

## Conferencias magistrales

### III CONGRESO LATINOAMERICANO DE ENFERMEDADES RICKETTSIALES

#### Rickettsial diseases of the Americas

David H. Walker

University of Texas Medical Branch-Galveston  
Galveston, TX

Human pathogens of the order Rickettsiales that have been identified in the Western Hemisphere include *Rickettsia rickettsii*, *R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. akari*, *R. massiliae*, *R. felis*, strain 364D, *Ehrlichia chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. canis*, *E. muris*, and *Anaplasma phagocytophilum*. There is evidence supporting the concept that *R. amblyommii* infects humans, with one third of patients manifesting a mild self-limited illness and two thirds of persons subclinically infected. The prevalence of antibodies reactive with spotted fever group rickettsiae in ten percent or more of many populations in *Amblyomma americanum*-infested regions may have resulted from these asymptomatic and undiagnosed infections. Similarly, high prevalence of antibodies reactive with *E. chaffeensis* may reflect subclinical infection with an agent with crossreactive antigens. These are reasons why serosurveys and single sample serology may lead to misleading suppositions.

Diseases caused by *Rickettsia* form a spectrum of severity with the most virulent species, such as *R. rickettsii*, causing a high incidence of rash, petechiae, neurologic involvement, and respiratory compromise and the less virulent species, such as *R. africae*, causing a higher incidence of eschars and regional lymphadenopathy. Even within a species, strains in one geographic region may cause more severe disease than strains in another region. Brazilian spotted fever has a higher case fatality ratio, shorter course of fatal cases, more hemorrhages, and higher incidence of jaundice than Rocky Mountain spotted fever in the southeastern and south central United States. The severity of oxidative stress that the South American strains of *R. rickettsii* stimulate in endothelial cell cultures is similarly greater than that induced by southern US strains, potentially a reflection of increased host mediated rickettsial virulence.

The diversity of recognized tick hosts that carry many *Rickettsia* species is expanding, for example *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense*, *A. aureolatum*, *A. imitator*, and *A. americanum* for *R. rickettsii*. The most serious related problem is the epidemic of brown dog tick-transmitted Rocky Mountain spotted fever in northwestern Mexico. The prevalence of rickettsiae in ticks appears inversely related to the rickettsial virulence. *Rickettsia rickettsii* is present in a small portion of vectors compared with a higher prevalence of *R. amblyommii* in Lone Star ticks and *R. africae* in *A. variegatum* ticks.

Unresolved issues include the enigma of *R. felis*, which is highly prevalent in ubiquitous cat fleas but has never been isolated from a patient, the discovery of *R. prowazekii* in ticks in the Western Hemisphere, and the yet-to-be-determined true impact of ehrlichioses on human health.

While diagnosis remains difficult and preventive vaccines are not yet available, doxycycline treatment remains remarkably effective for all of these diseases.

## Panorama de las enfermedades ocasionadas por rickettsias en Colombia

Marylin Hidalgo

Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana,  
Bogotá, D.C., Colombia

En 1935 se reportó en la localidad de Tobia —entonces municipio de Villegas— en Cundinamarca, un brote de una enfermedad febril, con una tasa de ataque de 20 % y una relación de caso-fatalidad de 95 %. Según los hallazgos clínicos, el comportamiento en animales de experimentación y el aislamiento de la bacteria, se determinó que era una enfermedad similar a la fiebre manchada de las Montañas Rocosas de Norteamérica y se denominó “fiebre de Tobia” (1). Infortunadamente, después de este reporte, las rickettsiosis no han sido estudiadas en Colombia, aunque en los libros de trabajo que reposan en el Instituto Nacional de Salud se encuentra reportado otro brote de rickettsiosis en la zona del valle de Suratá, Santander. Este caso fue descrito en 1946 por Carlos Sanmartín.

Recientemente, se informaron dos casos fatales ocasionados por *Rickettsia rickettsii* en pacientes que provenían de una localidad cercana a donde se reportó el primer caso de la fiebre de Tobia en 1935 (2) y, en los años 2006, 2007 y 2008, se presentaron dos brotes ocasionados por este microorganismo, en diferentes localidades de Colombia (3-5).

Como se mencionó previamente, en Colombia la enfermedad es conocida desde 1937, cuando Luis Patiño Camargo describió la fiebre de Tobia, caracterizada por la presencia de fiebre, exantema generalizado (manchas) y deterioro clínico acelerado, y muerte, en muchos casos. Esta enfermedad ya se conocía en Estados Unidos como fiebre manchada de las Montañas Rocosas y, en Brasil, como fiebre manchada brasiliense.

En Villegas, entre 2003 y 2004, se reportaron nuevos casos de enfermedades febris con características clínicas y epidemiológicas similares a las de la fiebre manchada por rickettsias, algunos de los cuales terminaron en la muerte de los pacientes. Mediante técnicas de histopatología y biología molecular, se identificó a *R. rickettsii* como el agente causal en los casos (2).

Por otro lado, muestras de suero del Programa de Vigilancia de casos febris del Instituto Nacional de Salud recolectadas entre 2001 y 2007, y de la Secretaría de Salud de Cundinamarca de los años 2000-2001, las cuales eran negativas para dengue, fiebre amarilla y malaria, se probaron para detectar contacto con el agente causal de la rickettsiosis. Un 5,5 % de las muestras del Instituto Nacional de Salud y 21 % de muestras de la Secretaría de Salud de Cundinamarca fueron positivas. Esto demostró un contacto y posibles casos de rickettsiosis en cuadros clínicos febris sin diagnóstico. Además, se determinó la seroprevalencia contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas en 371 muestras aleatorias de suero de habitantes de la zona rural de Villegas, y se encontraron 149 (44 %) positivas. Estos datos confirmaron la presencia de la enfermedad en la zona y su importancia para el estudio de casos febris sin diagnóstico (2).

