rickettsia* (18,19).

#### Agradecimientos

Al cuerpo médico, al Laboratorio de Bacteriología y al Departamento de Estadística del Hospital Salazar de Villeta, Cundinamarca.

#### Conflictos de interés

Durante la realización de este artículo, ninguno de los autores tuvo vinculación con ninguna actividad que pudiera representar conflictos de interés.

#### Financiación

La publicación del presente manuscrito es producto del estudio: "Caracterización de factores climáticos y ecológicos de una especie de garrapata y su relación con la epidemiología de la rickettsiosis en un área endémica", patrocinado por Colciencias, código 120351929098.

#### Referencias

1. Mansueto P, Vitale G, Casio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A, et al. New insight into immunity and immunopathology of rickettsial diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012;2-26. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/967952>
2. Reif K, Macaluso K. Ecology of *Rickettsia felis*: A review. *J Med Entomol*. 2009;46:723-36.
3. Schriefer M, Saoui J, Dunsler J, Bullen M, Azad A. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. *J Clin Microbiol*. 1994; 32: 849-54.
4. Raoult D, Parola P. Rickettsial diseases. New York: Informa Healthcare; 2007. p. 87-96.
5. Pérez-Osorio C, Zavala-Velázquez J, Arias J, Zavala-Castro J. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. *Emerg Infect Dis*. 2009;14:1019-29. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1407.071656>
6. Rolain J, Franco M, Davoust B, Raoult D. Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. oliveriae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipiensis* in cat fleas, France. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:939-42. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0809.020279>
7. Bernabeu-Wittel M, del Toro M, Noguera M, Munain M, Cardenosa N, Márquez F, et al. Seroepidemiological study of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, and *Rickettsia conorii* infection among the population of southern Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:375-81. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-006-0147-6>
8. Parola P, Sanogo O, Lerdtusnee K. Identification of *Rickettsia* spp. and *Bartonella* spp. from the Thai-Myanmar border. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;990:179-91. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6692.2002.tb07959.x>
9. Labruna M, Mattar S, Nava S, Bermúdez S, Venzal J, Dolz Gaby, et al. Rickettsiosis in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Revista MVZ Córdoba*. 2011;16:2435-57.
10. Socolevski C, Mediannikov O, Sokhna C, Tall A, Diatta G, Bassene H, et al. *Rickettsia felis*-associated unruptive fever, Senegal. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1140-2. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1607.100070>
11. Richards A, Jiang J, Orulo S, Dare P, Khalif A, Ali A, et al. Human infection with *Rickettsia felis*, Kenya. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1091-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1607.091895>

12. Maina A, Knobel D, Jiang J, Halliday J, Feikin D, Cleaveland S, *et al.* *Rickettsia felis* Infection in febrile patients, Western Kenya, 2007-2010. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:328-31. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1802.111372>
13. Penvoisé A, Raoult D. An update on rickettsiosis. *Med Mal Infect.* 2009;39:71-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2009.11.002>.
14. Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud, Organización Panamericana de la Salud. Guía de atención clínica integral del paciente con dengue. Bogotá, D.C.: Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud, OPS/OMS; 2010. p. 7.
15. Wilder-Smith A, Schwartz E. Dengue in travelers. *N Engl J Med.* 2005;353:924-32. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMr041927>
16. Eisen R, Gage K. Transmission of flea-borne zoonotic agents. *Annu Rev Entomol.* 2012;57:61-92. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100717>
17. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, *et al.* Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichiosis, and anaplasmosis—United States. A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep.* 2006;55:1-27.
18. Hidalgo M. Panorama de las enfermedades ocasionadas por rickettsias en Colombia. *Biomédica.* 2011;31:11-79.
19. Hidalgo M, Sánchez R, Orejuela L, Hernández J, Walker D, Valbuena G. Prevalence of antibodies against spotted fever group Rickettsiae in a rural Area of Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:379-80.
20. Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernández J, Parra E, *et al.* Rocky Mountain spotted fever, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1059-60. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1307.060597>
21. Ramírez-Hernández A, Montoya V, Martínez A, Pérez JE, Meroado M, De la Ossa A, *et al.* Molecular detection of *Rickettsia felis* in different flea species from Caldas, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;89:459-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.12-0699>.

## ANEXO 8

**Producción científica #2** “Hidalgo M, Faccini-Martínez A.A, Valbuena G (2013) Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomédica* 33:161-78”

*Biomédica* 2012;33(Supl.1):161-78  
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1466>

ARTÍCULO ORIGINAL

### **Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico**

Marylin Hidalgo<sup>1</sup>, Álvaro A. Faccini-Martínez<sup>1</sup>, Gustavo Valbuena<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Pathology Department, University of Texas Medical Branch, Texas, USA

Las rickettsiosis son entidades clínicas de tipo zoonótico, causadas por bacterias intracelulares estrictas de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*, pertenecientes a la familia Rickettsiaceae. Su ecología está determinada por factores ambientales y la presencia de vectores específicos que condicionan el establecimiento y la epidemiología en diferentes regiones del mundo.

En las Américas, durante el siglo XX, únicamente eran reconocidas tres de estas enfermedades: la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, el tifo epidémico y el tifo endémico. Sin embargo, a partir del año 2000 se han descrito más de 10 especies diferentes previamente desconocidas en este continente, tanto en artrópodos como en casos clínicos, hecho que permite clasificarlas como entidades clínicas emergentes y reemergentes.

Dadas las manifestaciones clínicas de las enfermedades causadas por rickettsias, siendo la gran mayoría inespecíficas y, por lo mismo, compartidas con otras enfermedades infecciosas, especialmente virales y bacterianas, han sido enmarcadas entre los diagnósticos diferenciales del síndrome febril agudo, tanto en áreas urbanas como tropicales. En la actualidad, se cuenta con métodos diagnósticos directos e indirectos, que son útiles en la identificación del agente infeccioso, en este caso, causante de rickettsiosis.

**Palabras clave:** *Rickettsia*, Américas, Infecciones por *Rickettsia*, epidemiología, diagnóstico, zoonosis.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1466>

#### **Tick-borne rickettsioses in the Americas: clinical and epidemiological advances, and diagnostic challenges**

Rickettsioses are a group of zoonotic diseases caused by strict intracellular bacteria of the genus *Rickettsia* and *Orientia* which belong to the Rickettsiaceae family. Their ecology is influenced by environmental factors and the presence of specific vectors that determine the establishment and epidemiology in different world regions. In America, during the 20<sup>th</sup> century, only three of these diseases were recognized: Rocky Mountain spotted fever, epidemic typhus and endemic typhus. However, since 2000, more than 10 different species that had previously been unknown in this continent have been described, both in arthropods and in clinical cases, fact that classifies them as emerging and re-emerging diseases. Given the clinical manifestations of the diseases caused by rickettsias, being the majority unspecific and, therefore, shared with other infectious diseases, especially viral and bacterial, they have been framed within the differential diagnoses of acute febrile syndrome in urban and tropical areas. Nowadays, there are direct and indirect diagnostic methods, which are useful in the definition of the infectious agent, in this case, the cause of rickettsioses.

**Key words:** *Rickettsia*, Americas, *Rickettsia* infections, epidemiology, diagnosis, zoonoses.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1466>

#### **Correspondencia:**

Marylin Hidalgo, Carrera 7 N° 49-82, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (021) 220 8920, extensión 4159  
[hidalgo.m@javeriana.edu.co](mailto:hidalgo.m@javeriana.edu.co)

Recibido: 20/11/12; aceptado: 02/02/13

#### **Contribución de los autores:**

Álvaro Adolfo Faccini se encargó de la revisión de la literatura científica y la redacción del manuscrito. Marylin Hidalgo y Gustavo Valbuena asesoraron la revisión, sugirieron modificaciones de estilo y corrigieron el manuscrito.

Las rickettsiosis son entidades clínicas de tipo zoonótico, causadas por bacterias estrictas de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*, pertenecientes a la familia Rickettsiaceae (1). En la actualidad, con base en análisis filogenéticos, se proponen dos clasificaciones para las diferentes especies de este

género. En la primera se describen cuatro grupos: grupo de las fiebres manchadas (*R. rickettsii*, *R. conorii* y *R. parkeri*, entre otras), grupo del tifus (*R. prowazekii* y *R. typhi*), grupo transicional (*R. akari*, *R. australis* y *R. felis*) y grupo ancestral (*R. bellii* y *R. canadensis*) (2). En la segunda, se contemplan únicamente dos grupos con subgrupos: grupo de las fiebres manchadas (subgrupo *R. rickettsii*, subgrupo *R. massiliae*, subgrupo *R. helvetica* y subgrupo *R. akari*) y grupo del tifus (subgrupo *R. prowazekii*) (3) (cuadro 1).

En condiciones naturales, las rickettsias patógenas suelen utilizar artrópodos y pequeños mamíferos como reservorios y huéspedes amplificadores, siendo el ser humano un huésped accidental (35). El hombre se ve afectado después de la inoculación bacteriana mediante la picadura de garrapatas (gran parte de las especies del grupo de las fiebres manchadas) o ácaros (*R. akari* y *Orientia tsutsugamushi*) y por el contacto de abrasiones cutáneas con heces de pulgas (*R. typhi* y *R. felis*) o piojos (*R. prowazekii*) (36). Por lo anterior, hacen parte de las enfermedades transmitidas por vectores de importancia médica (37).

En cuanto a la fisiopatología, las células endoteliales son el blanco donde invaden y proliferan estos microorganismos, a excepción de *R. akari* (tropismo por los macrófagos), causando daño endotelial directo asociado a liberación de citocinas pro-inflamatorias y estrés por oxidación, lo que lleva a un proceso de vasculitis de pequeños y medianos vasos, acompañado de extravasación de líquidos (2,38).

El cuadro clínico se caracteriza por fiebre de inicio agudo, síntomas inespecíficos, como malestar general, cefalea, mialgias, artralgias, y en algunas ocasiones, manifestaciones de tipo exantemático en piel. En los casos más graves, dado el daño vascular, suele producirse afectación pulmonar (edema, neumonía intersticial, síndrome de dificultad respiratoria del adulto), cerebral (meningoencefalitis, convulsiones, déficit neurológico), falla renal aguda y choque hipovolémico (39). Cabe resaltar que algunas de estas enfermedades presentan, entre sus manifestaciones clínicas dermatológicas, la escara de inoculación (única o múltiple), que se define como una lesión costrosa-necrótica con halo eritematoso circundante que determina el sitio de ingreso de las rickettsias (40).

En la actualidad, se reconocen, aproximadamente, 25 especies pertenecientes al género *Rickettsia*

(41), las cuales presentan una distribución mundial. Su ecología está determinada por factores ambientales y la presencia de vectores específicos que condicionan el establecimiento y las características epidemiológicas de determinadas rickettsiosis en diferentes regiones del mundo (1). En las Américas, durante el siglo XX, únicamente se reconocían tres de estas enfermedades: la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, el tifus epidémico y el tifus endémico. Sin embargo, a partir del año 2000 se han descrito más de 10 especies diferentes previamente desconocidas en este continente, tanto en artrópodos como en casos clínicos, hecho que permite clasificarlas como entidades clínicas emergentes y reemergentes (5,42). No obstante, en algunos países continúan siendo subdiagnosticadas debido a una pobre sospecha clínica, al hecho de ser confundidas con otras causas de síndrome febril agudo y, a pesar de que existen métodos diagnósticos estandarizados, muchos de ellos no están disponibles para las entidades clínicas, presentan situaciones de reacción cruzada entre las diferentes especies del género *Rickettsia* o requieren instalaciones de alto nivel de complejidad (5,43).

A continuación, se presenta una visión actual de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas y su papel como reto diagnóstico.

#### Rickettsiosis transmitidas por garrapatas

Las garrapatas hacen parte de los artrópodos vectores de mayor importancia en la transmisión de microorganismos al hombre y a los animales (37). Pertenecen al orden Parasitiformes, suborden Ixodida, y se subdividen en tres familias: Ixodidae, también llamadas "garrapatas de cuerpo duro" (mayor número de especies), Argasidae (garrapatas de cuerpo blando) y Nuttalliellidae (una sola especie, que no está presente en América y sin papel patógeno para el humano) (44). Por su parte, diferentes géneros de la familia Ixodidae están implicados en el papel vectorial y como reservorios o amplificadores de las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas (45), los cuales requieren un periodo aproximado entre 6 y 24 horas de hematofagia continua en el ser humano, para la transmisión de estos microorganismos (46). En las Américas, las garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Amblyomma* están fuertemente relacionadas con la transmisión de *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. massiliae* y *R. africae*, siendo estas, las especies más representativas en este continente (5,47).

