



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Detección de *Rickettsia* spp. en roedores silvestres
del norte de Chiapas, México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIOLOGÍA

P R E S E N T A :

Garcia Romero Oscar Jair



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. INGEBORG BECKER FAUSER**

Ciudad Universitaria, CDMX

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Garcia
Romero
Oscar Jair
75805140
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
310106919

2. Datos del tutor

Dra.
Ingeborg Dorothea
Becker
Fauser

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Rosario
Mata
López

4. Datos de sinodal 2

Dra.
Ana María
Fernández
Presas

5. Datos de sinodal 3

Dra.
Miriam del Socorro
Berzunza
Cruz

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Isabel Cristina
Cañeda
Guzmán

7. Datos del trabajo escrito

Detección de *Rickettsia* spp. en roedores silvestres del norte de Chiapas, México.
76 p
2018

ÍNDICE

1. Resumen	7
2. Antecedentes	8
3. Introducción	9
3.1 Generalidades del género <i>Rickettsia</i>	9
3.2 Antecedentes históricos sobre Rickettiosis	9
3.3 Clasificación Taxonómica de <i>Rickettsia spp.</i>	11
3.4 Vectores como hospederos de Rickettsias	13
3.4.1 Garrapatas	13
3.4.2 Piojos	15
3.4.3 Pulgas	15
3.5 Hospederos.....	17
3.5.1 Registros sobre Rickettsias en: <i>Peromyscus mexicanus</i> , <i>Sigmodon hispidus</i> , <i>Heteromys desmarestianus</i> y <i>Oryzomys rostratus</i>	19
3.6 Distribución geográfica de especies de <i>Rickettsia</i>	20
3.7 Infección por <i>Rickettsia</i> en el humano.....	24
3.8 Enfermedades causadas por <i>Rickettsia</i>	24
3.8.1 Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	24
3.8.2 Tifo epidémico y tifo murino.....	25
3.9 Diagnóstico de <i>Rickettsia spp</i> mediante técnicas de Biología Molecular en roedores silvestres: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	26
4. Justificación.....	27
5. Objetivo General	27
5.1 Objetivos Específicos	27
6. Hipótesis.....	27
7. Metodología	28
7.1 Área de estudio	28
7.2 Trabajo de campo.....	30
7.2.1 Colecta de mamíferos	30
7.3 Trabajo de laboratorio.....	30
7.3.1 Cuantificación de DNA	30
7.3.2 PCR para el diagnóstico de <i>Rickettsia</i>	31

7.4	Determinación de la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos a utilizar en la PCR.	32
7.4.1	Prueba de especificidad	32
7.4.2	Curva de sensibilidad	33
7.4.3	Amplificación del gen de la β -actina	33
8.	Resultados	35
8.1	Determinación de la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos a utilizados en la PCR.....	35
8.1.1	Prueba de especificidad	35
8.1.2	Curva de sensibilidad	36
8.1.3	Amplificación gen de la β -actina	36
8.2	Registro de los hospederos analizados por especie y género.....	37
8.3	PCR de DNA de hígado de roedores silvestres colectados en el norte de Chiapas	38
9.	Discusión.....	40
10.	Conclusión.....	43
11.	Referencias	44
12.	Anexos.....	57

Índice de figuras

Figura 1.	Ciclo de vida de las Rickettsias transmitidas por garrapatas	14
Figura 2.	Ciclo de vida de las Rickettsias transmitidas por el piojo del humano y pulgas ..	16
Figura 3.	Distribución mundial de <i>Rickettsia</i> spp., detectadas en artrópodos	21
Figura 4.	Distribución geográfica y número de reportes de Rickettsias en México.....	22
Figura 5.	Distribución en México de las especies de Rickettsias reportadas en artículos....	23
Figura 6.	Localidades analizadas en el estado de Chiapas.	28
Figura 7.	Especificidad de los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220, usados para la detección de <i>Rickettsia</i> spp.....	35
Figura 8.	Sensibilidad de los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220, usados para la detección de <i>Rickettsia</i> spp.....	36

Figura 9. Amplificación del gen de la β -actina usando los oligonucleótidos 9791 y 9792.. 37

Figura 10. PCR para detectar *Rickettsia* spp. usando los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220. 39

Índice de tablas

Tabla 1. Asociación de *Rickettsia* spp. reportadas en México con hospederos, vectores y enfermedad en humanos.. 18

Tabla 2. Signos y síntomas de la Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas..... 25

Índice de gráficos

Gráfico 1. Número de artículos publicados de *Rickettsia* spp. en México..... 10

Gráfico 2. Clasificación del género *Rickettsia* 12

Gráfico 3. Número de roedores muestreados por especie.. 38

Índice de anexos

Anexo 1. Registro de artículos de *Rickettsia* en México..... 57

Anexo 2. Especies de *Rickettsia*, vectores y distribución geográfica..... 67

Anexo 3. Relación de roedores silvestres del norte de Chiapas analizados en este trabajo. 70

Agradecimientos

Familia

A mi madre Hermelinda: Te agradezco el haberme apoyado en todo momento, por tus consejos, por la motivación constante que me ha permitido ser la gran persona que soy hoy en día, pero más que nada, por tu amor y comprensión. Te amo mamá.

A mi padre Sabino: Te agradezco por todo el apoyo que he recibido de tu parte, tanto emocional como económico, por la motivación constante para querer superarme día a día y más que nada por estar conmigo siempre que te necesito. Te amo papá.

A Ricardo y Roberto, les agradezco el apoyo en cada una de mis decisiones y estar conmigo siempre que los necesitaba.

Marcela, no podría haber tenido una mejor hermana que tú. Eres sorprendente tal y como eres y espero jamás cambies. Recuerda que siempre he estado orgulloso de ti y siempre lo estaré. Te agradezco el haber recibido tu apoyo incondicional, y por ser mí mejor amiga. Me muero de ansias por ver a la gran persona en la que te convertirás.

A Rocio y Noe, mis tios, les agradezco el haber estado presente en cada uno de los momentos importantes de mi vida, por su gran interés y por las palabras de aliento.

Amigos

Karla y Ángel, fueron mis primeros amigos de verdad a lo largo de la carrera y son las personas que más han tenido que soportarme en la Facultad. Sé que soy una persona muy complicada y les agradezco por todo su apoyo y por su amistad que espero dure para siempre.

David eres el ingeniero más inteligente que conozco. Tú me demostraste que tener confianza en uno mismo es fundamental para cumplir nuestras metas, además me has enseñado mucho de la vida, por lo que te estoy completamente agradecido.

Julián tu eres la persona más noble, humilde e inteligente que conozco. Me apoyaste en muchas ocasiones sin esperar nada a cambio, por lo que siempre estaré agradecido contigo. Espero que jamás cambies y que recuerdes que a pesar de que ya no nos veamos tan seguido como antes, siempre contarás conmigo,

A Edson, Daniela, Itzel, Evelyn, Ma. Fernanda y Alejandra, a ustedes tengo muchas cosas que quisiera decirles, pero para no hacer más largo este apartado les daré las gracias por todo el apoyo y la amistad que me demostraron día con día. Cuenten conmigo siempre y espero jamás perder su amistad.

Tutores

Le agradezco a la Dra. Miriam del Socorro Berzunza Cruz por su gran apoyo y motivación en la culminación de mis estudios profesionales y por toda su paciencia a la hora de la realización de la tesis. Gracias por todo lo que me enseñó a lo largo de estos tres años.

A la Dra. Ingeborg Becker Fauser, le agradezco por su guía y motivación en el desarrollo del presente trabajo, así como su gran paciencia a lo largo de este proyecto.

Le agradezco a mi comité de sinodales, por sus valiosos consejos y revisiones durante este proyecto.

Programas

Le agradezco al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN211418 por haber financiado este proyecto.

Detección de *Rickettsia* spp. en mamíferos silvestres del norte de Chiapas

1. Resumen

El género *Rickettsia*, incluye alrededor de 27 especies de bacterias gram-negativas intracelulares y son transmitidas a mamíferos mediante artrópodos hematófagos. En México, se ha detectado la presencia de *Rickettsia* en 16 especies de mamíferos, entre ellos roedores de distribución mundial como *Mus musculus*, *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*. En el estado de Chiapas, se ha encontrado *Rickettsia prowazekii* asociada con el piojo (*Pediculus humanus*) del humano, *Rickettsia rickettsii* en casos humanos y *Rickettsia ca bellii* (no patógena) en garrapatas (*Ornithodoros brodyi*). Sin embargo, no hay estudios asociados con roedores, los cuales desempeñan un papel importante en la salud humana debido a su gran importancia como hospederos y/o reservorios en el ciclo de vida de muchos ectoparásitos y patógenos.

En el presente estudio se realizó la detección del género *Rickettsia*, mediante el uso de la PCR (por sus siglas en inglés, Polymerase Chain Reaction), el cual amplifica el gen de la citrato sintasa (*gltA*) de la bacteria en roedores silvestres de las especies *Peromyscus mexicanus*, *Heteromys desmarestianus*, *Oryzomys rostratus* y *Sigmodon hispidus* colectados en cuatro localidades del estado de Chiapas: Botioja, Emiliano Zapata, Colen-Há, y El Limar.

Para la realización de la PCR se utilizó el DNA del hígado de 162 ejemplares. No se detectaron muestras positivas para el género *Rickettsia*, sin embargo, este análisis no permite descartar su presencia en roedores de ese estado.

2. Antecedentes

A nivel mundial se han registrado un total de 27 especies de Rickettsias (Merhej *et al.*, 2014), de las cuales solo ocho se han registrado en México: *Rickettsia akarii* (Zavala-Velázquez *et al.*, 1996), *Rickettsia amblyommii* (Medina-Sánchez, 2013), *Rickettsia felis* (Zavala-Velázquez *et al.*, 2002), *R. prowazekii* (Mooser *et al.*, 1931), *R. rickettsii* (Mooser, 1928), *Rickettsia typhi* (Peniche-Lara *et al.*, 2015A), *R. lusitaniae* (Martínez-Nájera, 2016; Sánchez-Montes *et al.*, 2016) y la especie no patógena *R. ca bellii* (Martínez-Nájera, 2016), que se encuentran infectando a distintos hospederos y vectores. En México, los hospederos que se han registrado infectados por *Rickettsia* son roedores como *M. musculus* (Zavala-Castro *et al.*, 2009 c), *R. norvegicus* y *R. rattus* (Peniche-Lara *et al.*, 2015 a). También se ha detectado en animales domésticos como el perro (*Canis lupus familiaris*) (Zavala-Velázquez *et al.*, 2002) y en animales silvestres *Didelphis* (Peniche-Lara *et al.*, 2016). Sin embargo, la gran mayoría de los registros de Rickettsias son de casos humanos; en 2016 se registraron 505 casos de Rickettsiosis (cero de tifo epidémico, 257 de tifo murino, 82 de fiebre manchada y 166 de Rickettsiosis) y en 2017, se tiene un registro de 453 casos (cero de tifo epidémico, 125 de tifo murino, 182 de fiebre manchada y 146 de Rickettsiosis) (SINAVE). Se han encontrado Rickettsias asociadas a 15 especies de ácaros e insectos (Anexo 1); entre ellos las garrapatas como: *Amblyomma cajennense* (Bustamante & Varela, 1946), *Amblyomma imitator* (Oliveira *et al.* 2010), *Dermacator variabilis* (Sosa-Gutiérrez *et al.*, 2015), y con más frecuencia en *Rhipicephalus sanguineus*, que son vectores confirmados de *R. rickettsii* (Bustamante & Varela, 1944 a). Mientras que, para insectos, como las pulgas y piojos, se han registrado en: *Ctenocephalides felis* asociado con *R. felis* (Zavala-Velázquez *et al.*, 2002), *Xenopsylla cheopis* vector principal de *R. typhi* (Raoult *et al.*, 2001) y *Pediculus humanus* vector de *R. prowazekii* (León, 1944).

La distribución geográfica de las Rickettsias está relacionada directamente a la distribución geográfica de sus vectores (Merhej *et al.*, 2014). En el estado de Chiapas, se ha detectado la presencia de especies patógenas para los humanos como *R. prowazekii* asociada con *P. humanus*; *R. rickettsii* en humanos y la especie no patógena, *R. ca bellii* en garrapatas (especie no patógena) (Sejvar *et al.*, 2004; González-Torres, 2016; Martínez-Nájera, 2016).

3. Introducción

3.1 Generalidades del género *Rickettsia*

Rickettsia es un género de bacterias aerobias Gram-negativas (Fournier & Raoult, 2009); son microorganismos intracelulares los cuales infectan células endoteliales. Estas bacterias son transmitidas por artrópodos hematófagos, principalmente por ácaros, garrapatas, piojos y pulgas de los órdenes Ixodida, Phthiraptera y Siphonaptera (Brenner, 2005). Sin embargo, también se han registrado a los mosquitos como vectores potenciales para la transmisión de *R. felis* (Socolovski, 2012).

El orden de los Rickettsiales, incluye dos familias: Rickettsiaceae y Anaplasmataceae. La familia Rickettsiaceae incluye los géneros: *Rickettsia*, *Orientia*, *Occidentia*, “*Candidatus (Ca.) Megaira*”, “*Ca. Cryptoprodotis*”, “*Ca. Arcanobacter*”, “*Ca. Trichorickettsia*”, y “*Ca. Gigarickettsia*” (Thomas, 2016).

Actualmente se reconoce la existencia de 27 especies de Rickettsias, las cuales están divididos en 4 grupos con base en diversos estudios filogenéticos: el grupo *Rickettsia bellii*, el grupo *Rickettsia canadensis*, el grupo de las Fiebres Manchadas integrado por *R. conorii*, *R. rickettsii*, y *R. parkeri*, y el grupo del Tifo formado por *R. prowazekii* y *R. typhi* (Merhej *et al.*, 2009).

3.2 Antecedentes históricos sobre Rickettsiosis

Los primeros registros confirmados de rickettsiosis (tifo) a nivel mundial datan del siglo XVI en Italia (Woodward & Dumler, 2004). En México, estas enfermedades, se registraron por primera vez a finales del siglo XVI e inicios del siglo XVII (Varela, 1956; Burns *et al.*, 2014).

En diciembre de 1909, Howard Taylor Ricketts y su ayudante Russell Wilder invitados por sus jefes para hacer estudios sobre el “tabardillo”, enfermedad parecida en cuanto a su etiología a la Fiebre Manchada se trasladaron al Hospital General y al Instituto de Higiene de la Ciudad de México (Véjar-Lagave, 1956). En abril de 1910, Ricketts y Wilder anunciaron el descubrimiento de un bacilo, presente en la sangre de los pacientes infectados y en el piojo humano (*P. humanus*). Trágicamente, en este mismo año, Ricketts se infectó accidentalmente mientras aislaba a *R. prowazekii*, organismo causante de Tifo epidémico,

muriendo poco tiempo después. Los trabajos de Ricketts fueron la base para el desarrollo futuro de vacunas y tratamientos en México y en el mundo (Gross & Schafer, 2011).

Después de Ricketts, el estudio de las Rickettsias en México fue escaso, y no fue hasta la década de los 40`s que Bustamante y Varela (1943, 1944a, 1944b, 1946) llevaron a cabo estudios dirigidos para la caracterización de un brote de Fiebre Manchada en el norte del país. A partir de los 90`s, se incrementa el número de publicaciones sobre *Rickettsia* spp., periodo en el cual se retoma la investigación sistematizada de este grupo (Gráfico 1).

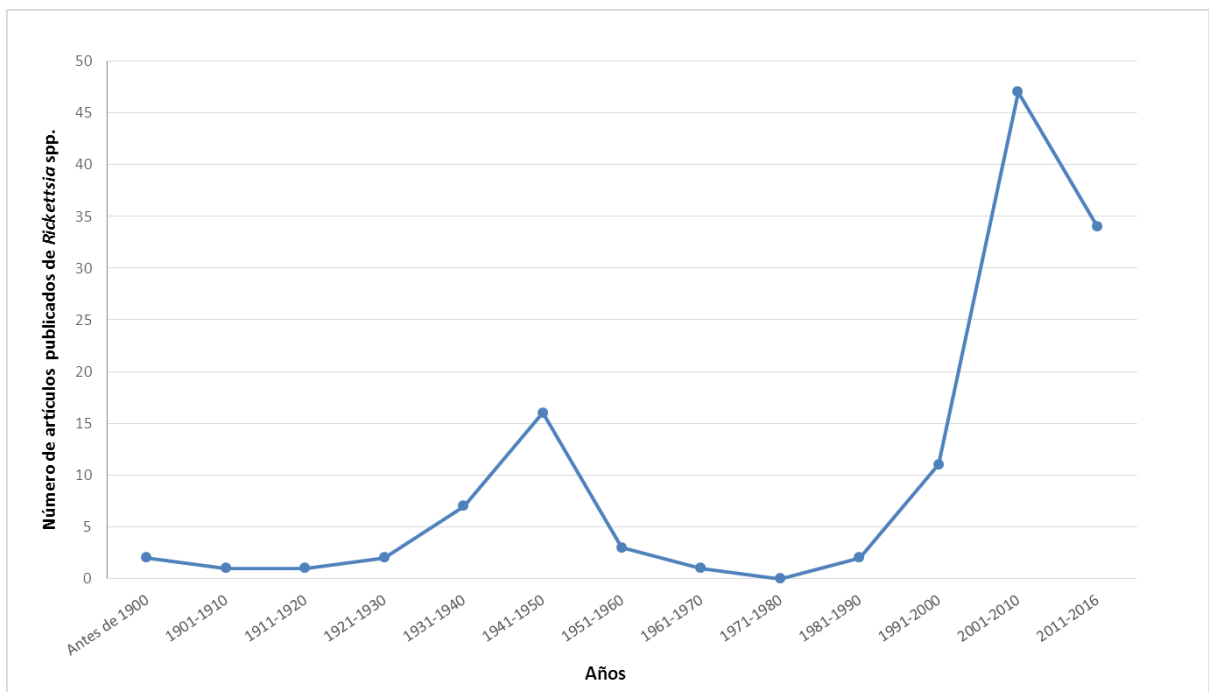


Gráfico 1. Número de artículos publicados de *Rickettsia* spp. en México.

