

**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**Colegio en Ciencias Agropecuarias**  
**Maestría en Ciencias Agropecuarias**



**TESIS:**

“Detección de *Babesia* spp en *Rhipicephalus sanguineus*  
y sangre de caninos en Culiacán, Sinaloa”

**Que para obtener el grado de Maestra en Ciencias  
Agropecuarias**

**PRESENTA**

Natalia Heredia Burgos

**DIRECTORA DE TESIS:**

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

**CO-DIRECTORA DE TESIS**

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

**Culiacán, Sinaloa, México; a 06 de Agosto de 2018.**

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **NATALIA HEREDIA BURGOS**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA

\_\_\_\_\_

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

CO-DIRECTORA

\_\_\_\_\_

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

ASESORA

\_\_\_\_\_

Dra. Nohemí Castro del Campo

ASESOR

\_\_\_\_\_

MC. José Ascensión Pérez Corrales

CULIACÁN, SINALOA, AGOSTO DE 2018.



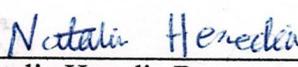
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE  
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR  
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, la que suscribe Natalia Heredia Burgos, alumna del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 0261328-1, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y cede los derechos del trabajo titulado “Detección de *Babesia* spp en *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de caninos en Culiacán, Sinaloa”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

  
\_\_\_\_\_  
Natalia Heredia Burgos

CORREO ELECTRÓNICO: [naty\\_heredia@hotmail.com](mailto:naty_heredia@hotmail.com)  
CURP: HEBN870727MSLRRT05

## **DEDICATORIA**

Le dedico esta tesis a mi padre Audon Heredia Soberanes y mi madre María Blanca Estela Burgos Leon por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de los logros se los debo a ustedes, en los que incluyo este. Me formaron con reglas y ciertas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron con constancia y ejemplo para alcanzar mis anhelos, a mis hermanas Gabriela Heredia Burgos y Blanca Cristina Heredia Burgos, asi como a mis amigos y mascotas, a todos ellos hago esta dedicatoria.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mis padre Audon Heredia Soberanes y a mi madre María Blanca Estela Burgos León, a hermanas y mis mascotas por brindarme su apoyo, en todos los momentos difíciles de mi vida, estando junto a mi, gracias a ellos soy quien soy y estoy culminando esta etapa de mi vida

De igual manera agradezco a mi comité tutorial la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho, Dra. Idalia Enríquez Verdugo , Dra. Nohemí Castro del Campo y el MC. José Ascensión Pérez Corrales por sus conocimientos, orientaciones, su amistad y su apoyo para ayudarme a culminar con éxito esta etapa en mi gormación profesional, así como al equipo de trabajo del Laboratorio de Parasitología de la Universidad, a Cesar Noe Badilla Medina por valiso apoyo en laboratorio, a mis compañeros y amigos, a la universidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia (CONACyT). Por el apoyo económico durante el programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias.

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	iv
<b>RESUMEN</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>I.INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II.REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Generalidades de <i>Babesia</i> spp</b>	<b>3</b>
2.1.1 Presentacion de la enfermedad en los perros	4
2.1.2 Morfología	5
2.1.3 Ciclo evolutivo	7
<b>2.2 Distribución geográfica de <i>Babesia canis</i>, <i>Babesia vogeli</i> y <i>Babesia gibsoni</i></b>	<b>9</b>
<b>2.3 Factores de riesgo en la infección de <i>Babesia</i> spp.</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Generalidades de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i></b>	<b>13</b>
<b>2.5 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> como vector de <i>Babesia</i> spp.</b>	<b>15</b>
<b>2.6 Babesiosis como zoonosis</b>	<b>16</b>
<b>2.7 Técnicas de Identificación de <i>Babesia</i> spp en sangre y garrapatas</b>	<b>18</b>
<b>2.8 Antecedentes directos</b>	<b>19</b>
<b>III.HIPÓTESIS</b>	<b>21</b>
<b>IV.OBJETIVOS</b>	<b>22</b>
<b>V.MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>23</b>
<b>5.1 Tipo de Estudio</b>	<b>23</b>
<b>5.2 Sitio de Muestreo</b>	<b>23</b>

<b>5.3 Toma de Muestra</b>	<b>23</b>
<b>5.4 Extracción de ADN</b>	<b>24</b>
<b>5.5 Amplificación del ADN por PCR</b>	<b>24</b>
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>26</b>
<b>VII. CONCLUSIÓN</b>	<b>29</b>
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b>	<b>30</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1.- Distribución geográfica de <i>Babesia</i> .	10
2.- Vectores de la babesiosis canina.	15
3.- Especies de <i>Babesia</i> que producen zoonosis	18
4.- Especies de <i>Babesia</i> encontradas en perros y garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en el mundo.	20
5.- Primers para detección de <i>Babesia</i> por PCR.	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1.-	Frotis sanguíneo en donde se observa <i>Babesia canis</i> por tinción de Giemsa	6
2.-	Frotis sanguíneo en donde se observa <i>Babesia gibsoni</i> por tinción de Giemsa.	6
3.-	Diagrama de un zoito de <i>Babesia</i> spp.	7
4.-	Ciclo de vida de <i>Babesia</i> spp.	9
5.-	Ciclo de vida de de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	14
6.-	Identificación taxonómica de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .	15
7.-	Producto de PCR anidado de <i>Babesia</i> spp.	26

## RESUMEN

### Detección de *Babesia* spp en *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de caninos en Culiacán, Sinaloa

Natalia Heredia Burgos

Babesiosis canina es una enfermedad emergente de gran importancia veterinaria en el mundo, *Babesia* spp. son hemoparásitos protozoarios intraeritrocíticos, miembros del phylum Apicomplexa, orden Piroplasmida, familia Babesiidae, género *Babesia*. A nivel mundial se ha detectado la presencia de diferentes especies de *Babesia*, tales como *Babesia canis* en Italia, *Babesia vogeli* en Taiwán, México, Brasil, Francia e Israel, *Babesia gibsoni* en Taiwán y Gran Bretaña. El objetivo de este trabajo es identificar *Babesia* spp. en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de caninos infestados. El tipo de estudio es Observacional, transversal por conveniencia. Para llevarlo a cabo se colectaron 40 muestras de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* recolectadas de caninos y 30 muestras de sangre de perro los cuales estaban infestados con las garrapatas que se muestrearon, las cuales se procesaron en el Laboratorio de Parasitología en la FMVZ-UAS, donde se realizó extracción de ADN por medio de la técnica fenol-cloroformo, para posteriormente se realizó PCR con oligos específicos para detección de *Babesia* spp y se analizó la secuencia en Blastn., se obtuvieron 2 (5%) muestras de garrapatas y 5 (17%) muestras de sangre de perros positivas a *B. vogeli*, se secuenciaron 1 muestra de garrapata y 4 de perros, la secuencia presenta un 98% de homología con las descritas en gen bank. La presencia de *B. vogeli* en garrapatas y perros en Culiacán sugiere un factor de riesgo en animales y humanos.

**Palabras clave:** *Babesia* spp, sangre, *Rhipicephalus sanguineus*, detección, perros, PCR.

## **ABSTRACT**

### **Detection of *Babesia* spp in *Rhipicephalus sanguineus* and canine blood in Culiacán, Sinaloa.**

**Natalia Heredia Burgos**

Canine babesiosis is an emerging disease of great veterinary importance in the world, *Babesia* spp. are intraerythrocytic protozoan hemoparasites, members of the phylum Apicomplexa, order Piroplasmida, family Babesiidae, genus *Babesia*. Worldwide, the presence of different species of *Babesia* has been detected, such as *Babesia canis* in Italy, *Babesia vogeli* in Taiwan, Mexico, Brazil, France and Israel, *Babesia gibsoni* in Taiwan and Great Britain. The objective of this work is to identify *Babesia* spp. in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and blood of infested canines. The type of study is Observational, transversal for convenience. To carry it out, 40 samples of *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected from canines and 30 dog blood samples were collected, which were infested with the ticks that were sampled, which were processed in the Parasitology Laboratory in the FMVZ-UAS, where performed DNA extraction using the phenol-chloroform technique, then PCR was performed with specific oligos for detection of *Babesia* spp and the sequence was analyzed in Blastn., 2 (5%) samples of ticks and 5 were obtained (17% ) Blood samples from dogs positive for *B. vogeli*, 1 sample of garrapara and 4 of dogs were sequenced, the sequence presents a 98% homology with those described in gene bank. The presence of *B. vogeli* in ticks and dogs in Culiacán suggests a risk factor in animals and humans.

**Keywords:** *Babesia* spp, *Rhipicephalus sanguineus*, detection, dogs, PCR.

## I. INTRODUCCIÓN

La emergencia y reemergencia de enfermedades por artrópodos ha sido un reto para la medicina humana y veterinaria (Pereira *et al.*, 2015). Las garrapatas son consideradas, después de los mosquitos, los segundos vectores transmisores de enfermedades (de la Fuente *et al.*, 2008). Se ha encontrado una prevalencia del 100% de garrapata *Rhipicephalus sanguineus* en perros de la ciudad de Culiacán, Baja California, Morelos, Coahuila (Rubio *et al.*, 2015; Tinoco-Gracia *et al.*, 2009; Cruz *et al.*, 1998; Nava-Reyna *et al.*, 2016). Los perros son animales de compañía y, dependiendo de su estilo de vida, pueden tener acceso a diferentes entornos compartiendo el mismo ambiente con los humanos, por lo cual poseen la capacidad de intercambiar ectoparásitos con otras especies e incluso las personas, constituyendo un importante reservorio de patógenos causantes de enfermedades zoonóticas (Pereira *et al.*, 2015), como *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii* (Dantas-Torres, 2008; Tarafder y Samad, 2010), *Babesia vogeli*, *Babesia gibsoni*, *Hepatozoon canis* y *Rickettsia rickettsii* (Gray *et al.*, 2013; Amuta *et al.*, 2010), el principal transmisor de babesiosis canina es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* así como también mecánicamente por transfusión de sangre de animales infectados (Solano-Gallego *et al.*, 2016). La babesiosis canina es una enfermedad emergente de gran importancia veterinaria en el mundo (Araujo *et al.*, 2015), esta enfermedad en México se encuentra subdiagnosticada, debido a la falta de estudios epidemiológicos que demuestren su prevalencia (Lira-Amaya *et al.*, 2015), es una enfermedad emergente parasitaria en animales y humanos causada por protozoarios de las diferentes especies del género *Babesia* y *Theileria* (*B. canis*, *B. vogeli* y *B. gibsoni*) (Solano-Gallego *et al.*, 2016; René *et al.*, 2012; Ogo *et al.*, 2011). La babesiosis humana es una zoonosis adquirida por la picadura de una garrapata cuando los individuos interactúan accidentalmente con el ciclo natural de parásito en el ambiente (Rodríguez, 2007). El estudio realizado por Vannier *et al.* (2015) reportó a *Babesia microti* como el principal agente etiológico de la babesiosis humana (Vannier *et al.*, 2015). Durante los últimos años, se han desarrollado técnicas de biología molecular para detectar e identificar las diferentes especies de *Babesia* que afectan a los animales, cada vez