**Cuadro 1.** Clasificaciones propuestas para las diferentes especies del género *Rickettsia*: en la parte superior, con base en Mansueto, *et al.*, (2) y Renvoisé, *et al.*, (4) y en la parte inferior, con base en Merhej, *et al.* (3); en negrilla, las especies relacionadas con garrapatas descritas en las Américas.

**Clasificaciones propuestas para las diferentes especies del género *Rickettsia***

| Grupo                                   | Especies  | Países o regiones de las Américas  | Enfermedad  |
|---|---|--|---|
| Grupo de las fiebres manchadas          | <i>R. rickettsii</i> (5,6)  | Canadá, Estados Unidos, México, Costa Rica, Panamá, Colombia, Brasil y Argentina | Fiebre manchada de las Montañas Rocosas                     |
|   | <i>R. helvetica</i>   |  | Fiebre anéruptiva   |
|   | <i>R. asiatica</i>  |  | Capacidad patógena desconocida                              |
|   | <i>R. tamurae</i>   |  | Sugestiva de fiebre manchada                                |
|   | <i>R. maeiliae</i> (7-9)  | Estados Unidos y Argentina   | Fiebre manchada   |
|   | <i>Rickettsia</i> sp. relacionada con <i>R. aeschlimannii</i> (10)      | Bolivia  | Capacidad patógena desconocida                              |
|   | <i>R. montanensis</i> (11,12)   | Canadá y Estados Unidos  | Capacidad patógena desconocida                              |
|   | <i>R. rhipiocephali</i> (5,19)  | Estados Unidos y Brasil  | Capacidad patógena desconocida                              |
|   | <i>R. sibirica</i><br>subsp. <i>sibirica</i>                            |  | Tifus siberiano transmitido por garrapatas                  |
|   | <i>R. sibirica</i><br>subsp. <i>mongolotimonae</i>                      |  | Linfangitis asociada a rickettsiosis                        |
|   | <i>R. elovaaia</i>  |  | DEBONEL-TIBOLA-SENLAT                                       |
|   | <i>R. africae</i> (14-17)   | Islas del Caribe   | Fiebre africana transmitida por garrapatas                  |
|   | <i>R. conorii</i> subsp. <i>conorii</i>                                 |  | Fiebre manchada del Mediterráneo                            |
|   | <i>R. conorii</i> subsp. <i>israelensis</i>                             |  | Fiebre manchada israelí                                     |
|   | <i>R. conorii</i> subsp. <i>caapia</i>                                  |  | Fiebre de Astracán  |
|   | <i>R. conorii</i> subsp. <i>indica</i>                                  |  | Tifus indio transmitido por garrapatas                      |
|   | <i>R. heilongjiangensis</i>   |  | Rickettsiosis transmitida por garrapatas del lejano oriente |
|   | <i>R. japonica</i>  |  | Fiebre manchada japonesa u oriental                         |
|   | <i>R. parkeri</i> (5,6)   | Estados Unidos, Brasil, Bolivia, Argentina y Uruguay                             | Fiebre manchada   |
|   | <i>R. peacockii</i> (5,11)  | Canadá y Estados Unidos  | Capacidad patógena desconocida                              |
| <i>R. honei</i>                         |   | Fiebre manchada de las islas Flinders  |   |
| <i>R. raoultii</i>                      |   | DEBONEL-TIBOLA-SENLAT  |   |
| <i>R. amblyommii</i> (6,18)             | Estados Unidos, Costa Rica, Panamá, Guyana Francesa, Brasil y Argentina | Capacidad patógena desconocida   |   |
| <i>R. monacensis</i>                    |   | Fiebre manchada australiana  |   |
| <i>R. marmionii</i>                     |   | Fiebre manchada australiana  |   |
| Candidatus <i>R. kellyi</i>             |   | Fiebre manchada  |   |
| Candidatus <i>R. andersonae</i> (19-22) | Estados Unidos, Perú, Chile y Argentina                                 | Capacidad patógena desconocida   |   |
| <i>R. monteiroi</i> (23)                | Brasil  | Capacidad patógena desconocida   |   |

|                                       |   |   |  |
|---------------------------------------|---|---|--|
|                                       | <i>Rickettsia</i> sp. cepa Pampulha (24)                | Brasil  | Capacidad patógena desconocida                 |
|                                       | <i>Rickettsia parkeri</i> cepa Atlantic rainforest (25) | Brasil  | Rickettsiosis asociada a escara de inoculación |
|                                       | <i>Rickettsia</i> sp. cepa NOD, parkeri-like (26)       | Brasil  | Capacidad patógena desconocida                 |
|                                       | <i>Rickettsia parkeri</i> cepa Bahia (27)               | Brasil  | Rickettsiosis asociada a escara de inoculación |
|                                       | <i>Rickettsia</i> sp. cepa colombianensi (28)           | Colombia  | Capacidad patógena desconocida                 |
|                                       | <i>Rickettsia</i> sp. cepa 964D (29)                    | Estados Unidos  | Rickettsiosis asociada a escara de inoculación |
|                                       | <i>Rickettsia</i> filotipos G021 y G022 (30)            | Estados Unidos  | Capacidad patógena desconocida                 |
| Grupo del tífus                       | <i>R. prowazekii</i>                                    |   | Tífus epidémico                                |
|                                       | <i>R. typhi</i>   |   | Tífus endémico                                 |
| Grupo transicional                    | <i>R. akari</i>   |   | Rickettsiosis pustulosa                        |
|                                       | <i>R. australis</i>                                     |   | Tífus de Queensland transmitido por garrapatas |
|                                       | <i>R. felis</i>   |   | Fiebre manchada transmitida por pulgas         |
| Grupo ancestral                       | <i>R. bellii</i> (6,31,32)                              | Estados Unidos, Perú, Brasil y Argentina  | Capacidad patógena desconocida                 |
|                                       | <i>R. canadensis</i> (33,34)                            | Canadá y Estados Unidos   | Capacidad patógena desconocida                 |
| Género <i>Orientia</i>                | <i>O. tsutsugamushi</i>                                 |   | Tífus de los matorrales                        |
| <hr/>                                 |   |   |  |
| <b>Grupo de las fiebres manchadas</b> | <b>Subgrupo</b>   | <b>Especies</b>   |  |
|                                       | <i>R. rickettsii</i>                                    | <i>R. rickettsii</i> sp.<br><i>Rickettsia</i> fiebre de Astrakhan cepa A-167<br><i>R. osonoi</i> cepa Malish 7<br><i>R. africae</i> ESF-5<br><i>R. parkeri</i> cepa Maculatum 20<br><i>R. sibirica</i> subsp. <i>mongolitimoniae</i><br><i>R. slovaca</i> N A 13 B<br><i>R. honei</i><br><i>R. japonica</i><br><i>R. heilongjiangensis</i><br><i>R. hulienensis</i><br><i>R. peacockii</i><br>Candidatus <i>R. barbariae</i><br><i>Rickettsia</i> endosimbionte de <i>Demodex hunteri</i> |  |
|                                       | <i>R. massiliae</i>                                     | <i>R. massiliae</i><br><i>Rickettsia</i> sp. Bar 29<br><i>R. rhipiocephali</i><br><i>R. aeschlimanii</i><br><i>R. montanensis</i><br><i>R. raoultii</i><br>Candidatus <i>R. kulagi</i><br><i>Rickettsia</i> sp. DnS   |  |
|                                       | <i>R. helvetica</i>                                     | <i>R. helvetica</i> C8P9<br><i>R. asiatica</i><br><i>R. tamurae</i><br><i>R. monzaensis</i><br><i>Rickettsia</i> sp. IRS  |  |
|                                       | <i>R. akari</i>   | <i>R. akari</i> cepa Hartford   |  |



|                        |                            |                                    |
|------------------------|----------------------------|------------------------------------|
|                        |                            | <i>R. australis</i> Philip 1950    |
|                        |                            | <i>R. felis</i> UARWXCat2          |
| Grupo del tifus        | <i>R. prowazekii</i>       | <i>R. prowazekii</i> cepa Madrid E |
|                        |                            | <i>R. typhi</i> cepa Wilmington    |
|                        | Grupo <i>R. canadensis</i> | <i>R. canadensis</i>               |
|                        | Grupo <i>R. bellii</i>     | <i>R. bellii</i>                   |
| Género <i>Orientia</i> | <i>O. tsutsugamushi</i>    |                                    |

DEBONEL: Dermacentor BOrne Necrosis Erythema Lymphadenopathy; TIBOLA: Tick-Borne LymphAdenitis; SENLAT: Scalp Eschars and Neck LymphAdenopathy following Tick bites.

### **Infeción por *Rickettsia rickettsii* (fiebre manchada de las Montañas Rocosas)**

La fiebre manchada de las Montañas Rocosas es causada por *R. rickettsii*, perteneciente al grupo de las fiebres manchadas. Es la especie más patógena del género, con tasas de letalidad documentadas entre 23 y 85 % en la era preantibiótica y del 5 % con un tratamiento antibiótico adecuado (48,49).

Clinicamente, presenta un periodo de incubación entre 2 y 14 días después de la picadura de la garrapata (aproximadamente, el 40 % de los pacientes lo recuerda), con una media de 7 días (50). En las fases iniciales predominan los síntomas inespecíficos, como fiebre de inicio abrupto, malestar general, escalofríos, cefalea intensa, mialgias, artralgias, anorexia, vómito y dolor abdominal, entre otros, los cuales suelen simular infecciones virales (51). La tríada clínica clásica es fiebre, cefalea y exantema, presente únicamente en 3 a 5 % en los primeros tres días, porcentaje que aumenta hasta 60 a 70 % entre el día siete y el diez de la enfermedad (52). El exantema se inicia típicamente en las muñecas y los tobillos, como lesiones maculares eritematosas pequeñas no pruriginosas, para diseminarse de forma centripeta, y alcanzar las extremidades (incluyendo palmas y plantas) y el tronco. En esta fase el exantema suele ser máculo-papular asociado a petequias (53); sin embargo, el 10 % de los pacientes nunca desarrollan manifestaciones exantemáticas; esto suele ser más frecuente en adultos mayores y afrodescendientes (54). En los casos graves pueden existir zonas de necrosis y gangrena en extremidades, sin ser frecuentes las hemorragias o la coagulación intravascular diseminada. Las complicaciones incluyen meningitis o meningoencefalitis, edema pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, falla renal aguda, disfunción hepática, choque hipovolémico y, rara vez, compromiso cardíaco (50).

La primera descripción de la enfermedad se remonta a 1899, la cual fue inicialmente llamada

“fiebre manchada de Idaho” por Edward Maxey (55). Posteriormente, gracias a estudios realizados en el estado de Montana (zona geográfica al noroeste de Estados Unidos donde se presentó inicialmente la enfermedad) por el patólogo estadounidense Howard Taylor Ricketts, en 1906, se determinó que la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, era causada por microorganismos circulantes en garrapatas de la especie *Dermacentor andersoni*, en mamíferos silvestres y que, a su vez, eran transmitidas al hombre mediante la picadura de estos artrópodos (56). Desde esa época hasta nuestros días, siendo una rickettsiosis restringida al hemisferio occidental, esta enfermedad se ha descrito en varios países del continente americano desde Canadá hasta Argentina (4,5).

En Estados Unidos, los principales vectores de *R. rickettsii* son *D. variabilis* en la región centro-este y la Costa Atlántica y *D. andersoni* en la región oeste (50). Los casos suelen ser más frecuentes en primavera y verano, cuando la actividad de estos vectores suele incrementarse (46). Según los datos de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, la incidencia de fiebre manchada de las Montañas Rocosas se incrementó de menos de dos casos por millón de habitantes en el año 2000, a ocho casos por millón de habitantes en el 2008, con una disminución en la tasa de letalidad, la cual pasó de 1,4 % entre 1997 y 2002 a 0,5 % en el año 2008 (57); probablemente, esto se explica por un aumento en la sospecha clínica y el inicio de tratamiento adecuado y oportuno. En el año 2005, en el estado de Arizona, se reportó la especie *R. sanguineus* como vector de *R. rickettsii* (58), situación que ha explicado el aumento de casos en esta región de los Estados Unidos, especialmente en la población de indígenas americanos que habitan la zona suroeste (59).