Es importante resaltar que a partir del 2004 con el estudio de rickettsiosis en Villegas, se ha generado una participación activa en el diagnóstico de entidades febris no diagnosticadas en otras regiones del país. Por ejemplo, se participó activamente en la descripción, caracterización e identificación de dos brotes de rickettsiosis ocurridos en Necoclí, Antioquia (2006), Los Córdobas, Córdoba (2007) y Turbo, Antioquia (2008) (3-5). Se caracterizaron los patrones de exposición de una población específica a la fiebre manchada y a la infección por leptospira (6). Además, se logró establecer el diagnóstico de tifo “murino” (causado por *R. typhi*) en municipios del norte del departamento de Caldas (7).

El trabajo desarrollado en la parte de identificación de la enfermedad estuvo acompañado de la labor entomológica. Se logró identificar las especies de garrapatas *Amblyomma cajennense*, *Boophilus*

Correspondencia:

Marylin Hidalgo, Pontificia Universidad Javeriana, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Carrera 7 N° 43-82, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (57+1+) 320-8320, extensión 4153  
hidalgo.m@javeriana.edu.co

*microplus* y *Rhipicephalus sanguineus* como posibles vectores y transmisores de la enfermedad en el área geográfica de estudio.

La seroprevalencia de la infección por *Rickettsia* y *Ehrlichia* fue determinada en muestras de sueros de caballos y perros, provenientes de Villegas, zona endémica para la fiebre manchada en Colombia (8).

Por otro lado, la identificación de nuevos casos, la labor entomológica y la estimación de la seroprevalencia, constituyeron la base para desarrollar el trabajo comunitario. Se determinaron tanto la situación de vulnerabilidad social como la de riesgo de la población de la región. Este ejercicio se desarrolló sobre la base de un trabajo en antropología médica, mediante el cual se caracterizó la población expuesta a las fiebres manchadas desde las perspectivas social y cultural.

Finalmente, se ha considerado que la mejor clasificación para la rickettsiosis en Colombia es la de enfermedad desatendida, aun más que emergente o reemergente, pues es claro que la enfermedad permanece como un agente endémico en las regiones donde se ha encontrado de nuevo; esto es más claro aun en Villegas, donde se ha confirmado su presencia por medio de estudios serológicos retrospectivos y donde la convivencia con entidades febris, como el dengue, hacen más probable el subdiagnóstico. La dificultad que implica el diagnóstico de las rickettsiosis puede ser explicada, no sólo por la falta de infraestructura especializada, sino por la naturaleza clínica de la enfermedad que comparte con otras enfermedades febris infecciosas presentes en la zona.

La fiebre manchada de las Montañas Rocosas (o fiebre de Tobia, como también se le conoce en Colombia) no es considerada en el diagnóstico diferencial de enfermedades febris en nuestro país. Entre las posibles causas se encuentran las siguientes:

- 1) infraestructura inadecuada para el diagnóstico;
- 2) carencia de conocimiento de la enfermedad tanto en la población como en el personal de salud, y
- 3) presencia en Colombia de numerosos agentes (principalmente transmitidos por artrópodos) que producen síndromes febris inespecíficos que son, al menos inicialmente, idénticos a las rickettsiosis.

Dada la ausencia de métodos diagnósticos durante la fase aguda en las zonas rurales donde estas enfermedades se presentan con mayor frecuencia, la mejor herramienta diagnóstica resulta ser la sospecha clínica basada principalmente en la epidemiología, la ecología y las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Los médicos de áreas "endémicas" deben considerar el tratamiento empírico con doxiciclina para pacientes sospechosos.

Los brotes ocurridos en la zona del Urabá antioqueño son un reflejo de que las rickettsias circulan en diferentes zonas de Colombia y que el país debe estar preparado con planes de contingencia apropiados para la presentación de nuevos brotes causados por *Rickettsia*, principalmente en términos de la sospecha diagnóstica, ya que sus manifestaciones clínicas son inespecíficas (pueden corresponder a cualquier agente infeccioso normalmente asociado a un síndrome febril grave) y porque no existen pruebas de diagnóstico durante la fase aguda de la enfermedad. Por lo tanto, es importante hacer un diagnóstico diferencial con otras entidades febris.

Por otro lado, es importante reconocer que las rickettsiosis del grupo del tifo, principalmente el tifo endémico (ocasionado por *R. typhi*) también están circulando en nuestro país, y que el diagnóstico hasta ahora se basa en la prueba de Weil-Félix, una prueba poco sensible y muy inespecífica. Por lo tanto, el uso de herramientas diagnósticas apropiadas, un mejor conocimiento de estas enfermedades en nuestro contexto, y un mejor entendimiento de las condiciones epidemiológicas y ecológicas que favorecen la transmisión, constituyen una prioridad para el adecuado manejo de estas enfermedades.

Además, la determinación de los factores de riesgo asociados con la transmisión de *Rickettsia* y *Leptospira* (en una zona rural) nos permite entender los mecanismos de exposición a la infección, y un mejor diseño de programas de vigilancia y prevención de estos dos agentes.

Por otra parte, el desarrollo simultáneo de un estudio antropológico, permitió determinar la relación con el vector y la percepción de riesgo para las personas que están más expuestas a la enfermedad, es decir, los trabajadores del campo de las zonas endémicas. Este estudio demostró que los habitantes

de la zona rural donde se llevó a cabo el estudio, no perciben una relación causal entre el riesgo de enfermar y la picadura de la garrapata, puesto que es algo con lo cual conviven a diario. La percepción de riesgo de la enfermedad se vio claramente reflejada en los estudios de seroprevalencia de las diferentes poblaciones humanas y animales estudiadas (mayor seroprevalencia en humanos que en animales). Los resultados podrían explicarse, al menos parcialmente, por la conducta frecuente de tratar los animales domésticos y de trabajo con acaricidas, mientras que no parecen haber conductas específicas asociadas con la infestación de humanos por garrapatas. Por supuesto, esto es sólo una hipótesis que requiere verificación experimental. Además, otros aspectos, como las preferencias de huésped de las garrapatas prevalentes en la zona, deben ser explorados concordantemente.