3.3 Clasificación Taxonómica de *Rickettsia* spp.

Hace unos años, la clasificación de las especies del género *Rickettsia* era muy diferente a la que conocemos hoy en día. La primera clasificación que surgió fue basada en el análisis de caracteres morfológicos, metabólicos y antigénicos, obteniendo así tres grandes grupos: 1- el grupo *Rickettsia tsutsugamushi* con solo esta especie, 2- el grupo de las Fiebres Manchadas conformada por *Rickettsias* transmitidas por garrapatas como *R. conorii* y *R. rickettsii*, y 3- el grupo Tifo constituido por *R. prowazekii* y *R. typhi* (Merhej *et al.*, 2014; Fournier & Raoult, 2009).

Actualmente, con base en porcentajes de similitud (98.1%) con especies ya validadas como pertenecientes al género, se ha logrado una clasificación más precisa (Merhej *et al.*, 2014). Los genes usados para esto son, principalmente, los codificantes para el gen 16S rRNA (*rrs*) y el gen que amplifica la citrato sintasa (*gltA*) (para determinar género), así como genes más específicos y variables como *ompA*, *ompB* y el gen D (para la caracterización a nivel especie), que codifican para proteínas de membrana como *rOmpA*, *rOmpB* y *PSI20* (Fournier *et al.*, 2003).

Con base en lo anterior, Merhej *et al.* presentan la siguiente clasificación del género *Rickettsia*: 1- el grupo tifus (constituido solamente por el subgrupo *R. prowazekii*), 2.- el grupo de las fiebres Manchadas (el cual se subdivide en 4 subgrupos: *R. rickettsii*, *Rickettsia massiliae*, *Rickettsia helvetica* y *R. akari* (Merhej & Raoult, 2011), 3.- el grupo *Rickettsia bellii* y 4.-el grupo *Rickettsia canadensis* (Merhej *et al.*, 2014) (Gráfico 2). De esta manera *R. tsutsugamushi* adquiere una clasificación dentro de un nuevo género llamado *Orientia* (Tamura *et al.*, 1995).

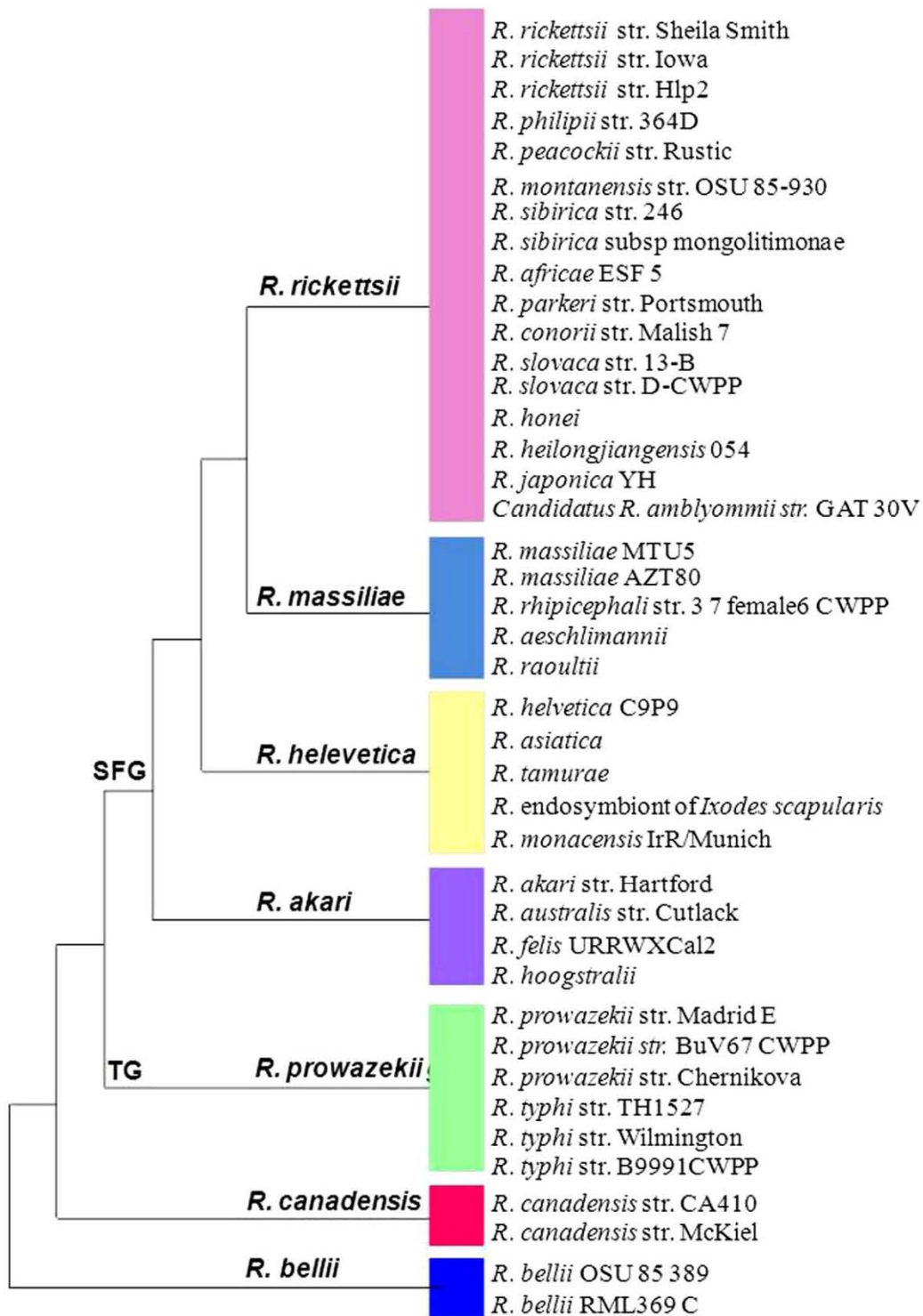


Gráfico 2. Clasificación del género *Rickettsia* con base en secuencias de proteínas de membrana y secuencias del gen de la citrato sintasa (*gltA*). TG= Grupo tifo; SFG= Grupo de las fiebres manchadas (Merhej *et al.*, 2014).

3.4 Vectores como hospederos de Rickettsias

Un vector es aquel artrópodo que sirve para la transmisión del agente etiológico de un hospedero a otro (McHugh, 1994). En general los artrópodos pueden adquirir la bacteria por transmisión horizontal, transestadial, transovárica y transmisión por alimentación (co-feeding). La transmisión horizontal, es la transmisión del agente patógeno, de un hospedero a otro (Chen *et al.*, 2006). La transmisión transestadial se refiere al paso del agente parasitario a través de los distintos estados de desarrollo de vida, de larva a ninfa, o de ninfa a larva (McHugh, 1994). La transovárica es aquella en la cual el patógeno ubicado en el progenitor femenino es transmitido a la siguiente generación (McHugh, 1994). La transmisión por alimentación (co-feeding) se presenta cuando varios artrópodos se alimentan del mismo hospedero, al mismo tiempo y de manera muy cercana coincidiendo con la presencia del microorganismo en el sitio de la picadura (Merhej *et al.*, 2014).

Entre los principales vectores transmisores de rickettsias para los vertebrados son las garrapatas, piojos y pulgas (Merhej *et al.*, 2014).

3.4.1 Garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos obligados de vertebrados, pertenecen al orden Ixodida y se han registrado al menos 894 especies divididas en tres familias: Ixodidae (garrapatas duras), Argasidae (garrapatas blandas) y Nuttalliellidae (monotópica) (Pérez *et al.*, 2013; Parola & Raoult, 2001). En América, las garrapatas de los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor* y *Rhipicephalus* están involucrados como vectores de *R. rickettsii*, *R. parkeri* y *R. massiliae* siendo así las especies más representativas en el continente (Parola & Raoult, 2001).

Las garrapatas pueden adquirir la infección y transmitir las Rickettsias por dos mecanismos: transmisión transestadial y transovárica. Los tres estadios (larvas, ninfas y adultos) de la garrapata pueden ser potenciales vectores de la enfermedad y transmitirla a los reservorios. Existen dos ciclos de transmisión: 1) el urbano donde los principales reservorios de la enfermedad serían roedores sinantrópicos y 2) el rural donde podrían participar los caninos y algunos marsupiales como reservorios de la enfermedad. El humano se infecta por la picadura de los vectores (Figura 1).

Estos artrópodos necesitan un período de tiempo aproximado de 6 a 24 horas de alimentación continua para que se lleve a cabo la transmisión de las Rickettsias al humano (Chapman *et al.*, 2006).

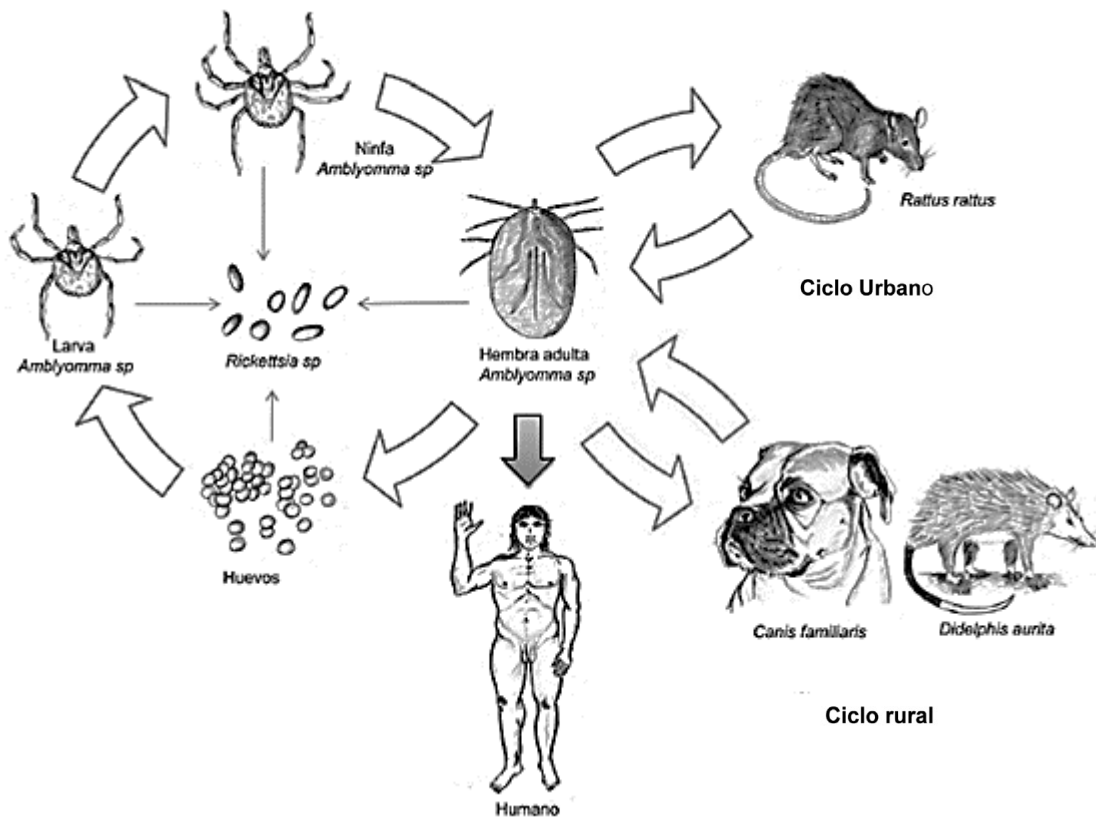


Figura 1. Ciclo de vida de las Rickettsias transmitidas por garrapatas (Tomado y modificado de Quintero-Vélez, 2012). Las rickettsias pueden estar presentes en cada uno de los diferentes estados de desarrollo de la garrapata: huevos, larvas, ninfas y adultos. La garrapata transmite el patógeno a los diferentes hospederos de los ciclos urbano y rural.

3.4.2 Piojos

Aproximadamente 3000 mil especies de piojos han sido descritas y clasificadas dentro del orden Phthiraptera, el cual está dividido en cuatro grupos: Rhyncophthirina, Amblycera, Ischoera y Anoplura. El hombre en este caso es el hospedero natural de *R. prowazekii*, agente causal del tifo epidémico que tiene como vector principal a los Anopluridos, de los cuales se conocen 3 especies que parasitan al humano: *P. humanus humanus*, el piojo del cuerpo; *Pediculus humanus capitis*, el piojo de la cabeza y *Pthirus pubis*, el piojo del pubis (Merhej *et al.*, 2014).

El humano se infecta principalmente por la contaminación con las heces del artrópodo o también se puede presentar transmisión por inhalación, por contaminación conjuntival o en algunos casos por la misma picadura (Figura 2). En el caso de *R. prowazekii*, el vector principal para la transmisión de dicho patógeno es *P. humanus*, el cual se infecta por transmisión horizontal, al estar en contacto con humanos previamente infectados (Figura 2) (Azad, 1990).

3.4.3 Pulgas

Se tienen aproximadamente 2500 especies descritas del orden Siphonaptera los cuales son ectoparásitos de mamíferos y de algunas aves (Ford *et al.*, 2004). *X. cheopis* y *Ctenocephalides felis* son los principales vectores de *R. typhi* no obstante, se ha reportado la presencia de *R. typhi* en al menos 11 géneros de pulgas (Kim *et al.*, 2010). Las pulgas, al adquirir la infección la transmiten de manera transovárica y transestadial pero solo los individuos adultos transmiten la infección a los reservorios y humanos. Existen dos ciclos, el urbano donde los principales reservorios de la enfermedad serían roedores sinantrópicos y el rural donde podría estar la participación de felinos y algunos marsupiales como reservorios de la enfermedad. El humano adquiere la enfermedad, cuando entra en contacto con los vectores a través de la picadura y/o las heces de la pulga mientras esta se alimenta del hospedero, ya sea porque el hospedero inhale a la pulga o por la contaminación con las heces de la herida producida por la picadura de la pulga, o por la convivencia o por la exposición accidental con los reservorios (Figura 2) (Quintero-Vélez, 2012; Azad, 1990; Merhej *et al.*, 2014). Los principales reservorios de la pulga *X. cheopis* son los roedores *R. rattus* y *R.*

norvegicus, no obstante, diversos roedores y otros animales salvajes (o domésticos) se han registrado como posibles hospederos (Merhej *et al.*, 2014).

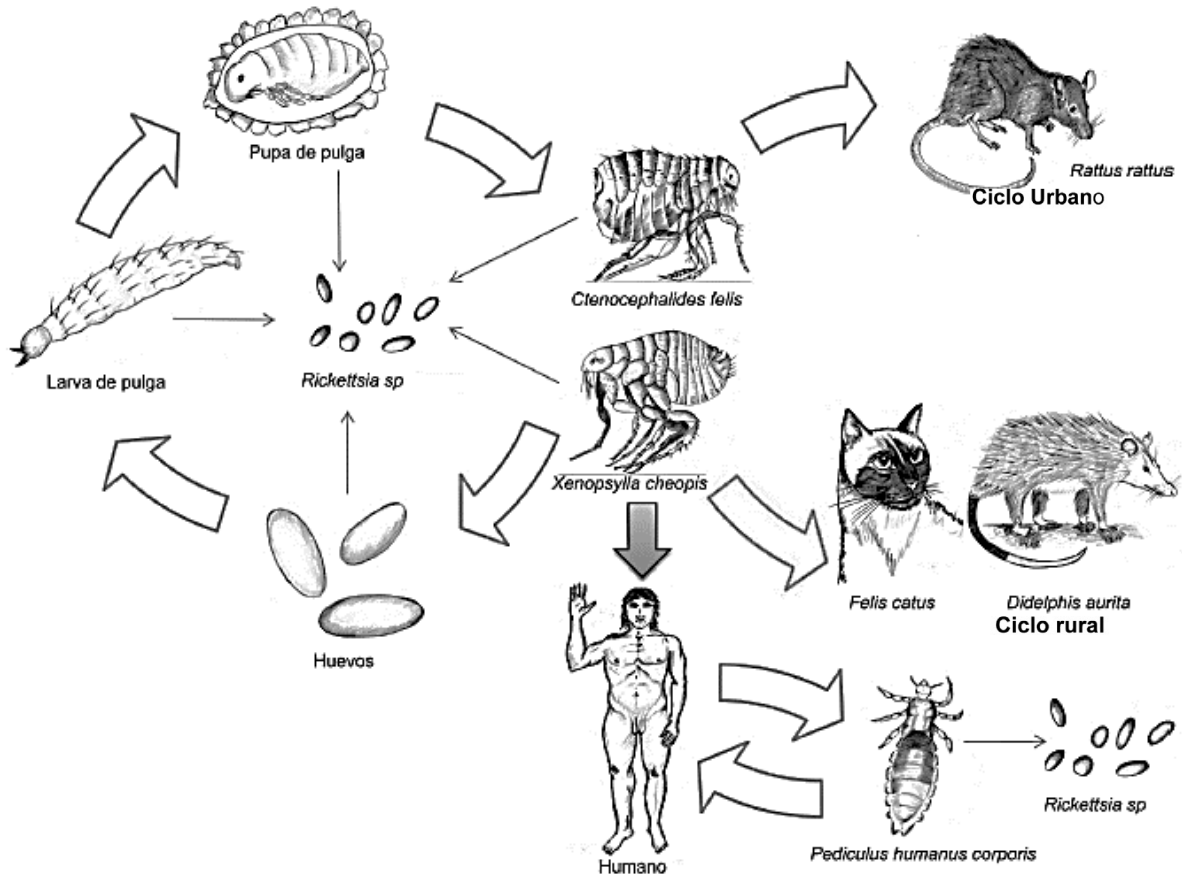


Figura 2. Ciclo de vida de las Rickettsias transmitidas por el piojo del humano y pulgas. (Tomado y modificado de Quintero-Vélez, 2012). Las rickettsias pueden estar presentes en cada uno de los diferentes estados de desarrollo de los piojos y las pulgas. Estos vectores transmiten el patógeno a los diferentes hospederos de los ciclos urbano y rural.