En estudios recientes se demuestran bajas tasas o ausencia de infección por parte de *R. rickettsii* en *D. variabilis* en la región este, donde esta garrapata cohabita con otras especies, como *Amblyomma*

*americanum* y *A. maculatum*, implicadas también como reservorios de *R. rickettsii*, al igual que de otras especies de *Rickettsia* menos patógenas, como *R. parkeri* y *R. amblyommii* (60). Por lo anterior, se han propuesto nuevas teorías sobre la eco-epidemiología de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas en Estados Unidos, en las que se resalta el papel de nuevos vectores (61) y el concepto de reacción cruzada entre diferentes especies del grupo de las fiebres manchadas, lo cual explica la pequeña proporción de casos confirmados ante un gran número de sospechados (62).

Respecto a Suramérica, en Brasil, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas se conoce como fiebre maculosa brasilera. Es la rickettsiosis de mayor importancia en este país, es de notificación obligatoria y está bajo vigilancia epidemiológica estricta desde el año 2001 (63). Fue descrita por primera vez en la ciudad de São Paulo, en 1929, como tífus exantemático de São Paulo, y posteriormente, en Minas Gerais y Rio de Janeiro (64). La mayoría de casos se concentran en estas regiones y algunos se han descrito en el estado de Bahía y el Distrito Federal (63). Las tasas de letalidad son considerablemente más altas que las reportadas en Estados Unidos, con un porcentaje aproximado de 20 a 30 %, explicado por dificultades en el diagnóstico y déficit en el tratamiento temprano (64), con presentaciones más graves de la enfermedad (65) e, incluso, cepas de *R. rickettsii* más virulentas respecto a las de otras regiones del continente (66).

Según datos del Ministerio de Salud de Brasil, en el período de 1997-2010, se notificaron 868 casos confirmados de fiebre maculosa brasilera con 227 muertes relacionadas en todo el territorio (63), donde la mayor incidencia se presentó en la región sudeste entre junio y octubre, lo que coincide con el período de mayor actividad de las formas inmaduras de *A. cajennense*, vector reconocido de *R. rickettsii* (64,67). En el ecosistema de esta garrapata, los chigüiros o capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) juegan el papel de huéspedes principales para este artrópodo y amplificadores de la enfermedad, y su presencia es un factor de riesgo para el desarrollo de brotes de fiebre maculosa brasilera (68).

Otras especies de garrapatas, como *A. aureolatum* y *R. sanguineus*, también se han implicado como vectores de *R. rickettsii* en el estado de São Paulo, especialmente en el área metropolitana, donde los caninos domésticos hacen parte del ecosistema de ambas especies (69,70). A su vez, en estudios recientes en la misma área, se demostraron altas

tasas de seroprevalencia en estos animales (71), situación que llama la atención por su cercanía al hombre como animales de compañía y posibles amplificadores competitivos de la enfermedad, como se ha demostrado en otras especies de *Rickettsia* (72,73).

En otros países de Centroamérica y Suramérica, durante el siglo XX, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas ya era reconocida (74-78). En la última década, al igual que en Estados Unidos y Brasil, esta enfermedad ha presentado un patrón reemergente en México, Costa Rica, Panamá, Colombia y Argentina (5).

En México, el vector principal de *R. rickettsii* es *R. sanguineus*, caracterizado desde los años 40 (79,80), seguido de *A. cajennense* (45). En algunos estudios publicados en 2010 se implica a *A. imitator* como un nuevo vector potencial (81). Es así como las regiones endémicas se restringen a los estados del norte, centro y suroeste de México (82,83). En Costa Rica se describieron casos humanos desde 1977 hasta 2003, en los cuales se aisló *R. rickettsii* y se hizo detección molecular de esta especie en garrapatas *Haemaphysalis leporispalustris* (84). El último caso reportado en la literatura científica (2012) se presentó en la zona urbana de la ciudad de San José, donde murió una niña de ocho años de edad con presencia de escara de inoculación como hallazgo clínico interesante (85), al ser un signo excepcional dentro las manifestaciones de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas (86).

En Panamá, después de un silencio epidemiológico de la enfermedad y de la descripción de *A. cajennense* como vector principal en los años 50 (76,87), solo hasta 2004 y 2007 se confirmaron nuevos casos de mortalidad en pacientes pediátricos y una mujer embarazada (88,89). Situaciones similares ocurren en Colombia y en Argentina (90,91).

La 'fiebre de Tobia' fue el nombre que le dio el doctor Luis Patiño a un brote febril de alta mortalidad indicativo de fiebre manchada de las Montañas Rocosas ocurrido en el 'Valle de Tobia' (departamento de Cundinamarca, Colombia), en 1935 (77). Después de 70 años, en la misma región, se aisló *R. rickettsii* en estudios post mórtem de un paciente con síndrome febril agudo (90). Posteriormente, durante tres años consecutivos (2006 a 2009) se registraron nuevos casos en el noroccidente colombiano (municipios de Necoclí, Los Córdoba y Turbo), con tasas de letalidad entre 26 y 54 % (92-94). En un estudio recientemente publicado, en el cual se

describió la ecoepidemiología de la rickettsiosis en la zona del Urabá antioqueño, por medio de inmunofluorescencia indirecta (IFI), se demostraron títulos significativamente altos de IgG contra *R. rickettsii*, en muestras pareadas correspondientes a dos pacientes con síndrome febril agudo (1:4.096 y 1:131.072, 1:8.192 y 1:131.072, fase aguda y fase de convalecencia, respectivamente para cada individuo), que sugieren a *R. rickettsii* como agente etiológico; sin embargo, no se logró aislar esta especie de *Rickettsia* en ectoparásitos ni en roedores capturados en la zona de estudio (95).

En Argentina, después de las primeras descripciones de la enfermedad en 1999 (78), solo se ha reportado un brote con cuatro casos de mortalidad por fiebre manchada de las Montañas Rocosas en la provincia de Jujuy, entre 2003 y 2004 (91). Todos los casos refirieron picaduras por garrapatas antes del inicio del cuadro clínico febril, desarrollaron exantema petequeial, hipotensión grave, convulsiones y finalmente la muerte. Se logró confirmar la infección por *R. rickettsii* en uno de los pacientes y en garrapatas *A. cajennense* recolectadas cerca de la zona del brote.

**Infección por *Rickettsia parkeri***

La primera descripción de infección probable por *R. parkeri* la hizo Spencer en 1926, al documentar el caso de un hombre de 35 años procedente de la costa de Virginia (Estados Unidos) con un cuadro clínico febril de evolución benigna asociado a cefalea, mialgias, exantema máculo-papular y escaras de inoculación (96). Estos hallazgos clínicos sugirieron la presencia de una enfermedad similar a la fiebre manchada de las Montañas Rocosas. Once años más tarde, el entomólogo y rickettsiólogo Ralph Robinson Parker, logró aislar la rickettsia que llevaría su apellido, en garrapatas *A. maculatum* (garrapata de la costa del golfo) recolectadas en ganado en Texas (97). Parker logró demostrar mediante sus investigaciones, el curso benigno de la enfermedad en animales de experimentación después de la inoculación con *R. parkeri*, en comparación con una enfermedad más grave tras la inoculación de *R. rickettsii* (97), y la producción de anticuerpos heterólogos en estos animales (98). Este hecho hizo clasificar de manera inicial a esta nueva especie dentro del grupo de las fiebres manchadas.

En 2004, se confirmó por primera vez la infección humana por *R. parkeri* en un hombre de 40 años procedente del mismo estado (Virginia) y con manifestaciones clínicas similares a las del paciente descrito en 1926. Presentó reacción cruzada por

medio de IFI para anticuerpos de tipo IgG (título hasta 1:1.024) contra *R. rickettsii* y *R. parkeri*. Sin embargo, esta última especie se logró aislar a partir de una de las escaras de inoculación. El paciente no requirió hospitalización y respondió rápidamente al tratamiento con doxiciclina (99). A partir de estos hallazgos, se inició la discusión en cuanto a la posibilidad de que otros casos sospechosos mas no confirmados de fiebre manchada de las Montañas Rocosas en Estados Unidos, con resultados menos graves y asociados a escara de inoculación, podrían explicarse por infecciones subdiagnosticadas de *R. parkeri* (100,101).

Actualmente, en Estados Unidos, *A. maculatum* es el principal vector reconocido para *R. parkeri*, con tasas de infección entre 11 y 43 % (102-104). Su distribución se restringe a los estados que se encuentran en el borde del golfo de México, la región sur y la central (Alabama, Arkansas, Carolina del Norte, Carolina del Sur, Florida, Georgia, Kansas, Kentucky, Mississippi, Oklahoma, Tennessee, Texas y Virginia) (21,102-107). Recientemente, se logró aislar ADN de *R. parkeri* en muestras de sangre de caninos domésticos en el sur del estado de Louisiana, región donde no existían reportes previos de este microorganismo (108).

Típicamente, la enfermedad causada por *R. parkeri* se caracteriza por presentar un periodo de incubación de aproximadamente una semana, después del cual se inicia un cuadro clínico febril agudo (temperatura media de 39,2 °C) asociado a astenia, mialgias, artralgias, cefalea y exantema generalizado máculo-papular o vesículo-papular de predominio en tronco y extremidades, incluyendo palmas y plantas. De forma importante, se presenta escara de inoculación única o múltiple en más del 90 % de los casos, la cual se puede acompañar de linfadenopatía en la zona contigua. La evolución suele ser benigna con bajas tasas de hospitalización o complicaciones (108). Hasta el año 2009, se habían reportado en Estados Unidos aproximadamente 19 casos probables o confirmados (109,110).

En Uruguay, desde 1990 hasta el 2003, la enfermedad se confundió inicialmente con infección por *R. conorii* en casos clínicos febriles con presencia de escara de inoculación después de la picadura de garrapatas *A. triste* y pruebas serológicas positivas para *R. conorii* (111,112). Ante estos resultados, en el 2004 se llevó a cabo un estudio en el que se confirmó la infección por *R. parkeri* en diferentes especímenes de *A. triste* recolectadas en el periodo entre 1999 y 2004, en

diferentes regiones de Uruguay; esta especie de rickettsia se propuso como responsable de los casos sugestivos de rickettsiosis en este país, con una importante reacción cruzada con *R. conorii* en pruebas serológicas (113). En los años siguientes (2005-2007) se confirmaron tres casos de infección por *R. parkeri* por medio de la prueba serológica de absorción cruzada, previa prueba de reacción cruzada con antígenos de *R. rickettsii*. Todos los casos presentaron enfermedad febril, asociada a escara de inoculación, adenopatía regional y evolución favorable (114). En estudios recientes en la región sur de Uruguay, se demostraron tasas de infección por *R. parkeri* en *A. triste*, entre 11,8 y 37,5 % (115).

En Brasil, en el año 2007, *R. parkeri* se aisló por primera vez en garrapatas *A. triste* recolectadas en el estado de São Paulo, con una tasa de infección aproximada del 10 % (116). Tres años más tarde, en el mismo estado, se reportó el primer caso sugestivo de infección por *R. parkeri* en un hombre con enfermedad febril aguda, exantema macular y escara de inoculación en la región lumbar, en el cual se logró aislar ADN de rickettsias estrechamente relacionado con *R. parkeri* y *R. africae*, proponiéndose el nuevo aislamiento como cepa "Atlantic rainforest" de la especie *R. parkeri*. El estudio serológico por medio de IFI reveló reacción cruzada contra diferentes especies del grupo de las fiebres manchadas (25). Cabe aclarar que la región del bosque húmedo Atlántico en el territorio brasileño se extiende desde el estado de Rio Grande do Norte hasta el estado de Rio Grande do Sul.