La conclusión de este trabajo es que las fiebres manchadas son una enfermedad endémica en varias zonas de Colombia y que su ausencia en el panorama epidemiológico desde la fiebre de Tobia probablemente no obedece a una súbita desaparición de la enfermedad sino a la falta de una vigilancia específica y al enmascaramiento con otras enfermedades, principalmente el dengue.

Por ahora es el primer paso en el camino para establecer una vigilancia específica de fiebres ocasionadas por rickettsias, pues introdujo, en todos los actores involucrados en el proceso de salud y enfermedad, nuevas percepciones del riesgo. Igualmente, este trabajo sensibilizó a estos mismos actores acerca de una entidad que era, en muchas medidas, inexistente, pero que silenciosamente daba cuenta de una morbimortalidad inexplicada.

Finalmente, se recomendaría establecer el comportamiento epidémico de las rickettsiosis en diferentes zonas del país para sustentar la información contenida en este trabajo, pero la infraestructura creada supone ya la disposición para estudiar este tema.

El próximo paso será introducir a las rickettsiosis en la agenda pública, teniendo en cuenta que ya existe una demanda por parte de los servicios de salud y de la comunidad que reconoce el riesgo al que está expuesto.

Se deberán establecer las características ecoepidemiológicas de la enfermedad en el país, las cuales deben incluir factores climáticos, ambientales, de vectores y de huéspedes, para generar un panorama más claro de las dinámicas de estas zoonosis transmitidas por vectores en Colombia.

## Referencias

1. Patiño L, Afanador A, Paul JH. A spotted fever in Tobia, Colombia. 1937. Biomédica. 2006;26:178-93.
2. Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernandez J, Parra E, et al. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. Emerg Infect Dis. 2007;13:1058-60.
3. Hidalgo M, Miranda J, Heredia D, Zambrano P, Vesga JF, Lizarazo D, et al. Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011;06:117-8.
4. Acosta J, Urquijo L, Díaz A, Sepúlveda M, Mantilla G, Heredia M, et al. Brote de rickettsiosis en Necoclí, Antioquia, febrero marzo de 2006. IQUEN. 2006;11:177-86.
5. Pacheco O, Giraldo M, Martinez MC, Hidalgo M, Galeano A, Echeverri I, et al. Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimiento de Alto de Mulatos - Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia, enero de 2008. Inf Quinc Epidemiol Nac. 2008;13:145-56.
6. Padmanabha H, Hidalgo M, Valbuena G, Castañeda E, Galeano A, Puerta H, et al. Geographic variation in risk factors for SFG rickettsial and leptospiral exposure in Colombia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2009;9:483-90.
7. Hidalgo M, Salguero E, de la Ossa A, Sánchez R, Vesga JF, Orejuela L, et al. Murine typhus in Caldas, Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2008;78:321-2.
8. Hidalgo M, Vesga JF, Lizarazo D, Valbuena G. A survey of antibodies against *Rickettsia rickettsii* and *Ehrlichia chaffeensis* in domestic animals from a rural area of Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2009;80:1029-30.



## Rickettsiosis as a public health problem in South America

Márcio Antonio Moreira Galvão

Medical Sciences Department, Ouro Preto Federal University, Brazil

World Health Organization Collaborating Center for Tropical Diseases, University of Texas Medical Branch at Galveston, Texas, USA

### Introduction

The epidemiologic parameters for a disease to be considered a public health issue are magnitude, vulnerability and transcendence. The first one represents the size of the disease; the second one, the capacity of the disease to be controlled by an effective control mechanism like a vaccine; and the third one, the importance of the disease, including the point of view of the population. In order to analyze rickettsiosis under these parameters, first we will try to study these diseases in South America with the intention of understanding their history and roles.

### Rickettsiosis in South America

#### ***Rickettsiosis in Brazil during the 1930-1950s***

*Rickettsia rickettsii* was first described in São Paulo by Piza (1) in 1929, as the agent of Brazilian spotted fever (BSF) transmitted by the tick *Amblyomma cajennense*. In this time the similarity of this disease to Rocky Mountain spotted fever was also proved. In 1939, BSF and murine typhus were described in Minas Gerais state by Dias and Martins (2) and in 1949 *Rickettsia typhi* was isolated for the first time from a human patient in São Paulo by Travassos (3). From this last year and until 1980, an epidemiologic silence reigned with no cases of BSF described in medical literature. Interviews done to active physicians during this period, revealed only rare cases of BSF.

#### ***Rickettsiosis in Brazil during the 1980-1990s***

In 1981, BSF cases were described in Rio de Janeiro state by Gonçalves (4) and Galvão (5), who described the reemergence of BSF in Minas Gerais state with a case fatality ratio of 50% in the related epidemic episode. BFS outbreaks occurred again in Minas Gerais state in 1984, 1992, 1995 and 2000. Although there were several fatal cases in these outbreaks, the diagnoses of all those cases were not well documented by laboratory methods. The frequent hidden mortality of BSF was maintained by performing autopsies in a low proportion of deaths (6).

From 1985 to 2002, 76 cases of BSF were confirmed in São Paulo state with a case fatality ratio of 47.6%. In 1992, *R. rickettsii* was isolated from a patient skin biopsy in the rural area of São Paulo state by Melles (7). In 1996, Lemos *et al.* (8) isolated spotted fever group *Rickettsia* in *Amblyomma cooperi* ticks collected from capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in the same state. In 1993, a BSF focus of infection was recognized in a new endemic region in Espírito Santo state by Sexton *et al.* (9).