3.5 Hospederos

Los roedores silvestres, por su abundancia, diversidad y ubicuidad, son componentes importantes de casi todos los ecosistemas terrestres. Las ratas y ratones están involucrados en la transmisión de parásitos de por lo menos 200 enfermedades de carácter viral, bacteriano y micotico, debido a su alto potencial reproductivo y su alta capacidad dispersiva (Bogni & Benedetti, 2004).

Para el mantenimiento natural de *Rickettsia* en el medio, se ha estimado necesaria la presencia de hospederos. Estos últimos son principalmente mamíferos que sean susceptibles a la infección de *R. rickettsii*, como a la picadura de la garrapata, y que cumplan a su vez como fuente de infección de garrapatas no infectadas, ayudando así a la diseminación del patógeno en distintas áreas geográficas (Quintero-Vélez, 2012). Para ser llamado hospedero, Labruna (2009), considera los siguientes criterios: el organismo debe presentar una susceptibilidad a la infección con *R. rickettsii*, exhibir una abundancia relativa (en el medio donde se encuentra el patógeno), presentar la detección de rickettsemia en largos periodos y tener una alta tasa de reproducción que permita la disponibilidad casi permanente a un número de animales susceptibles a la infección aguda.

Las enfermedades producidas por *Rickettsia* spp. son de importancia mundial debido principalmente a los roedores, los cuales son importantes en el ciclo de vida de estas bacterias en la naturaleza. Algunos estudios han demostrado la susceptibilidad a la infección de *Rickettsia* spp., así como el desarrollo de altos niveles de rickettsemia, lo suficiente para infectar ectoparásitos hematófagos durante su alimentación. Los roedores tienen una dispersión y vida corta en el medio, por lo que pueden ser buenos indicadores de la presencia/ausencia de *Rickettsia* spp. en el medio natural (Milagres *et al.*, 2013).

En la tabla 1, se muestra la información obtenida sobre los diversos hospederos y vectores de *Rickettsia* spp. registrados en México (Anexo 1), que causan enfermedades en el humano.

Tabla 1. Especies de *Rickettsia* registradas en México indicando los hospederos, vectores y enfermedad que ocasiona en humanos.

Especie de <i>Rickettsia</i>	Hospedero	Vector	Enfermedad en humanos
<i>Rickettsia akari</i>	<i>Homo sapiens</i> <i>Mus musculus</i> <i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Liponyssoides sanguineus</i> <i>Rhiphicephalus sanguineus</i>	Rickettsiosis vesicular
<i>Rickettsia amblyommii</i>	<i>Homosapiens</i>	<i>Amblyomma cajennense</i> <i>Amblyomma mixtum</i>	Otras fiebres maculosas
<i>Rickettsia felis</i>	<i>Homosapiens</i> <i>Canis lupus familiaris</i> <i>Didelphis virginiana</i> <i>Didelphis marsupialis</i> <i>Peromyscus yucatanicus</i> <i>Sigmodon hispidus</i>	<i>Ctenocephalides felis</i> <i>Siphonaptera</i>	Tifo murino
<i>Rickettsia prowazekii</i>	<i>Homo sapiens</i> <i>Rattus sp.</i> <i>Polyplax spinulosa</i>	<i>Pediculus humanus</i> <i>Amblyomma cajennense</i> <i>Amblyomma imitator</i>	Tifo epidémico
<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Homo sapiens</i> <i>Peromyscus maniculatus</i> <i>Peromyscus megalops</i> <i>Peromyscus beata</i> <i>Peromyscus leucopus</i> <i>Microtus mexicanus</i> <i>Neotomodon alstoni</i> <i>Reithrodontomys fulvescens</i>	<i>Rhiphicephalus sanguineus</i> <i>Amblyomma cajennense</i> <i>Amblyomma imitator</i> <i>Amblyomma parvum</i> <i>Dermacentor variabilis</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas
<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Homosapiens</i> <i>Rattus rattus</i> <i>Rattus norvegicus</i> <i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Xenopsylla cheopis</i> <i>Pediculus humanus</i>	Tifo murino
<i>Rickettsia lusitaniae</i>	NR	<i>Ornithodoros yumatensis</i>	Fiebre maculosa. No especificada
<i>Rickettsia ca. Belli</i>	NR	<i>Ornithodoros brodyi</i>	No patógena
<i>Rickettsia spp.</i>	<i>Homo sapiens</i> <i>Canis lupus familiaris</i>	<i>Rhiphicephalus sanguineus</i> <i>Ornithodoros nicolleti</i> <i>Otobius lagophilus</i> <i>Amblyomma cajennense</i>	Fiebre maculosa. No especificada

NR=No referenciado.

3.5.1 Registros sobre *Rickettsias* en: *Peromyscus mexicanus*, *Sigmodon hispidus*, *Heteromys desmarestianus* y *Oryzomys rostratus*

La mastofauna de México está constituida por un aproximado de 525 especies, 193 géneros, 47 familias y 12 ordenes. El orden Rodentia posee un aproximado de 235 especies, los que representan el 45% de los mamíferos reconocidos, de los cuales solo el 10% son considerados de importancia sanitaria, económica y médica. Este orden está integrado por ratones, ratas, ardillas, chinchillas, castores, etc. (Ceballos *et al.*, 2005).

Las especies más importantes en México debido a su distribución, adaptabilidad y salud pública son *R. norvegicus* (rata parda, rata de alcantarilla, rata gris o rata marrón), *R. rattus* (rata negra, rata de barco, rata de tejado o rata común) y *M. musculus* (Ramos-Casillas, 2003).

El género *Peromyscus* es el grupo más diverso de los mamíferos pequeños de Norteamérica y Centroamérica, el cual posee la distribución geográfica más amplia (Chirhart *et al.* 2005; Reid, 1997). En México, sólo se ha registrado la presencia de *R. felis* en *Peromyscus yucatanicus* (Panti-May *et al.*, 2015) y *R. rickettsii* en *Peromyscus maniculatus*, *Peromyscus megalops*, *Peromyscus beata*, y *Peromyscus leucopus* (Sosa-Gutiérrez *et al.*, 2014). No obstante, no existen registros de *Rickettsia* spp. en *P. mexicanus*.

Sigmodon hispidus, también conocida como la rata algodónera, es muy usada como modelo experimental de muchos patógenos y parásitos, incluyendo entre estos, a las *Rickettsias* (Wibawa *et al.*, 2002). Poseen una amplia distribución desde Norteamérica hasta Colombia, Venezuela y Perú (Santa-Sepúlveda & Pardo, 2014). En México, se ha detectado la presencia de *R. felis* en este roedor (Panti-May *et al.*, 2015).

El género *Heteromys* conocido como ratón de abazones y/o ratón espinoso se distribuye en la parte sur de México, Centro América, Colombia, Ecuador y Venezuela. La especie *Heteromys desmarestianus* está conformada por 12 subespecies las cuales se localizan al sur de Veracruz, Tabasco, Oaxaca, Chiapas y Yucatán (Espinoza *et al.*, 2011). En *Heteromys gaumeri* se ha reportado la presencia de *R. felis* en el estado de Yucatán (Panti-May *et al.*, 2014), no obstante, no se ha reportado en *H. desmarestianus* como hospedero de *Rickettsia* spp (Anexo 1).

El género *Oryzomys*, contiene más de 50 especies y se distribuye principalmente al este de Norteamérica y Sonora, no obstante, a pesar de su distribución y abundancia, se tiene muy poca información de ellos (Sánchez-Cordero & Valadez, 1989). En México, este género no se ha reportado como hospedero de *Rickettsia* spp. (Anexo 1).

3.6 Distribución geográfica de especies de *Rickettsia*

Las *Rickettsias* se encuentran distribuidas a nivel mundial debido a la transmisión vectorial por pulgas, piojos y garrapatas (Figura 3; Anexo 2) (Merhej *et al.*, 2014).

En México se han registrado 153 trabajos sobre *Rickettsia* (Anexo 1; Tabla 1). De los cuales, en el estado de Yucatán se concentran el mayor número de artículos publicados, mientras que los estados con el menor número de publicaciones (una a tres) son: Oaxaca, Ciudad de México, Quintana Roo, Guerrero y Chiapas (Figura 4).

Se han registrado un total de ocho especies de *Rickettsia* para México (Anexo 1). Yucatán, Sonora y Sinaloa, son los estados con el mayor número de especies de *Rickettsia* (seis, cinco y cinco, respectivamente). En cambio, en el estado de Chiapas se han detectado tres especies, *R. rickettsii*, *R. prowazekii* y *R. ca. belli* (Figura 5). Por otro lado, *R. rickettsii* y *R. prowazekii* son las especies con mayor distribución en al menos nueve estados.

La distribución geográfica e incidencia de las rickettsiosis depende principalmente de la competencia entre especies de *Rickettsias* (Merhej *et al.*, 2014). En garrapatas *Dermacentor andersoni* parasitadas por *R. paecocki* y *R. rickettsii*, inhiben la transmisión transovárica en esta última, ocasionando así un gradual reemplazamiento de la especie en poblaciones del vector (Burgdorfer & Brinton, 1975; Niebylski *et al.*, 1997).

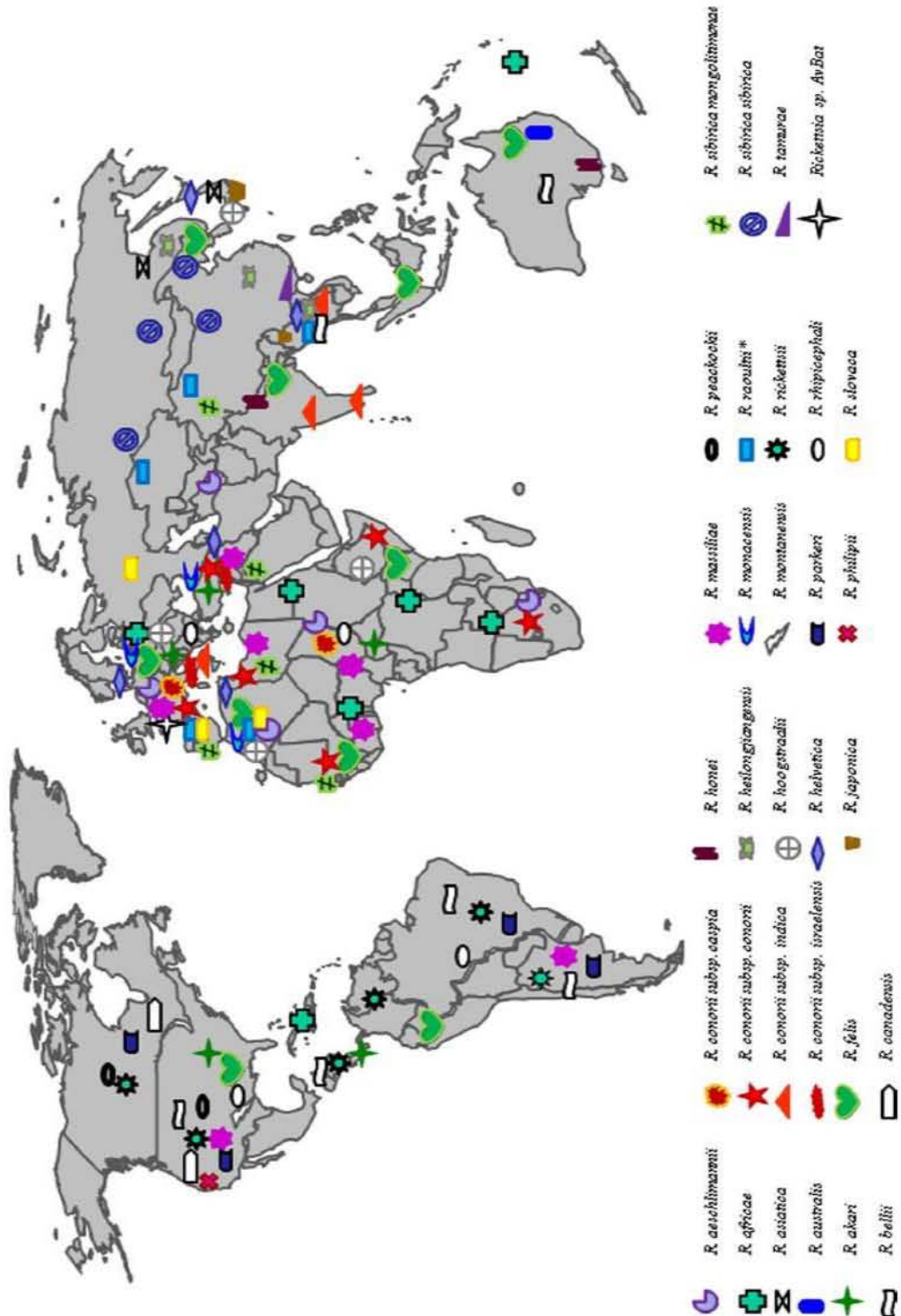


Figura 3. Distribución mundial de *Rickettsia* spp., detectadas en artrópodos. (Imagen tomada de Merhej, 2014).



Figura 4. Distribución geográfica de registros de Rickettsias para cada estado. El gráfico se realizó a partir del Anexo 1.

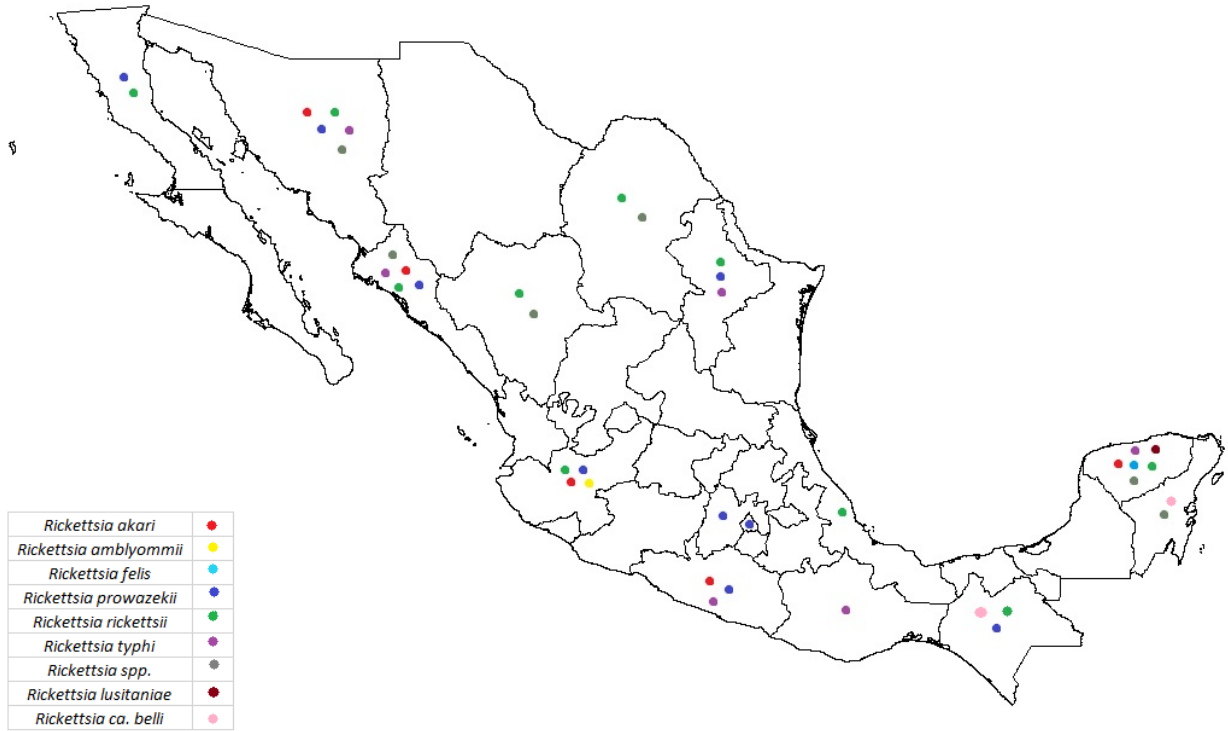


Figura 5. Distribución geográfica de las especies de Rickettsias registradas para México. Cada símbolo indica una especie diferente de *Rickettsia*. El gráfico se realizó a partir del Anexo 1.

3.7 Infección por *Rickettsia* en el humano

El ciclo de vida de las Rickettsias, varía principalmente con base en la especie de *Rickettsia* y el vector implicado en la transmisión del patógeno. Con excepción de *R. prowazekii*, el humano no es un elemento fundamental en el ciclo de las demás Rickettsias (Azad & Beard, 1998).

El humano es un hospedero accidental de *Rickettsia* spp. La infección se lleva a cabo por la diseminación del patógeno dentro del organismo, principalmente por vasos linfáticos y posteriormente por vasos sanguíneos a todos los órganos. Las células endoteliales son el blanco principal de las Rickettsias (con excepción de *R. akari* que infecta reticulocitos) lo que ocasiona daño en el endotelio causado por la liberación de ciertas citocinas pro-inflamatorias y estrés oxidativo (Mansueto, 2012). Las Rickettsias al tener contacto con las células endoteliales, inducen su propia fagocitosis y, una vez dentro del citosol, escapan del fagosoma y proliferan por fisión binaria simple, siendo finalmente expulsadas por exocitosis para seguir infectando otras células (Bernabeu-Wittel, 2005).