es más frecuente el uso de los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (León y Medina, 2014). El diagnóstico rutinario en perros se confirma mediante la identificación de *Babesia* en función del tamaño y la morfología de las formas intraeritrocíticas en frotis de sangre teñidos con tinción de Giemsa (Pereira *et al.*, 2015), las pruebas moleculares por PCR son herramientas altamente confiables para la genotipificación de las subespecies de *Babesia* spp (Lira-Amaya *et al.*, 2015). A nivel mundial se detectó la presencia de diferentes especies de *Babesia*, en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de perros, se determino *Babesia canis* y *Babesia microti* en Italia (Iori *et al.*, 2010), *Babesia vogeli* en Taiwán, Brasil, Francia e Israel (Li-Lian *et al.*, 2016; Lira-Amaya *et al.*, 2015; Araujo *et al.*, 2015; René *et al.*, 2012; Harrus *et al.*, 2011), *Babesia gibsoni* en Taiwán y Gran Bretaña (Li-Lian *et al.*, 2017; Smith *et al.*, 2013), se detectó *B. vogeli* en México, por medio de PCR (Lira-Amaya *et al.*, 2015). El vector *Rhipicephalus sanguineus* está presente en una prevalencia del 100% en la ciudad de Culiacán, Sinaloa (Rubio *et al.*, 2015), el objetivo de este trabajo es identificar *Babesia* spp. en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de canios.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Generalidades de *Babesia* spp.

La *Babesia* es un hemoparásito protozoario intraeritrocítico (Vannier *et al.*, 2015), miembros del phylum Apicomplexa, orden Piroplasmida, familia Babesiidae (Rodríguez, 2007), transmitidos principalmente por picaduras de garrapatas, de gran impacto económico, veterinario y médico en el mundo. Se les considera el segundo parásito encontrado más frecuentemente en la sangre de los mamíferos después de los tripanosomas (Schnittger *et al.*, 2012). Se sabe que cuatro especies de protozoos, *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia rossi* y *Babesia gibsoni*, causan babesiosis canina (Moraes *et al.*, 2014).

El grupo que comprende *Babesia* y *Theileria* se le conoce como "piroplasmidos" debido a la morfología en forma de pera de la etapa del parásito polifarmacéutico en la sangre del huésped vertebrado (Uilenberg, 2006).

Los microorganismos que ahora se reconocen como *Babesia* fueron descritos por primera vez hacia el final del siglo XIX, por el Dr. Victor Babes, un médico rumano, observó microorganismos en los eritrocitos del ganado bovino y ovino con hemoglobinuria. Estos microorganismos fueron posteriormente llamados *Babesia bovis* y *Babesia ovis*, respectivamente, con el nombre de género *Babesia*. No mucho después de estas observaciones en los rumiantes llegó la primera descripción de *Babesia* spp. en perros de talia en 1895 (Solano-Gallego y Baneth, 2011), en Estados Unidos se informó por primera vez *Babesia canis* en 1934 (Boozer y Macintire, 2003), *Babesia gibsoni* fue reconocido por primera vez en la India en 1910 (Patton, 1910). Actualmente, estas enfermedades protozoarias ocurren en el mundo (Solano-Gallego y Baneth, 2011).

El notable impacto de las infecciones por *Babesia* se describe en tres grupos de huéspedes: animales domésticos, humanos y, más recientemente, reconocidas, algunas especies de vida silvestre, ha inspirado una gran cantidad de esfuerzos de investigación en las últimas décadas (Schnittger *et al.*, 2012).

*Babesia canis* (clasificadas como grandes 3,0-5,0 µm) y *B. gibsoni* (pequeñas 1,5-2,5 µm) son reconocidas como una especie que causa babesiosis canina en el mundo (Mahalingaiah *et al.*, 2017).

El género *Babesia* pertenece al phylum Apicomplexa, un linaje eucariota a principios de la ramificación, que se caracteriza por la presencia de un complejo apical y un citoesqueleto único distinto de la de otros eucariotas (Gordon y Silbley, 2005).

Dominio	Eucaryota
Reino	Protista
Subreino	Protozoo
Filo	Apicomplexa
Clase	Aconoidasida
Subclase	Piroplasmea
Orden	Piroplasmida
Superfamilia	Babesioidea
Familia	Babesiidae
Género	<i>Babesia</i>

(Gordon y Silbley, 2005).

### 2.1.1 Presentación de la enfermedad en los perros

Los signos clínicos más comunes en perros asociados con la babesiosis son anorexia, fiebre, depresión o letargo, mucosas pálidas, esplenomegalia y pérdida de peso (Moubri *et al.*, 2018). También se han descrito presentaciones clínicas inusuales de babesiosis canina que incluyen signos asociados al sistema nervioso central, como convulsiones. Las imágenes clinicopatológicas en los casos de *Babesia* incluyen anemia regenerativa, trombocitopenia y leucopenia (neutropenia y linfopenia), seguida de leucocitosis y neutrofilia (Nalubamba *et al.*, 2015).

La babesiosis canina se clasifica como no complicada o complicada, según la gravedad de la infección y las manifestaciones clínicas, los parásitos causan lisis de glóbulos rojos, lo que conduce a la hemólisis (anemia), puede causar dos síndromes: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y síndrome de disfunción orgánica múltiple, que podría incluir insuficiencia renal aguda, coagulopatía, babesiosis cerebral, hepatopatía, insuficiencia respiratoria aguda, síndrome de angustia, hipotensión, hemoconcentración, pancreatitis aguda, alteración del equilibrio ácido-base, debido a la diversidad de hallazgos clínicos en el diagnóstico de babesiosis, es importante identificar los parásitos intraeritrocíticos en sangre (Coralícer *et al*, 2018).

### 2.1.2 Morfología

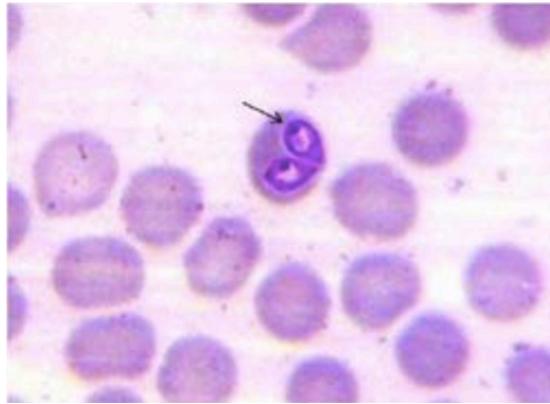
*Babesia* consiste en más de una especie que son genéticamente distintas pero morfológicamente idénticas. Se clasifican por medio de microscopía de frotis de sangre, por el tamaño de los trofozoítos, los cuales son grandes 3,0-5,0  $\mu\text{m}$  (*Babesia canis*, *Babesia vogeli*) o pequeñas 1,5-2,5  $\mu\text{m}$  (por ejemplo, *Babesia gibsoni*) (Solano-Gallego *et al.*, 2016). *Babesia canis* y *Babesia vogeli* tiene forma de pera y generalmente se presenta en pares, *Babesia gibsoni* es de forma redonda a ovalada como se muestra en la figura 1 y 2 (Zajac y Conboy, 2012). Aunque dentro del eritrocito los parásitos varían en apariencia, siendo ovals, redondos o en forma de pera (Rodríguez, 2007), se caracterizan biológicamente por el desarrollo directo en los eritrocitos y por la transmisión transovárica en la garrapata (Chauvin *et al.*, 2009).

Las formas de anillo o anulares, especialmente, puede ser confundidas con los parásitos de la malaria, particularmente con *Plasmodium falciparum*. Sin embargo, *Babesia* no forma pigmento y no causa alteraciones en la morfología o tinción del glóbulo rojo (Rodríguez, 2007).

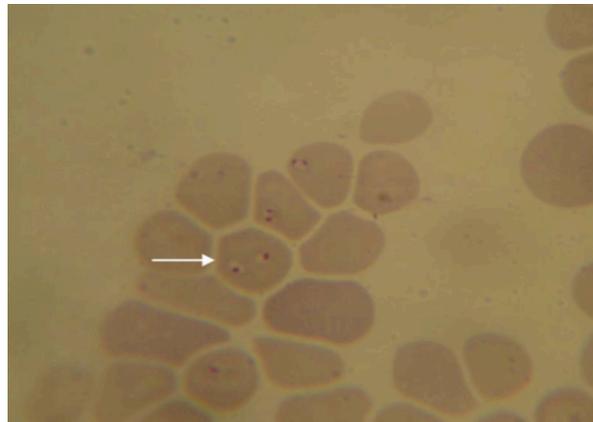
Los esporozoítos maduros tienen un tamaño aproximado de 2,2 por 0,8  $\mu\text{m}$  y tienen forma piriforme y contienen un retículo endoplasmático liso, ribosomas libres, organelos similares al mitocondrio y varias micronemas como se observa en

la figura 3. Se pueden producir aproximadamente de 5,000 a 10,000 esporozoitos dentro de un único esporoblasto (Homer *et al.*, 2000).

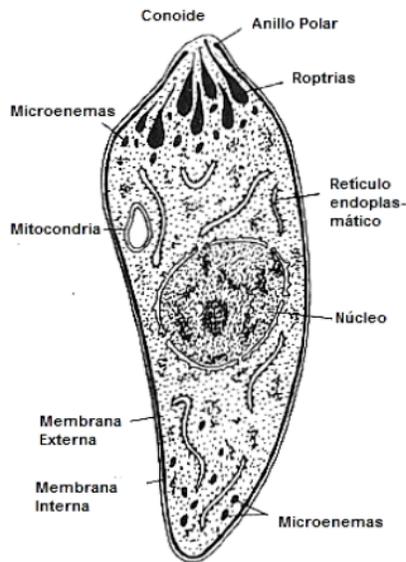
Los trofozoítos de *Babesia canis* y *Babesia vogeli* son grandes organismos piriformes bilobulados de 4-5  $\mu\text{m}$  de longitud y 2-4  $\mu\text{m}$  de diámetro y tienen forma de eritrocitos redondos, ovalados o en forma de anillo (Lewis *et al.*, 1996). *Babesia gibsoni* que mide aproximadamente 1-3,2  $\mu\text{m}$  y aparece aisladamente en eritrocitos inicialmente fue el único pequeño piroplasma del perro identificado (Ogo *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Frotis sanguíneo en donde se observa *Babesia canis* por tinción de Giemsa (Mahalingaiah *et al.*, 2017).