#### ***Rickettsiosis in Brazil during the 2000s***

*Rickettsia felis* human infection cases were described in Brazil for the first time by Raoult *et al.* (10) in 2001, and *R. felis* was identified by PCR in *Ctenocephalides* fleas by Oliveira, Galvão, *et al.* (11) in 2002. In 2004, Calic, Galvão, *et al.* (12) described the first clinical human suspected case of the *Ehrlichia* genus in Brazil, and Labruna *et al.* (13) described *Rickettsia bellii*, *Rickettsia parkeri* from *A. cooperi* by PCR. In 2007, Labruna's research group identified *R. parkeri* in *Amblyomma triste* (14) and in 2009 *R. rickettsii* in dogs (15). During that same year, Souza *et al.* informed experimental infection of capybaras by *R. rickettsii* with transmission of the infection to *A. cajennense* ticks (16). The presence of eschar associated spotted fever rickettsiosis has been described in Brazil since 1932 (1) with new publications in 2008 and 2011 (17,18).

#### ***Rickettsiosis in Uruguay***

Conti-Diaz *et al.* (19) diagnosed serology cases by indirect immunofluorescence of a disease caused by a spotted fever group *Rickettsia* in Uruguay in 1990. The suspected vector collected from pets was *A. triste*. In 2004, Venzal *et al.* (20) suggested that *A. triste* is a host for SFG *Rickettsia*, and *R. parkeri* could be

the causative agent of human cases of rickettsiosis in Uruguay. In 2006, Venzal *et al.* described *R. felis* in *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* (21).

### ***Rickettsiosis in Argentina***

In 1999, spotted fever group *Rickettsia* infection was diagnosed by Ripoll *et al.* (22) in a patient from Jujuy Province, and a serosurvey in the same area and period of time detected antibodies reactive with *R. rickettsii*, *Erlichia chaffeensis*, and *R. typhi*. The suspected vector was *A. cajennense* collected from horses and pets in the same area. In 2008, *R. parkeri* was described in *A. triste* ticks from two sites in the lower Paraná River Delta, where clinical reports of an eschar-associated rickettsiosis occurred (23). In 2010, *Rickettsia massiliae* infection was diagnosed by molecular-based detection of the microorganism in a biopsy specimen of the eschar (24).

### ***Rickettsiosis in the last 20 years in Perú***

Epidemic louse-borne typhus has occurred in Peru during the last twenty years. An epidemic typhus outbreak occurred in Cuzco, in two rural communities in 1985 (25). From 1989 to 1999, there have been substantial notifications of epidemic typhus cases distributed in the departments of Ancash, Arequipa, Cuzco, Huanuco, Piura, and Puno. Almost 70% of the cases of epidemic typhus are concentrated in two provinces of Cuzco State, Quispicanchis and Paucartambo, with a combined population of 120,000 people (26). Three typhus outbreaks between May 1997 and April 1998 were investigated in the province of Quispicanchis (27). Other rickettsiosis were investigated in Perú, such as murine typhus described in patients from the Huari province, Department of Ancash (28), and *R. felis*, identified in *C. canis* fleas from domestic animals and relatives of suspected murine typhus cases in Peruvian Andes homes in 2001 (29). In 2004, Blair *et al.* characterized a possible novel member of the spotted fever Group *Rickettsiae* in flea and tick specimens from northern Perú circulating at the time of the outbreak (30).

### ***Rickettsiosis in Colombia***

Nothing is known or published about rickettsiosis in Colombia since 1937 when Luis Patiño Camargo published the report of an epidemic caused by *R. rickettsii* and named it since then as "Fiebre de Tobia" (31). Hidalgo *et al.* published in 2007 an investigation of two fatal cases of Rocky Mountain spotted fever that occurred in 2003 and 2004 near the same locality where the disease was reported in the 1930s. A retrospective serosurvey of febrile patients showed more than 21% of the serum samples had antibodies against spotted fever group *Rickettsiae* (32).

### **Conclusions**

In South America, rickettsiosis are occurring both in developed areas as Campinas region in São Paulo, Brazil, and in poor areas as some regions of Brazil, Perú and other countries. Both the environmental transformation and the low socio-economic condition of the population have helped to maintain and reintroduce rickettsiosis in many areas of South America.

Even with the low magnitude and vulnerability of these diseases, their high transcendence expressed by the occurrence of outbreaks and family clusters with high case-fatality ratio can define them as a public health problem of great importance.

### **References**

1. **Piza J.** Considerações epidemiológicas e clínicas sobre o tifo exantemático de São Paulo. São Paulo: Sociedade Impressora Paulista; 1932. p. 11-119.
2. **Dias E, Martins AV.** Spotted fever in Brazil: A summary. Am J Trop Med Hyg. 1939;19:103-8.
3. **Travassos J, Rodrigues PM, Carrijo LN.** Tifo murino em São Paulo. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano. São Paulo: Memórias do Instituto Butantan; 1949.
4. **Gonçalves AJR, Lopes PFA, Melo JCP, et al.** Rickettsioses: a propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa. Folha Médica. 1981;82:127-34.
5. **Galvão MAM.** Febre maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no Estado e seu comportamento em área de foco peri-urbano (thesis). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1996.