3.8 Enfermedades causadas por *Rickettsia*

3.8.1 Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas

El agente causal de esta enfermedad es *R. rickettsii*. Los pacientes presentan diversas manifestaciones sistémicas, cutáneas, cardíacas, pulmonares, gastrointestinales, renales, neurológicas, oculares y musculoesqueléticas. Al principio de la enfermedad las manifestaciones clínicas no son específicas. El periodo de incubación es de 2 a 14 días (Barba-Evia, 2009). Los signos y síntomas se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Signos y síntomas de la Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas. (Tabla obtenida de Barba-Evia, 2009).

Signos/síntomas	Frecuencia %
Artralgia	100
Anorexia	100
Mialgias	95
Fiebre	95
Escalofríos	95
Cefalea	79-91
Dolor abdominal	85
Náuseas	60
Ictericia	55
Vómitos	50
Diarrea	40
Tos	35
Hepatomegalia	30
Estupor	21-26
Conjuntivitis	25
Meningismo	18
Ataxia	5-18
Coma	9-10
Muerte	4-8
Disminución auditiva	7
Hematemesis	5

3.8.2 Tifo epidémico y tifo murino

El agente causal del tifo epidémico es *R. prowazekii*. El tifo epidémico es considerado en México como una enfermedad reemergente, principalmente en estados como Chiapas, Estado de México y Oaxaca (Cortés-González & Gámez-Moreno, 2008). Es una enfermedad que se transmite principalmente por el piojo del humano (*Pediculus humanus*). Los síntomas son los siguientes: fiebre alta, escalofríos y mialgias, acompañada de cefalea intensa y malestar en general. El exantema comienza en el tronco, se extiende a extremidades y se presenta de cuatro a siete días más tarde. Este exantema se torna petequial y evoluciona a zonas pigmentadas y parduzcas. Cuando la enfermedad se torna grave, hay insuficiencia miocárdica y renal (Cortés-González & Gámez-Moreno, 2008). El período de incubación es de siete a 14 días tras la inoculación del patógeno, ya sea por el contacto de las heces del vector con la herida o por aerosoles de material infectante o contaminado (Quintero-Vélez, 2012).

A diferencia del tifo epidémico, el agente causal es *R. felis*. El tifo murino se transmite por pulgas, principalmente *C. felis*. El periodo de incubación es de seis a 14 días. Al principio se caracteriza por la triada de fiebre elevada (superior a 39 °C), cefalea intensa (más del 75% de los pacientes lo presentan) y exantema cutáneo (20 a 80% de los pacientes lo presentan). Otros síntomas y signos presentes en algunos casos clínicos son los siguientes: mialgias, tos, diarrea, náuseas, vómito, dolor abdominal, confusión y conjuntivitis (Bolaños, 2004).

3.9 Diagnóstico de *Rickettsia* spp mediante técnicas de Biología Molecular en roedores silvestres: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para el diagnóstico y detección de *Rickettsia* spp con mayor sensibilidad y rapidez son las técnicas de Biología molecular. La PCR es una reacción enzimática *in vitro* que copia millones de veces una secuencia específica de DNA blanco llevada a cabo por la enzima DNA polimerasa, de manera que cantidades minúsculas puedan ser sintetizadas y copiadas fielmente durante ciclos repetidos. Los elementos necesarios para llevar a cabo la PCR son: el templado o molde (DNA), la enzima (DNA polimerasa), los oligonucleótidos, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs), el ion magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora o buffer y H₂O (De Dios *et al.* 2013).

Todos estos componentes interactúan en un termociclador, para que la reacción se lleve a cabo. La PCR consta de 3 etapas: desnaturalización (las cadenas de DNA son calentadas y separadas), hibridación (los oligonucleótidos se alinean con la cadena complementaria del DNA molde e hibridan) y extensión (en esta etapa la DNA polimerasa comienza su función catalítica, uniendo los dNTP's y creando una cadena complementaria). Por lo general, para verificar la correcta amplificación del DNA blanco, estos "amplicones" son analizados en geles de agarosa mediante la electroforesis (De Dios *et al.* 2013).

Los oligonucleótidos RPCS. 415 (5' GCTATTATGCTTGCGGCTGT 3') y el RPCS. 1220 (5' TGCATTTCTTTCCATTGTGC 3'), los cuales amplifican una región de 806 pares de bases (pb) del gen *gltA* que codifica para la citrato sintasa, fueron diseñados por De Sousa *et al.*, 2006 para detectar la presencia de *Rickettsia* spp. en humanos y garrapatas, Alexandre *et al.*, los utilizó en el 2011 en la detección de la bacteria en perros (*Canis familiaris*) y Sánchez Montes *et al.* (2017), los utilizó en roedores silvestres.

4. Justificación

En México se ha detectado la presencia de ocho especies de *Rickettsias* en 14 estados. Particularmente en el estado de Chiapas, se ha detectado la presencia de *R. prowazekii* (piojos de humano), *R. rickettsii* (humanos) y *R. ca. bellii* (garrapatas), sin embargo, no se han realizado estudios en roedores silvestres como posibles hospederos de *Rickettsia spp*, siendo estos organismos fundamentales en la transmisión de varias zoonosis.

5. Objetivo General

- Detectar mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) la presencia de *Rickettsia spp*. en muestras de DNA de hígado de roedores silvestres del estado de Chiapas, México.

5.1 Objetivos Específicos

- Determinar la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos a utilizar en la PCR.
- Detectar la presencia de *Rickettsia* en muestras de DNA de roedores silvestres del estado de Chiapas, México, mediante la amplificación de un fragmento del gen de la citrato sintasa (*gltA*).

6. Hipótesis

En el estado de Chiapas se ha detectado la presencia de tres especies de *Rickettsias*, en humanos (*R. rickettsii*), piojos (*R. prowazekii*) y garrapatas (*R. ca. bellii*); por lo tanto, se espera que hospederos silvestres (roedores) presenten infección por *Rickettsia*.

7. Metodología

7.1 Área de estudio

Entre los años 2009 y 2010, se realizaron colectas de roedores de cuatro especies: *P. mexicanus*, *H. desmarestianus*, *O. Rostratus* y *S. hispidus*, en cuatro localidades del norte de Chiapas: Colen-Há (17.5302, -92.3072), Botiojá 1° (17.5133, -92.3445), El Limar (17.4366, -92.3995) y Emiliano Zapata (17.4595, -93.0993) (Figura 6).

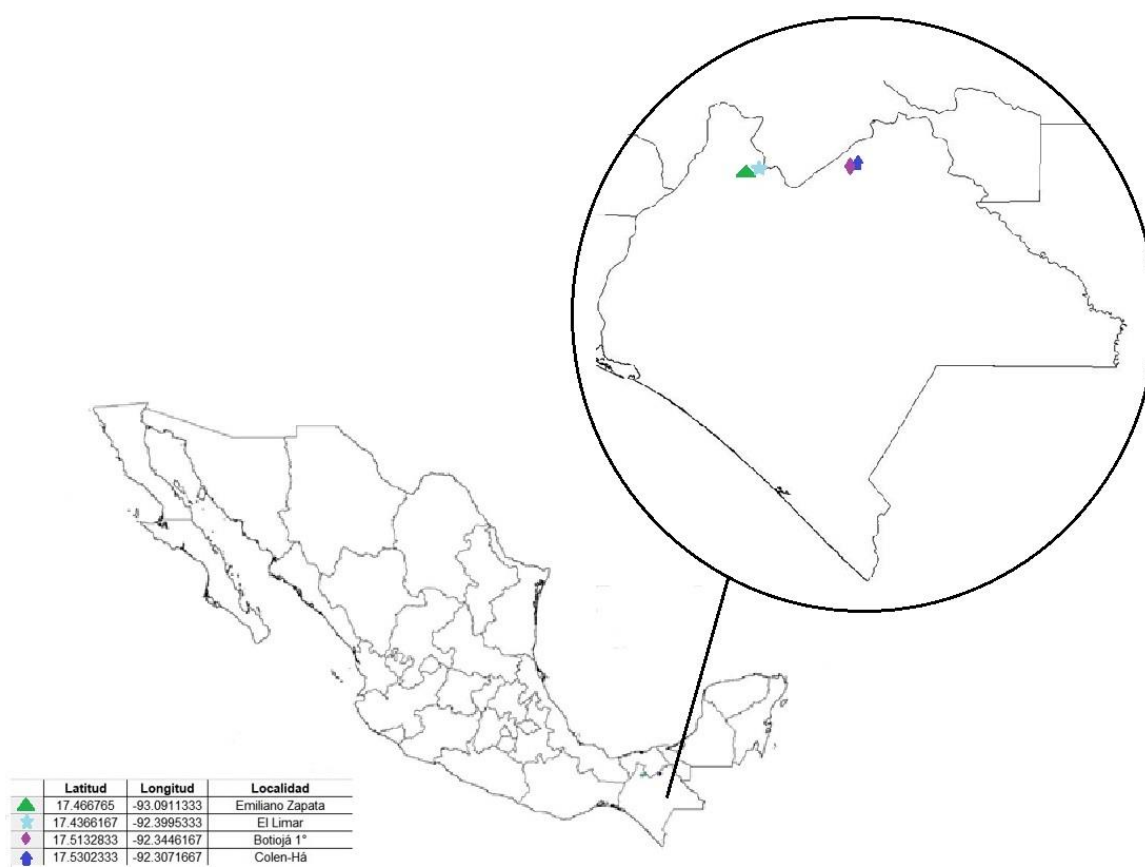


Figura 6: Zonas de colectas de roedores: *P. mexicanus*, *H. desmarestianus*, *O. Rostratus* y *S. hispidus*. Las figuras corresponden a las cuatro localidades estudiadas en el estado de Chiapas.

El estado de Chiapas representa 3.74 % de la superficie del país, en el cual, el 54% de su territorio presenta clima cálido húmedo, el 40 % clima cálido subhúmedo, el 3% templado húmedo y el 3 % restante tiene clima templado subhúmedo. La temperatura media anual más

alta es de 30°C y la mínima de 17.5°C. Predominan las selvas húmedas al norte del estado, siguiendo los bosques de coníferas y encinos, los bosques húmedos de montaña, así como los pastizales cultivados (INEGI, 2017).

La mastofauna de Chiapas representa el 39% del país, ya que ocupa el primer lugar con 205 especies de mamíferos terrestres (Naranjo *et al.*, 2005). Con respecto a roedores, se encuentran un total de 48 especies y 22 géneros, teniendo representado así el 21.7% de las 221 especies de roedores que se encuentran en territorio nacional (Retana, 2002).

- **Botiojá 1° y Colen-Há**

Ambas localidades se encuentran en el municipio de Salto del agua, Chiapas. El clima predominante es el cálido húmedo con lluvias todo el año. La temperatura oscila entre 20-28 °C, con una precipitación anual de 2500 – 4500 mm. La vegetación predominante es la selva (INAFED) (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos).

- **El Limar**

Esta localidad se encuentra ubicada en el Municipio de Tila. El clima predominante es el cálido húmedo con lluvias todo el año, y semicálido. La temperatura oscila entre 16 – 28 °C. La vegetación predominante es de selva alta (INAFED) (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos).

- **Emiliano Zapata**

Localidad ubicada en el municipio de Ixtacomitán, Chiapas. El clima predominante es cálido húmedo con lluvias todo el año, con un rango de temperatura de 20 – 26 °C y con una precipitación pluvial de 3,500 milímetros promedio anual. La vegetación predominante es de selva alta (INAFED) (Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos).

7.2 Trabajo de campo

7.2.1 Colecta de mamíferos

Para la colecta de mamíferos se colocaron 100 trampas Shermann (HB Shermann Traps Inc., Tallahassee, FL) por cuadrante, con una separación entre líneas y trampas de 10 metros cubriendo una superficie total de una hectárea. Para atraerlos se utilizó una mezcla de avena con vainilla. Las trampas fueron montadas poco antes del anochecer (18:00 h) y permanecieron activas durante la noche, se revisaron por la mañana (07:00 h). Todos los mamíferos capturados por cuadrante fueron medidos, pesados y sexados. El muestreo se realizó durante tres noches consecutivas por localidad de muestreo. La identificación taxonómica de los roedores se llevó a cabo siguiendo la nomenclatura de Ramírez-Pulido *et al.* (2005). Los roedores colectados fueron sacrificados de acuerdo con lo establecido por la Sociedad Americana de Mastozoología para el uso de mamíferos silvestres en la investigación (Sikes & Gannon, 2011). Se extrajo el hígado y se almacenó en etanol al 70%.

7.3 Trabajo de laboratorio

El trabajo de Biología molecular se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunoparasitología de la Unidad de Investigación en Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se procesaron 162 muestras de DNA de hígado de roedor (Anexo 3): *P. mexicanus* (n=102); *H. desmarestianus* (n=29), *O. rostratus* (n=17) y *S. hispidus* (n=14).

7.3.1 Cuantificación de DNA

Para el procesamiento de las muestras obtenidas, inicialmente se realizó la cuantificación de DNA en un espectrofotómetro NanoDrop2000c (Thermo Scientific). Con base en la concentración obtenida, se determinó el volumen de DNA a usar por muestra (equivalente a 300 ng) para proceder a la PCR.

7.3.2 PCR para el diagnóstico de *Rickettsia*

Para la realización de la PCR se preparó una mezcla de reacción con los siguientes componentes: 1) la GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI) que incluye la enzima Taq polimerasa, dNTPs, MgCl₂, buffer de reacción y 2 colorantes (azul y amarillo) que permiten el monitoreo correcto durante la electroforesis; 2) agua desionizada (ddH₂O), libre de iones inorgánicos, compuestos orgánicos, endotoxinas y nucleasas; 3) oligonucleótidos codificantes para el gen del citrato sintasa (*gltA*) la cual se encarga de la condensación del acetilo y el oxalacetato en el ciclo de Krebs (primera reacción del ciclo); 4) DNA de hígado de los roedores colectados.

Los oligonucleótidos empleados son: RPCS. 415 (5´ GCTATTATGCTTGCGGCTGT 3´) y el RPCS. 1220 (5´ TGCATTTCTTTCCATTGTGC 3´), los cuales amplifican una región de 806 pares de bases (pb). Como control positivo se utilizó, DNA de *R. rickettsii* y como control negativo agua desionizada (ddH₂O).

La mezcla de reacción se preparó en tubos eppendorf de 0.25 mL. La concentración final y los volúmenes utilizados fue la siguiente:

GoTaq Green Master Mix	12.5 µL(1X)
Oligonucleótido RPCS. 1220	1.0 µL (2 µM)
Oligonucleótido RPCS. 415	1.0 µL (2 µM)
DNA de muestra	1.0 µL (300 ng)
ddH ₂ O	9.5 µL
Total	25.0 µL / tubo

Una vez finalizada la mezcla de reacción, los tubos se colocaron en el termociclador (Applied Biosystem 2720). El ciclo empleado para la amplificación de *Rickettsia* fue tomado de Sousa *et al.*, 2006:

$$94\text{ }^{\circ}\text{C (2 min)} \left(\begin{array}{c} 35 \text{ Ciclos} \\ 94\text{ }^{\circ}\text{C (30 s)} \\ 58\text{ }^{\circ}\text{C (30 s)} \\ 72\text{ }^{\circ}\text{C (90 s)} \end{array} \right) 72\text{ }^{\circ}\text{C (7 min)}$$

Con la finalidad de incrementar la sensibilidad de la PCR se realizó la re-amplificación de los productos de PCR con las siguientes condiciones:

Gotaq Green Master Mix	12.5 μL
Oligonucleótido RPCS. 1220	1.0 μL (2 μM)
Oligonucleótido RPCS. 415	1.0 μL (2 μM)
Producto de PCR (anterior)	2.0 μL
ddH ₂ O	8.5 μL
Total	μL / tubo

Los productos de PCR, fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con el fluorocromo SYTO® 60 (Invitrogen, Life Technologies CA, USA) y se examinaron mediante el uso del fotodocumentador ODYSSEY CLx (LICOR Biosciences).

7.4 Determinación de la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos a utilizar en la PCR.

Se llevó a cabo la verificación de la PCR para la detección de *Rickettsia* spp. con base en el análisis de especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos.

7.4.1 Prueba de especificidad

La prueba de especificidad de los oligonucleótidos se realizó con la finalidad de confirmar que lo que se está amplificando es *Rickettsia* spp. y no DNA de otros patógenos, por lo que se efectuó la PCR usando muestras de DNA de diferentes bacterias, como son: *Leptospira interrogans* serovar canicola, *Borrelia burgdorferi* y *Bartonella vinsonii*. Como control positivo se utilizó DNA de *R. amblyommii*.

La amplificación y re-amplificación se realizaron utilizando los productos de PCR con base en las condiciones anteriores. Los productos de PCR, fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con el fluorocromo SYTO® 60 (Invitrogen, Life Technologies CA, USA) y se examinaron mediante el uso del fotodocumentador ODYSSEY CLx (LICOR Biosciences).

7.4.2 Curva de sensibilidad

Para la determinación del límite de detección de los oligonucleótidos, se realizaron PCRs a partir de diluciones seriadas de DNA de *R. amblyommii* 1:10, ajustando la primera concentración de DNA a 10 ng. Las diluciones se prepararon tomando 1 µL del DNA y agregando 9 µL de agua desionizada, de manera consecutiva, obteniendo las siguientes diluciones: 1:10 (1 ng), 1:100 (100 pg), 1:1000 (10 pg), 1:10⁴ (1pg), 1:10⁵ (100 fg), 1:10⁶ (10 fg) y 1:10⁷ (1fg).

La re-amplificación de los productos de PCR se realizó con las condiciones descritas anteriormente. Los productos de PCR, fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con el fluorocromo SYTO® 60 (Invitrogen, Life Technologies CA, USA) y se examinaron mediante el uso del fotodocumentador ODYSSEY CLx (LICOR Biosciences).