**Figura 2.** Frotis sanguíneo en donde se observa *Babesia gibsoni* por tinción de Giemsa (Laha *et al.*, 2014).



**Figura 3.** Diagrama de un zoito de *Babesia* spp (Cordero *et al*, 1999).

### 2.1.3 Ciclo evolutivo

*Babesia* spp. presenta dos huéspedes, el vector (la garrapatas) y el hospedero vertebrado (perro) (Chauvin *et al.*, 2009). Los huéspedes vertebrados se infectan con la inoculación de los esporozoítos con saliva durante la picadura de la garrapata (Chauvin *et al.*, 2009). Las garrapatas deben alimentarse durante 2 o 3 días para que la transmisión se complete. Estudios indican que el período de incubación de *Babesia gibsoni* es de 7 a 21 días, y para *Babesia canis*, es de 10 a 21 días (Boozer y Macintire, 2003).

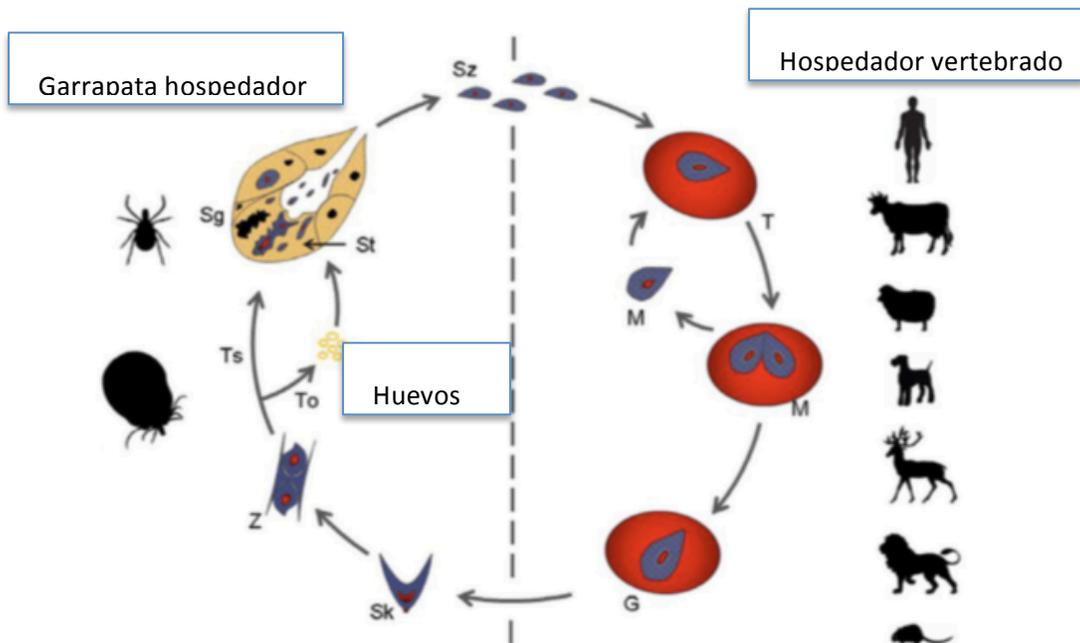
Una vez que los esporozoítos entran al torrente sanguíneo dentro del huésped después de la picadura de la garrapata infectada la cual los libera mezclados con componentes salivales (Chauvin *et al.*, 2009). Los organismos se adhieren a la membrana de los glóbulos rojos por medio de su complejo apical y determinadas proteasas que segregan y son engullidos por endocitosis (Boozer y Macintire, 2003; Cordero *et al*, 1999). El parásito dentro el eritrocito produce dos merozoítos por fisión binaria. Después de la lisis de eritrocitos, cada merozoito invade un nuevo eritrocito y se producen merogonias sucesivas (Chauvin *et al.*, 2009). Las

garrapatas se infectan con merozoitos durante la alimentación y pueden permanecer infectivas durante varias generaciones (Boozer y Macintire, 2003).

Cuando las garrapatas ingieren eritrocitos infectados con *Babesia*, la mayoría de los parásitos se desintegran y se destruyen. Sin embargo, algunas etapas específicas del parásito ("pre-gametocitos") sobreviven y se someten a un mayor desarrollo para evolucionar a gametocitos, después de la ingestión, aparecen cuerpos alargados en forma de punta de flecha que son los gametos (Chauvin *et al.*, 2009).

La gametogonia (diferenciación de gametos y formación de cigotos) se produce en las células intestinales de garrapatas, los gametos se fusionan en el lumen del tracto digestivo de la garrapata para formar un cigoto alargado de 8 a 10  $\mu\text{m}$  de longitud. Una vez que el cigoto de *Babesia* se ha internalizado, el organelo de la punta de flecha se desintegra y el cigoto se transforma en una etapa móvil, denominada oocineto. El oocineto repleto de vermículos escapa del epitelio del intestino medio y empieza a emigrar en la hemolinfa, alcanzando a penetrar los óvulos del ovario antes de que éstos elaboren una cubierta de quitina, invadiendo las células del intestino del embrión. La invasión del ovario en las garrapatas femeninas produce huevos infectados con *Babesia* (transmisión transovárica). Los oocinetos invaden las glándulas salivales de las garrapatas, donde un ciclo final de desarrollo produce los esporozoitos (Chauvin *et al.*, 2009), por medio de reproducción asexual de esporogonia (Homer *et al.*, 2000). Los esporozoitos representan la etapa infecciosa del parásito cuando introducen estos protozoos en el huésped mamífero como se observa en la figura 4 (Chauvin *et al.*, 2009). Si se permite que la garrapata se alimente a la repleción, las tasas de infección se aproximan al 100% (Homer *et al.*, 2000).

El día en que la parasitemia es más intensa es muy variable y, como regla general, el pico se puede alcanzar en promedio 6 o 7 días después de la primera aparición de parásitos en la sangre, pero puede variar de 10 días a 3 semanas dependiendo del nivel de parásitos inoculados (Schnittger *et al.*, 2012).



**Figura 4.** Ciclo de vida de *Babesia* spp (Schnittger *et al.*, 2012).

## 2.2 Distribución geográfica de *Babesia canis*, *Babesia vogeli* y *Babesia gibsoni*

La distribución de parásitos *Babesia canis* es mundial y depende de la presencia del vector de garrapatas específico responsable de su transmisión como se puede observar en el cuadro 1 (Ogo *et al.*, 2011).

**Cuadro 1.** Distribución geográfica de *Babesia*.

<b>Especie</b>	<b>Tamaño</b>	<b>Áreas reportadas</b>	<b>Referencias</b>
<i>Babesia canis</i>	3 $\mu\text{m}$ - 5 $\mu\text{m}$	Europa, Asia y Nigeria,	Ogo <i>et al.</i> , 2011.
<i>Babesia vogeli</i>	3 $\mu\text{m}$ - 5 $\mu\text{m}$	Albania, América, Asia, Australia, Croacia, Francia, Grecia, Italia, Portugal, Rumania, Serbia, Eslovenia, España y Turquía.	Schnittger <i>et al.</i> , 2012. Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2016. Ogo <i>et al.</i> , 2011.
<i>Babesia gibsoni</i>	1 $\mu\text{m}$ –3,2 $\mu\text{m}$	Asia, Australia, África, América, Croacia, Alemania, Italia, Serbia, Eslovaquia, España y Reino Unido.	Schnittger <i>et al.</i> , 2012. Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2016. Ogo <i>et al.</i> , 2011.

### **2.3 Factores de riesgo en la infección de *Babesia* spp.**

Diversos factores (por ejemplo, mayores interacciones entre las personas y el medio ambiente, aumento de la inmunosupresión, cambios en el paisaje y el clima y cambios en la abundancia de especies de hospedadores y vectores y estructuras comunitarias) han conducido a un aumento de las enfermedades transmitidas por garrapatas en las personas (Yabsley y Shock, 2013).

La babesiosis se transmite principalmente a través de las picaduras de garrapatas y, como tales, pueden infectar a una amplia variedad de animales domésticos y salvajes, así como a humanos. Esta asociación surgió como un subproducto de la adaptación de la garrapata para alimentarse de sangre (Solano-Gallego *et al.*, 2016).

Algunos datos experimentales han demostrado que la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, transmite especies de *Babesia* que infectan a los perros y humanos (Yabsley y Shock, 2013), *Rhipicephalus sanguineus* es abundante en áreas mediterráneas, prefiriendo climas templados, la importación de perros infestados de garrapatas de las regiones mediterráneas puede ser una característica común para los casos detectados en climas más fríos (Solano-Gallego *et al.*, 2016).

Las garrapatas (Acari: Ixodidae) son de considerable interés médico y veterinario en todo el mundo debido a la amplia gama de patógenos que pueden transmitir. Las enfermedades caninas emergentes transmitidas por garrapatas (por ejemplo, babesiosis, borreliosis y anaplasmosis) han atraído la atención pública y científica hacia estos artrópodos (Ogo *et al.*, 2011).

Un huésped vertebrado puede estar infectado por varias especies de *Babesia*, y asimismo la "especificidad del hospedador vertebrado" no es un criterio taxonómico confiable. Algunas especies de *Babesia* tienen un amplio rango de hospederos y se han reportado recientemente numerosas infecciones de reservorio e infecciones accidentales lo que puede ser facilitado y explicado por oligofagia o polifagia de sus especies de garrapatas (Schnittger *et al.*, 2012).

El mantenimiento y la persistencia de la *Babesia* dentro del vector (las garrapatas) están garantizados por la transmisión transovárica y transitoria durante generaciones de garrapatas (Chauvin *et al.*, 2009).