6. Galvão MAM, Dumler JS, Mafra CL, et al. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:1402-5.
7. Melles HH, Colombo S, Da Silva MV. Spotted fever: isolation of *Rickettsia* from a skin biopsy sample. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1992;34:37-41.
8. Lemos ER, Melles HH, Colombo S, et al. Primary isolation of spotted fever group *Rickettsiae* from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91:273-5.
9. Sexton DJ, Muniz M, Corey GR, et al. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;49:222-6.
10. Raoult D, La Scola B, Enea M, et al. A flea-associated rickettsia pathogenic for humans. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:73-81.
11. Oliveira RP, Galvão MAM, Mafra CL, et al. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:317-9.
12. Calic SB, Galvão MAM, Bacelar F, et al. Human erlichiosis in Brazil: first suspect cases. *J Infect Dis.* 2004;8:259-2.
13. Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol.* 2004;42:90-8.
14. Silveira I, Pacheco RC, Szabó MPJ, et al. *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1111-3.
15. Labruna MB, Kamakura O, Moraes-Filho J, et al. Rocky Mountain spotted fever in dogs, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:458-60.
16. Souza CE, Moraes-Filho J, Ogrzewalska M, et al. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vet Parasitol.* 2009;161:116-21.
17. Galvão MAM, Costa PSG, Calic SB, et al. A case of eschar-associated spotted fever rickettsiosis in Brazil. Annals, V International Meeting on Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Marseille, France. 2008.
18. Silva N, Eremeeva ME, Rozental T, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:275-8.
19. Conti-Diaz IA, Rubio I, Somma Moreira RE, et al. Lymphatic cutaneous rickettsiosis caused by *Rickettsia conorii* in Uruguay. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1990;32:313-8.
20. Venzal JM, Portillo A, Estrada-Pena A, et al. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:1493-5.
21. Venzal JM, Perez-Martinez L, Felix ML, et al. Prevalence of *Rickettsia felis* in the fleas *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* from Uruguay. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1078:305-8.
22. Ripoll CM, Remondegui CE, Ordóñez G, et al. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;61:350-4.
23. Nava S, Eishenawy Y, Eremeeva ME, et al. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1894-7.
24. Garcia-Garcia JC, Portillo A, Nunez MJ, et al. *Rickettsia massiliae* in Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82:691-2.
25. Camacho J, Accinelli R, Rodriguez E. Typhus fever occurrences in two rural communities in Urcos-Cusco. *Diagnóstico.* 1985;15:212-17.
26. Walker DH, Zavala-Velazquez JE, Ramirez G, et al. Emerging infectious diseases in the Americas. In: Raoult D, Brouqui P, editors. *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium.* Paris: Elsevier; 1999. p. 274-7.
27. Olano IP, Ramirez-Prada G, Moscoso B, et al. Epidemic typhus outbreaks in Cuzco, Perú. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;(Supp.60):282.
28. Pachas PE, Jaramillo K, Hoyos A, et al. Brote de tifus murino en la provincia de Huari. Resúmenes, VI Congresso de Enfermedades Infecciosas y Tropicales, Lima, Perú. 1999.
29. Pachas PE, Moron C, Hoyos A, et al. *Rickettsia felis* identified in *Ctenocephalides canis* fleas from Peruvian Andes. Annals, ASR/Bartonella Joint Conference, Big Sky, Montana, USA, 2001.
30. Blair PJ, Jiang J, Schoeler GB, et al. Characterization of spotted fever group *Rickettsiae* in flea and tick specimens from Northern Peru. *J Clin Microbiol.* 2004;42:4961-7.
31. Patiño L, et al. A spotted fever in Tobia, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 1937;17:639-53.
32. Hidalgo M, Rejuela L, Fuya P, et al. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1058-60.



## Epidemiology of Rocky Mountain spotted fever

Marcelo B. Labruna

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Rocky Mountain spotted fever (RMSF) caused by *Rickettsia rickettsii*, is the most lethal rickettsiosis of the world. It is transmitted to humans primarily by *Dermacentor* spp. ticks in the USA, by *Amblyomma* spp. in Latin America, and also by *Rhipicephalus sanguineus* in a few areas of Mexico and the USA. In the state of São Paulo, southeastern Brazil, *R. rickettsii* is transmitted mainly by *Amblyomma cajennense* in the countryside, and by *Amblyomma aureolatum* in the metropolitan area.

For both ticks under natural conditions, *R. rickettsii*-infection rates are usually very low, below 1%. Interestingly, laboratory studies have shown that while *A. aureolatum* ticks are highly susceptible to *R. rickettsii* (usually 100% of the ticks become infected after feeding on rickettsemic guinea pigs), *A. cajennense* are partially refractory (only ≈20% of the ticks become infected after feeding on rickettsemic guinea pigs). In addition, transovarial transmission of *R. rickettsii* is highly efficient in *A. aureolatum*, and very low in *A. cajennense*. Thus, populations of *A. cajennense* might not be capable to sustain *R. rickettsii* infection through successive generations, unless new cohorts of infected ticks are frequently created through the feeding on rickettsemic amplifier hosts, such as capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), a common host of *A. cajennense* in RMSF-endemic areas in the country side of the state of São Paulo.

In fact, experimental studies have shown that capybaras are competent amplifier hosts of *R. rickettsii* for *A. cajennense* ticks. Despite of the high susceptibility of *A. aureolatum* to *R. rickettsii* infection, this tick also might not be able to sustain rickettsial infection for a long term due to the deleterious effect that *R. rickettsii* elicits to engorged females. In this case, the participation of amplifier hosts (yet to be determined) might also be needed for maintaining the infection amongst *A. aureolatum* populations in the metropolitan area of São Paulo, although in a lesser extent.

At any rate, RMSF has occurred with similar incidences, always low, in both the countryside and the metropolitan areas. In this case, low number of cases in the metropolitan area might occur because the highly competent vector (*A. aureolatum*) only rarely bites human; on the other hand, even though *A. cajennense* frequently bites humans, the low incidence of the disease in the countryside might be a result of the low vector competence of this tick, since it is partially refractory to *R. rickettsii* infection.

---

## **Anaplasma marginale: noxa de rickettsias, antigénica, inmunológica y económicaamente importante en bovinos de áreas intertropicales**

Otoniel Vizcaíno

Asesor y director de producción de la vacuna Anabasan®, Laboratorios LIMOR, Bogotá. D.C., Colombia

### **Antecedentes históricos**

En la centuria pasada, después de que Babes identificara en 1888 bovinos febriles, anémicos y hemoglobinúricos en Rumanía, Sir Arthur Theiler estableció, también en bovinos febriles y anémicos pero no hemoglobinúricos en África, que éstos estaban afectados por un organismo diferente a la babesia, al que denominó *Anaplasma marginale*, por su carencia de citoplasma y por su ubicación en la periferia de los glóbulos rojos (Theiler, 1910).