En el año 2011, en el estado de Bahia, se reportó otro caso con características clínicas sugestivas de infección por *R. parkeri* (fiebre, mialgias, exantema papular en cara, tronco y extremidades superiores, escara de inoculación en muñeca y linfadenopatía axilar ipsilateral). La IFI demostró reacción cruzada entre *R. parkeri* y *R. rickettsii*; sin embargo, el ADN amplificado de la escara de inoculación se relacionó genéticamente con la cepa *Atlantic rainforest*, *R. africae*, *R. parkeri* y *R. sibirica*; por lo cual se le asignó el nombre de *R. parkeri* cepa Bahia (117). De otro lado, teniendo en cuenta estudios previos en que se demostraban características clínicas diferentes respecto a la fiebre maculosa brasileña (presencia de linfadenopatía, menos tasas de gravedad y ausencia de letalidad), se llevó a cabo un estudio en el estado de Santa Catarina (118) en el cual se demostró la presencia de *R. parkeri* cepa *Atlantic rainforest* en garrapatas *A. aureolatum*, *A. ovale* y *R. sanguineus* (119), las dos primeras

encontradas frecuentemente parasitando seres humanos en Brasil (47). Lo anterior ha planteado la posibilidad de que garrapatas como *A. aureolatum* o *A. ovale* sean los vectores de *R. parkeri* cepa *Atlantic rainforest* en la región del bosque húmedo atlántico en los estados de Santa Catarina y São Paulo (120-122), lo cual explica en el primero parte del comportamiento clínico de las rickettsiosis confundidas con fiebre maculosa brasileña.

En estudios recientes en garrapatas recolectadas de aves de la región sur de Brasil, se demostró el aislamiento de nuevas cepas de *R. parkeri* (cepa NOD y cepa apPP), con capacidad patógena aún desconocida (26,71,123).

En Argentina, el primer caso publicado como infección probable por *R. parkeri* se presentó en el año 2007 (124), en un hombre procedente de la localidad de Ingeniero Otamendi en la región del delta paranaense, quien presentó un cuadro clínico febril agudo asociado a escalofríos, sudoración nocturna, mialgias, cefalea, astenia, tos no productiva, exantema máculo-papular que respetaba palmas y plantas, y escara de inoculación en la región preauricular izquierda (con adenopatía regional) donde previamente había sido picado por una garrapata no identificada. Su evolución clínica fue favorable después del tratamiento ambulatorio con doxiciclina. La prueba de IFI fue positiva contra antígenos de *R. rickettsii*, lo cual se interpretó como una reacción cruzada dadas las manifestaciones clínicas de la enfermedad y el área de procedencia, donde *A. triste* se ha encontrado parasitando humanos y por su papel vectorial en Uruguay (114,125). Años más tarde (2008 y 2011), se confirmó la presencia de *R. parkeri* tanto en garrapatas *A. triste* recolectadas en el delta del Paraná (126) como en material genético extraído de escaras de inoculación de pacientes procedentes de esta misma región y áreas rurales de la provincia de Buenos Aires y provincia del Chaco (127). En este último estudio se determinó que las manifestaciones clínicas presentadas por los pacientes en Argentina eran muy similares a las de los casos confirmados en Estados Unidos.

Recientemente, en el departamento de Cochabamba (Bolivia), se logró detectar *R. parkeri* en garrapatas *A. tigrinum* (tasa de infección de 54,8 %) recolectadas de caninos domésticos, al igual que en una muestra de sangre tomada de estos animales (128). Sin embargo, a la fecha no existen reportes de casos clínicos indicativos de infección por *R. parkeri* en Bolivia.

### Infección por *Rickettsia massiliae*

*Rickettsia massiliae* se aisló por primera vez cerca a Marsella (Francia) en 1992, en garrapatas *R. sanguineus* (129,130). Después de esto, se describió en países europeos y africanos, como Grecia (131), Portugal (132,133), España (134,135), Suiza (136), República Centroafricana y Mali (137), infectando diferentes especies del género *Rhipicephalus*, como *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. muhsamae*, *R. lunulatus* y *R. sulcatus*.

En 1985, se reportó un caso de rickettsiosis inicialmente confundido con fiebre manchada del Mediterráneo, en un paciente de 45 años hospitalizado en Palermo (Italia) por presentar enfermedad febril aguda asociada a exantema máculo-papular que comprometía palmas y plantas, escara de inoculación en el tobillo derecho y ligera hepatomegalia. Fue tratado con tetraciclinas, tuvo una adecuada evolución clínica y presentó seroconversión por medio de IFI para *R. conorii*. Veinte años más tarde, se logró extraer y amplificar ADN de las muestras de este paciente, encontrándose material genético indicativo de *R. massiliae* (138). Un segundo caso se confirmó en el sur de Francia, en un paciente que desarrolló fiebre, cefalea, exantema máculo-papular, escara de inoculación en la axila izquierda y coriorretinitis bilateral (139).

En las Américas, esta especie se aisló inicialmente en garrapatas *R. sanguineus* del estado de Arizona (Estados Unidos) y, en la ciudad de Buenos Aires (Argentina) en el año 2004, sin presencia de casos clínicos relacionados (7,9). Sin embargo, un año más tarde se presentó el primero y único caso de infección humana por *R. massiliae* reportado hasta la fecha en el hemisferio occidental (8). Se trataba de una mujer de 56 años procedente de Argentina con un cuadro clínico febril agudo, escalofríos, malestar general, y exantema purpúrico que comprometía tronco, extremidades, palmas y plantas. La paciente reportó presencia de garrapatas en su perro antes de su enfermedad, por lo cual se inició tratamiento con doxiciclina ante la sospecha de rickettsiosis. En el examen físico se observó una escara de inoculación en el muslo derecho, de la cual se tomó biopsia y se logró amplificar ADN indicativo de *R. massiliae*.

Recientemente, se reportó por primera vez la presencia de *R. massiliae* en garrapatas *R. sanguineus* en el estado de California (Estados Unidos), recolectadas en dos perros con enfermedad sugestiva de fiebre manchada de las

Montañas Rocosas. A pesar de que estos animales presentaron seroconversión por IFI para *R. rickettsii*, se logró determinar en uno de ellos infección por *R. massiliae* mediante la prueba de absorción cruzada y *Western Blot* (140).

### Infección por *Rickettsia africae* (fiebre africana transmitida por garrapatas)

La primera descripción de esta enfermedad se hizo en Mozambique y Suráfrica, en 1911, donde se le dio el nombre de "fiebre transmitida por garrapatas" (141). Fue confundida con la fiebre manchada del Mediterráneo hasta mediados de 1930, cuando el patólogo Pijper, mientras trabajaba en la ciudad de Pretoria (Suráfrica), propuso que esta era una nueva rickettsiosis transmitida por garrapatas, de predominio rural, de características clínicas menos graves y relacionada con el contacto de las personas con garrapatas del ganado (142). A pesar de que el patólogo logró aislar el microorganismo y diferenciarlo de *R. conorii*, sus resultados no fueron reproducibles. Fue así como nuevamente los casos se siguieron diagnosticando de forma errónea como infección por *R. conorii* hasta los años 90 (45). En el periodo comprendido entre 1991 y 1996, Kelly, et al., lograron aislar el nuevo microorganismo en garrapatas *A. hebraeum*, *A. variegatum* y en muestras de pacientes de Zimbabue, y propusieron el nombre que aún se conserva para esta especie, *R. africae*, perteneciente al grupo de las fiebres manchadas (143-146).

La distribución actual de *R. africae* está determinada por la presencia de garrapatas vectores como *A. variegatum*, en las regiones este, oeste y central de África, al igual que en las islas del Caribe, y *A. hebraeum*, en la región sur de África (45). *Rickettsia africae* también se ha aislado en *A. lepidum* y *A. variegatum* en Sudán (noreste africano) (147), en *Hyalomma dromedarii* en Argelia (noroeste africano) (41) y Egipto (noreste africano) (148), en *A. loculosum* en Nueva Caledonia (Oceanía) (149), en *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* en la República de Botsuana (Suráfrica) (150) y en *H. aegyptium* en Estambul (Turquía) (151).

La enfermedad se caracteriza clínicamente por un periodo de incubación entre 5 y 10 días. Suele presentarse fiebre de inicio abrupto, náuseas, cefalea, mialgias en región cervical y escara de inoculación única o múltiple (en más del 50 % de los casos), de predominio en las extremidades inferiores, asociada a linfadenopatía regional. El exantema se presenta en la mitad de los casos y es vesicular o maculopapular (45).

*Rickettsia africae* ingresó a las Américas durante el siglo XIX, en barcos procedentes de Senegal rumbo a la isla de Guadalupe (islas del Caribe), los cuales traían ganado parasitado con *A. variegatum* (152). El primer caso se describió en 1998, en una mujer francesa que adquirió la enfermedad después de la picadura por una garrapata en la isla de Guadalupe, y presentó fiebre, astenia y lesión nodular eritematosa. Fue tratada con doxiciclina, evolucionó adecuadamente y se determinó *R. africae* como agente etiológico por medio de la prueba de inmunoabsorción cruzada (14). Un año más tarde, en la misma isla, se confirmó la infección por esta especie en garrapatas *A. variegatum* y se demostraron altas seroprevalencias en humanos (49%), bovinos (80,8%) y caprinos (86,6%) (15).

A partir del año 2002, se han realizados varios estudios que demuestran que las islas del Caribe son un área endémica para *R. africae*, con las siguientes tasas de infección en *A. variegatum*: 84% en la isla de Antigua (2002) (152), 41% en las islas de San Cristóbal y Nieves (2003) (153), y 56% en la isla de La Martinica (2003) (17). El último estudio, de 2007 a 2009 (16), también reveló datos similares en otras islas: 50% en las Islas Vírgenes, 30% en la Isla Dominica, 40% en la isla de Monserrat y 7% en la isla de Santa Lucía. En este estudio también se demostraron altas tasas de seroprevalencia para rickettsias del grupo de las fiebres manchadas en bovinos, caprinos y ovinos.

Llama la atención que la mayoría de los casos clínicos reportados en pacientes que adquirieron la infección en estas islas, eran turistas y no habitantes de esta región (14,154).

Hasta la fecha, *R. africae* no ha sido reportada en otras regiones de las Américas diferentes a las islas del Caribe.

#### **Infección por *Rickettsia amblyommii***

Esta especie fue descrita por primera vez en garrapatas *A. americanum* del estado de Tennessee, en 1974, como parte del grupo de las fiebres manchadas y sin capacidad patógena conocida (155). En estudios posteriores se demostró que más del 40% de estas garrapatas se encontraban infectadas con *R. amblyommii* en las regiones sur y centro-oeste de Estados Unidos (18,156).

Solo en 1993 se planteó la posibilidad de que esta especie hubiese sido la causa de un brote febril en personal militar que se encontraba en los estados de Arkansas y Virginia. Por medio de *Western Blot* se logró determinar que algunos de estos pacientes

presentaron reacción con proteínas antigénicas de *R. amblyommii* (157). Doce años más tarde, en otro estudio en el estado de Carolina del Norte, se determinó la seroconversión para *R. amblyommii* en pacientes con diagnóstico presuntivo de fiebre manchada de las Montañas Rocosas con prueba de IFI negativa para *R. rickettsii*. A su vez, en el mismo estudio, se encontraron garrapatas *A. americanum* infectadas con *R. amblyommii* (158).

Dados estos antecedentes, en la actualidad se plantea la posibilidad de que esta especie de rickettsia pueda causar cuadros clínicos febriles de evolución benigna, falsamente diagnosticados como fiebre manchada de las Montañas Rocosas u otras rickettsiosis, teniendo en cuenta la situación de reacción cruzada que se presenta por ser de un mismo grupo, en este caso, el grupo de las fiebres manchadas (5). Por su parte, esta misma situación también podría explicar las altas tasas de seroprevalencia para *R. rickettsii* en regiones donde no se presenta el número de casos esperados (43).

Cabe destacar que a la fecha, aparte de Estados Unidos, *R. amblyommii* se ha aislado en *A. neumanni* en Argentina (159), *A. cajennense*, *A. coelebs*, *A. longirostre* y *A. geayi* en Brasil (160-163), *A. cajennense* en Costa Rica (164), *A. coelebs* en la Guyana Francesa (165) y *A. cajennense*, *R. sanguineus* y *Dermacentor nitens* en Panamá (166,167).