Las condiciones ambientales pueden ejercer un efecto sobre el desarrollo y la transmisión de *Babesia* mediante su efecto en la viabilidad del vector es decir es una enfermedad estacional no por ella misma sino como consecuencia del vector,

la asociación de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* con la transmisión de la babesiosis canina ha sido documentada en estudios de campo y de laboratorio, principalmente los realizados en Francia y Alemania (Solano-Gallego *et al*, 2016), y la distribución de la babesiosis se relaciona con la presencia del vector con mayor prevalencia en climas tropicales y subtropicales (Lira-Amaya *et al*, 2013). La garrapata adulta parasita a los perros, mientras las inmaduras pueden llegar a alimentarse de roedores salvajes y son endófilas. Las garrapatas adultas son más activas durante los meses de invierno, con una mayor actividad de octubre a marzo, si el invierno no es demasiado severo. Los hábitats preferidos son los límites de los senderos que atraviesan campos abiertos o pastos cerca de los bosques, una preferencia por parcelas dispersas, con vegetación y soleadas explica la afinidad por los caminos (Solano-Gallego *et al*, 2016).

La importación de perros infestados de garrapatas de las regiones tropicales puede ser una característica común para los casos detectados en los climas fríos. La capacidad de esta garrapata para sobrevivir en el interior de edificios y casas también complica la determinación precisa de su rango restrictivo en la naturaleza. Sin embargo, la hibernación (por ejemplo, en las grietas de los edificios de las perreras) se induce por las temperaturas descienden por debajo de los 6°C. También es necesario humedad, y proporcionarse artificialmente alrededor de los edificios mediante elementos ornamentales de agua y otros sistemas de riego artificial. Las riberas leves y húmedas, con su mayor densidad de carnívoros salvajes, también sean áreas populares de infestación de garrapatas adultas, y alcanza su pico entre mayo y agosto. Las larvas aparecerán en sus huéspedes en el verano, y la última etapa de desarrollo se completará en agosto - septiembre. La etapa de hibernación es la ninfa hinchada o el adulto recién mudado (Solano-Gallego *et al*, 2016).

En México la distribución de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* abarca casi todo el país, esta puede buscar alojamiento en otras especies domésticas y silvestres, además de el hospedadero común, el perro, los cambios climáticos y la adaptación por parte de las garrapatas han permitido que en busca de

supervivencia éstas pueden llegar a parasitar al humano, dada la interrelación con su hospedero natural (Lira-Amaya *et al.*, 2013).

La amplia distribución de las garrapatas en zonas tropicales de México y la estrecha relación con los cánidos permite que la interacción hospedadero-vector propicie la transmisión de patógenos (Lira-Amaya *et al.*, 2013).

#### **2.4 Generalidades de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus***

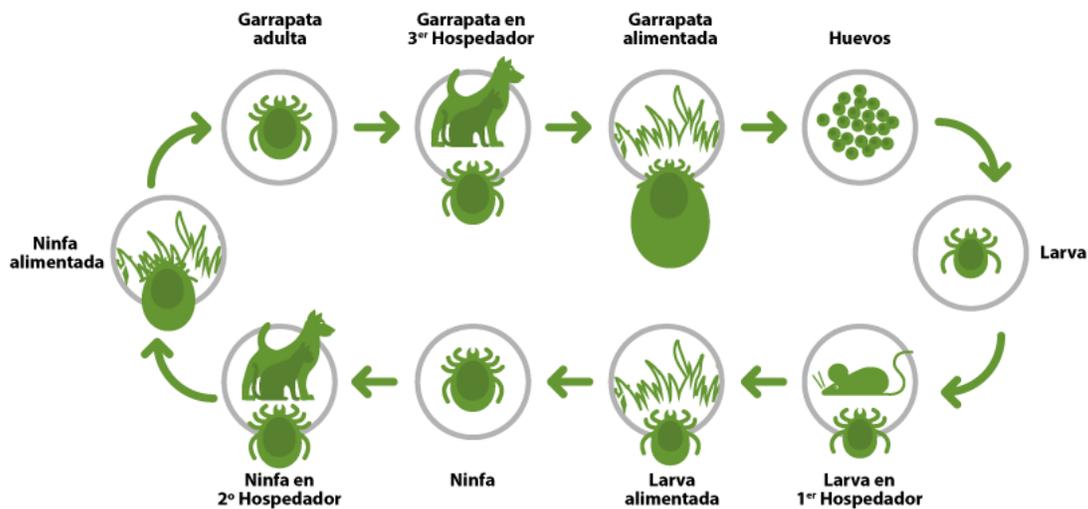
*Rhipicephalus sanguineus* fue descrito por primera vez por Latreille en 1806 como *Ixodes sanguineus* y más tarde se lo colocó en el género *Rhipicephalus* (Gray *et al.*, 2013), poco se sabe sobre el origen *Rhipicephalus sanguineus*. En 1950 Hoogstraal la describió como una especie africana típica (Gray *et al.*, 2013), sin embargo Morel y Vassiliades piensan que es una especie mediterránea (Gray *et al.*, 2013). El género *Rhipicephalus* es típico africano, por esta razón, la hipótesis de que *Rhipicephalus sanguineus* es una especie africana diseminada por perros en el mundo es la más ampliamente aceptada (Rubio *et al.*, 2015; Dantas-Torres, 2008).

Las larvas recién eclosionadas son pequeñas (longitud, 0,54 mm, anchura, 0,39 mm) y tienen solo tres patas. Las ninfas tienen cuatro pares de patas y se asemejan a los adultos, excepto que son más pequeñas (longitud, de 1,14 a 1,3 mm, anchura, de 0,57 a 0,66 mm) y sexualmente inmaduras, es decir, no tienen abertura genital. Los adultos tienen cuatro pares de patas, pero son más largos y sexualmente maduros. Los machos adultos son planos (2,28-3,18 mm de largo por 1,11-1,68 mm de ancho), de color marrón rojizo con pequeños hoyos diseminados por la espalda. Antes de la congestión, las hembras adultas se parecen a los machos en tamaño (2,4-2,7 mm de largo por 1,44-1,68 mm de ancho), forma y color. Después de tomar su comida de sangre, la hembra puede hincharse a 11,5 mm de largo por 7,5 mm de ancho y la parte ampliada del cuerpo se convierte en gris-azul o aceituna (Dantas-Torres, 2008).

*Rhipicephalus sanguineus* es una garrapata de tres hospedadores, con larvas, ninfas y adultos que por lo general se alimentan de un perro (Gray *et al.*, 2013).

En un estudio reciente con garrapatas de *Rhipicephalus sanguineus* del sur de Italia, describió el período de alimentación de las larvas varió de 2 a 5 días, mientras que las ninfas se alimentaron durante 3-6 días y las hembras durante 9 o más días (Dantas-Torres *et al.*, 2011). Los machos suelen tomar pequeñas comidas con sangre, pero pueden permanecer unidos al huésped durante varias semanas (Troughton y Levin, 2007; Dantas-Torres *et al.*, 2011).

El periodo de incubación del huevo oscila entre 6 y 23 días. Después de la incubación, pequeñas larvas nacen de los huevos e inmediatamente comienzan a buscar un huésped. Las larvas se alimentan durante 3 a 10 días, antes de dejar al huésped para mudar a las ninfas. El periodo de muda de la larva oscila entre 5 y 15 días. Las ninfas se asemejan a los adultos en su forma y alimentación durante 3 a 11 días antes de dejar al huésped para convertirse en adultos. El periodo de muda de la ninfa varía de 9 a 47 días. Las larvas de *Rhipicephalus sanguineus* pueden sobrevivir sin alimento durante aproximadamente ocho meses, mientras que las ninfas y los adultos sin alimento pueden sobrevivir durante 6 y 19 meses, respectivamente. En condiciones favorables, el ciclo de vida puede completarse en 63-91 días figura 5 (Dantas-Torres, 2008).



**Figura 5 .** Ciclo de vida de de *Rhipicephalus sanguineus* (Gray *et al.*, 2013).

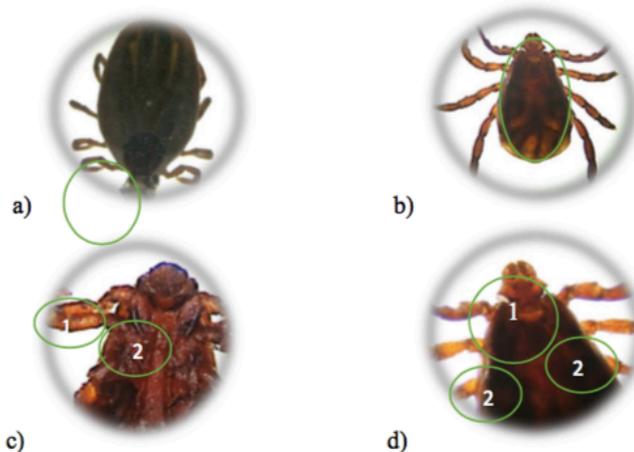
## 2.5 *Rhipicephalus sanguineus* como vector de *Babesia* spp.

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* es vector de enfermedades zoonóticas, entre ellas *Babesia* (Castillo-Martínez *et al.*, 2015). *Rhipicephalus sanguineus* es reconocido durante mucho tiempo como el vector para la transmisión de Babesiosis canina en el mundo como se puede ver en el cuadro 2 (Li-Lian *et al.*, 2017).

**Cuadro 2.** Vectores de la babesiosis canina (Ogo *et al.*, 2011; Rodríguez, 2007).

Vector	Especie	Hospedero
<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Babesia canis.</i>	Caninos y humanos.
<i>Rhipicephalus sanguineus.</i>		
<i>Rhipicephalus sanguineus.</i>	<i>Babesia vogeli.</i>	Caninos y humanos.
<i>Haemophysalis leachi</i>	<i>Babesia gibsoni.</i>	Caninos y humanos.
<i>Rhipicephalus sanguineus.</i>		

No obstante se describió que una sola especie de garrapata suele ser el vector principal de ciertas especies de *Babesia* o *Theileria*, esta capacidad de transmisión generalmente se extiende a todo el género. Además, a menudo dos o más géneros de garrapatas pueden transmitir cualquier especie de piroplasma (Schnittger *et al.*, 2012).



**Figura 6.** Identificación taxonómica de *Rhipicephalus sanguineus*. a) ♀ Escudo corto; b) ♂ Escudo extendido; c) ♀♂ 1. Espolones, 2. ♂ Apertura genital; d) ♀♂1.

Base del capítulo hexagonal, 2. Ojos convexos (Nava-Reyna *et al.*, 2016).