En Colombia se reportó su hallazgo en 1899, en la naciente primera Escuela Oficial de Veterinaria de la Universidad Nacional de Bogotá, que fundó y dirigió el sabio y científico francés Claude Véricel. Pero,

Correspondencia:

Avenida 15 N° 106-32, PH 2, Bogotá; D.C., Colombia

Teléfonos: 620-1023 y (311) 230-13 54

vizcaínogerdt@gmail.com

para la época, la confirmación de Smith y Kilborne en 1893 de que a *Babesia bigemina* la transmitían las garrapatas, motivó una exhaustiva investigación en muchos países del mundo, orientada a darle un mejor perfil al diagnóstico, a confirmar factores incidentes en la epidemiología de las parasitosis y a desarrollar métodos químicos y, posteriormente, inmunoprotectoros para el control de las “fiebres por garrapatas” (*tick fever*). No obstante, un brote ocurrido en 1902 en Queensland, Australia, ocasionó la muerte de un número estimado de 3'000.000 de bovinos (54,5 % de la población) (Callow, 1975; TFKC, 1991) y este episodio encendió las alarmas de muchos países del mundo, que ya conocían la acción devastadora del anaplasma y las babesias para bovinos especialmente susceptibles.

En Colombia, en las décadas 30 a 50, en las facultades de Medicina Veterinaria de la época se llevaron a cabo trabajos de tesis sobre el diagnóstico de hemoparasitosis y sobre alternativas químicas para su control. Pero fue especialmente en las décadas de los 60 a los 80, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), mediante convenios internacionales (ICA-Universidad de Texas A&M-Universidad de Illinois y Convenio Colombo-Alemán), que se realizaron estudios epidemiológicos y proyectos de investigación con mayor cubrimiento y con mayor rigor científico (entre otros: Carson *et al.*, 1970; Lozano, 1971; Vizcaíno *et al.*, 1971; Bishop, 1971; Corrier, 1975; González *et al.*, 1976; Zaraza y Parra, 1977; Corrier *et al.*, 1980; Vizcaíno *et al.*, 1980; Vizcaíno y Betancourt, 1983; Betancourt *et al.*, 1984<sup>a</sup> y 1984<sup>b</sup>; López y Vizcaíno, 1992), que dejaron una copiosa información y personal capacitado en el tema de las hemoparasitosis que afectan a los bovinos.

### Epidemiología de las fiebres por garrapatas en Colombia

La ubicación geográfica de Colombia en el trópico, bajo la influencia de los océanos Atlántico y Pacífico y la diferente topografía de su territorio ocasionada por la cadena montañosa de los Andes, con valles y extensas llanuras, influye para que se presenten notables variaciones en la pluviosidad y el clima, lo cual incide en los cambios moderados y drásticos de temperatura y en la humedad relativa según la altitud. Esto da origen a la clasificación por pisos térmicos (Cruz *et al.*, 1972). Estas características geográficas y climáticas permiten la zonificación agrícola y pecuaria, pero también, establecen condiciones ecológicas óptimas para los artrópodos vectores (dípteros hematófagos y garrapatas), los cuales transmiten los microorganismos que producen las “fiebres por garrapatas” (*A. marginale* y *Babesia* spp.) en bovinos, en aproximadamente 92 % del país.

En las últimas cinco décadas, el impacto ocasionado por el calentamiento global, ha ampliado la cobertura geográfica de los artrópodos vectores y de los organismos patógenos que transmiten (Betancourt, 2009 y 2010), los cuales ya han hecho presencia en áreas superiores a los 2.600 msnm, con brotes esporádicos por hemoparasitosis bovinas que ocasionan pérdidas significativas (El Tiempo, Sección “Tierra y Ganados”, 2005; Cotrino *et al.*, 2007); dichas áreas eran consideradas libres de parásitos sanguíneos cuatro décadas atrás.

Actualmente, en una encuesta epidemiológica sobre garrapatas y hemoparásitos, y la influencia del cambio climático, que lidera Antonio Betancourt de Corpoica, en altitudes superiores a los 2.200 msnm, se encontraron garrapatas de la especie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en un bovino nativo en una vereda del municipio de Pachavita (Boyacá) a una altitud de 2.903 msnm, y, también, en el área de estudio de oviposición y eclosión de larvas de la garrapata *Boophilus* hasta los 2.600 msnm (Betancourt, 2010, comunicación personal). Esto constituye un riesgo potencial para las ganaderías vulnerables, especialmente las productoras de leche, ubicadas en áreas consideradas como libres de hemoparasitosis bovinos en épocas recientes.

En relación con la rickettsia *A. marginale*, se demostró por serología su prevalencia en Colombia en 1969 mediante la prueba de aglutinación capilar (Anatest®), en cinco centros de investigación del ICA, localizados a diferentes altitudes sobre el nivel del mar. En la granja de Tibaitat (Cundinamarca), ubicada en la sabana de Bogotá a 2.600 msnm, la prevalencia fue de 3 % y en las demás granjas los valores porcentuales tuvieron un valor inversamente proporcional a la altitud. En la granja de Turipaná, por ejemplo, localizada en el departamento de Córdoba a 13 msnm, la prevalencia fue de 91 % (Kuttler *et al.*, 1969). Posteriormente, en una encuesta serológica realizada en la región de Zipaquirá (sabana de Bogotá), tres décadas después de la encuesta realizada en la granja de Tibaitatá, se obtuvo una prevalencia de 30 % para la rickettsia *A. marginale* en 93 % de las fincas (Benavides *et al.*, 2003), lo cual indica que la

prevalencia de las hemoparasitosis en el área referenciada, debido a la influencia del cambio climático, se ha incrementado de 3 % a 30 % en un lapso de tres décadas.