#### **Retos en el diagnóstico**

Debido a que la gran mayoría de las manifestaciones clínicas de las rickettsiosis son inespecíficas (fiebre, cefalea, malestar general, mialgias y artralgias, entre otras) y, por lo mismo, compartidas con otras enfermedades infecciosas, especialmente virales y bacterianas, se han enmarcado dentro de los diagnósticos diferenciales del síndrome febril agudo, tanto en áreas urbanas como tropicales (45). De igual manera, entre las mismas rickettsiosis se presentan signos similares, como el exantema o la escara de inoculación que, a pesar de sugerir infección por esta familia de microorganismos (Rickettsiaceae), no logran determinar de manera concreta un agente etiológico preciso. También, los hallazgos hematológicos y bioquímicos comunes a las rickettsiosis (trombocitopenia, anomalía en el número de leucocitos, elevación moderada de enzimas hepáticas, etc.) son solo una prueba indirecta de la fisiopatología de la enfermedad que, en algunos casos, puede tener un comportamiento variable según el tiempo de evolución y su

gravedad en el paciente. Cabe resaltar que, al ser enfermedades transmitidas por artrópodos vectores, y en algunos casos de distribución geográfica definida, una adecuada anamnesis sobre los antecedentes epidemiológicos puede orientar al médico a un diagnóstico presuntivo (45).

Dentro de este contexto, en la actualidad se cuenta con métodos diagnósticos directos e indirectos útiles para identificar el agente infeccioso, tanto en la fase aguda de la enfermedad (pruebas moleculares, inmunohistoquímica y cultivo celular) como de forma retrospectiva (métodos serológicos), estos últimos sólo confirmatorios o útiles para estudios epidemiológicos (cuadro 2).

La prueba serológica por medio de IFI es el método de referencia (cuadro 2). Sin embargo, aunque este método es de fácil acceso y manejo, es de utilidad diagnóstica retrospectiva y, debido a las características antigénicas compartidas, presenta reacciones cruzadas entre las diferentes especies del género *Rickettsia*, sobre todo cuando pertenecen a un mismo grupo (grupo de las fiebres manchadas, grupo del tifo, etc.) (168). Esta es la

prueba más utilizada en las Américas para estudios de seroprevalencia y como método diagnóstico frente a infecciones por rickettsias.

Otro método en el cual se utilizan muestras de suero, es el *Western Blot* asociado a inmunoadsorción cruzada. Tiene la gran ventaja de identificar la especie de *Rickettsia* involucrada en determinada infección, descartando reacciones cruzadas con otras especies. Esta prueba se basa en la adsorción de anticuerpos homólogos y heterólogos presentes en el suero del paciente que, posteriormente, son verificados por medio del *Western Blot* al unirse o no hacerlo a proteínas antigénicas de las diferentes especies de *Rickettsia*. Si se presenta la adsorción de ambos anticuerpos, la especie de *Rickettsia* utilizada en la mezcla con el suero, se identifica como el agente etiológico; mientras que, si únicamente se remueven los anticuerpos heterólogos, la especie en la mezcla se identifica como el agente causal de la reacción cruzada.

Cabe aclarar que este es un método costoso y que requiere de tiempo considerable de dedicación, ya que se deben mantener viables

Cuadro 2. Aproximaciones diagnósticas en rickettsiosis.

| Método                          | Muestra  | Prueba  | Notas  |
|---------------------------------|--|---|--|
| Serológico                      | Muestras de suero  | Inmunofluorescencia indirecta   | *Es el método de referencia<br>* IgM o IgG. Seroconversión en muestras pareadas con elevación $\geq 4$ títulos o $\geq 2$ veces la dilución  |
| Estudio con <i>Western Blot</i> | Muestras de suero  | <i>Western Blot</i> asociado a inmunoadsorción cruzada  | * Distingue entre diferentes especies en algunos casos, también entre otras bacterias intracelulares.<br>* Únicamente disponibles en centro diagnóstico de referencia  |
| Pruebas moleculares             | Muestra de sangre con anticoagulante EDTA, biopsias de piel, líquido cefalorraquídeo, muestras de tejidos conservados en parafina, artrópodos capturados | PCR convencional o PCR en tiempo real   | *Prueba de tamización con qPCR para definir el grupo al que pertenece la especie de <i>Rickettsia</i><br>* Prueba confirmatoria con PCR convencional: amplificación de genes específicos ( <i>gltA</i> , <i>rOmpA</i> , <i>rOmpB</i> , <i>16S rRNA</i> , <i>aca4</i> ) |
| Histología e inmunohistoquímica | Especímenes de tejidos fijados con formalina o conservados en parafina   | Tinciones de Giemsa o Gimenez   | * Los métodos de inmunohistoquímica proveen mejor visualización de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas.   |
| Cultivo                         | Muestra de sangre con anticoagulante EDTA, biopsias de piel o artrópodos capturados  | Cultivo celular (células Vero, L929, HEL, XTC-2 o MRC5), detección de antígenos en cultivo (Shell vial) | * Se requiere laboratorios de referencia con nivel de seguridad P2.<br>* Se requiere personal capacitado para el mantenimiento de cultivos celulares vivos.  |

Reproducido con el permiso de Elsevier (número de licencia 3043681099803) de: Kernif T, Seokolovschi C, Bitam I, Raouf D, Parola P. Vector-borne rickettsioses in North Africa. *Infect Dis Clin N Am*. 2012;26:455-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2012.02.007>

numerosas especies de este género para llevar a cabo las pruebas (168). Este método se utiliza en laboratorios de referencia de Europa, para establecer un diagnóstico retrospectivo del agente etiológico involucrado en cuadros clínicos sugestivos de rickettsiosis. Por el contrario, en las Américas, el *Western Blot* asociado a inmunoadsorción cruzada no se utiliza de rutina y son pocos los casos publicados en el hemisferio occidental donde determinan la especie de *Rickettsia* involucrada en infecciones humanas utilizando este método (14).

Los otros métodos, como la inmunohistoquímica, el cultivo celular y la amplificación por medio de qPCR y PCR convencional de genes conservados del género *Rickettsia*, se vienen utilizando con mayor frecuencia en el mundo, de forma única y en combinación, siendo posible la determinación de las especies patógenas de *Rickettsia*, de una forma rápida, eficaz y directa. Estos métodos son los únicos que pueden proveer un diagnóstico acertado durante la fase aguda de la enfermedad. Sin embargo, las muestras de mayor accesibilidad en los pacientes, como las de sangre, no suelen contener el suficiente número de microorganismos para su adecuada amplificación y caracterización. La mayor utilidad de estos métodos está en casos con lesiones dermatológicas que se prestan para practicar biopsia y que contienen considerable número de microorganismos viables, como la escara de inoculación (169).

### Conclusiones

Es claro que a lo largo del tiempo, hasta nuestros días, las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas han adquirido un papel importante entre las enfermedades emergentes y reemergentes causantes de cuadros febriles agudos, brotes o, inclusive, epidemias. Cada vez son más las publicaciones de nuevos aislamientos de especies de la familia Rickettsiaceae en, artrópodos vectores, animales y seres humanos, lo que se relaciona con nuevas descripciones de síndromes clínicos y permite aportes a la ecoepidemiología de estas enfermedades.

Hasta finales del siglo XX, las rickettsiosis de mayor impacto y reconocimiento en el hemisferio occidental eran la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, el tifo murino y el tifo epidémico. En el presente siglo, dados los múltiples estudios de investigación y las nuevas herramientas de diagnóstico y caracterización de microorganismos, se ha demostrado el papel de especies como *R. parkeri*, probablemente sub-

diagnosticada, como responsables de nuevas enfermedades, que se superponen en antiguas zonas endémicas para fiebre manchada de las Montañas Rocosas. Además, las rickettsiosis asociadas a escara de inoculación (considerada hasta hace algunos años como un signo clínico infrecuente en las Américas), se han caracterizado recientemente, abriendo las posibilidades diagnósticas, de forma similar a lo que sucede con la epidemiología de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en Europa, África y Asia.

El continente americano también ha sido responsable del aislamiento y los estudios de seroprevalencia sobre nuevas especies de importancia, como *R. amblyommii*, cuyo papel como patógeno, a pesar de discutirse, puede causar altas tasas de seroprevalencia para rickettsias del grupo de las fiebres manchadas o, incluso, causar infecciones subclínicas o asintomáticas.

Con lo anterior, son evidentes la complejidad y el reto diagnóstico que presentan las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas, lo que amerita la búsqueda de una mejor caracterización de las especies circulantes. Probablemente, los métodos diagnósticos, como la IFI, fueron de mayor utilidad en años pasados, cuando demostraron la circulación del género *Rickettsia* en diferentes regiones y permitieron diagnosticar casos probables, dada la reacción cruzada propia de este método, sin que se pudiera establecer claramente el agente etiológico en cuestión. Sin embargo, la identificación específica de las diferentes especies de *Rickettsia* descritas en las Américas, se ha logrado mediante técnicas de biología molecular, definiéndose zonas endémicas para dichas rickettsiosis.

Finalmente, consideramos la incursión e investigación en nuevos métodos diagnósticos sensibles y específicos de aplicación en la fase aguda de la enfermedad, cuando el diagnóstico apropiado permitiría un tratamiento antibiótico oportuno. Esto es particularmente importante dado el diagnóstico diferencial con otras enfermedades causantes de síndrome febril agudo.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

### Financiación

Los autores declaran no haber recibido ningún tipo de financiación para la realización del presente manuscrito.