La transmisión de la babesiosis canina se ve facilitada por el transporte internacional e interestatal de perros y la disponibilidad de vectores de garrapatas y está considerada como una zoonosis emergente (Boozer y Macintire, 2003).

El énfasis predominante para la prevención de la babesiosis en perros y humanos ha sido centrarse en el control de garrapatas, existe un amplio espectro de productos acaricidas, las diferentes presentaciones incluyen collares de eficacia de larga duración Seresto<sup>®</sup> imidacloprid 100 mg / g, flumetrina 45 mg / g (6-8 meses), pipetas Frontline<sup>®</sup> Fipronil (3-5 semanas), sprays Frontline<sup>®</sup> Fipronil 0.25% (2-3 días) y las nuevas tabletas masticables orales Bravecto<sup>®</sup> Fluralaner (1-3 meses). Estas nuevas moléculas orales son acaricidas sistémicos; por lo tanto, las garrapatas deben unirse al hospedero y comenzar a alimentarse para encontrar los ingredientes activos (Solano-Gallego *et al.*, 2016; casas comerciales MSD, 2018; Merial, 2017; Bayer, 2018).

## **2.6 Babesiosis como zoonosis**

La babesiosis es la enfermedad producida en animales domésticos, salvajes y ocasionalmente en humanos (Rodríguez, 2007). Es una de las infecciones más comunes de animales domésticos y de vida libre en el mundo y está ganando cada vez más interés como una zoonosis emergente en humanos (Da-wei *et al.*, 2014). Se ha encontrado que las mascotas domésticas juegan un papel directo en la transmisión de zoonosis, los perros son los cánidos más exitosos, adaptados a la habitación humana en el mundo. Han contribuido al bienestar físico, social y emocional de sus dueños, especialmente los niños. Sin embargo, a pesar de los efectos beneficiosos, el vínculo estrecho entre perros y humanos sigue siendo una gran amenaza para la salud pública, con perros que albergan un número desconcertante de etapas infecciosas de agentes causantes de enfermedades transmisibles al hombre y otros animales domésticos (Tarafder y Samad, 2010). Las dos especies principales de *Babesia* que infectan a los humanos son *Babesia microti* y *Babesia divergens*, sin embargo, también hay informes de infección

humana con otras especies como *Babesia bovis* y *Babesia canis* (Homer *et al.*, 2000), es una importante enfermedad zoonótica emergente transmitida por garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* cuadro 3 (Gray *et al.*, 2010).

Una infección fatal de *Babesia divergens* reportada en 1956 fue el primer caso confirmado de babesiosis humana (Homer *et al.*, 2000). En Europa se han reportado mas de 30 casos de infecciones humanas por *Babesia divergens*, desde el primer reporte en 1957 (Mitrovic *et al.*, 2004), también se han reportado casos de infección por *Babesia microti* y *Babesia canis* por medio de PCR (Skotarczak *et al.*, 2003; Sambri *et al.*, 2004). En 2011 el centro de control y prevención de enfermedades (CDC), reportó 1124 casos de *Babesia microti* en E.U.A., sin embargo, la babesiosis ha habia sido considerada como una infección zoonótica importante y potencialmente mortal para los seres humanos (Homer *et al.*, 2000; CDC, 2012).

Las especies de *Babesia* varían en su infectividad, virulencia y patogenicidad para las personas (Yabsley y Shock, 2013). Además, la babesiosis es una enfermedad de declaración obligatoria en varios estados de los Estados Unidos, y es el parásito asociado a la transfusión de sangre más común, se espera que aumenten las infecciones reconocidas. Debido a la naturaleza zoonótica de estos parásitos, es esencial entender la historia natural (especialmente reservorios y vectores) para que se puedan implementar medidas adecuadas de control y prevención (Yabsley y Shock, 2013).

Aunque mejor conocida como una enfermedad animal, la babesiosis humana está atrayendo cada vez más atención como una zoonosis emergente en el mundo (Gray *et al.*, 2010), Osorno *et al.* (1976), realizaron un estudio en el cual se encontraron anticuerpos de *Babesia* spp., en 38 de 101 muestras de humanos residentes rurales del municipio de Las Margaritas, Chiapas, México.

**Cuadro 3.** Especies de *Babesia* que producen zoonosis (Rodríguez, 2007; Ogo *et al.*, 2011).

Parásito	Vector	Hospedero	Lugar
<i>Babesia microti</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i> <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Roedores y humanos	Cosmopolita
<i>Babesia divergens</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Vacunos y humanos	África, Asia, E.U.A.
<i>Babesia gibsoni</i>	<i>Haemophysalis leachi</i> <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perro y humanos	Cosmopolita
<i>Babesia canis</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i> <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Animales domésticos y humanos	Cosmopolita
<i>Babesia caucasica</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i> <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Animales y humanos	Cosmopolita
<i>Babesia</i> spp.	-----	Animales y humanos	México

Los síntomas clínicos de la babesiosis humana son fiebre, escalofríos, hematuria, dolor abdominal y de espalda, insuficiencia renal aguda, necrosis tubular, anemia, hemolisis, hemoglobinuria, anorexia, síndrome de dificultad respiratoria (Mørch *et al.*, 2015; Haapasalo *et al.*, 2010).

### 2.7 Técnicas de identificación de *Babesia* spp en sangre y garrapatas.

El método de diagnóstico convencional es el frotis de sangre teñidos con Giemsa se examinan mediante el microscopio para detectar la presencia de *Babesia* intraeritrocíticos (Laha *et al.*, 2014). Las dos formas de *Babesia* grande (*Babesia canis* y *Babesia vogeli*) y pequeña (*Babesia gibsoni*), se pueden distinguir usando

un frotis de sangre (Solano-Gallego *et al.*, 2016). Sin embargo los frotis sanguíneos presentan una baja sensibilidad y no permiten la diferenciación entre las especies causantes de la infección, aparte de lo anterior también es una técnica en la que influye la experiencia del personal ejecutor de la misma (León y Medina, 2014).

Por otro lado, se utilizan técnicas serológicas como la Fijación de Complemento (FC), la Inmunofluorescencia Indirecta de Anticuerpos (IFAT) y el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), las cuales tienen desventajas tales como la reactividad cruzada con anticuerpos dirigidos contra diferentes especies, limitando su especificidad y se presentan restricciones asociadas al nivel de anticuerpos en la sangre del hospedero al momento de extraer la muestra (Altay *et al.*, 2008). En este contexto, durante los últimos años, se han desarrollado técnicas de biología molecular para detectar e identificar las diferentes especies de *Babesia* y *Theileria* que afectan a los animales, estas pruebas han demostrado mayor sensibilidad y especificidad, así como una información más objetiva (Altay *et al.*, 2008). Por ello, cada vez es más frecuente el uso de los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) y técnicas adicionales como PCR anidada, PCR multiplex, amplificación isotérmica en forma cíclica (LAMP, loop mediated isothermal amplification) y la Hibridación Reversa en Línea, también conocida como RLB “Reverse Line Blotting” (León y Medina, 2014).

Por lo tanto, la observación del frotis de sangre debería ser una herramienta de diagnóstico de "primer paso", con frotis de sangre negativos reevaluados mediante PCR usando sangre o tejido esplénico para identificar la especie de piroplasma (Solano-Gallego *et al.*, 2016).

## **2.8 Antecedentes directos**

A nivel mundial se ha detectado la presencia de diferentes especies de *Babesia* en perros y garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* como se observa en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Especies de *Babesia* encontradas en perros y garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en el mundo.

Especie	País	Primers		Gen	Técnica	Autor
		Forward	Reverse			
<i>Babesia canis</i>	Italia	5'-GAC ACA GGG AGG TAG TGA CAA G-3'	5'-CTA AGA ATT TCA CCT CTG ACA GT- 3'	18S rRNA	PCR	Iori <i>et al</i> , 2010
<i>Babesia vogeli</i>	Brasil	5'-CCG TGC TAA TTG TAG GGC TAA TAC A-3'	5'-GCT TGA AAC ACT CTA RTT TCT CAA AG-3'	18S rRNA	PCR	Araujo <i>et al</i> , 2015
<i>Babesia vogeli</i>	México	5'-AAT ACC CAA TCC TGA CAC AGG G- 3'	5'-TTA AAT ACG AAT GCC CCC ACC-3'	18S rRNA	PCR	Lira- Amaya <i>et al</i> , 2015
<i>Babesia vogeli</i>	Taiwán	5'-GTT GAT CCT GCC AGT AGT-3'	5'-AAC CTT GTT ACG ACT TCT C-3'	18S rRNA	PCR	Li-Lian <i>et al</i> , 2016
<i>Babesia vogeli</i>	Israel	5'-AAT ACC CAA TCC TGA CAC AGG G-3'	5'-TTA AAT ACG AAT GCC CCC AAC-3'	18S rRNA	PCR	Harrus <i>et al</i> , 2011
<i>Babesia gibsoni</i>	Taiwán	5'-GTT GAT CCT GCC AGT AGT-3'	5'-AAC CTT GTT ACG ACT TCT C-3'	18S rRNA	PCR	Li-Lian <i>et al</i> , 2017
<i>Babesia gibsoni</i>	Gran Bretaña	5'-AGG GAG CCT GAG AGA CGG CTA CC - 3'	5'-TTA AAT ACG AAT GCC CCC AAC -3'	18S rRNA	PCR	Smith <i>et al</i> , 2013

De acuerdo a los trabajos realizados sobre la distribución de la garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), Culiacán coincide con los resultados de un estudio sobre las garrapatas del género *Rhipicephalus sanguineus* que fueron encontradas en los perros en un 100% (Rubio *et al.*, 2015)

### III. HIPÓTESIS

*Babesia* spp se encuentra presente en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y en sangre de perros de Culiacán, Sinaloa.

## IV. OBJETIVO

### **Objetivo general**

Identificar *Babesia* spp. en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de perros en Culiacán, Sinaloa.

### **Objetivos específicos**

Detectar *Babesia* spp. en garrapatas y sangre de perros mediante el gen 18S ARNr por PCR.

Identificar *Babesia vogeli* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de perros por análisis “*in silico*”.

## V. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 Tipo de estudio

Observacional, transversal por conveniencia (Thursfield, 2005).

### 5.2 Sitio de Muestreo

El estudio se realizó en el municipio de Culiacán, Sinaloa, ubicado geográficamente en las coordenadas 24° 47' 21.64" Norte y 107°22' 26.74" Oeste, con una altura de 76 msnm, con 33.3°C y 16.3°C como temperatura máxima y mínima extrema; con 144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 676 mm, con lluvias en verano (julio a septiembre), el clima de la región es tropical seco (BWh y BSh) de acuerdo a la clasificación de Koeppen (INEGI, 2011).