También, en la zona lechera de Boyacá se encontró que en 64 % a 68 % de las fincas se aplican frecuentemente acaricidas con una periodicidad de 12 baños por año (Ortiz, 2004). Esta medida sugiere el posible desplazamiento de la garrapata del ganado bovino *R. (B) microplus* a altitudes superiores donde no había prevalencia de hemoparasitosis en otras épocas, y, posiblemente, por los baños acaricidas por el temor de que se presentaran casos clínicos por anaplasmosis, babesiosis o ambas.

También puede estimarse la distribución que tienen las fiebres por garrapatas en Colombia, si consideramos que en 1974, 21 de los 24 centros de diagnóstico del ICA reportaron casos de anaplasmosis y, en 18, por babesiosis (Vizcaíno, 1976).

El conocimiento de la epidemiología de las hemoparasitosis en el país se tiene especialmente por los proyectos que adelantó el ICA con los convenios internacionales en las décadas del 70 y el 80, en tres importantes regiones ganaderas: Región Caribe (Córdoba y Sucre); Región del Pacífico (Valle del Cauca), y Región de la Orinoquia (Meta).

En la Región Caribe (28 °C y 13 a 15 msnm) la prevalencia para la rickettsia *Anaplasma* en la década de los 70 fluctuó entre 63 y 100 % (Corrier, 1975), y se observó también que la primoinfección por la rickettsia ocurría generalmente a las cuatro semanas del nacimiento.

En la Región del Pacífico (24 °C y 1.000 msnm), en la misma década del 70, se encontró una prevalencia de la misma rickettsia entre 60 % y 96 % (Corrier, 1975).

En la Región de la Orinoquia (26 °C y 450 msnm), la prevalencia de *Anaplasma* en 1970 fluctuó entre 48 y 98 % (Corrier, 1975). En otra encuesta realizada en la década de los 80, se estimó una prevalencia de 80 % para la rickettsia *Anaplasma* (Mateus, 1987).

### **Clasificación taxonómica de *Anaplasma marginale***

*Anaplasma marginale* es una rickettsia del genogrupo II de las Ehrlichias, que infecta especialmente los glóbulos rojos maduros del ganado bovino y de algunos otros mamíferos (Ristic, 1968). Pertenece al orden Rickettsiales, a la familia Anaplasmataceae y al género *Anaplasma* con las siguientes especies: *A. marginale* (patógeno en bovinos) y *A. ovis* (poco patógeno para ovinos y caprinos) (Ristic y Kraeier, 1984; Dumler et al., 2001). Últimamente consideran a *A. centrale* como una variante de *A. marginale* porque las diferencias antigenicas y genéticas no son tan pronunciadas (Palmer et al., 1988); en el *International Journal of Systematic Bacteriology*, sólo incluyen *A. marginale* y *A. ovis*. Tampoco se menciona *Paranaplasma caudatum*, por igual motivo. El género *Anaplasma* recientemente se ha ampliado e incluye tres especies del género *Ehrlichia* (Dumler et al., 2001):

- *Anaplasma phagocytophilum* (anteriormente *Ehrlichia phagocytophilum*, *Ehrlichia equi* y el agente de la ehrlichiosis humana, *human granulocytic anaplasmosis* o HGA).
- *Anaplasma bovis* (anteriormente, *Ehrlichia bovis*), y
- *Anaplasma platys* (anteriormente, *Ehrlichia platys*).

En los últimos veinte años, la investigación sobre anaplasma se ha centrado especialmente en la caracterización de las proteínas de superficie (*Macrophage Stimulating Protein*, MSP), de las cuales se han caracterizado seis: MSP1a, MSP1b, MSP3, MSP4 y MSP5. Las proteínas MSP2 y MSP3 están involucradas en la inducción de inmunidad protectora para *A. marginale* (Palmer et al., 1999), y la proteína MSP5 ha demostrado gran eficacia como antígeno para diagnóstico (Torioni et al., 1998).

### **Morfología y ultraestructura de *Anaplasma marginale***

Al microscopio de luz, la rickettsia *A. marginale* se observa como un corpúsculo de inclusión oscuro en la periferia de los glóbulos rojos, en número de uno o más organismos con un tamaño de 0,6 a 0,9 µm, que son visibles por los métodos colorimétricos de Romanowsky.

Al microscopio electrónico, la rickettsia se observa dentro de una vacuola del eritrocito sin membrana citoplasmática y se multiplica en ella por división binaria formando 2, 4 u 8 corpúsculos iniciales (unidades

infectivas) de 0,1 a 0,3  $\mu\text{m}$ , los cuales están circunscritos por una doble membrana y tienen como característica física ser filtrables (Ristic *et al.*, 1972).

### Vectores y modo de transmisión de *Anaplasma marginale*

La rickettsia *Anaplasma* puede transmitirse mecánicamente, biológicamente, por vía transplacentaria o por vía transovárica.

Su transmisión mecánica se hace por medio de dípteros hematófagos: mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*), tábanos, mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) y por mosquitos; también, en forma iatrogénica por fómites contaminados con sangre, como ocurre en operaciones quirúrgicas, tatuajes, implantación de orejeras, narigueras y vacunaciones masivas con muy pocas agujas. Además, se ha reportado la infección ocasional durante la palpación con guantes contaminados con sangre que no se desinfectan antes de cada palpación.

Su transmisión biológica se produce mediante garrapatas, especialmente de los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Boophilus* (Kocan *et al.*, 2003).

La transmisión biológica puede ocurrir entre estadios, de larva a adulto sin nueva exposición en la fase como ninfa, y transestadio, de larva a ninfa y de ninfa a adulto (Kocan, *et al.*, 1981). El ciclo de la transmisión biológica comienza en las células del intestino medio, con la subsecuente infección de las células musculares del intestino, donde se forman múltiples colonias de la rickettsia *Anaplasma*. El desarrollo final ocurre en las glándulas salivares, desde donde la rickettsia se transmite al huésped vertebrado.