## Referencias

1. Renvoisé A, Raoult D. An update on rickettsiosis. *Med Mal Infect*. 2009;39:71-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2009.11.009>
2. Mansueto P, Vitale G, Cascio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A, et al. New insight into immunity and immunopathology of rickettsial diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012;2:26. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/967952>
3. Merhej V, Raoult D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2011; 86:379-405. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-195X.2010.00151.x>
4. Renvoisé A, Mediansnikov O, Raoult D. Old and new tick-borne rickettsioses. *Int Health*. 2009;1:17-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.inhe.2009.02.009>
5. Parola P, Labruna M, Raoult D. Tick-borne rickettsioses in America: Unanswered questions and emerging diseases. *Curr Infect Dis Rep*. 2009;11:40-50. <http://dx.doi.org/10.1007/s11909-009-0007-5>
6. Labruna M, Mátar S, Nava S, Bernúdez S, Venzal J, Dolz G, et al. Rickettsiosis in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Rev MVZ Córdoba*. 2011;16:2495-57.
7. Ciuttini GL, Rodríguez M, Jado I, Anda P. Primera detección de *Rickettsia maeiliae* en la Ciudad de Buenos Aires. Resultados preliminares. *Rev Arg Zoonosis*. 2004;1:9-10.
8. García JC, Portillo A, Núñez MJ, Santibáñez S, Castro B, Oteo JA. Case report: A patient from Argentina infected with *Rickettsia maeiliae*. *Am J Trop Hyg*. 2010;82:691-2. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0662>
9. Ereneeve ME, Bosserman EA, Derasa LJ, Zambrano ML, Blau DM, Dasoh GA. Isolation and identification of *Rickettsia maeiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected in Arizona. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72:5569-77. <http://dx.doi.org/10.1129/AEM.00122-06>
10. Tomassone L, Conte V, Parrilla G, De Meneghi D. Rickettsia infection in dogs and *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma nigricum* ticks, Cochabamba Department, Bolivia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010;10:959-9. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2009.0126>
11. Dergousoff SJ, Gajadhar AJ, Chilton NB. Prevalence of *Rickettsia* species in Canadian populations of *Dermacentor andersoni* and *D. variabilis*. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75:1798-9. <http://dx.doi.org/10.1129/AEM.02554-09>
12. Carmichael JR, Fuerst PA. A rickettsial mixed infection in a *Dermacentor variabilis* tick from Ohio. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1079:334-7. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1374.064>
13. Labruna MB, Cansargo LM, Cansargo EP, Walker DH. Detection of spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakoohi* in Rondonia, Brazil. *Vet Parasitol*. 2005;127:169-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.024>
14. Parola P, Jourdan J, Raoult D. Tick-borne infection caused by *Rickettsia africae* in the West Indies. *N Engl J Med*. 1999;339:1391.
15. Parola P, Vestris G, Martínez D, Brochier B, Roux V, Raoult D. Tick-borne rickettsiosis in Guadeloupe, the French West Indies: Isolation of *Rickettsia africae* from *Amblyomma variegatum* ticks and serosurvey in humans, cattle, and goats. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60:999-99.
16. Kelly P, Lucas H, Beati L, Yowell C, Mahan S, Darce J. *Rickettsia africae* in *Amblyomma variegatum* and domestic ruminants on eight Caribbean islands. *J Parasitol*. 2010;96:1096-9. <http://dx.doi.org/10.1645/GE-2552.1>
17. Parola P, Attali J, Raoult D. First detection of *Rickettsia africae* on Martinique, in the French West Indies. *Ann Trop Med Parasitol*. 2003;97:595-7.
18. Kelly DJ, Carmichael JR, Booton GC, Poetter KF, Fuerst PA. Novel spotted fever group rickettsiae (SFGR) infecting *Amblyomma americanum* ticks in Ohio, USA. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1069:352-5. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1355.059>
19. Pacheco RC, Moraes-Filho J, Nava S, Brandao PE, Richtzenhain LJ, Labruna M. Detection of a novel spotted fever Group rickettsia in *Amblyomma parvum* ticks (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Exp Appl Acarol*. 2007;43:69-71. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-007-9099-5>
20. Blair PJ, Jiang J, Schoeler GB, Moran C, Anaya E, Céspedes M, et al. Characterization of spotted fever group rickettsiae in flea and tick specimens from Northern Peru. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4961-7. <http://dx.doi.org/10.1129/JCM.42.11.4961-4967.2004>
21. Fornadel CM, Zhang X, Smith JD, Paddock CD, Arias JR, Norris DE. High rates of *Rickettsia parkeri* infection in Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and identification of "Candidatus *Rickettsia andersonae*" from Fairfax County, Virginia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011;11:1535-9. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2011.0654>
22. Abarca K, López J, Acosta-Jarrett G, Lepe P, Soares JF, Labruna MB. A third *Amblyomma* species and the first tick-borne rickettsia in Chile. *J Med Entomol*. 2012;49:219-22
23. Pacheco RC, Moraes-Filho J, Marcoli A, Richtzenhain LJ, Szabó MP, Castro MH, et al. *Rickettsia monteiroi* sp. nov. infecting the tick *Amblyomma imitatum* in Brazil. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:5207-11. <http://dx.doi.org/10.1129/AEM.05166-11>
24. Almeida AP, Cunha LM, Bello AC, da Cunha AP, Domingues LN, Leite RC, et al. A novel *Rickettsia* infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2011;2:209-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.09.009>
25. Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandao PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:521-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1603.091999>
26. Ogrzewalska M, Martins T, Miroslav C, Literak I, Labruna MB. A *Rickettsia parkeri*-like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2012;7:1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.07.001>
27. Silva N, Ereneeve ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EA, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:275-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1702.100859>
28. Miranda J, Portillo A, Oteo JA, Mátar S. *Rickettsia* sp. strain colombianensi (Rickettsiales: Rickettsiaceae): A new proposed *Rickettsia* detected in *Amblyomma dioximile*

- (Acari: Ixodidae) from iguanas and free-living larvae ticks from vegetation. *J Med Entomol.* 2012;49:960-5
29. Shapiro MR, Fritz CL, Tait K, Paddock CD, Nicholson WL, Abramsowicz KF, et al. *Rickettsia* 264D: A newly recognized cause of eschar-associated illness in California. *Clin Infect Dis.* 2010;50:541-9. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir264>
  30. Phan JN, Lu CP, Bender WG, Sroog RM 3rd, Zhong J. Molecular detection and identification of *Rickettsia* species in *Ixodes pacificus* in California. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:957-61. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2010.0077>
  31. Ogrzewalska M, Literak I, Cárdenas-Callings JM, Capek M, Labruna MB. *Rickettsia bellii* in ticks *Amblyomma varium* Koch, 1944, from birds in Peru. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3:254-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.05.009>
  32. Carmichael JR, Fuerst PA. A rickettsial mixed infection in a *Dermacentor variabilis* tick from Ohio. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1079:394-7. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1374.064>
  33. McKiel JA, Bell EJ, Lackman DB. *Rickettsia canadensis*: A new member of the typhus group of rickettsiae isolated from *Haemaphysalis leporispalustris* ticks in Canada. *Can J Microbiol.* 1967;13:503-10. <http://dx.doi.org/10.1139/m67-065>
  34. Philip RN, Casper EA, Anacker RL, Peacock MG, Hayes SF, Lane RS. Identification of an isolate of *Rickettsia canadensis* from California. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:1216-21.
  35. Olano JP. Rickettsial infections. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1063:187-96. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1355.031>
  36. Yu XJ, Walker D. The order rickettsiales. *Prokaryotes.* 2006;5:489-529. [http://dx.doi.org/10.1007/0-387-30745-1\\_20](http://dx.doi.org/10.1007/0-387-30745-1_20)
  37. Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: A one health perspective. *Trends Parasitol.* 2012;16:1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2012.07.002>
  38. Uchiyama T. Tropism and pathogenicity of rickettsiae. *Front Microbiol.* 2012;3:1-11. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2012.00230>
  39. Valbuena G, Walker DH. Infection of the endothelium by members of the order Rickettsiales. *Thromb Haemost.* 2009;102:1071-9. <http://dx.doi.org/10.1160/TH09-02-0196>
  40. Elston DM. Rickettsial skin disease: Uncommon presentations. *Clin Dermatol.* 2005;29:541-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2005.01.016>
  41. Kernif T, Seoulovski C, Bitam I, Raoult D, Parola P. Vector-borne rickettsioses in North Africa. *Infect Dis Clin N Am.* 2012;26:455-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.007>
  42. Labruna MB. Ecology of *Rickettsia* in South America. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1166:156-66. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x>
  43. Walker DH. Rickettsial diseases of the Americas. *Biomédica.* 2011;31:11.
  44. Guglielmo AA, Robbins RG, Apasakovich DA, Patsay TN, Estrada-Pena A, Horak IG, et al. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. *Zootaxa.* 2010;2529:1-29.
  45. Parola P, Paddock CD, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: Emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:719-56. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.18.4.719-756.2005>
  46. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis—United States: A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep.* 2006;55:1-27.
  47. Guglielmo AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 2006;40:93-100. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-006-9027-0>
  48. Walker DH, Paddock CD, Dummer JS. Emerging and re-emerging tick-transmitted rickettsial and ehrlichial infections. *Med Clin North Am.* 2009;92:1945-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2009.06.002>
  49. Chen LF, Sexton DJ. What's new in Rocky Mountain spotted fever? *Infect Dis Clin North Am.* 2009;22:415-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2009.02.009>
  50. Lin L, Decker CF. Rocky mountain spotted fever. *Dis Mon.* 2012;59:961-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.disamonth.2012.02.009>
  51. Cunha BA. Clinical features of Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:143-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-9999\(09\)70022-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-9999(09)70022-7)
  52. Dantas-Torres F. Rocky mountain spotted fever. *Lancet Infect Dis.* 2007;7:724-92. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-9999\(07\)70261-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-9999(07)70261-X)
  53. Myers SA, Sexton DJ. Dermatologic manifestations of arthropod-borne diseases. *Infect Dis Clin North Am.* 1994; 8: 699-712
  54. Sexton DJ, Corey GR. Rocky Mountain 'spotless' and 'almost spotless' fever: A wolf in sheep's clothing. *Clin Infect Dis.* 1992;439-49. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/15.2.439>
  55. Maxey EE. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. *Med Sentinel.* 1939;7:423-9.
  56. Gross D, Schafer G. 100th anniversary of the death of Ricketts: Howard Taylor Ricketts (1871-1910). The namesake of the Rickettsiaceae family. *Microbes Infect.* 2010;12:10-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2010.09.009>
  57. CDC. Summary of notifiable diseases—United States 2009. *MMWR. Morb Mortal Wkly Rep.* 2011;59:1-104.
  58. Derma LJ, Traeger MS, Nicholson WL, Paddock CD, Blau DM, Eremeeva ME, et al. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. *N Engl J Med.* 2005;353:597-94. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa050049>
  59. Folkema AM, Holman RC, McQuiston JH, Cheek JE. Trends in clinical diagnoses of Rocky Mountain spotted fever among American Indians, 2001-2009. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86:152-8. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0269>
  60. Stromdahl EY, Jiang J, Vince M, Richards AL. Infrequency of *Rickettsia rickettsii* in *Dermacentor variabilis* removed from humans, with comments on the role of other human-biting ticks associated with spotted fever group Rickettsiae in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:969-7. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2010.0099>

61. Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Maggi RG, Lantos PM, Aslett DM, Bradley JM. *Rickettsia rickettsii* transmission by a lone star tick, North Carolina. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:979-5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1705.101590>
62. Openshaw JJ, Swerdlow DL, Krebs JW, Holman RC, Mandel E, Harvey A, et al. Rocky Mountain spotted fever in the United States, 2000-2007: Interpreting contemporary increases in incidence. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82:174-82. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0752>
63. Pinter A, França AC, de Souza CE, Sabbo C, Mendes do Nascimento EM, Pereira dos Santos FC, et al. Febre maculosa brasileira. São Paulo: Centro de Produção e Divulgação Científica; 2011. Volume 9. p. 1-94.
64. Del Fiol FS, Junqueira FM, Rocha MCP, Toledo MI, Barberato Filho S. A febre maculosa no Brasil. *Rev Panam Salud Pública.* 2010;27:461-6
65. Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, et al. Brazilian spotted fever: A case series from an endemic area in southeastern Brazil, clinical aspects. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1079:252-4. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1974.044>
66. Ereseeva ME, Klerst RM, Santucci-Domotor LA, Silverman DJ, Dasch GA. Genetic analysis of isolates of *Rickettsia rickettsii* that differ in virulence. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;990:717-22.
67. Guedes E, Leite RC, Prata MC, Pacheco RC, Walker DH, Labruna MB. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100:941-5. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762005000900004>
68. Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, et al. Brazilian spotted fever: A case series from an endemic area in southeastern Brazil, epidemiological aspects. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1079:170-2. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1974.044>
69. Labruna MB, Ogrzewalska M, Soares JF, Martins TF, Soares HS, Moraes-Filho J, et al. Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:929-34. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1705.101524>
70. Moraes-Filho J, Pinter A, Pacheco RC, Gutmann TB, Barbosa SO, Gonzales MA, et al. New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:79-9. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2007.0227>
71. Ogrzewalska M, Saraiva DG, Moraes-Filho J, Martins TF, Costa FB, Pinter A, et al. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. *Parasitology.* 2012;139:1293-300. <http://dx.doi.org/10.1017/S0021192012000546>
72. Levin ML, Killmaster LF, Zemtsova GE. Domestic dogs (*Canis familiaris*) as reservoir hosts for *Rickettsia conorii*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:28-33. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2011.0694>
73. Hii SF, Kopp SR, Abdad MY, Thompson MF, O'Leary CA, Rees RL, et al. Molecular evidence supports the role of dogs as potential reservoirs for *Rickettsia felis*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:1007-12. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2010.0270>
74. Bustamante ME, Varela G, Mariotte CO. Estudios de fiebre manchada en México. Fiebre manchada en la Laguna. *Rev Inst Salub Enferm Trop.* 1946;7:39-49.
75. Fuentes LG. Primer caso de fiebre manchada de las Montañas Rocosas en Costa Rica, América Central. *Rev Latinoam Microbiol.* 1979;21:167-72.
76. de Rodaniche EC, Rodaniche A. Spotted fever in Panama; isolation of the etiologic agent from fatal case. *Am J Trop Med Hyg.* 1950;20:511-7.
77. Patiño L, Afanador A, Paul JH. A spotted fever in Tobia, Colombia. *Am J Trop Med.* 1937;17:639-53.
78. Ripoll CM, Remondigni CE, Ordóñez G, Arzamendi R, Fusaro H, Hyman MJ, et al. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in subtropical territory of Jujuy, Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61:250-4.
79. Bustamante ME, Varela G. Estudios de fiebre manchada en México. Papel del *Rhipicephalus sanguineus* en la transmisión de la fiebre manchada en la República Mexicana. *Rev Inst Salub Enferm Trop.* 1947;9:139-41.
80. Mariotte CO, Bustamante ME, Varela G. Hallazgos del *Rhipicephalus sanguineus* Latreille infectado naturalmente con fiebre manchada de las Montañas Rocosas, en Sonora (México) 1944. *Rev Inst Salub Enferm Trop.* 1944;5:297-300.
81. Oliveira KA, Pinter A, Medina-Sánchez A, Boppa VD, Wikell SK, Saito TB, et al. *Amblyomma imitator* ticks as vectors of *Rickettsia rickettsii*, Mexico. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:1292-4. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1609.100221>
82. Martínez-Medina MA, Padilla-Zarandío G, Solís-Gallardo LP, Guevara-Tovar M. Rocky mountain spotted fever: Report of two cases. *Gac Med Mex.* 2005;141:909-12.
83. Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Ruiz-Aroila EE, Laviada-Molina H, Olaso JP, et al. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, México. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:672-4.
84. Hun L, Cortés X, Taylor L. Molecular characterization of *Rickettsia rickettsii* isolated from human clinical samples and from the rabbit tick *Haemaphysalis leporispalustris* collected at different geographic zones in Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;79:999-1002.
85. Argüello AP, Hun L, Rivera P, Taylor L. A fatal urban case of rocky mountain spotted fever presenting as eschar in San Jose, Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87:945-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0169>
86. Walker DH, Gay RM, Valdés-Dapena M. The occurrence of eschars in Rocky Mountain spotted fever. *J Am Acad Dermatol.* 1991;4:571-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622\(91\)70059-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622(91)70059-9)
87. de Rodaniche E. Natural infection of the tick, *Amblyomma cajennense*, with *Rickettsia rickettsii* in Panama. *Am J Trop Med Hyg.* 1953;2:696-9.
88. Estripeaut D, Aramburú MG, Sáez-Llorens X, Thompson HA, Dasch GA, Paddock CD, et al. Rocky Mountain spotted fever, Panama. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1763-5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1311.070931>
89. Tribaldos M, Zaldívar Y, Berrúez S, Sarandio F, Mendoza Y, Martínez AA, et al. Rocky Mountain spotted