### 5.3 Toma de Muestra

El muestreo se realizó de junio a diciembre de 2017, la recolección de muestras de sangre se obtuvieron de las venas cefálica o yugular de perros utilizando tubos de extracción de sangre con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetracético). En el caso de perros con baja infestación de garrapatas (de 1 a 5 garrapatas), todas las garrapatas recuperadas de los perros fueron sometidas a extracción de ADN. En casos de intensa infestación (más de 5 garrapatas), las garrapatas adultas (hembras alimentadas y machos) fueron seleccionadas preferentemente. Los especímenes de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* que se utilizaron fueron adultas y ninfas. Se retiraron cuidadosamente, se eligió un gancho tick twister de el tamaño adecuado según la garrapata (gancho chico en caso de ninfas y machos o grande en caso de hembras alimentadas), el gancho se pasó por debajo de la garrapata (entre la piel del perro y la garrapata), se levantó el gancho ligeramente y se giró 360°, la garrapata se separó por sí misma después de 2 o 3 rotaciones, el número de especímenes recolectado fue aleatoriamente, las muestras de garrapatas se limpiaron mediante sonicación en solución de etanol al 70% durante 5-10 minutos y después se lavaron a dos veces en agua

destilada estéril. Después, se procedió a identificar con claves dicotómicas los especímenes *Rhipicephalus sanguineus* (Zajac y Conboy, 2012), en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

#### **5.4 Extracción de ADN**

##### **Extracción de ADN de la muestra de garrapata**

Las garrapatas obtenidas se mantuvieron refrigeradas hasta el momento de ser procesadas, se tomaron un total de 500 mg de garrapatas, usando un mortero fueron maceradas mecánicamente en 1 ml de amortiguador de lisis (TE: tris 100 mM y EDTA 10 mM). La extracción de ADN se llevó a cabo usando la técnica de fenol-cloroformo, se agregó amortiguador de lisis TE, dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubó a 37°C con calor seco y a 56°C con calor húmedo por una h respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, se obtuvo un sobrenadante y se añadió etanol, se congeló por 20 min a -80°C. Se centrifugó por 20 min a 12000 RPM y se decantó. A la pastilla obtenida se le agregó 50 µl de agua inyectable estéril (Sambrook *et al.*, 1989). El ADN obtenido se observó en un gel de agarosa al 1% teñido con Gel Red en lámpara de luz ultravioleta (Huang, 2014).

#### **5.5 Amplificación del ADN por PCR**

El ADN extraído de las muestras de sangre se usaron como molde para amplificación por PCR. Se amplificó el fragmento específico que codifica el gen rRNA 18S para *Babesia* spp y *Babesia vogeli* Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Primers para detección de *Babesia* por PCR.

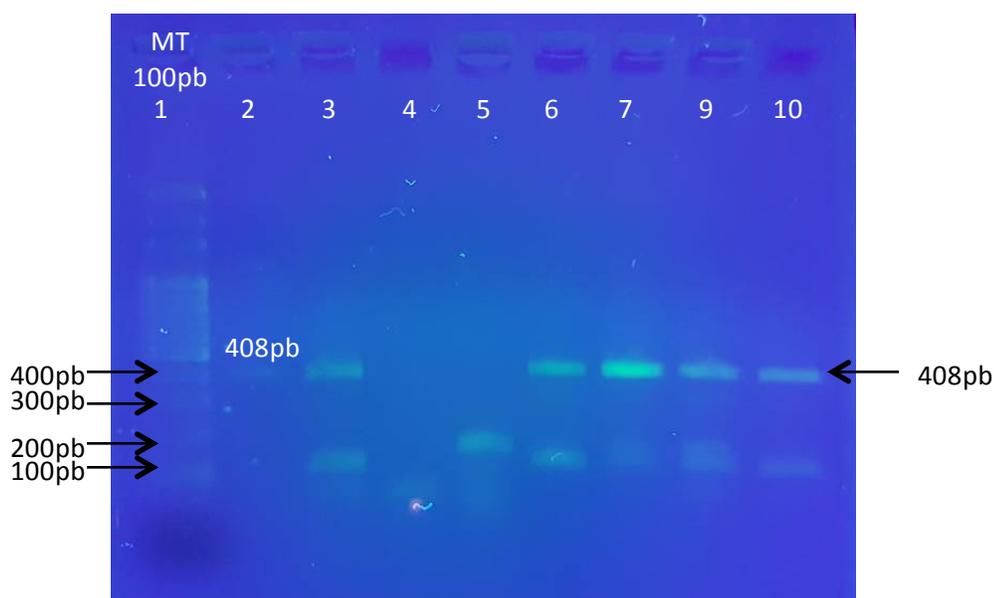
Especie	Gen	Secuencia de primer (5'-3')		Amplificación	Autor
		Forward	Reverse		
<i>Babesia</i> spp.	18S rRNA	5'-AAT TAC CCA ATC CTG ACA CAG GG- 3'	5'-TTA AAT ACG AAT GCC CCC AAC-3'	408pb	Carcy <i>et al</i> , 2015.
<i>Babesia</i> <i>canis</i> .	18S rRNA	5'-GCAT CTG GAA TAG CTA GTG C-3'	5'-TGG AAA TGA CCT ACA ACA TAC-3'	750pb	Annoscia <i>et al</i> , 2017.
<i>Babesia</i> <i>vogeli</i> .	18S rRNA	5'-GCA TCT GGA ATA GCT AGT GC-3'	5'-CTG CTT CTA AAC CAG AAG TG-3'	450pb	Annoscia <i>et al</i> , 2017.

Los productos de PCR se enviaron a secuenciar a la empresa Eurofins Genomics LLC, 12701 Plantside Drive, Louisville, KY 40299. El análisis *In Silico* se realizó al contar con la secuenciación y enseguida las secuencias que se obtuvieron se comprobaron con el software Chromas lite v.2.1.1 y se compararon con los datos de secuencias disponibles en el GenBank, utilizando el BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio 2 (5%) muestras de garrapatas y 5 (17%) muestras de perros resultaron positivas a *Babesia* spp., las cuales amplificaron alrededor de 408 pb, por medio de PCR como se puede observar en la Figura 7.

La babesiosis canina es una importante enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas de los perros, se considera un problema veterinario emergente en el mundo (Ogo *et al.*, 2011). Se ha descrito la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* como vector de *Babesia* spp.



**Figura 7.** Producto de PCR anidado de *Babesia* spp., en gel de agarosa 1.5% electroforesis. Carril 1: marcador de ADN de 100pb, Carril 2: garrapata positiva a *Babesia* spp., Carril 3: garrapata positiva a *Babesia* spp., Carril 4: garrapata negativa a *Babesia* spp., Carril 5: garrapata negativa a *Babesia* spp., Carril 6: perro positivo a *Babesia* spp., Carril 7: perro positivo a *Babesia* spp., Carril 8: perro positivo a *Babesia* spp., Carril 9: perro positivo a *Babesia* spp., Carril 10: perro positivo a *Babesia* spp.

Este estudio proporciona la primera evidencia de *Babesia* spp. esta presente en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* extraídas en perros de Culiacán, Sinaloa, semejante al estudio en Cuernavaca, México donde se detectó *Babesia vogeli* la cual amplificó a 479 pb, las muestras fueron de sangre de perro y garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Lira-Amaya *et al.*, 2015), a nivel mundial también se a detectó *Babesia* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*, en Taiwán se detectó *Babesia vogeli* amplificando a 772 pb, aun cuando es el mismo gen el detectado en el trabajo es distinto tamaño debido al primer utilizado (Li-Lian *et al.*, 2016; Li-Lian *et al.*, 2017) y en Francia se identificó *Babesia vogeli* donde amplificó a 422 pb(René *et al.*, 2012).

En México se tiene escasa información de que *Babesia canis* sea transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Lira-Amaya *et al.*, 2015), por lo cual no se considera la babesiosis canina como una enfermedad de control (Ogo *et al.*, 2011). Sin embargo la presencia de *Babesia* en garrapatas puede ser un factor de riesgo de la enfermedad a los perros y en humanos.

*Rhipicephalus sanguineus* ha sido reconocido durante mucho tiempo como el vector para la transmisión de Babesiosis canina en el mundo (Li-Lian *et al.*, 2017).

Es necesario crear conciencia de la salud pública sobre el cuidado de los perros y control de las garrapatas son necesarios para prevenir y controlar la posibilidad de transmisión de babesiosis y otras infecciones zoonóticas en humanos que viven en Culiacán, Sinaloa y otras ciudades alrededor (Araujo *et al.*, 2015).

Debido a que los perros sirven como animales de compañía para los humanos, su capacidad para llevar las garrapatas al ambiente de vida puede aumentar el riesgo de infección (Solano-Gallego *et al.*, 2016).

También se caracterizó el gen 18S rRNA de *Babesia vogeli*, aislado de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de Culiacán, Sinaloa. Como se muestra:

AAA TTT AAT TAT CCG CGC AGA GAA ACT CAG GCT ATG CTT GAT TGA  
TGT GTG CCA ACC CTC CCA GAT TAC CCC TTG GAG GGC AAG TCT GGT

GCA GCT GCC GCG GTA ATT CCT GCT CCA ATA GCG TAT ATT AAA CTT  
GTT GCA GTT TTTT CTC CCT TTA ACT CAT ATA TAA AGC CGA ACA TCG  
ATA TAC TTT TTC GTT TCG CTG AAC AAT AAC ACA TCA CTT ATA ACT TAA  
TTG GCC ACA TTG AAC TCT ACG AAT CAC CGG ACC ATT GAA CGC CTC  
GGG CTC TTA.

Se realizó el análisis *In Silico* en el programa computacional Blast y se obtuvo que presenta una homología del 87% con *B. vogeli*, como lo reportado en China (Chen *et al.*, 2014).