7.4.3 Amplificación del gen de la β -actina

Se amplificó el gen de la β -actina como control endógeno para confirmar el estado del DNA de las muestras procesadas. El fragmento que se amplificó es de 289 pb. La secuencia de los oligonucleótidos utilizados es la siguiente: 5' CGG AAC CGC TCA TTG CC 3' y 5' ACC CAC ACT GTG CCC ATC TA 3'. Como control positivo se utilizó DNA de hígado de ratón (Balb/c) y como control negativo agua desionizada (ddH₂O).

La mezcla de reacción se preparó en tubos eppendorf de 0.25 µL. La concentración final y los volúmenes utilizados fue la siguiente:

GoTaq Green Master Mix	12.5 μL
Oligonucleótido 9791	1.0 μL (100ng)
Oligonucleótido 9792	1.0 μL (100 ng)
DNA de las muestras	2.0 μL (300 ng)
ddH ₂ O	8.5 μL
Total	25.0 μL / tubo

Una vez finalizada la mezcla de reacción, los tubos se colocaron en el termociclador (Applied Biosystem 2720). Las condiciones del ciclo de amplificación son las siguientes:

$$95\text{ }^{\circ}\text{C (5 min)} \quad \left(\begin{array}{c} 30 \text{ Ciclos} \\ 94\text{ }^{\circ}\text{C (30 s)} \\ 55\text{ }^{\circ}\text{C (30 s)} \\ 72\text{ }^{\circ}\text{C (60 s)} \end{array} \right) \quad 72\text{ }^{\circ}\text{C (7 min)}$$

Los productos de PCR, fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con el fluorocromo SYTO® 60 (Invitrogen, Life Technologies CA, USA) y se examinaron mediante el uso del fotodocumentador ODYSSEY CLx (LICOR Biosciences).

8. Resultados

8.1 Determinación de la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos a utilizados en la PCR

A continuación, se presentan las imágenes de la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220 utilizados para el diagnóstico de *Rickettsia* spp.

8.1.1 Prueba de especificidad

En la Figura 7, se observa que los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220, no amplifican los DNA de *Leptospira shena*, *Borrelia burgdorferi* y *Bartonella vinsonii* (carriles 2, 3 y 4, respectivamente). La banda de 806 pb corresponde al control positivo (carril 5), lo cual indica que son específicos para *Rickettsia* spp.

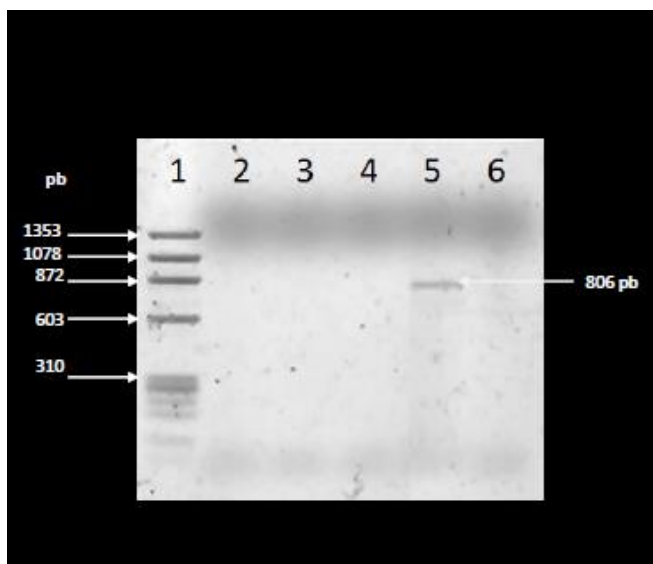


Figura 7. Especificidad de los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220, usados para la detección de *Rickettsia* spp. Carril 1: Marcador ϕ X174 RF DNA/Hae III fragments; carril 2: DNA de *Leptospira shena*; carril 3: DNA de *Borrelia burgdorferi*; carril 4: DNA de *Bartonella vinsonii* en *Hoplopleura hirsuta*; carril 5: DNA *R. rickettsii*; carril 6: Control negativo (ddH₂O).

8.1.2 Curva de sensibilidad

Se realizó una curva de sensibilidad con los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220 (806 pb). Como se puede observar en la Figura 8, estos oligonucleótidos son lo suficientemente sensibles como para amplificar en la re-amplificación el fragmento del gen *gltA* hasta una concentración de 1 pg (carril 6).

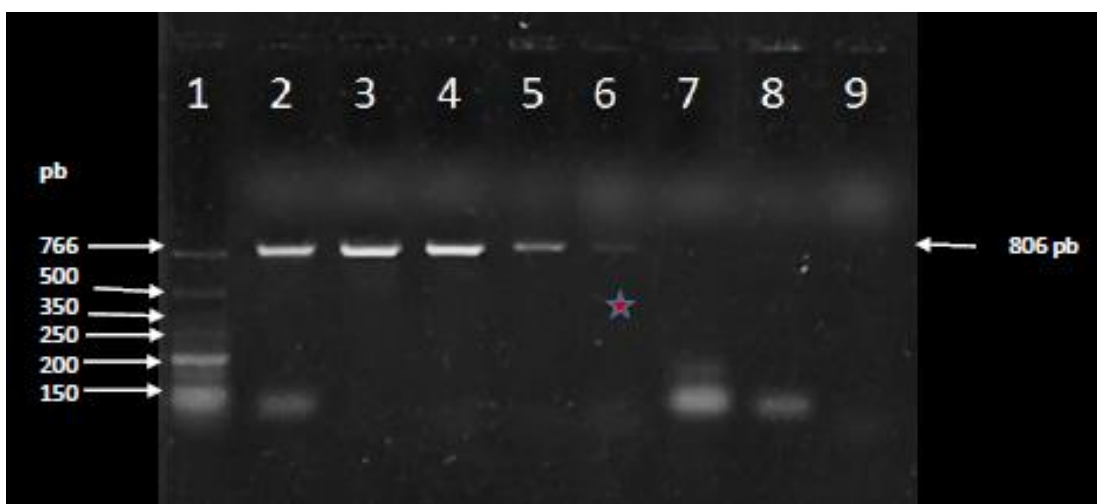


Figura 8. Sensibilidad de los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220, usados para la detección de *Rickettsia* spp. Carril 1: Marcador LMW DNA Ladder; carril 2: 10 ng; carril 3: 1 ng; carril 4: 100 pg; carril 5: 10 pg; carril 6: 1 pg; carril 7: 100 fg; carril 8: 10 fg; carril 9: Control negativo (ddH₂O).

8.1.3 Amplificación gen de la β -actina

La amplificación de la β -actina (Figura 9) en todas las muestras analizadas (carriles 2 –12), nos indica que el DNA utilizado en este estudio se encuentra en buen estado. De la misma manera, amplificó el DNA de hígado de un ratón Balb/c (control positivo) (carril 13).

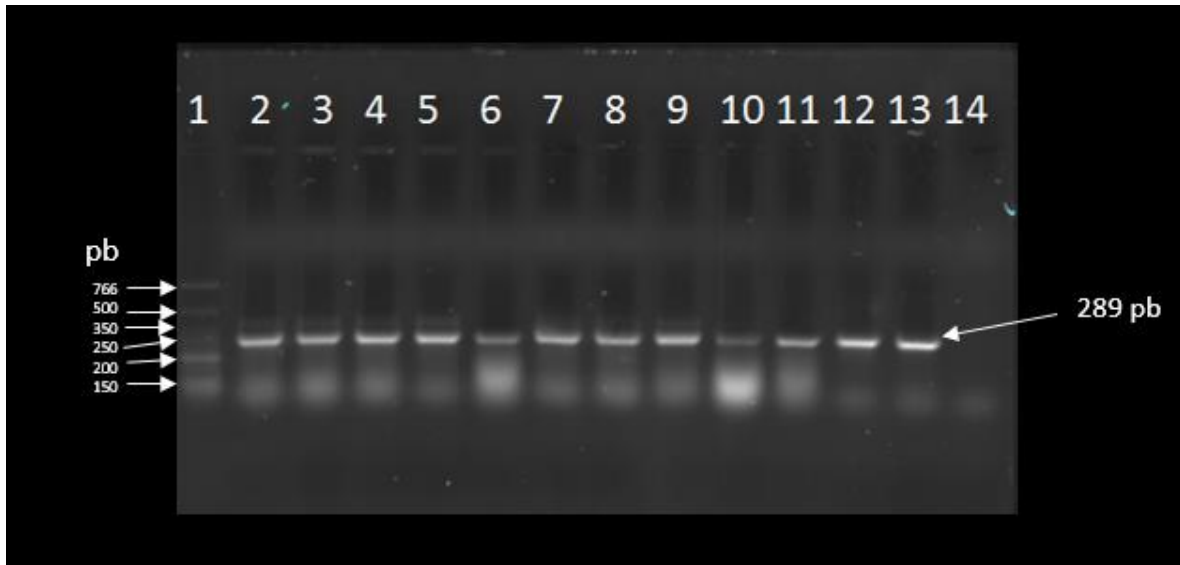


Figura 9. Imagen representativa de la amplificación del gen de la β -actina usando los oligonucleótidos 9791 y 9792. Carril 1: Marcador LMW DNA Ladder; carril 2: HA-81; carril 3: HA-84; carril 4: HA-96; carril 5: BO-48; carril 6: IXTA-76; carril 7: BO-51; carril 8: BO-61; carril 9: HA-93; carril 10: HA-98; carril 11: IXTA-77; carril 12: LIM-60; carril 13: DNA hígado de ratón Balb/c; carril 14: Control negativo (ddH₂O).

Una vez determinada la especificidad y sensibilidad de los oligonucleótidos utilizados en este estudio, así como la confirmación del estado del DNA (amplificación de la β -actina); se procedió a realizar la PCR para el diagnóstico de *Rickettsia* con el DNA de hígado de roedores silvestres colectados en el norte de Chiapas.

8.2 Registro de los hospederos analizados por especie y género

Se analizaron un total de 162 ejemplares de cuatro localidades ubicadas en el norte de Chiapas.

El número de ejemplares analizados por especie es variable, ya que de la especie *S. hispidus*, se analizaron 14 ejemplares (ocho machos y seis hembras), mientras que para la especie *O. rostratus* se estudiaron 17 ejemplares (diez machos y siete hembras). Para la especie *H. desmarestianus* se analizaron 29 ejemplares (14 machos y 15 hembras) y de *P. mexicanus* se estudiaron 102 roedores (57 machos y 45 hembras) (Gráfico 3).

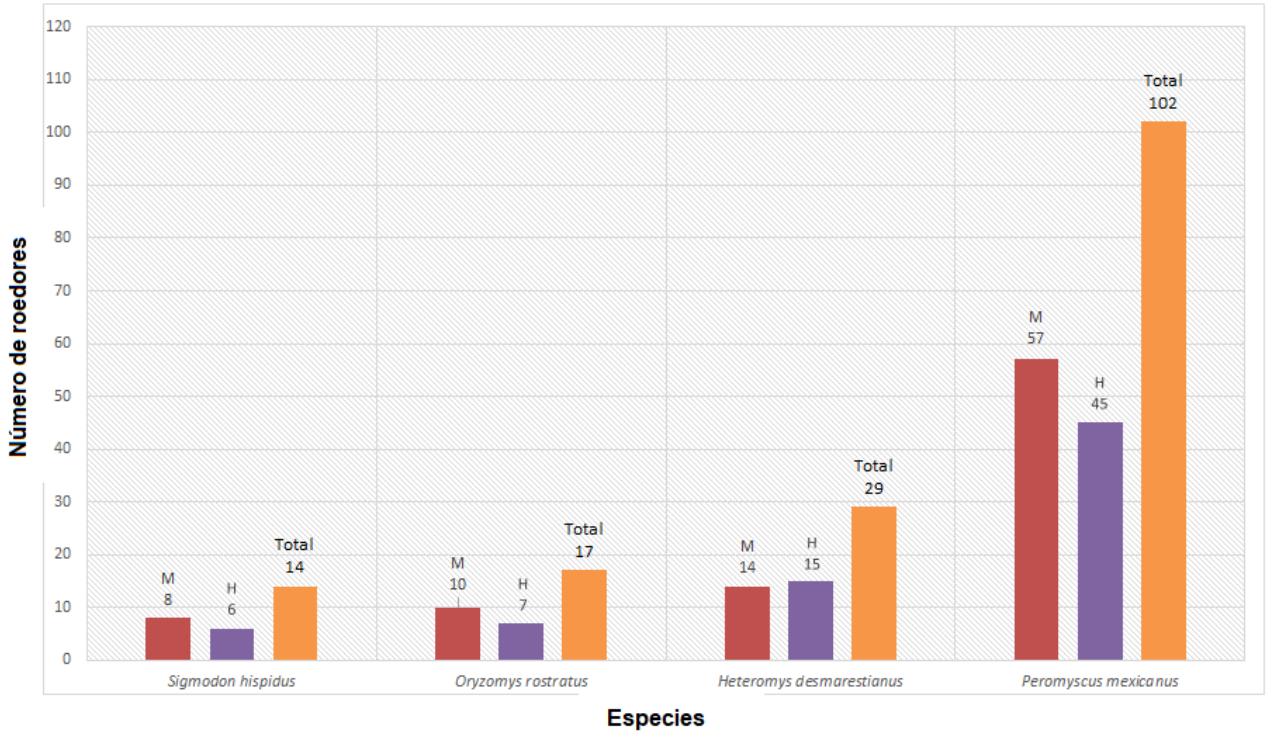


Gráfico 3. Número de roedores muestreados por especie. M=machos, H= hembras.

8.3 PCR de DNA de hígado de roedores silvestres colectados en el norte de Chiapas

En total se analizaron 162 muestras de DNA del hígado de los roedores. En ninguna muestra se observó la amplificación del gen *gltA* (RPCS. 415 y RPCS. 1220) (carriles 2–12) (Figura 10), por lo que se descarta la presencia de *Rickettsia* spp. en los DNAs analizados. Como indicador de que la PCR se realizó de manera correcta, se observa la amplificación del control positivo, DNA de *R. rickettsii* (806 pb) (carril 13).

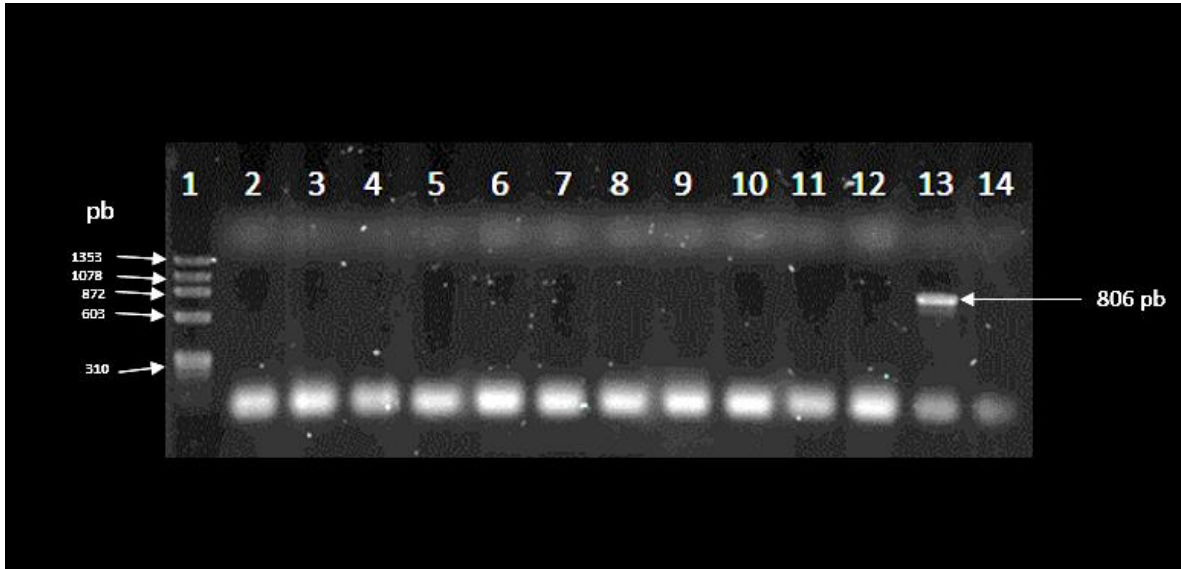


Figura 10. Imagen representativa de la PCR para detectar *Rickettsia* spp. usando los oligonucleótidos RPCS. 415 y RPCS. 1220. carril 1: Marcador ϕ X174 RF DNA/Hae III fragments; carril 2: HA-119; carril 3: HA-120; carril 4: HA-121; carril 5: HA-122; carril 6: HA-123; carril 7: HA-124; carril 8: HA-125; carril 9: HA-126; carril 10: HA-128; carril 11: HA-129; carril 12: LIM- 50; carril 13: DNA *Rickettsia rickettsii*; carril 14: Control negativo (ddH₂O).

9. Discusión

Este es el primer estudio en donde se realiza la búsqueda de *Rickettsia* spp. en roedores en diferentes localidades del estado de Chiapas. Se analizaron un total de 162 ejemplares: *P. mexicanus* (n=102), *H. desmarestianus* (n=29), *O. rostratus* (n=17), y *S. hispidus* (n=14), de los cuáles ningún ejemplar fue positivo a *Rickettsia* spp. Sin embargo, para Chiapas se ha reportado la presencia de *R. rickettsii* en pacientes (González-Torres, 2016), *R. ca. bellii* en garrapatas asociadas a murciélago (Martínez-Nájera, 2016) y *R. prowazekii* en el piojo humano (Sejvar *et al.*, 2004). Adicionalmente, en estados colindantes hay registros de *R. typhi* en pacientes del estado de Oaxaca (García-Guerrero *et al.*, 2007); En Veracruz, se encuentran registros de: *R. amblyommii* en la garrapata *A. cajennense* y *R. rickettsii* en pacientes y garrapatas: *A. cajennense* y *R. sanguineus* (Medina-Sánchez, 2013; Zavala-Velázquez *et al.*, 1996) y para Tabasco hay registros sólo de pacientes con Fiebre manchada.