- fever in Panama: A cluster description. *J Infect Dev Ctries*. 2011;5:797-41.
90. Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernández J, Parra E, et al. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1059-60. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1307.060597>
  91. Paddock CD, Fernández S, Echenique GA, Sumner JW, Reeves WK, Zaki SR, et al. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;79:697-92.
  92. Acosta J, Urquijo L, Díaz A, Sepúlveda M, Mantillo G, Heredia D, et al. Brote de rickettsiosis en Neccolí, Antioquia, febrero-marzo de 2006. *Inf Quino Epidemiol Nac*. 2006;11:177-92.
  93. Hidalgo M, Miranda J, Heredia D, Zambrano P, Vesga JF, Lizarazo D, et al. Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. *Mems Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106:117-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762011000100019>
  94. Pacheco-García OE, Giraldo MR, Hidalgo M, Galeano A, Echeverri I, Echavarría-Rodríguez L, et al. Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimiento de Alto de Mulatos – Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia, enero de 2009. *Inf Quino Epidemiol Nac*. 2009;13:145-60.
  95. Quintero JC, Londoño AF, Díaz FJ, Agudelo-Florez P, Arboleda M, Rodas JD. Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica*. 2012;32(Supl.1):29-51.
  96. Spencer RR. A case of typhus-like fever following tick bite. *Public Health Rep*. 1926;41:2529-4.
  97. Parker RR, Kohls GM, Cox GW, Davis GE. Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. *Public Health Rep*. 1939;54:1492-4.
  98. Lackman DE, Parker RR, Gerloff RK. Serological characteristics of a pathogenic *Rickettsia* occurring in *Amblyomma maculatum*. *Public Health Rep*. 1949;64:1342-9.
  99. Paddock CD, Sumner JW, Comer JA, Zaki SR, Goldsmith CS, Goddard J, et al. *Rickettsia parkeri*: A newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clin Infect Dis*. 2004;39:905-11. <http://dx.doi.org/10.1096/391994>
  100. Paddock CD. *Rickettsia parkeri* as a paradigm for multiple causes of tick-borne spotted fever in the western hemisphere. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1063:315-26. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1955.051>
  101. Raoult D, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* infection and other spotted fevers in the United States. *N Engl J Med*. 2005;353:626-7.
  102. Sumner JW, Durden LA, Goddard J, Stromdahl EY, Clark KL, Reeves WK, et al. Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:751-9.
  103. Wright CL, Nadolsky RM, Jiang J, Richards AL, Senenshine DE, Gaff HD, et al. *Rickettsia parkeri* in gulf coast ticks, southeastern Virginia, USA. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:998-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1705.101998>
  104. Varela-Stokes AS, Paddock CD, Eagber E, Toliver M. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma maculatum* ticks, North Carolina, USA, 2009-2010. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:2950-3. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1712.110799>
  105. Goddard J, Normant BR. Notes on the geographical distribution of the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum* (Koch) [Acari: Ixodidae]. *Entomol News*. 1993;94:103-4.
  106. Jiang J, Stromdahl EY, Richards AL. Detection of *Rickettsia parkeri* and *Candidatus Rickettsia andeanae* in *Amblyomma maculatum* Gulf Coast ticks collected from humans in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012;12:175-92. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2011.0614>
  107. Ferrari FAG, Goddard J, Paddock C, Varela-Stokes AS. *Rickettsia parkeri* and *Candidatus Rickettsia andeanae* in Gulf Coast ticks, Mississippi, USA. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:1705-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1910.120250>
  108. Grasperge BJ, Wolfson W, Macaluso KR. *Rickettsia parkeri* infection in domestic dogs, Southern Louisiana, USA, 2011. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:995-7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1906.120165>
  109. Paddock CD, Finley RW, Wright CS, Robinson HN, Schrodt BJ, Lane CC, et al. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. *Clin Infect Dis*. 2009;47:1199-96. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cnq2254>
  110. Cragun WC, Bartlett BL, Ellis MW, Hoover AZ, Tying SK, Mendoza N, et al. The expanding spectrum of eschar-associated rickettsioses in the United States. *Arch Dermatol*. 2010;146:641-9. <http://dx.doi.org/10.1001/archdermatol.2010.49>
  111. Conti-Díaz IA, Rubio I, Sonza-Moreira RE, Perez-Bornida G. Lymphatic cutaneous rickettsiosis caused by *Rickettsia osonii* in Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1990;32:213-9.
  112. Díaz IA. Rickettsiosis caused by *Rickettsia osonii* in Uruguay. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;990:264-6.
  113. Venzal JM, Portillo A, Estrada-Peña A, Castro O, Cabrera PA, Oteo JA. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tritarsus* from Uruguay. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1493-5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1009.030999>
  114. Conti-Díaz IA, Moraes-Filho J, Pacheco RC, Labruna MB. Serological evidence of *Rickettsia parkeri* as the etiologic agent of rickettsiosis in Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2009;51:397-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0026-46652009000600005>
  115. Venzal JM, Estrada-Peña A, Portillo A, Manglod AJ, Castro O, De Souza CG, et al. *Rickettsia parkeri*: A rickettsial pathogen transmitted by ticks in endemic areas for spotted fever rickettsiosis in southern Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2012;54:191-4. <http://dx.doi.org/10.1590/S0026-46652012000300003>
  116. Silveira I, Pacheco RC, Szabó MP, Ramos HG, Labruna MB. *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1111-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1307.061997>
  117. Silva N, Ereemeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EA, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:275-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1702.100959>

118. Angerami RN, da Silva AM, Nascimento EM, Colombo S, Wada MY, dos Santos FC, *et al.* Brazilian spotted fever: Two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15:207-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02160.x>
119. Madeiros AP, de Souza AP, de Moura AB, Lavina MS, Bellato V, Sartor AA, *et al.* Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106:926-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762011000600005>
120. Sabatini GS, Pister A, Nieri-Bastos FA, Marólii A, Labruna MB. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their *Rickettsia* in an Atlantic rain forest reserve in the State of São Paulo, Brazil. *J Med Entomol.* 2010;47:919-6.
121. Szabó MPJ, Nieri-Bastos FA, Spolidorio MG, Martins TF, Labruna MB. Isolation, characterization and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. *Biomédica.* 2011;31:97-102.
122. Barbieri ARM, Szabó MPJ, Nieri-Bastos FA, Souza Junior JC, Labruna MB. Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) from Blumenau, southern Brazil. *Biomédica.* 2011;31:103-10.
123. Pacheco RC, Arzua M, Nieri-Bastos FA, Moraes-Filho J, Marólii A, Rickettsenhai LJ, *et al.* Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. *J Med Entomol.* 2012;49:710-6. <http://dx.doi.org/10.1603/ME11217>
124. Seijo A, Picollo M, Nicholson W, Paddock C. Rickettsial spotted fever in the Paraná Delta. An emerging disease. *Medicina (B. Aires).* 2007;67:723-6.
125. Guglielmo AA, Nava S. Las garrapatas argentinas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae): Distribución y huéspedes. *RIA.* 2006;35:139-53.
126. Nava S, Elshenawy Y, Ereneeve ME, Sumner JW, Mastropalo M, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2009;14:1994-7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1412.090960>
127. Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Lash RP, *et al.* *Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:1169-73. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1707.101957>
128. Tomassone L, Coate V, Parrilla G, De Meneghi D. *Rickettsia* infection in dogs and *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tigrinum* ticks, Cochabamba Department, Bolivia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10:953-9. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2009.0126>
129. Beati L, Finadori JP, Gilot B, Raoult D. Comparison of serologic typing, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis protein analysis, and genetic restriction fragment length polymorphism analysis for identification of rickettsiae: Characterization of two new rickettsial strains. *J Clin Microbiol.* 1992;30:1922-30.
130. Beati L, Raoult D. *Rickettsia massiliae* sp. nov., a new spotted fever group *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;42:939-40.
131. Babalis T, Tsolentis Y, Roux V, Psaroulaki A, Raoult D. Isolation and identification of a rickettsial strain related to *Rickettsia massiliae* in Greek ticks. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50:365-72.
132. Bacellar F, Reguery RL, Nuncio MS, Filipe AP. Genotypic evaluation of rickettsial isolates recovered from various species of ticks in Portugal. *Epidemiol Infect.* 1995;114:169-79.
133. Santos-Silva MM, Sousa R, Santos AS, Melo P, Encarnação V, Bacellar F. Ticks parasitizing wild birds in Portugal: Detection of *Rickettsia aeschlimannii*, *R. helvetica* and *R. massiliae*. *Exp Appl Acarol.* 2006;39:331-9.
134. Beati L, Roux V, Ortuno A, Castilla J, Porta FS, Raoult D. Phenotypic and genotypic characterization of spotted fever group *Rickettsia* isolated from Catalan *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2699-94.
135. Fernández-Soto P, Pérez-Sánchez R, Díaz-Martín V, Encinas-Grandes A, Alamo-Sanz R. *Rickettsia massiliae* in ticks removed from humans in Castilla y León, Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25:911-2.
136. Bernasconi MW, Casati S, Péter O, Piffaretti JC. *Rhipicephalus* ticks infected with *Rickettsia* and *Coxiella* in Southern Switzerland (Canton Ticino). *Infect Genet Evol.* 2002;2:111-20. [http://dx.doi.org/10.1016/S1567-1349\(02\)00092-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-1349(02)00092-9)
137. Dupont HT, Corset JP, Raoult D. Identification of rickettsiae from ticks collected in the Central African Republic using the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50:373-80.
138. Vitale G, Mansueto S, Rolain JM, Raoult D. *Rickettsia massiliae* human isolation. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:174-5.
139. Parola P, Socolevski C, Jeanjean L, Bitars I, Fournier PE, Sotto A, *et al.* Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. *Plos Negl Trop Dis.* 2009;2:e339. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000339>
140. Beeler E, Abramowicz KF, Zambrano ML, Sturgeon MM, Khalaf N, Hu R, *et al.* A focus of dogs and *Rickettsia massiliae*-infected *Rhipicephalus sanguineus* in California. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84:244-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0355>
141. McNaught JG. A tick-borne fever in the Union of South Africa. *J R Army Med Corps.* 1911;16:505.
142. Pijper A, Crooker GC. Rickettsioses of South Africa. *S Afr Med J.* 1939;12:612-60.
143. Kelly PJ, Manson P. Transmission of spotted fever group rickettsia by *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 1991;29:596-600.
144. Kelly PJ, Matthewman L, Beati L, Raoult D, Manson P, Dreary M, *et al.* African tick-bite fever: A new spotted fever group rickettsiosis under an old name. *Lancet.* 1992;340:992-9. [http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)92979-J](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(92)92979-J)
145. Kelly PJ, Beati L, Matthewman L, Manson P, Dasch GA, Raoult D. A new pathogenic spotted fever group rickettsia from Africa. *J Trop Med Hyg.* 1994;97:129-37.
146. Kelly PJ, Beati L, Manson P, Matthewman L, Roux V, Raoult D. *Rickettsia africae* sp. nov., the etiological agent of African tick bite fever. *Int J Syst Bacteriol.* 1996;46:611-4. <http://dx.doi.org/10.1099/00207719-46-2-611>