Por otra parte se caracterizó el gen 18S rRNA de *Babesia vogeli*, aislados de caninos de Culiacán, Sinaloa. Como se muestra:

AAG GGG AAA AAA AAA AAA AAT ACA GGG CTA ATG TCT TGT AAT TGG  
GAA TGA TGG TGA CCC AAA CCC TCA CCA GAG TAG CAC TTA GGA GGG  
CAA GTC TGG TGC CAG CAG CCG CGG TAA TTC CAG CTC CAA TAG CGT  
ATA TTA AAC TTG TTG CAG TTA AAA AGC TCG TAG TTG AAT TTT AGC GTG  
TTC GAG TTTG CCA TTC GTT TGG CTT TTT CGA GTT CGC TTT TGG GTT  
TTC CCT TTT TAC TTT GAG AAA ATT AGA GTG TTT CAA GCA GAC TTT TGT  
CTT GAA TAC TTC AGC ATG GAA TAA TAG AGT AGG ACT TTG GTT CTA TTT  
TGT TGG TTA TTG AAC CTT AGT AAT GGT TAA TAG GAA CGG TTG GGG  
GCA TTC GTA TTT AAA

Se realizó el análisis *In Silico* en el programa computacional Blast y se obtuvo que presenta una homología del 98% con *B. vogeli*, como lo reportado en África (Qiu *et al.*, 2018).

## VII. CONCLUSIÓN

La detección de *Babesia vogeli* en las garrapatas y sangre de perros sugiere que la babesiosis canina es transmitida la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.

La detección por primer vez de *B. vogeli* en garrapatas y sangre de perros en Culiacán, Sinaloa, sugiere que el parásito puede ser transmitido por *Rhipicephalus sanguineus*.

## VIII. LITERATURA CITADA

Altay, K., Aygin, F., Dumanli, N., Aktas, M. 2008. Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattles. *Veterinary Parasitology*. 158: 295–301.

Amuta, E., Atu, B., Houmsou, R., Ayashar, J. 2010. Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* infestation and *Babesia canis* infestation in dogs with respect to breed type and degree of freedom in Makurdi, Benue state-Nigeria. *The internet journal of parasitic diseases*. 4 (1): 1-5.

Annoscia, G., Latrofa, M., Cantacessi, C., Olivieri, E., Manfredi, M., Dantas-Torres, F., Otranto, D. 2017. A new PCR assay for the detection and differentiation of *Babesia canis* and *Babesia Vogeli*. *Ticks and tick-borne diseases*. 8 (6): 862-865.

Araujo A., Silveira J., Azevedo S., Nieri F., Ribeiro M., Labruna M. 2015. *Babesia canis vogeli* infection in dogs and ticks in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. *Pesquisa veterinária brasileira*. 35 (5): 456-461.

BAYER. 2018. <http://www.seresto.es/seresto-para-perros/>.

Boozer, L. y Macintire, D. 2003. Canine babesiosis. *Veterinary clinics small animals*. 33: 885-904.

Carcy, B., Randazzo, S., Depoix, D., Adaszek, L., Cardoso, L., Baneth, G., Gorenflot, A., Schetters, T. 2015. Classification of *Babesia canis* strains in Europe based on polymorphism of the Bc28.1-gene from the *Babesia canis* Bc28 multigene family. *Veterinary parasitology*. 211: 111-123.

Castillo-Martínez, A., Cueto-Medina, S., Hernández-Rodríguez, S., Gallegos-Robles, M., Valdés-Perezgasca, T., Sánchez-Ramos, F., Ortega-Morales, A. 2015. Detección de *Rickettsia* sp. en la garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus*. *Acta zoológica Mexicana*. 31 (1): 80-83.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2012. Babesiosis Surveillance—18 States, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*;61:505–509.

- Chauvin, A., Moreau, E., Bonnet, S., Plantard, O., Malandrin, L. 2009. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Veterinary Research*. 40: 37-55.
- Chen, Z., Liu, Q., Lui, J., Xu, B., Lv, S., Xia, S., Zhou, X. 2014. Tick-borne pathogens and associated co-infections in ticks collected from domestic animals in central china. *Parasites & Vectors*. 7: 237-244.
- Ćoralić, A., Gabrielli, S., Zahirović, A, Stojanović, N., Milardi, G., Jažić, A., Zuko, A., Čamo, D., Otašević, S. 2018. First molecular detection of *Babesia canis* in dogs from Bosnia and Herzegovina. *Ticks and Tick-borne diseases*. 9 (2): 363-368.
- Cordero, M., Navarrete, F., Serrano, F., Reina, D., M, Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, C., Hernández, S., Díez, P., Quiroz, H. 1999. *Parasitología veterinaria*. 1 Ed., Madrid, España. Ed. McGraw-Hill.
- Cruz, C., García, Z., Morales, S. 1998. Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* infestation in dogs in Cuernavaca, Morelos, México. *Parasitología al día*. 22: 1-2.
- Da-wei, Y., Jing-ya, J., Ze-zhong, Y., Dong-qin, Y., De-ji, Y., Yan-bing, Z. 2014. Canine babesiosis in china caused by *Babesia gibsoni*: a molecular approach. *Iranian journal of parasitology*. 9 (2): 163-168.
- Dantas-Torres, F. 2008. The Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*. 152:173–185.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L., Otranto, D. 2011. Seasonal variation in the effect of climate on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* in southern Europe. *Parasitology* .138: 527–536.
- de la Fuente, J., Estrada-Pena, A ., Venzal, J., Kocan, K., Sonenshine, D. 2008. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers Bioscience*. 13: 6938–6946.
- Gordon, J. y Silbley, L. 2005. Comparative genome analysis reveals a conserved family of actin-like proteins in apicomplexan parasites. *BMC Genomics*. 6: 179.
- Gray, J., Dantas-Torres, F., Estada-Peña, A., Levine, M. 2013. Systematics and ecology of the Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 4: 171– 180.

- Gray, J., Zintl, A., Hildebrandt, A., Klaus-Peter, H., Weiss, L. 2010. Zoonotic babesiosis: Overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 1: 3-10.
- Haapasalo, K., Suomalainen, P., Sukura, A., Siikamäki, H., Jokiranta, T. 2010. Fatal Babesiosis in Man. *Emerging Infectious Diseases*. 16 (7):1116-1118.
- Harrus, S., Perlman-Avrahami, A., Mumcuoglu, K., Morick, D., Eyal, O., Braneth, G. 2011. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma platys*, *Candidatus midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel, *Clinical microbiology and infection*. 17 (3): 459- 463.
- Homer, M., Aguilar-Delfin, I., Telford, S., Krause, P., Persing, D. 2000. Babesiosis. *Clinical microbiology reviews*. 13 (3): 451-469.
- Huang Q., Baum L., Fu W.L., 2014. Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarosa Gel Electrophoresis. *Clin Lab* 56: 149 – 152.
- INEGI. 2011. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Gobierno de México. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Sinaloa. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/>.
- Iori, A., Gabrielli, S., Calderini, P., Moretti, A., Pietrobelli, M., Tampieri, M., Galuppi, R., Cancrini, G. 2010. Tick reservoirs for piroplasms in central and norther Italy. *Veterinary parasitology*. 170: 291-296.
- Laha. R., Bhattacharjee, K., Sarmah, P., Das, M., Goswami, A., Sarma, D., Sen, A. 2014. *Babesia* infection in naturally exposed pet dogs from a north-eastern state (Assam) in India: detection by microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of parasitic diseases*. 38 (4): 389-393.
- León, G., Medina, C. 2014. La técnica de hibridación reversa en línea para el diagnóstico de *Babesia* y *Theileria*. *Revista zoociencia*. 1 (2): 7-14.
- Lewis, B., Penzhorn, B., Lopez-Rebollar, L. 1996. Isolation of a South African vector-specific strain of *Babesia canis*. *Veterinary Parasitology*. 63: 9-16.
- Li-Lian, C., Chien-Ming, S. 2016. Molecular analysis of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), an incriminated vector tick for *Babesia vogeli* in Taiwan. *Experimental and applied acarology*. 70: 469-481.

- Li-Lian, C., Hsin-Ting, L., Tsung-Yu, H., Chien-Ming, S. 2017. First detection and molecular identification of *Babesia gibsoni* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Acta tropica*.166: 356-362.
- Li-Lian, C., Shu-Ting, Y., Chin-Kuei, H., Chien-Ming, S. 2016. First detection and molecular identification of *Babesia vogeli* from *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Taiwan. *Experimental and applied acarology*. 68: 539-551.
- Lira-Amaya, J., Álvarez-Martínez, J., Rojas-Martínez, C., Martínez, F., Figueroa-Millán, J., Bautista-Garfias, C. 2015. Detección de parásitos hemotrópicos caninos en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*. *Etomología Mexicana*. 2 (2): 714-720.
- Lira-Amaya, J., Comas-González, A., Álvarez-Martínez, J., Rojas-Martínez, C., Figueroa-Millán, J. 2013. Detección molecular en perros de co-infección múltiple con patógenos transmitidos por garrapatas primer reporte en México. *Actualidades en medicina veterinaria*. 2 (5): 30-35.
- Mahalingaiah, M., Asoor, M., Thimmaiah, R., Narayanaswamy, H., Mukartal, S., Elattuvalappil, A., Chikkahonnaiah, N., Gupta, S., Singh, S. 2017. Prevalence of canine babesiosis in different breeds of dogs in and around bengaluru. *Advances in animal and veterinary sciences*. 5 (3): 140-144.
- MERIAL. 2017. <https://frontline.com/plus/Pages/default.aspx>.
- Mitrovic, S., Kranjcic-Zec, I., Arsic-Arsenijevic, V., Dzamic, A., Radonjic, I. 2004. Human babesiosis--recent discoveries. *Medicinski Pregled*. 57(7-8):349-353.
- Moraes, P., Rufino, C., Reis, T., Aguilar, D., Meneses, A., Gonzalves, E. 2014. Optimization of a molecular method for the diagnosis of canine babesiosis. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. 23 (1): 105-108.
- Mørch, H., Holmaas, G., Frolander, P., Kristoffersen, E. 2015. Severe human *Babesia divergens* infection in Norway. *International journal of infectious diseases*. 33:37-38.
- Moubri, K., Kleuskens, J., Grommert, V., Sholtes, N., Kasteren, T., Delbecq, S., Carcy, B., Précigout, E., Gorenflot, A., Schetters, T. 2018. Discovery of a recombinant *Babesia canis* supernatant antigen that protects dogs against virulent challenge infection. *Veterinary parasitology*. 249: 21-29.
- MSD. 2018. <http://www.bravecto.com.mx/>.

Nalubamba, K., Mudenda, N., Namwila, M., Mulenga, C., Bwalya, E., M'kandawire, E., Saasa, N., Hankanga, C., Oparaocha, E., Simuunza, M. 2015. A study of naturally acquired canine Babesiosis caused by single and mixed *Babesia* Species in Zambia. Hindawi Publishing Corporation. 15: 1-9.