Por otro lado, existen algunos trabajos sobre roedores en donde han demostrado la presencia de *Rickettsia*. Panti-May *et al.*, 2015, analizaron 23 roedores: seis *Peromyscus yucatanicus* de los cuales cuatro resultaron positivos a la presencia de *R. felis*. De igual modo, Sosa-Gutiérrez *et al.*, 2014 analizaron 476 roedores (entre ellos *P. maniculatus*, *P. hylocetes*, *P. megalops*, *P. beata*, *P. melanotis* y *P. leucopus*) en busca de distintos patógenos, incluyendo a *R. rickettsii*; encontrando un total de 18 roedores infectados, entre ellos las especies *P. maniculatus* (3.94 %), *P. megalops* (2.70 %), *P. beata* (3.70 %) y *P. leucopus* (7.93%).

Es interesante, que a los roedores del género *Peromyscus* se les ha reconocido como hospederos de diversos patógenos (Rojas-Rojas & Barbosa-Rodríguez, 2007), no obstante, en este estudio *P. mexicanus* no mostró estar infectada por lo menos con *Rickettsias* aunque fue la especie analizada con el mayor número de ejemplares (n=102).

De igual manera se ha detectado la presencia de *Rickettsia* en otros géneros y especies de roedores, por ejemplo, Panti-May *et al.* 2015, reportaron la presencia de *R. felis* en *H. gaumeri* y en *S. hispidus* en el estado de Yucatán. No obstante, en este trabajo no se identificó la presencia de *Rickettsia* spp. en ningún ejemplar de *H. desmarestianus* (n=29) y *S. hispidus* (n=14). Así mismo, también se analizaron 17 ejemplares *O. rostratus*, los cuales resultaron negativos para *Rickettsia* spp. En este último caso, no hay registros sobre *Rickettsia* spp.

En este estudio, la detección de la infección por *Rickettsia* spp, se realizó por medio de la PCR. Inicialmente, se utilizaron los oligonucleótidos que amplifican un fragmento de 381 pb, que codifica para el gen de la citrato sintasa (*gltA*) RpCS.877p (5' GGGGGCCTGCTCACGGCGG3') y el RpCS.1258n (5' ATTGCAAAAAGTACAGTGAACA 3') (Regnery et al. 1991). Estos oligonucleótidos se utilizaron solo en vectores; por lo que al realizar la prueba de especificidad de los mismos, amplificó el DNA de hígado de ratón sano (control negativo), por lo que se descartó su uso ya que presenta resultados falsos positivos. Por lo anterior, se utilizaron los oligonucleótidos que amplifican otro fragmento del gen de la citrato sintasa (*gltA*): RpCS. 415 y RpCS. 1220, mismos que ya han sido utilizados en humanos, perros y garrapatas (De Sousa *et. al.*, 2006; Alexandre *et al.*, 2011) y en roedores (Sánchez-Montes, 2017). Los cuales son específicos a *Rickettsia* spp. mostrando una sensibilidad en la amplificación de hasta 1 pg de DNA.

El órgano analizado en este estudio fue el hígado, debido a que, durante la infección en mamíferos, *Rickettsia* spp. es capaz de propagarse y proliferar en distintos órganos blanco del hospedero, como lo son los pulmones, el cerebro y el hígado a través del sistema vascular o a través del endotelio linfático (Thomas, 2016).

Para la corroboración de la integridad del DNA utilizado en esta tesis, se realizó la amplificación del gen de la β -actina. Las actinas son proteínas con secuencias altamente conservadas que se ubican dentro de las proteínas más abundantes dentro de las células eucariotas y están envueltas en la movilidad celular, estructura e integridad (NCBI, 2017). Con base en lo anterior, la amplificación de este fragmento se utilizó como control endógeno de una PCR. En donde, todos los DNAs analizados amplificaron un fragmento de 289 pb, lo cual indica la integridad del DNA.

No obstante, se analizó, si los resultados negativos podrían deberse a la temporalidad de los muestreos que se realizaron y que sea un indicativo de la presencia/ausencia de *Rickettsia*. Aunque estos muestreos se realizaron en diferentes épocas del año (Anexo 3), una de ellas corresponde a la temporada de primavera y verano, estaciones del año en el que aumenta la actividad de artrópodos hematófagos como lo son las garrapatas y se presenta un aumento en el número de casos de Rickettsiosis en humanos (Thomas, 2016), por lo que era probable encontrar roedores positivos para la bacteria. Sin embargo, no fue así.

Con respecto a los casos en humanos registrados para Chiapas, los primeros casos se registraron en el 2014, de los cuales se notificaron dos casos de pacientes con otras Rickettsiosis. Para el 2015 se notificaron tres casos de Tifo murino y dos de Fiebre manchada; en el 2016 se reportó un caso de Fiebre manchada y en el 2017 se notificaron dos casos más de Fiebre manchada (SINAVE/DGE/Salud).

De manera general, el periodo comprendido del 2014 al 2017, el número de casos de las Rickettsiosis es bajo para el estado de Chiapas (diez), al igual que en los estados colindantes: Tabasco (cinco casos), Oaxaca (15) y Veracruz (42). A diferencia de estados del noroeste de México en los cuales la notificación de casos para el mismo periodo es relativamente alto: Sinaloa, Sonora y Baja California con 859, 468 y 373 casos respectivamente.

Los roedores, son reservorios naturales de Rickettsias y buenos indicadores de la presencia/ausencia de esta bacteria (Milagres *et al.*, 2013), principalmente para las especies del género *Rattus*. No obstante, se sugiere realizar más investigaciones sobre el papel que tienen las diferentes especies de roedores silvestres y de esta manera conocer más sobre la epidemiología de las Rickettsias.

10. Conclusión

- La prueba de especificidad de los oligonucleótidos empleados en este trabajo (RpCS. 415 y RpCS 1220), demostró que fueron los indicados para la detección de *Rickettsia* spp. en roedores. Además, se determinó que los oligonucleótidos RpCS. 877p y RpCS. 1258n, no son adecuados para el diagnóstico de *Rickettsia* en roedores.
- La curva de sensibilidad nos permitió determinar que la concentración mínima de DNA en la que los oligonucleótidos RpCS. 415 y RpCS 1220 permiten la detección de *Rickettsia* spp., es de 1 pg.
- Con base en la revisión bibliográfica realizada, podemos observar que los únicos registros de *Rickettsias* en Chiapas han sido en garrapatas asociadas a murciélagos y en el piojo humano. Adicionalmente, el número de pacientes notificados del 2014 al 2017 (SINAVE/DGE/Salud) es reducido (diez casos). Por lo que podría ser admisible el no haber obtenido un resultado positivo en este estudio.
- Aún considerando los puntos anteriores, es importante realizar más estudios sobre *Rickettsia* spp. en el país debido a su gran importancia en diversos campos de la medicina, epidemiología y parasitología.

11. Referencias

- Alexandre N, Santos AS, Bacellar F, Boinas FJ, Nuncio MS, Sousa R. 2011. Detection of *Rickettsia conorii* strains in Portuguese dogs (*Canis familiaris*). Ticks and Tick-borne Diseases 2:119-122
- Álvarez-Hernández G, Candia-Plata MC, Delgado-de la Mora J, Acuña-Meléndrez NH, Vargas-Ortega AP, Licona-Enríquez JD. 2016. Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas en niños y adolescentes mexicanos: cuadro clínico y factores de mortalidad. Salud Pública de México 58:385-392.
- Azad AF, Beard CB. 1998. Rickettsial Pathogens and their Arthropod Vectors. Emerging Infectious Diseases 4:179-186.
- Azad AF. 1990. Epidemiology of murine typhus. Annual Review of Entomology 35:553–569.
- Barba-Evia JR. 2009. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas. Revista Mexicana de Patología Clínica 56:1993-208.
- Bernabeu-Wittel M, Segura-Porta F. 2005. Rickettsiosis. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 23(3):163-72.
- Bhide M, Travnicek M, Curlik J, Stefancikova A. 2004. The importance of dogs in eco-epidemiology of Lyme borreliosis: A review. Veterinary Medicine 4:135-142.
- Bogni, L, Benedetti R. 2004. Roedores: Medidas de prevención y control. Medio ambiente 5:23-28.
- Bolaños M, Angel-Moreno A, Pérez-Arellano JL. 2004. Tifus endémico (murino). Una enfermedad en la que pensar aquí y ahora. Medicina Clínica 122:383-389.
- Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. 2005. Bergey's. Manual of Systematic Bacteriology second edition; Athens, 96 pp.

Burgdorfer W, Brinton PL. 1975. Mechanisms of transovarial infection of spotted fever rickettsiae in ticks. *Annals of the New York Academy of Sciences* 266:61-72.

Burns JN, Acuna-Soto R, Stahle W. 2014. Drought and Epidemic Typhus, Central Mexico, 1655–1918. *Emerging infectious diseases* 20:442-447.

Bustamante ME. 1943. Una nueva rickettsiosis en Mexico. Existencia de la fiebre manchada americana en los estados de Sinaloa y Sonora. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 4:189–211.

Bustamante ME. 1946. II Estudio de la Fiebre Manchada en México. Fiebre manchada de la Laguna. *Revista Del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 7:39-48.

Bustamante ME, Varela G. 1944a. Aislamiento de una cepa de fiebre manchada idéntica a la de las montañas rocosas en Sinaloa, México. *Revista del Insituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* pp 117-118.

Bustamante ME, Varela G. 1944b. Características de la fiebre manchada de las montañas rocosas en Sonora y Sinaloa, México. *Revista del instituto de salubridad y enfermedades tropicales* 2:129-136.

Bustamante ME, Varela G. 1946. Estudios de la Fiebre Manchada en México: Hallazgo del *Amblyomma cajannense* naturalmente infectado en Veracruz. Bustamante ME, Varela G. *Revista Del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales* 7:75-78.

Castillo-Martínez A, Cueto-Medina SM, Hernandez-Rodriguez S, Gallegos-Robles Á, Valdés-Perez MT. 2015. Detección de *Rickettsia* sp. en la garrapata cafe del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) en Matamoros, Coahuila, México. *Acta Zoológica Mexicana* 31:80-83.

Ceballos G, Arroyo-Cabrales J, Medellín RA., Medrano L, Oliva G. 2005. Diversidad y Conservación de los mamíferos de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad-Fondo de Cultura Económica. México, D.F. pp 21-49.

Certificate of Analysis & Product Manual [En línea]. Consultado el 26 de octubre del 2016.
Disponible en: www.genelink.com

Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A. 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. *Morbidity and Mortality Weekly Report Recommendations and Reports* 55:1-27.

Chen Y, Evans J, Feldlaufer M. 2006. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology* 92:152-159.

Chirhart S, Honeycutt R, Greenbaum I. 2005. Microsatellite variation and evolution in the *Peromyscus maniculatus* species group. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 408-415.

Cortés-González M, Gámez-Moreno R. 2008. Tifus epidémico en Nuevo León: presentación del primer caso clínico pediátrico. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 22:56-59.

Covarrubias-Castro JL, Zavala-Velazquez JE, Vásquez-Arroyo J. 2007. Frecuencia de anticuerpos rickettsiales de fiebre manchada en pacientes febriles de los municipios San Pedro de las colonias y Francisco I. Madero, Coahuila, México. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas* 6:9-16.

Cuitun-Borges M, Castellanos-Escalante P, Carrillo-González N, Aguayo-Romero M, Montserrat-Balmaceda L. 2015. Presencia de *Rickettsia* sp en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* parasitando perros domésticos en la isla de Cozumel, Quintana Roo, México. *Ciencia y Humanismo en la Salud* 2:89-93.

De Dios T, Ibarra C, Velasquillo C. 2013. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en Discapacidad* 2:70-78.

De Lara-Huerta J, Cárdenas-Barragán R. 2008. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas en pediatría Revisión clínica de una serie de 115 casos. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría* 22:4-9.

De Sousa R, Barata C, Vitorino L, Santos-Silva M, Carrapato C, Torgal J, Walker D, Bacellar F. 2006. *Rickettsia sibirica* Isolation from a Patient and Detection in Ticks, Portugal. *Emerging Infectious Diseases* 12:1103-1108.

DNeasy Blood & Tissue Handbook [En línea]. Julio 20016. Disponible en: <https://www.qiagen.com/ie/resources/>

Dzul-Rosado K, González-Martínez P, Peniche-Lara G, Zavala-Velázquez J, Zavala-Castro J. 2013. Murine Typhus in Humans, Yucatan, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 19:1021-1022.

Dzul-Rosado K, Peniche-Lara G, Tello-Martín R, Zavala-Velázquez J, Campos-Pacheco R, Labruna MB, Sánchez EC, Zavala-Castro J. 2013. *Rickettsia rickettsii* isolation from naturally infected *Amblyomma parvum* ticks by centrifugation in a 24-well culture plate technique. *Open Veterinary Journal* 3:101-105.

Eremeeva M, Zambrano M.L, Anaya L, Beati L, Karpathy SE, Santos-Silva MM, Salceda B, Mackbeth D, Olguin H, Dasch GA, Aranda CA. 2011. *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus* Ticks, Mexicali, Mexico. *Journal Medical Entomology* 48:418-421.

Espinoza J, Lorenzo C, Rios E. 2011. Variación morfológica y morfométrica de *Heteromys desmarestianus* en Chiapas, México. *THERYA* 2:139-154.

Field-Cortazares J, Escárgena-Ávila AM. 2015. Seroprevalence and risk factors associated with rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) in humans in Baja California, México. *Gaceta Médica de México* 151:38-42.

Field-Cortazares J, Seijo-Moreno JL. 2011. Rickettsiosis en Baja California. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora* 28:44-50.

Ford PL, Fagerlund RA, Duszynski DW, Polechla PJ. 2004. Fleas and lice of mammals in New Mexico. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-123. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture. Rocky Mountain Research Station. 57 p.

Fournier PE, Dumler JD, Greub G, Zhang, J, Wu Y, Raoult D. 2003. Gene Sequence-Based Criteria for Identification of New Rickettsia Isolates and Description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. Journal of Clinical Microbiology 41:5456-5465.

Fournier PE, Raoult D. 2009. Current Knowledge on Phylogeny and Taxonomy of Rickettsia spp. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifht International Conference: Ann. N.Y. Academy of Sciences 1166:1-11.

García-Guerrero J, Garciadiego-Fossas P, Mendoza-Aguilar R, Espinosa-Aguilar L, Moreno-Sánchez F, Rábago-Arredondo J. 2007. Tifo murino en el estado de Oaxaca después del huracán Wilma. Anales Medicos 52:198-205.

González-Torres JL. 2016. Abordaje clínico epidemiológico de las rickettsias en un segundo nivel de atención. Salud en Chiapas 14:112-115.

Gross D, Schafer G. 2011. 100th Anniversary of the death of Ricketts: Howard Taylor Ricketts (1871e1910). The namesake of the Rickettsiaceae family. Microbes and Infection 13:10-13.

Jaramillo-Ramírez HJ, Rodríguez M. 2010. Rickettsiosis. Presentación de dos casos, en medio de un brote en Mexicali, Baja California. Medicina Interna de México 26:180-182.

Kim HC, Yang YC, Chong ST, Ko SJ, Lee SE, Klein TA, Chae JS. 2010. Detection of Rickettsia typhi and seasonal prevalence of fleas collected from small mammals in the Republic of Korea. J. Wildlife Disease 46, 165–172.

Labruna MB. 2009. Ecology of rickettsia in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases Fifth International Conference 1166:156-166.

Lane RS, Brown RN. 1991. Wood rats and kangaroo rats: Potential reservoirs of the Lyme disease spirochete in California. Journal of Medical Entomology 28:299-302.

León AP. 1944. El concepto unicista de la etiología del tifo exantemico y la clasificación de la *Rickettsia prowazeki*. Revista del instituto de salubridad y enfermedades tropicales 2:137-152.

Mansueto P, Vitale G, Cascio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A. 2012. New insight into immunity and immunopathology of rickettsial diseases. Clinical and Developmental Immunology 2012:1-26.

Martín del Campo LA, Asencio-Magdaleno A, Partida-Moreno P, Ramos-Rodríguez HJ. 2010. Primer reporte de infección por *Rickettsia rickettsii* en Guadalajara, México. Medicina Interna de México 26:183-186.

Martínez D, Torres M, Koyoc E, López K, Panti A, Rodríguez I, Puc A, Dzul K, Zavala J, Medina A, Chablé J, Manrique P. 2015. Evidencia molecular de *Rickettsia typhi* en perros de una comunidad rural de Yucatán, México. Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud 36:45-50.

Martínez-Medina MA, Álvarez-Hernández G, Padilla-Zamudio JG, Rojas-Guerra MG. 2007. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas en niños: consideraciones clínicas y epidemiológicas. Gaceta Médica de México 143:137-140.

Martínez-Medina MA, Padilla-Zamudio G, Solís-Gallardo LP, Guevara-Tovar M. 2004. Fiebre manchada de las montañas rocosas. Informe de dos casos. Gaceta Médica de México 141:309-313.

Martínez-Nájera Y. 2016. Rickettsias asociadas con argásidos (*Ixodida*: Argasidae) de cuevas en México. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 70p.

McHugh C. 1994. Arthropods: Vectors of Disease Agents. Laboratory Medicine 25:429-437.

Medina-Sánchez A, Bouyer DH, Alcantara-Rodriguez V, Mafra C, Zavala-Castro J, Whitworth T, Popov VP, Fernandez-Salas I, Walker DH. 2005. Detection of a typhus group *Rickettsia* in *Amblyomma* ticks in the state of Nuevo Leon, Mexico. Annals of the New York Academy of Sciences 1063:327-332.