147. Morita C, El Hussein AP, Matsuda E, Abdel Gabbar KM, Muramatsu Y, Abdel Rahman MB, *et al.* Spotted fever group rickettsiae from ticks captured in Sudan. *Jpn J Infect Dis.* 2004;57:107-9.
148. Abdel-Shafy S, Allam NA, Mediannikov O, Parola P, Raoult D. Molecular detection of spotted fever group rickettsiae associated with ixodid ticks in Egypt. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:946-59. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2010.0241>
149. Eldia C, Mediannikov O, Davoust B, Cabre O, Barré N, Raoult D, *et al.* Emergence of *Rickettsia africae*, Oceania. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:100-2. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1701.101081>
150. Portillo A, Pérez-Martínez L, Santibáñez S, Blanco JR, Ibarra V, Oteo JA. Detection of *Rickettsia africae* in *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks from the Republic of Botswana, South Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:976-7.
151. Gargili A, Palomar AM, Midilli K, Portillo A, Kar S, Oteo JA. *Rickettsia* species in ticks removed from humans in Istanbul, Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:909-41. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2012.0996>
152. Kelly PJ. *Rickettsia africae* in the West Indies. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:24-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1202.050902>
153. Kelly PJ, Fournier PE, Parola P, Raoult D. A survey for spotted fever group rickettsiae and ehrlichiae in *Amblyomma variegatum* from St. Kitts and Nevis. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;89:58-9.
154. Raoult D, Fournier PE, Fenollar F, Jensenius M, Prieo T, de Pina JJ, *et al.* *Rickettsia africae*, a tick-borne pathogen in travelers to sub-Saharan Africa. *N Engl J Med.* 2001;17:1504-10. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200105179442002>
155. Burgdorfer W, Hayes SF, Thomas LA, Lancaster JL. A new spotted fever group rickettsia from the Lone Star Tick, *Amblyomma americanum*. New York: Academic Press; 1991. p. 595-602.
156. Goddard J, Norment BR. Spotted fever group rickettsiae in the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 1996;29:465-72.
157. Dasch GA, Kelly DJ, Richards AL, Sánchez JL, Rives CC. Western blotting analysis of sera from military personnel exhibiting serological reactivity to spotted fever group Rickettsiae. *Am Soc Trop Med Hyg.* 1993;49:220.
158. Apperson CS, Engber B, Nicholson WL, Mead DG, Engel J, Ybsley MJ, *et al.* Tick-borne diseases in North Carolina: Is '*Rickettsia amblyommii*' a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:597-606. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2007.0271>
159. Labruna MB, Pacheco RC, Nava S, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Guglielmino AA. Infection by *Rickettsia belli* and *Candidatus 'Rickettsia amblyommii'* in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. *Microb Ecol.* 2007;54:126-93. <http://dx.doi.org/10.1007/s00249-006-9190-2>
160. Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride JW, Camargo LMA, Camargo EP, *et al.* *Rickettsia belli* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *J Med Entomol.* 2004;41:1079-81. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-2595-41.6.1079>
161. Ogrzewalska M, Pacheco RC, Uezu A, Ferreira F, Labruna MB. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic Forest area in the State of São Paulo, Brazil, with isolation of *Rickettsia* from the tick *Amblyomma longiventre*. *J Med Entomol.* 2009;45:770-4. [http://dx.doi.org/10.1603/0022-2595\(2009\)45\[770:TAIWG\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1603/0022-2595(2009)45[770:TAIWG]2.0.CO;2)
162. Ogrzewalska M, Uezu A, Labruna MB. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, Northern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. *Parasitol Res.* 2010;106:909-16. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-010-1792-1>
163. Ogrzewalska M, Uezu A, Labruna MB. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the Atlantic Forest in northeastern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. *Parasitol Res.* 2011;109:665-70. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-010-2111-9>
164. Hsu L, Troyo A, Taylor L, Barbieri AM, Labruna MB. First report of the isolation and molecular characterization of *Rickettsia amblyommii* and *Rickettsia felis* in Central America. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:1995-7. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2011.0641>
165. Parola P, Matsumoto K, Soccolovski C, Parzy D, Raoult D. A tick-borne rickettsia of the spotted-fever group, similar to *Rickettsia amblyommii*, in French Guyana. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007;101:195-9. <http://dx.doi.org/10.1179/136485907154557>
166. Bernúdez SE, Zaldivar Y, Spolidorio M, Moraes-Filho J, Miranda R, Caballero C, *et al.* Rickettsial infection in domestic mammals and their ectoparasites in El Valle de Antón, Coclé, Panamá. *Vet Parasitol.* 2011;177:194-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.020>
167. Bernúdez SE, Erensoeva ME, Karpathy SE, Samudio FE, Zambrano ML, Zaldivar YL, *et al.* Detection and identification of Rickettsial agents in ticks from domestic mammals in Eastern Panama. *J Med Entomol.* 2009;46:956-61. <http://dx.doi.org/10.1603/092.046.0417>
168. Raoult D, Parola P. Rickettsial diseases. New York: Informa Healthcare; 2007. p. 215-30.

## ANEXO 9

**Producción científica #3 “Faccini-Martínez AA, García-Álvarez L, Hidalgo M, Oteo JA (2014) Syndromic classification of rickettsioses: An approach for clinical practice. *International Journal of Infectious Diseases* (aceptado para publicación)”**

Elsevier Editorial System(tm) for International Journal of Infectious Diseases  
Manuscript Draft

Manuscript Number: IJID-D-14-00166R1

Title: Syndromic classification of rickettsioses: An approach for clinical practice

Article Type: Review Article

Keywords: Rickettsioses, Syndrome, Arthropod-borne diseases, Rickettsia spp., Rash, Eschar

Corresponding Author: Dr.Med. José Antonio Oteo, M.D

Corresponding Author's Institution: Hospital San Pedro - Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR)

First Author: Alvaro Adolfo Faccini Martinez, M.D

Order of Authors: Alvaro Adolfo Faccini Martinez, M.D; Lara García-Alvarez; Marylin Hidalgo, Ph.D; José Antonio Oteo, M.D

**Abstract:** Rickettsioses share common clinical manifestations, such as fever, malaise, exanthema, presence or absence of inoculation eschar and lymphadenopathy. Some of these manifestations can be suggestive of certain species of Rickettsia infection. Nevertheless none of these manifestations are pathognomonic and it is always required direct diagnostic methods to confirm the involved species. A syndrome is a set of signs and symptoms that characterizes a disease with many etiologies or causes. This situation is applicable to rickettsioses, where different species can cause similar clinical presentation. We propose a syndromic classification for these diseases (exanthematic rickettsioses syndrome with low probability of inoculation eschar and rickettsioses syndrome with probability of inoculation eschar and its variants). We are taking into account the clinical manifestations, the geographical origin and the possible vector involved, in order to provide a guide for physicians to suspect the most probably etiological agent.

**Date:** 24 May 2014  
**To:** "José Antonio Oteo" alvaro\_faccini@hotmail.com,jaoteo@riojasalud.es  
**cc:** ;afaccini@gmail.com;lgalvarez.ext@riojasalud.es;hidalgo.m@javeriana.edu.co  
**From:** Eskild Petersen eskildp@dadlnet.dk  
**Subject:** Manuscript Decision IJID-D-14-00166R1

Manuscript Number: IJID-D-14-00166R1  
Article Title: Syndromic classification of rickettsioses: An approach for clinical practice

Corresponding Author: Dr.Med. José Antonio Oteo  
International Journal of Infectious Diseases

24 May 2014

Dear Dr.Med. Oteo,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in the International Journal of Infectious Diseases. You will be notified when your manuscript has been sent to the publisher, which will be in the next eight weeks and you will receive a proof by e-mail three weeks after that.

Thank you for submitting your work to the journal.

Kind regards,

Eskild Petersen, MD, DMSc, MBA  
Editor-in-Chief  
International Journal of Infectious Diseases

## ANEXO 10

**Producción científica #4 “Faccini-Martínez A.A, Costa F.B, Hayama-Ueno T.E, Ramírez-Hernández A, Cortés-Vecino J.A, Labruna M.B, Hidalgo M (2014) *Rickettsia rickettsii* in *Amblyomma patinoi*, Colombia. *Emerging Infectious Diseases* (en espera de decisión final)”**



### Rickettsia rickettsii in Amblyomma patinoi, Colombia

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| Journal:                      | <i>Emerging Infectious Diseases</i>   |
| Manuscript ID:                | EID-14-0721   |
| Manuscript Type:              | Dispatch  |
| Date Submitted by the Author: | 25-Apr-2014   |
| Complete List of Authors:     | Faccini-Martínez, Alvaro; Pontificia Universidad Javeriana, Microbiology Department<br>Costa, Francisco; Universidade de São Paulo, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal<br>Hayama-Ueno, Tatiana; Universidade de São Paulo, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal<br>Ramírez-Hernández, Alejandro; Universidad Nacional de Colombia, Veterinary Parasitology<br>Cortés-Vecino, Jesús; Universidad Nacional de Colombia, Veterinary Parasitology<br>Labruna, Marcelo; University of Sao Paulo, Preventive Veterinary Medicine<br>Hidalgo, Marilyn; Pontificia Universidad Javeriana, Microbiology Department |
| Keywords:                     | Rickettsia rickettsii, Amblyomma patinoi, Amblyomma cajennense sensu lato, Rocky Mountain spotted fever, Isolation, Colombia  |

SCHOLARONE™  
Manuscripts

| My Manuscripts   | Author Resources  |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>0 <a href="#">Unsubmitted Manuscripts</a></li> <li>0 <a href="#">Revised Manuscripts in Draft</a></li> <li>1 <a href="#">Submitted Manuscripts</a></li> <li>0 <a href="#">Manuscripts with Decisions</a></li> <li>1 <a href="#">Manuscripts I Have Co-Authored</a></li> <li>0 <a href="#">Withdrawn Manuscripts</a></li> <li>0 <a href="#">Manuscripts Accepted for First Look</a></li> <li>0 <a href="#">Awaiting First Look Updates - Pending</a></li> <li>0 <a href="#">Invited Manuscripts</a></li> </ul> | <p><a href="#">★ Click here to submit a new manuscript</a></p> <p>This section lists the subjects of the five most recent e-mails that have been sent to you regarding your submission(s). To view an e-mail, click on the link. To delete an e-mail from this list, click the delete link.</p> <p><a href="#">Submission to EID - MS# EID-14-0721</a> <a href="#">Delete</a><br/>(25-Apr-2014)</p> |

#### Submitted Manuscripts

| Manuscript ID | Manuscript Title   | Date Created | Date Submitted | Status   |
|---------------|--|--------------|----------------|--|
| EID-14-0721   | Rickettsia rickettsii in Amblyomma patinoi, Colombia [ <a href="#">View Submission</a> ] | 25-Apr-2014  | 25-Apr-2014    | Admin: <a href="#">Friedberg, Jared</a><br>• Awaiting Final Decision |

[▲ top](#)