Nava-Reyna, E., Castillo-Martínez, A., González-Álvarez, H., Méndez-López, R., Cueto-Medina, S., Ortega-Morales, A. 2016. Incidencia de la garrapata café del perro de zonas rurales de la Comarca Lagunera de Coahuila, México. Entomología Mexicana. 3: 759-764.

Ogo, N., Lawal, A., Okubanjo, O., Kamani, J., Ajayi, O. 2011. Current status of canine Babesiosis and the situation in Nigeria. Nigerian Veterinary Journal. 32 (2): 69-78.

Osorno, M. y Vega, C. 1976. Isolation of *Babesia* spp. from asymptomatic human beings. Veterinary Parasitology. 2 (1): 111-20.

Patton, W. 1910. Preliminary report on a new piroplasm found in the blood of hounds of the Madras-Hunt and subsequently discovered in the blood of a jackal. Bulletin de la société de pathologie exotique. 3: 274-281.

Pereira, A., Borges, F., Bahia, M., Silveira, I., Moraes-Filho, J., Soares, J., Spolidorio, G., Nogueira, R. 2015. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. Among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology. 24 (1): 28-35.

Qiu, Y., Kaneko, C., Kajihara, M., Ngonda, S., Simulundu, E., Muleya, W., Thu, M., Hang'ombe, M., Katakura, K., Takada, A., Sawa, H., Simuunza, M., Nakao, R. 2018. Tick-borne haemoparasites and Anaplasmataceae in domestic dogs in Zambia. Ticks and Tick-borne Diseases. 9(4): 988-995.

René, M., Chêne, J., Beauvils, J., Valiente, M., Bourdoiseau, G., Mavingui, P., Chabanne, L. 2012. First evidence and molecular characterization of *Babesia vogeli* in naturally infected dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in southern France. Veterinary parasitology. 187: 399-407.

Rodríguez, A. 2007. Epidemiología de la babesiosis: Zoonosis emergente. Acta científica estudiantil. 5 (4): 132-138.

Rodríguez, V. R. I., Cob, L. A. y J. L. Domínguez. 2000. Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (1984-1999). *Revista Biomedica*, 11:277-282.

Rubio, M., Gaxiola, S., Enríquez, I., Cota, S., Castro, N. 2015. *Rhipicephalus sanguineus* en caninos en Sinaloa. *Revista electrónica de veterinaria*, 16 (3): 3-10.

Saitou N, Nei M. 1987 The neighbor – joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*. 4: 406 – 425

Sambri, V., Marangoni, A., Storni, E., Cavrini, F., Moroni, A., Sparacino, M., Cevenini, R. 2004. Tick borne zoonosis: selected clinical and diagnostic aspects. *Parasitologia*. 46 (1-2):109-13.

Sambrook, J., Fritsch, E., Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2da Edition, Cold spring harbor laboratory press.

Schnittger, L., Rodríguez, A., Florin-Christensen, M., Morrison, D. 2012. *Babesia*: a wold emerging, *Infection. Genetics and Evolution*. 12: 1788-1809.

Shortt, H. 1973. *Babesia canis*: The life cycle and laboratory maintenance in its arthropod and mammalians hosts. *International journal for parasitology*. 3: 119-148.

Skotarczak, B., Rymaszewska, A., Wodecka, B., Sawczuk, M. 2003. Molecular evidence of coinfection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, human granulocytic ehrlichiosis agent, and *Babesia microti* in ticks from northwestern Poland. *Journal of Parasitology*. 89(1):194-196.

Smith, F., Ellse, L., Wall, R. 2013. Prevalence of *Babesia* and *Anaplasma* in ticks infesting dogs in Great Britain. *Veterinary parasitology*. 198: 18-23.

Solano-Gallego, L. y Baneth, G. 2011. Babesiosis in dogs and cats- Expanded parasitological and clinical spectra. *Veterinary parasitology*. 181: 48-60.

Solano-Gallego, L., Roura X., Estrada-Peña A., Miró G. 2016. A review of canine babesiosis: The European Perspective. *Parasites & Vectors*. 9: 336.

Tarafder, M. y Samad, M. 2010. Prevalence of clinical diseases of pet dogs and risk perception of zoonotic infestation by dogs owners in Bangladesh, *Bangladesh Journal of veterinary medicine*. 8 (2): 163-174.

Thursfield M. 2005. Veterinary epidemiology. Third edition. Blackwell publishing professional. New Jersey, USA 624p.

Tinoco-Gracia, L., Barreras-Serrano, A., Moro, M., Vinasco, J. 2009. Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* ticks on dogs in a región on the México-USA border. The veterinary record. 164: 59-61.

Troughton, D., Levin, M. 2007. Life cycles of seven *Ixodid* tick species (*Acari: Ixodidae*) under standardized laboratory conditions. Journal of Medical Entomology. 44: 732–740.

Ulienberg, G. 2006. *Babesia* – A historical overview, Veterinary Parasitology. 138: 3-10.

Vannier, E., Diuk-Wasser, M., Mamoun, C., Krause, P. 2015. Babesiosis. Infectious Disease Clinics of North America. 29. (2): 357-370.

Yabsley, M., Shock, C. 2013. Natural history of Zoonotic *Babesia*: Role of wildlife reservoirs. International Journal for Parasitology. 2: 18-31.

Zajac, A. y Conboy, G. 2012. Veterinary clinical parasitology. Eighth edition, United Kingdom. Wiley- Blackwell: 192- 193.

## IX. ANEXOS



### SOCIEDAD MEXICANA DE PARASITOLOGÍA, A.C.

---

CDMEX, a 19 de julio del 2018

**Presidenta**

M en C Aurora Elvira Candil Ruiz  
[acandil@uas.edu.mx](mailto:acandil@uas.edu.mx)

**Secretario**

Dr. Raúl Romero Cabello  
[romerocabello@idisalud.com](mailto:romerocabello@idisalud.com)

**Tesorera**

QFB. Ma. Yolanda García Yáñez  
[ygarciayanez@gmail.com](mailto:ygarciayanez@gmail.com)

**Académico**

Dra. Rebeca Manning Cela  
[rmanning@cinvestav.mx](mailto:rmanning@cinvestav.mx)

**Comité Científico**

Dra. Rebeca Manning Cela  
[manning@cinvestav.mx](mailto:manning@cinvestav.mx)  
Dra. Ana María Cevallos Gaos  
[amcevallos@biomedicas.unam.mx](mailto:amcevallos@biomedicas.unam.mx)  
Dr. Julio Cesar Carrero Sánchez  
[carrero@biomedicas.nam.mx](mailto:carrero@biomedicas.nam.mx)  
Dr. Santiago Martínez Calvillo  
[scalv@unam.mx](mailto:scalv@unam.mx)

**Admisión**

Dr. Manuel Gutiérrez Q.  
[Mangutq@gmail.com](mailto:Mangutq@gmail.com)

**Comunicación**

Lic. Idalia Espinoza R.  
[somexpar@hotmail.com](mailto:somexpar@hotmail.com)

**Eventos**

Dra. Lorena González  
[Loregl2000@gmail.com](mailto:Loregl2000@gmail.com)

**Vinculación**

Dra. Guadalupe Ortega P.  
[gortega@cinvestav.mx](mailto:gortega@cinvestav.mx)  
Dra. Ana Flisser S.  
[flisser@unam.mx](mailto:flisser@unam.mx)

Estimada Natalia Heredia Burgos,

Nos es grato informar a Usted que su trabajo "Detección de *Babesia* spp en *Rhipicephalus sanguineus* de caninos en Culiacán, Sinaloa" ha sido aceptado para ser presentado en el CONAPAR 2018 en la modalidad de presentación oral, en la sesión de trabajos libres de Parásitos de interés veterinario con la clave O-SA-45. Su presentación se llevará a cabo el sábado 29 de septiembre de 2018 de las 13:10 a las 13:30 hrs en el Auditorio de Imagenología de la Facultad de Medicina de la BUAP.

La presentación tendrá una duración total de 20 min distribuidos en 15 min de presentación y 5 min de preguntas. Es necesario que usted se ajuste al tiempo indicado. Su presentación deberá ser en formato Microsoft PowerPoint. En caso de que su presentación sea preparada en computadora Mac, favor de verificar su buen funcionamiento en PC ya que no se contará con computadoras Mac para la proyección y no será posible cambiar de computadoras durante la sesión. Favor de proporcionar el archivo de su presentación en el Salón de Registro a las 8:30 a.m. del día en que se ha programado su presentación para cargarla en la computadora que se utilizará en la sesión.

Sin otro particular por el momento, agradecemos de antemano su valiosa participación en esta importante actividad académica.

Atentamente,

Comité Científico  
CONAPAR 2018

# Universidad Autónoma de Baja California

## INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



Vicerrectoría campus Sinaloa  
Instalaciones certificadas  
Agosto 2017-2019

**Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho**  
**Responsable del Lab. de Enfermedades Zoonóticas**  
**Universidad Autónoma de Sinaloa**

Oficio No. 458/2018-1

Por este conducto, me permito informarle que una vez analizada la solicitud para la realización de la estancia de la alumna Natalia Heredia Burgos para el período del 01 de Junio al 01 de Julio del año en curso, el cual proviene del programa Educativo de la Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ha finalizado la estancia, la cual le fue evaluada con calificación de 100.

Las actividades que realizó fueron las siguientes, mismas que fueron supervisadas por el Dr. Luis Tinoco Gracia, Responsable del Lab. de Salud Pública Veterinaria.

1. Extracción de ADN en garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.
2. Identificación de *Babesia* spp. Mediante la técnica de PCR en ADN de garrapata *Rhipicephalus sanguineus*

Sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



**ATENTAMENTE**  
**Mexicali B. C., a 01 de julio de 2018**  
**"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"**  
**DIRECTOR**

**DR. VICTOR MANUEL GONZALEZ VIZCARRA**

UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE BAJA CALIFORNIA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
EN CIENCIAS VETERINARIAS

C.c.p.- M.C. Alfonso De la Mora Valle.- Subdirector del IICV  
C.c.p.- Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez.- Coordinadora de Posgrado e Investigación del IICV  
C.c.p.- Dr. Luis Tinoco Gracia.- Responsable del Lab. de Salud Pública Veterinaria.  
C.c.p.- MTIC. Gabriela Venegas Sánchez.- Responsable de Movilidad Académica y Estudiantil del IICV  
C.c.p.- minutarío  
VMGV/luzma