Medina-Sánchez. 2013. Identificación y caracterización de *Rickettsia* sp. y sus posibles artrópodos vectores en el estado de Nuevo León y Veracruz, México. Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Nuevo Leon, México 106p.

Mercado-Uribe MC, Martínez -Arce PA, Contreras-García H, Paredes-Casillas P. 2006. Tifo epidémico en Jalisco, presentación de un caso clínico pediátrico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 26:64-66.

Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D. 2014. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infection, Genetics and Evolution* 25:122-137.

Merhej V, El Karkouri K, Raoult D. 2009. Whole genome-based phylogenetic analysis of *Rickettsiae*. *Clinical Microbiology and Infection. Supplementary* 2:336–337.

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

Milagres B, Padilha A, Montandon C, Freitas R., Pacheco R., Walker D, Labruna M, Mafra C, Galvão M. 2013. Spotted Fever Group *Rickettsia* in Small Rodents from Areas of Low Endemicity for Brazilian Spotted Fever in the Eastern Region of Minas Gerais State, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 88:937-939.

Minnelli A, Bertolotti L, Gern L, Gray J. 2012. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe: Transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and effects of climate change. *FEMS Microbiology Veterinary* 36:837-861.

Mooser H, Ruiz-Castaneda M, Zinsser H. 1931. The transmission of the virus of mexican typhus from rat to rat by *Poliplax spinulosus*. *The Journal of Experimental Medicine* 54:567-75.

Moreira-Galvao MA, Mafra C, Buffe-Chamone C, Berger-Calic S, Zavala-Velazquez E, Hughes-Walker D. 2004. Clinical and laboratorial evidence of *Rickettsia felis* infections in Latin America. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:238-240.

Mosser H. 1928. Experiments Relating to the Pathology and the Etiology of Mexican Typhus (Tabardillo): 1. Clinical Course and Pathologic Anatomy of Tabardillo in Guinea-Pigs. Oxford University Press 43:241-260.

Naranjo EJ, Lorenzo C, Horváth A. 2005. La diversidad de mamíferos en Chiapas. En Diversidad Biológica en Chiapas, M. González-Espinosa, N. Ramírez-Marcial y L. Ruiz-Montoya (eds.). Plaza y Valdés, México, D.F. pp 221-263.

NCBI [En línea]. Consultado el 20 de diciembre del 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Niebylski ML, Schrumpf ME, Burgdorfer W, Fischer ER, Gage KL, Schwan TG. 1997. *Rickettsia peacockii* sp nov. a new species infecting wood ticks, *Dermacentor andersoni*, in western Montana. International Journal of Systematic Bacteriology 47:446-52.

Nicholson WL, Paddock CD. 2017. Rickettsial (Spotted & Typhus Fevers) & Related Infections, including Anaplasmosis & Ehrlichiosis. Centers for Disease Control and Prevention. Yellow Book Chapter 3.

Oliveira KA, Pinter A, Medina-Sánchez A, Boppana VD, Wikel SK, Saito TB, Shelite T, Blanton L, Popov V, Teel PD, Walker DH, Galvao MA, Mafra C, Bouyer DH. 2010. *Amblyomma imitator* Ticks as Vectors of *Rickettsia rickettsii*, Mexico. Emerging Infectious Diseases 16:1282-1284.

Panti-May JA, Torres-Castro M, Hernández-Betancourt S, Dzul-Rosado K, Zavala-Castro J, López-Avila K, Tello-Martín R. 2015. Detection of *Rickettsia felis* in Wild Mammals from Three Municipalities in Yucatan, Mexico. EcoHealth 12:523–527.

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

Peniche-Lara G, Dzul-Rosado K, Jiménez-Delgadillo B, Vado-Solís I, Pérez-Osorio C, Zavala-Castro J. 2014. Identificación de *Rickettsia* spp. en garrapatas *Amblyomma cajennense* parasitando bovinos en ranchos del estado de Yucatán. Ciencia Humanismo Salud 1:23-27.

Peniche-Lara G, Dzul-Rosado K, Pérez-Orsorio C, Zavala-Castro J. 2015a. *Rickettsia typhi* in rodents and *R. felis* in fleas in Yucatán as a possible causal agent of undefined febrile cases. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 57:129-132.

Peniche-Lara G, Jimenez-Delgadillo B, Dzul-Rosado K. 2015b. *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia felis* infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks and *Ctenocephalides felis* fleas co-existing in a small city in Yucatán, México. *Journal of Vector Ecology* 40:422-424.

Peniche-Lara G, Ruiz-Piña HA, Ryes-Novelo E, Dzul-Rosado K, Zavala-Castro J. 2016. Infection by *Rickettsia felis* in opossums (*Didelphis* sp.) from Yucatán, México. *Revista del Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 58:32.

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.

Quintero-Vélez JC, Hidalgo M, Rodas-González JD. 2012. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y reemergente en Colombia. *Universitas Scientiarum* 17:89-99.

Ramírez-Pulido J, Arroyo-Cabrales J, Castro-Campillo A. 2005. Estado actual y relación nomenclatural de los mamíferos terrestres de México. *Acta Zoológica Mexicana* 21:21-82.

Ramos-Casillas F. (2003). Detección de *Rickettsia typhi* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) en roedores y vectores relacionados en el noreste de México. Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 92p.

Raoult D, La Escala B, Enea M, Pierre-Edouard F, Roux V, Fenollar F, Moreira-Galvao MA, De Gamballerie X. 2001. A Flea-Associated *Rickettsia* Pathogenic for Humans. *Emerging Infectious Diseases* 7:73-81.

Reid F. (1997). A field guide to the mammals of Central America y Southeast Mexico. Oxford University, Nueva York, EEUU. 384p.

Retana OG, Lorenzo C. 2002. Mamíferos Terrestres en Chiapas. Lista taxonómica, endemismos y estado de conservación. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 85:25-49.

Richter D, Schlee DB, Matuschka FR. 2011. Reservoir competence of various rodents for the Lyme disease spirochete *Borrelia spielmanii*. *Applied and Environmental Microbiology* 77:3565-70.

Ricketts HT, Wilder RM. 1910. The etiology of the typhus fever (tabardillo) of Mexico City. A further preliminary report, *J. American Medical Association* 54 p.

Rojas-Rojas L, Barboza-Rodriguez M. 2007. Ecología poblacional del ratón *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Muridae) en el Parque Nacional Volcán Poás, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 55:1037-1050.

Sánchez-Cordero V, Valadez R. 1989. Habitat y distribución del género *Oryzomys* (Rodentia: Cricetidae). *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 59:99-112.

Sánchez-Montes DS, Berzunza-Cruz M, Espinosa-Martínez D, Ríos-Muñoz C, Becker ID. 2015. Trabajos libres en modalidad oral. Panorama epidemiológico de las Rickettsiosis en México durante el período 2000-2013.

Sánchez-Montes DS, Guzmán-Cornejo C, Martínez-Nájera Y, Becker ID, Venzal J, Labruna MB. 2016. *Rickettsia lusitaniae* associated with *Ornithodoros yumatensis* (Acari: Argasidae) from two caves in Yucatán, México. *Ticks and Tick-borne Diseases* 7:1097-1101.

Sánchez-Montes DS, Ríos-Muñoz C, Espinosa-Martínez DV, Guzmán-Cornejo C, Berzunza-Cruz M, Becker ID. 2016. First report of "Candidatus *Rickettsia amblyommii*" in west coast of Mexico. *Ticks and Tick-borne Diseases* 7:1139–1145.

Sánchez-Montes DS. 2017. Estudio de las especies de *Bartonella*, *Rickettsia* y *Leptospira* asociadas con roedores y ectoparásitos de México: Desarrollo diagnóstico y análisis de prevalencia. Tesis, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 137p.

Schafer GD. 2010. 100th anniversary of the death of Ricketts: Howard Taylor Ricketts (1871-1910). The namesake of the Rickettsiaceae family. *Microbes and Infection*. 13:10-13.

Sejvar JJ, Leis A, Van Gerpen JA, Marfin AA, Petersen LR. 2004. Typhus Group Rickettsiae Antibodies in Rural Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 10:549-551.

Silvia-Goytia R, Elizondo A, Asencio-Magdaleno A, Partida-Moreno P, Ramos-Rodriguez HJ. 1952. Estudios sobre la fiebre manchada en México. II. Parásitos hematófagos encontrados naturalmente infectados. *Revista Mexicana de Medicina Familiar* 32:278-282.

Socolovschi C, Pages F, Ndiath MO, Ratmanov P, Raoult D. 2012. *Rickettsia* Species in African *Anopheles* Mosquitoes. *PLOS ONE* 7:1-9.

Solís-Henández A, Rodríguez-Vivas RI, Esteve-Gassent MD, Villegas-Pérez SL. 2016. Prevalencia de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en roedores sinantrópicos de dos comunidades rurales de Yucatán, México. *Biomédica* 36:109-17.

Sosa-Gutiérrez CG, Vargas M, Torres J, Gordillo-Pérez G. 2014. Tick-Borne Rickettsial Pathogens in Rodents from México. *Biomedical Science and Engineering* 884-889.

Sosa-Gutiérrez CG, Vargas-Sandoval M, Torres J, Gordillo-Pérez G. 2015. Tick-Borne rickettsial pathogens in questing ticks, removed from humans and animals in México. *Journal of Veterinary Science* 17:353-360.

Tamura A, Ohashi N, Urakami H, Miyamura S. 1995. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a new genus, *Orientia* gen. nov., as *Orientia tsutsugamushi* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45:589-591.

Thomas S. 2016. *Rickettsiales: Biology, Molecular Biology, Epidemiology, and Vaccine Development*. Springer International Publishing.

Trujano-Álvarez AL, Álvarez-Castañeda ST. 2010. *Peromyscus mexicanus* (Rodentia: Cricetidae). *Mammalian Species* 42:111-118.

Varela G. 1956. Contribución del Instituto de higiene al estudio del tifo exantemico. *Gaceta Medica de México*. 86:217-222.

Varela G. 1965. Importancia Epidemiológica de las recaídas en enfermedades por Rickettsias. Gaceta Médica de México 95:231-235.

Véjar-Lagave C. 1956. El tifo, Ricketts y México. Gaceta Medica de México 86:233-237.

Wibawa H, Noviana D, Tsuchiya K, Satrija F, Horii Y. 2002. Resistance of Cotton Rats, *Sigmodon hispidus*, to Primary Infection by *Nippostrongylus brasiliensis*. The Journal of Veterinary Medical Science 64 :423-426.

Woodward T, Dumbler S. 2004. The history of epidemic typhus. Infectious Disease Clinics of North America 18:127-140.

Zavala-Castro J, Zavala-Velázquez J, Walker D, Pérez-Osorio J, Peniche-Lara G. 2009. Severe human infection with *Rickettsia felis* associated with hepatitis in Yucatan, Mexico. International Journal of Medical Microbiology 299: 529–533 D.

Zavala-Castro JE, Dzul-Rosado KR, Arias-León JJ, Walker DH, Zavala-Velázquez JE. 2008. Short Report: *Rickettsia felis* Outer Membrane Protein A: A Potential Tool for Diagnosis of Patients with Flea-Borne Spotted Fever. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 79:903-906.

Zavala-Castro JE, Dzul-Rosado KR, Arias-León JJ, Walker DH, Zavala-Velázquez JE. 2008. An Increase in Human Cases of Spotted Fever Rickettsiosis in Yucatán, México, Involving Children. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 79:907-910.

Zavala-Castro JE, Dzul-Rosado KR, Peniche-Lara G, Tello-Martín R, Zavala-Velázquez JE. 2014. Isolation of *Rickettsia typhi* from Human, México. Emerging Infectious Diseases 20:1411-1412.

Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Peniche-Lara GF, Sulú-Uicab JE. 2009. Human Rickettsialpox, Southeastern Mexico. Emerging Infectious Diseases 15: 1665-1667 C.

Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Sulú-Uicab JE. 2009. Murine Typhus in Child, Yucatán, México. Emerging Infectious Diseases 15:972-974 B.

Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Ruiz-Arcila EE, Laviada-Molina H, Olano JP, Ruiz-Sosa JA, Small MA, Dzul-Rosado KR. Fatal Human Infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, México. *Emerging Infectious Diseases* 12:672-674 A.

Zavala-Velázquez J, Laviada-Molina H, Zavala-Castro J, Perez-Osorio C, Becerra-Carmona G, Ruiz-Sosa JA, Bouyer DH, Walker DH. 2006. *Rickettsia felis*, the Agent of an Emerging Infectious Disease: Report of a New Case in Mexico. *Archives of Medical Research* 37:419–422.

Zavala-Velázquez J, Ruiz-Sosa J, Vado-Solis I, Billings AN, Walker DH. 1999. Serologic study of the prevalence of Rickettsiosis in Yucatán: Evidence for a prevalent spotted fever group Rickettsiosis. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 61:405–408.

Zavala-Velázquez JE, Ruiz-Sosa JA, Sanchez-Elias RA, Becerra-Carmona G, Walker DH. 2000. *Rickettsia felis* rickettsiosis in Yucatan. *The Lancet* 356:1079-1080.

Zavala-Velázquez JE, Xue-Jie Y, Walker DH. 1996. Unrecognized spotted fever group rickettsiosis masquerading as dengue fever in México. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 55:157-159.

Zavala-Velázquez JE, Xue-Jie Y, Walker DH. 1996. Unrecognized spotted fever group rickettsiosis masquerading as dengue fever in México. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 55:157-159.

Zavala-Velázquez JE, Zavala-Castro JE, Vado-Solis I, Ruiz-Sosa JA, Moron CG, Bouyer DH, Walker DH. 2002. Identification of *Ctenocephalides felis* Fleas as a Host of *Rickettsia felis*, the Agent of a Spotted Fever Rickettsiosis in Yucatán, México. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 2:69-77.

12. Anexos

Anexo 1. Registro de Rickettsias en México.

Especie de Rickettsia	Hospedero y/o vector	Enfermedad	Municipio	Estado	Año	Autor y año
<i>Rickettsia akari</i>	<i>Canis lupus familiaris</i>	Rickettsiosis vesicular	NR	Yucatán	2009	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. E.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	NR	Yucatán	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	Guadalajara	Jalisco	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	Mérida	Yucatán	1999	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1999.
	<i>Mus musculus</i>	Rickettsiosis vesicular	Mérida	Yucatán	2009	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. C.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	NR	Sonora	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	NR	Sinaloa	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Rickettsiosis vesicular	NR	Guerrero	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
<i>Rickettsia amblyommii</i>	<i>Amblyomma cajennense</i>	Otras fiebres maculosas	NR	NR	1993-1997	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Otras fiebres maculosas	NR	Jalisco	2016	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Amblyomma mixtum</i>	Otras fiebres maculosas	NR	Jalisco	2016	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Otras fiebres maculosas	Ixhuatlán de Madero	Veracruz	2004-2007	Medina-Sánchez, 2013.
<i>Rickettsia felis</i>	<i>Canis lupus familiaris</i>	Tifo murino	NR	Yucatán	1999	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 2002.
	<i>Ctenocephalides felis</i>	Tifo murino	NR	Yucatán	1999	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 2002.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	Mérida	Yucatán	2000	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 2000.
	<i>Ctenocephalides felis</i>	Tifo murino	Mérida	Yucatán	2001	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 2006.

	<i>Didelphis virginiana</i>	Tifo murino	Tizimín	Yucatán	2005	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Didelphis marsupialis</i>	Tifo murino	Tizimín	Yucatán	2005	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Siphonaptera</i>	Tifo murino	NR	Yucatán	2008	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2008. A
	NR	Tifo murino	NR	Yucatán	2009	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. D.
	<i>Canis lupus familiaris</i>	Tifo murino	Oxkutzcab	Yucatán	2010	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. B
	<i>Ctenocephalides felis</i>	Tifo murino	Oxkutzcab	Yucatán	2010	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. B
	<i>Didelphis virginiana</i>	Tifo murino	Mérida	Yucatán	2011	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Didelphis virginiana</i>	Tifo murino	Buctotz	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Didelphis marsupialis</i>	Tifo murino	Buctotz	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2016.
	<i>Peromyscus yucatanicus</i>	Tifo murino	Mérida	Yucatán	2013	Panti-May <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Sigmodon hispidus</i>	Tifo murino	Tzucacab	Yucatán	2013	Panti-May <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Heteromys gaumeri</i>	Tifo murino	Tzucacab	Yucatán	2013	Panti-May <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Peromyscus yucatanicus</i>	Tifo murino	Rio Lagartos	Yucatán	2013	Panti-May <i>et al.</i> , 2014.
<i>Rickettsia prowazekii</i>	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	NR	NR	1655	Burns <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	NR	NR	1915	Burns <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	NR	NR	1930	Moreira <i>et al.</i> , 2004.
	<i>Poliplax spinulosa</i>	Tifo epidémico	Ciudad de México	Estado de México	1931	Mooser <i>et al.</i> , 1931.
	<i>Rattus sp.</i>	Tifo epidémico	Ciudad de México	Estado de México	1931	Mooser <i>et al.</i> , 1931.
	NR	Tifo epidémico	NR	NR	1934	Varela, 1965.

	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	NR	Ciudad de México	1939	León, 1944.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	NR	Ciudad de México	1939	León, 1944.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	Atacomulco	Estado de México	1967	Sejvar <i>et al.</i> , 2004.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	NR	Chiapas	1980	Sejvar <i>et al.</i> , 2004.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo epidémico	San Felipe del Progreso	Estado de México	1983	Sejvar <i>et al.</i> , 2004.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	Allende	Nuevo León	2001	Medina-Sánchez <i>et al.</i> , 2005.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	Linares	Nuevo León	2001	Medina-Sánchez <i>et al.</i> , 2005.
	<i>Amblyomma cajennense</i>	Tifo epidémico	NR	Nuevo León	2001	Medina-Sánchez <i>et al.</i> , 2005.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	Yahualica de Gonzalez de Gallo	Jalisco	2005	Mercado-Uribe <i>et al.</i> , 2006.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	Mexicali	Baja California	2008	Field-Cortazares & Seijo-Moreno, 2011.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	NR	Sonora	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	NR	Sinaloa	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo epidémico	NR	Guerrero	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Amblyomma imitator</i>	Tifo epidémico	Linares	Nuevo León	2004-2007	Medina-Sánchez, 2013.
<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	1906	Schafer, 2010.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Choix	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1943.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	El Fuerte	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1943.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Alamos	Sonora	1943	Bustamante & Varela, 1943.

<i>Amblyomma cajennense</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Veracruz	1946	Bustamante & Varela, 1946.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Veracruz	1946	Bustamante & Varela, 1946.
<i>Amblyomma cajennense</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Veracruz	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Veracruz	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Yucatán	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	San Pedro	Coahuila	2001	Covarrubias-Castro <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Francisco I. Madero	Coahuila	2001	Covarrubias-Castro <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Francisco I. Madero	Coahuila	2001	Covarrubias-Castro <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	San Pedro	Coahuila	2001	Covarrubias-Castro <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	San Pedro	Coahuila	2001	Covarrubias-Castro <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Huatabampo	Sonora	2003	Martínez-Medina <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Navojoa	Sonora	2003	Martínez-Medina <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Cajeme	Sonora	2003	Martínez-Medina <i>et al.</i> , 2007.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de	Novojoa	Sonora	2004	Martínez-Medina <i>et al.</i> , 2005.

	las Montañas Rocosas				
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Huatabampo	Sonora	2004	Martínez-Medina <i>et al.</i> , 2005.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Yucatán	2004	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. A.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2004	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Mérida	Yucatán	2005	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2008. B.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2005	Álvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2006	Álvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Amblyomma imitator</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Nuevo León	2007	Oliveira <i>et al.</i> 2010.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2007	Álvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Durango	2008	Eremeeva <i>et al.</i> , 2011.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Durango	2008	Eremeeva <i>et al.</i> , 2011.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Mexicali	Baja California	2008	Eremeeva <i>et al.</i> , 2011.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Mexicali	Baja California	2008	Eremeeva <i>et al.</i> , 2011.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Mexicali	Baja California	2008	Field-Cortazares & Seijo-Moreno, 2011.

<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2008	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Mexicali	Baja California	2009	Jaramillo-Ramírez <i>et al.</i> , 2010.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2009	Alvarez-Hernandez <i>et al.</i> , 2016.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Jalisco	2010	Martin del Campo <i>et al.</i> , 2010.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2010	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Oxkutzcab	Yucatán	2011	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. B
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2011	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2012	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Amblyomma parvum</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Yucatán	2013	Dzul-Rosado <i>et al.</i> , 2013.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2013	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Ensenada	Baja California	2014	Field-Cortazares & Escarcega-Ávila, 2015.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Sonora	2014	Alvarez-Hernández <i>et al.</i> , 2016.
<i>Dermaceter variabilis</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	1997-1993	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2015.
<i>Peromyscus maniculatus</i>	Fiebre maculosa de	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.

		las Montañas Rocosas				
	<i>Peromyscus megalops</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Peromyscus beata</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Peromyscus leucopus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Microtus mexicanus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Neotomodon alstoni</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	NR	2006-2011	Sosa-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	NR	Chiapas	2016	González-Torres, 2016.
<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Yucatán	1993	Zavala-Velázquez <i>et al.</i> , 1996.
	<i>Xenopsylla cheopis</i>	Tifo murino	NR	NR	1994	Raoult <i>et al.</i> , 2001.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	Allende	Nuevo León	2001	Medina-Sánchez <i>et al.</i> , 2005.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	Linares	Nuevo León	2001	Medina-Sánchez <i>et al.</i> , 2005.
	<i>Pediculus humanus</i>	Tifo murino	Monterrey	Nuevo León	2007	Cortés-González & Gámez-Moreno, 2008.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Oaxaca	2007	García-Guerrero <i>et al.</i> , 2007
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Península de Yucatán	2007	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. B.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	Mérida	Yucatán	2009	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2009. B.

	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Yucatán	2010	Dzul-Rosado <i>et al.</i> 2013.
	<i>Rattus rattus</i>	Tifo murino	Oxkutzcab	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. A
	<i>Rattus norvegicus</i>	Tifo murino	Oxkutzcab	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. A
	<i>Xenopsylla cheopis</i>	Tifo murino	Oxkutzcab	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2015. A
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	Dzibzantun	Yucatán	2012	Zavala-Castro <i>et al.</i> , 2014.
	<i>Canis lupus familiaris</i>	Tifo murino	Valladolid	Yucatán	2014	Martínez <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Sonora	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Sinaloa	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Tifo murino	NR	Guerrero	2000-2013	Sánchez-Montes <i>et al.</i> , 2015.
<i>Rickettsia</i> spp.	NR	Tifo	NR	NR	1570	Varela, 1956.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	El Fuerte	Sinaloa	1940	Bustamante & Varela, 1944 A.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Choix	Sinaloa	1940	Bustamante & Varela, 1944 A.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Choix	Sinaloa	1942	Bustamante & Varela, 1944 A.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	El Fuerte	Sinaloa	1942	Bustamante & Varela, 1944 A.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Alamos	Sonora	1942	Bustamante & Varela, 1944 A.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Choix	Sinaloa	1942	Bustamante & Varela, 1944 B.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa.	Alamos	Sonora	1942	Bustamante & Varela, 1944 B.

	No especificada				
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Choix	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1944 B.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Del Fuerte	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1944 B.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Del Fuerte	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1944 B.
<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Del Fuerte	Sinaloa	1943	Bustamante & Varela, 1944 B.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Zaragoza	Coahuila	1945	Bustamante, 1946.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	1945	Bustamante, 1946.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Torreón	Coahuila	1951	Silvia-Goytia <i>et al.</i> , 1952.
<i>Ornithodoros nicollei</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	1951	Silvia-Goytia <i>et al.</i> , 1952.
<i>Otobius lagophilus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	1951	Silvia-Goytia <i>et al.</i> , 1952.
<i>Amblyomma cajennense</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Tizimín	Yucatán	2012	Peniche-Lara <i>et al.</i> , 2014.
<i>Canis lupus familiaris</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	2013	Castillo-Martínez <i>et al.</i> , 2015.
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	2013	Castillo-Martínez <i>et al.</i> , 2015.
<i>Canis lupus familiaris</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	2013	Castillo-Martínez <i>et al.</i> , 2015.

	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Matamoros	Coahuila	2013	Castillo-Martínez <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Canis lupus familiaris</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Cozumel	Quintana Roo	2015	Cuitun-Borges <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Cozumel	Quintana Roo	2015	Cuitun-Borges <i>et al.</i> , 2015.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Torreón	Coahuila	1975-2007	De Lara-Huerta & Cárdenas-Barragán, 2008.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Gomez Palacios	Durango	1975-2007	De Lara-Huerta & Cárdenas-Barragán, 2008.
	<i>Homo sapiens</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Lerdo	Durango	1975-2007	De Lara-Huerta & Cárdenas-Barragán, 2008.
<i>Rickettsia lusitaniae</i>	<i>Ornithodoros yumatensis</i>	Fiebre maculosa. No especificada	Tekax	Yucatán	2016	Sánchez-Montes <i>et al.</i> 2016.
<i>Rickettsia ca. belli</i>	<i>Ornithodoros brodyi</i>	No patógena	San Fernando	Chiapas	2016	Martínez-Nájera, 2016.
<i>Rickettsia ca. belli</i>	<i>Ornithodoros brodyi</i>	No patógena	Lázaro Cárdenas	Quintana Roo	2016	Martínez-Nájera, 2016.

Anexo 2. Especies de *Rickettsia*, vectores y distribución geográfica (Tabla tomada de Pierre-Edouard Fournier & Didier Raoult, 2009).

Especies de <i>Rickettsia</i>	Vector	Enfermedad en humanos	Distribución geográfica
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	<i>H. marginatum, Ha. punctata, Am. Hebraeum, R. appendiculatus</i>	Fiebre Manchada no reconocida	Francia, Morocco
<i>Rickettsia africae</i>	<i>Am. variegatum, Am. habraeum, R. appendiculatus</i>	Fiebre de la Mordida de garrapata	África, Reunión, Indias occidentales
<i>Rickettsia asiática</i>	<i>I. ricinus</i>	Desconocida	Japón
<i>Rickettsia australis</i>	<i>I. holocyclus, I. tasmani, I. cornuatus</i>	Tifus de la garrapata de Queensland	Australia
<i>Rickettsia akari</i>	<i>Al. sanguineus</i>	Rickettsiosis vesicular	USA
<i>Rickettsia bellii</i>	<i>D. variabilis, D. occidentalis, D. albopictus, Haa. Lepopalustris, Am. Cooperi, Ornithodoros concanensis, Argas cooleyi</i>	Desconocida	USA, Brasil
<i>R. conorii</i> subesp. <i>Caspia</i>	<i>R. sanguineus, R. pumilio</i>	Fiebre de Astrakhan	Chad, Kosovo, Rusia, Israel
<i>R. conorii</i> subesp. <i>Conorii</i>	<i>R. sanguineus, Ha. Leachii</i>	Fiebre Manchada Mediterránea	Área mediterránea, África
<i>R. conorii</i> subesp. <i>Israelensis</i>	<i>R. sanguineus</i>	Fiebre Manchada Israelí	Israel
<i>Rickettsia felis</i>	<i>Ctenocephalides felis, Ar. Erinacei</i>	Fiebre Manchada de las pulgas	Distribución Mundial

<i>Rickettsia canadensis</i>	<i>Ha. Leporispalustris</i>	Desconocida	USA
<i>Rickettsia honei</i>	<i>Ap. Hydrosauri, Am. Cajannense, I. granulatus</i>	Fiebre Manchada de las Islas Flinders	Australia
<i>Rickettsia heilongriangensis</i>	<i>D. silvarum</i>	Rickettsiosis del Lejano Oriente	China, Rusia, Tailandia
<i>Rickettsia helvetica</i>	<i>I. ricinus, I. monospinosus, I. persulcatus, I. ovatus</i>	Agente sospechoso de una Rickettsiosis	Europa, Japón
<i>Rickettsia japonica</i>	<i>H. longicornis, Ha. flava, D. taiwanensis, I. ovatus</i>	Fiebre Manchada Oriental o japonesa	Japón
<i>Rickettsia massiliae</i>	<i>R. sanguineus, R. turanicus, R. mulsamae, R. lunucatus, R. sulcatus</i>	Otras Rickettsiosis	Francia
<i>Rickettsia montanensis</i>	<i>D. variabilis, D. andersoni</i>	Desconocida	USA
<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Am. maculatum, Am. triste, Am. americanum</i>	Desconocida	USA
<i>Rickettsia peacockii</i>	<i>D. andersoni</i>	Desconocida	USA
<i>Rickettsia prowazekii</i>	<i>Pediculus humanus</i>	Tifus epidémico	África, Rusia, Sudáfrica
<i>Rickettsia raoultii</i>	<i>R. pumilio, D. nuttalli, D. marginatus, D. silvarum, D. reticulatus</i>	TIBOLA o DEBONEL	Francia, Rusia
<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Am. Aureolatum, Am. Cajennense, D. andersoni, D. variabilis, R. sanguineus</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Brasil, México, Panamá, USA
<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>D. occidentalis, R. sanguineus</i>	Desconocida	África, Europa, USA

<i>Rickettsia slovaca</i>	<i>D. marginatus, D. reticulatus</i>	TIBOLA o DEBONEL	Europa, Rusia
<i>R. sibirica</i> <i>mongolitimona</i>	<i>Hy. Asiaticum, Hy. Truncatum</i>	Limfangitis asociada a rickettiosis	Algeria, China, Francia, Grecia, Sudáfrica
<i>Rickettsia sibirica</i>	<i>D. nutalli, D. silvarum, D. marginatus,</i> <i>D. auratus, D. pictus, Ha. Concinna,</i> <i>Ha. Yeni, Ha. Wellingtoni</i>	Tifus de garrapatas de Asia del Norte	China, Rusia
<i>Rickettsia tamurae</i>	<i>Am. testudinarium</i>	Desconocida	Japón
<i>Rickettsia typhi</i>	<i>X. cheopis, C. felis, L. segnis</i>	Tifus murino	Distribución Mundial

Al. = Allodermanyssus; *Am.* = Amblyomma, *Ap.* = Aponomma; *Ar.* = Archeopsylla; *B* = Boophilus;
D = Dermacentor; *Ha.* = Haemaphysalis; *Hy.* = Hyalomma; *I* = Ixodes; *L* = Leptopsylla; *R* =
Rhipicephalus; *X* = Xenopsylla

Anexo 3. Relación de roedores silvestres del norte de Chiapas analizados en este trabajo.

No.	Código	Especie	Localidad	Municipio	Latitud	Longitud	Fecha
1	IXTA-12	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
2	IXTA-16	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
3	IXTA-19	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
4	IXTA-22	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
5	IXTA-23	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
6	IXTA-24	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	24/11/2009
7	LIM-01	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	01/12/2009
8	LIM-02	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	01/12/2009
9	LIM-03	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	01/12/2009
10	LIM-04	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	01/12/2009
11	BO-23	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
12	BO-24	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
13	BO-26	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
14	BO-28	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
15	BO-29	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
16	BO-30	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
17	BO-31	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
18	BO-32	<i>Oryzomys rostratus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/12/2009
19	HA-21	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009
20	HA-22	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009
21	HA-23	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009
22	HA-24	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009
23	HA-25	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009
24	HA-26	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	15/12/2009

25	HA-27	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
26	HA-28	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
27	HA-29	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
28	HA-30	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
29	HA-31	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
30	HA-32	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
31	HA-33	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
32	HA-34	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
33	HA-35	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
34	HA-36	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
35	HA-37	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
36	HA-38	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
37	HA-39	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
38	HA-40	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
39	HA-41	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
40	HA-42	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
41	HA-43	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
42	HA-44	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
43	HA-45	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
44	HA-46	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
45	HA-47	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
46	HA-48	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
47	HA-49	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	15/12/2009
48	LIM-38	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
49	LIM-39	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
50	LIM-40	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010

51	LIM-41	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
52	LIM-42	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
53	LIM-43	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
54	LIM-44	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
55	LIM-45	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
56	LIM-46	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
57	LIM-47	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	04/03/2010
58	IXTA-45	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
59	IXTA-46	<i>Oryzomys rostratus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
60	IXTA-47	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
61	IXTA-48	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
62	IXTA-49	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
63	IXTA-50	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
64	IXTA-51	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	21/03/2010
65	HA-71	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
66	HA-73	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
67	HA-74	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
68	HA-75	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
69	HA-76	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
70	HA-77	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
71	HA-79	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
72	HA-80	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
73	HA-81	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
74	HA-82	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
75	HA-83	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010
76	HA-84	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	29/03/2010

77	HA-85	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
78	HA-86	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
79	HA-87	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
80	HA-88	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
81	HA-89	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
82	HA-90	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
83	HA-91	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
84	HA-92	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
85	HA-93	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
86	HA-95	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
87	HA-96	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
88	HA-97	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
89	HA-98	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430'	29/03/2010
90	BO-47	<i>Oryzomys rostratus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
91	BO-48	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
92	BO-50	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
93	BO-51	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
94	BO-52	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
95	BO-53	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
96	BO-55	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
97	BO-56	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
98	BO-57	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
99	BO-58	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
100	BO-59	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
101	BO-60	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
102	BO-61	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010

103	BO-62	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
104	BO-63	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
105	BO-64	<i>Sigmodon hispidus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
106	BO-65	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	02/04/2010
107	IXTA-56	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	15/07/2010
108	IXTA-74	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	15/07/2010
109	IXTA-75	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	15/07/2010
110	IXTA-76	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	15/07/2010
111	IXTA-77	<i>Heteromys desmarestianus</i>	Emiliano Zapata	Ixtacomitán	17°28.059'	093°05.468'	15/07/2010
112	LIM-48	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
113	LIM-49	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
114	LIM-50	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
115	LIM-51	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
116	LIM-52	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
117	LIM-53	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
118	LIM-54	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
119	LIM-55	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
120	LIM-56	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
121	LIM-57	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
122	LIM-58	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
123	LIM-59	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
124	LIM-60	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
125	LIM-61	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
126	LIM-62	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
127	LIM-63	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
128	LIM-64	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010

129	LIM-65	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
130	LIM-66	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
131	LIM-67	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
132	LIM-69	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
133	LIM-70	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
134	LIM-71	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
135	LIM-72	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
136	LIM-73	<i>Peromyscus mexicanus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
137	LIM-75	<i>Oryzomys rostratus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
138	LIM-76	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
139	LIM-77	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
140	LIM-78	<i>Heteromys desmarestianus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
141	LIM-79	<i>Sigmodon hispidus</i>	El Limar	Tila	17°26.197'	092°23.972'	26/07/2010
142	BO-87	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	19/07/2010
143	BO-88	<i>Oryzomys rostratus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	19/07/2010
144	BO-89	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	19/07/2010
145	BO-91	<i>Oryzomys rostratus</i>	Botiojá 1°	Salto del agua	17°30.797'	092°20.677'	19/07/2010
146	HA-113	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
147	HA-114	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
148	HA-115	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
149	HA-116	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
150	HA-117	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
151	HA-118	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
152	HA-119	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
153	HA-120	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
154	HA-121	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010

155	HA-122	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
156	HA-123	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
157	HA-124	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
158	HA-125	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
159	HA-126	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
160	HA-127	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
161	HA-128	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010
162	HA-129	<i>Peromyscus mexicanus</i>	Colen-Há	Salto del agua	17°31.814'	092°18.430	21/08/2010