En cada sitio de desarrollo en la garrapata, la rickettsia *Anaplasma* se multiplica dentro de inclusiones unidas a las membranas, formando múltiples colonias. Cada ciclo involucra dos estadios: una forma reticulada, o vegetativa, y la forma densa infectiva. La forma reticulada que se divide por fisión binaria se observa primero dentro de las colonias, las cuales posteriormente se condensan para dar lugar al estado denominado “electrodenso”, capaz de sobrevivir fuera de las células e infectar a otras en los tejidos del artrópodo (Kocan, *et al.*, 1996).

Además de la transmisión mecánica y biológica, la rickettsia *Anaplasma* puede transmitirse ocasionalmente por vía transplacentaria, de madre a feto, durante la gestación (Zaugg, 1990; Wilches, 1993). Esta transmisión puede ocurrir en el segundo o tercer trimestre de la gestación, posiblemente por una fase por fuera del eritrocito de la rickettsia, que atraviesa la barrera placentaria e infecta al feto.

Finalmente, aunque no ha sido ampliamente aceptada, se ha reportado la transmisión transovárica (López y Vizcaíno, 1992; Flórez, 2006; Aubry y Geale, 2010).

En la referencia colombiana de López y Vizcaíno (1992), se realizó en condiciones de estricto confinamiento, a prueba de artrópodos vectores de la rickettsia en dos localidades (Granja Experimental de El Nus (Antioquia) y Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias de la época del ICA en Bogotá), suministrando a los animales agua y concentrado.

En el experimento referenciado se utilizaron garrapatas de la especie *Boophilus microplus* cultivadas en condiciones de laboratorio, libres de infección por hemoparásitos con las cuales se infestaron terneros Holstein con el bazo *in situ*, parasitados con una cepa de campo de *A. marginale*. Las teleoginas de *B. microplus* obtenidas de esta infestación, se incubaron en condiciones de laboratorio a 28 °C y 80 % de humedad relativa, y las larvas obtenidas de la oviposición de estas garrapatas se utilizaron en los ensayos de transmisión transovárica en las dos localidades mencionadas.

En los glóbulos rojos de cuatro animales infestados con larvas supuestamente infectadas con la rickettsia *Anaplasma*, se observó *A. marginale* a partir de los 14 días en la primera localidad y a los 16 días en la segunda, con parasitemias desde el día 14 a 25 después de la infestación de 0,05 % a 10 % y de 0,1 % a menos de 1,0 %, respectivamente; y con hematocritos mínimos de 12% el día 25 y de 18% el día 27, respectivamente. Consideramos, entonces, una posible modificación biológica del organismo para que hubiera ocurrido la infección transovárica. En otra ubicación geográfica en Suráfrica, en 2010, se reportó una incidencia de 15,6 % de transmisión transovárica por *A. marginale* y *A. centrale* (Aubry y Geale, 2010).

### **Infección de eritrocitos bovinos con *Anaplasma marginale***

La rickettsia *Anaplasma* infecta especialmente los glóbulos rojos del bovino. Su penetración a los glóbulos rojos se hace por un proceso no lítico de invaginación o endocitosis y, su salida, por otro proceso de exocitosis, en el cual los corpúsculos iniciales pasan de una célula infectada a otra no infectada, mediante puentes intercelulares que se forman entre ellas; este último proceso se denomina rofecitosis.

En la rofecitosis, se presenta una disminución en la concentración de fosfolípidos en la membrana citoplásmica del glóbulo rojo y un aumento en la concentración del ácido siálico en el suero sanguíneo (Ristic y Carson, 1975).

### **Síntomas de la anaplasmosis bovina y su diferencia clínica con babesiosis**

*Anaplasma marginale* es un organismo que tiene un periodo subclínico de 28 a 35 días, pero en animales muy sensibles (sin previa exposición a artrópodos vectores), por la virulencia del organismo y por un gran número de organismos inoculados, puede ser de dos semanas. Generalmente, en animales inmunocompetentes, la infección tiende a la cronicidad (anaplasmosis); no obstante, la sintomatología que presenta la enfermedad en los casos agudos (anaplasmosis) son fiebre de 40,5 °C, decaimiento, anorexia, deshidratación, palidez e ictericia de mucosas, coprostasis, disminución o atonía de los movimiento de rumia, ocasionalmente abortos y alta mortalidad. Clínicamente se diferencia de la babesiosis porque en la anaplasmosis no se presenta hemoglobinuria y en el análisis de laboratorio se detecta una acidez metabólica (Allen y Kuttler, 1981; Wilches, 1993).

### **Impacto económico de la anaplasmosis y las babesioses en la industria bovina**

El impacto económico ocasionado por la anaplasmosis y la babesiosis debe considerarse conjuntamente para estas dos enfermedades, en razón a que generalmente se localizan en las mismas áreas y producen casi los mismos síntomas y signos, exceptuando la hemoglobinuria.

Se estima que las pérdidas económicas son considerables y deben cuantificarse mediante la suma de los gastos que se ocasionan por diferentes factores, como: tratamiento químico (profiláctico y terapéutico) para prevenir infecciones o tratar infecciones agudas (Adams y Todorovic, 1974; Guglielmone *et al.*, 1988; Vial y Gorenflo, 2006); aplicación de vacunas; compra de acaricidas y mosquicidas; muertes y disminución de la productividad; abortos; servicio veterinario y exámenes de laboratorio.

También, se ocasiona una gran pérdida económica por la restricción de los programas ganaderos en el trópico para mejorar la productividad de nuestras razas autóctonas con raza europeas (*Bos taurus*), las cuales, aunque más productivas, son muy propensas a la infestación por artrópodos y a los protozoarios y rickettsias que estos transmiten (Meléndez, 2000).

Muchas de estas pérdidas son difíciles de cuantificar, porque pocas veces se tiene el recurso de un diagnóstico específico. Por ejemplo, en los Estados Unidos mueren anualmente por anaplasmosis entre 50.000 y 100.000 animales, con un costo aproximado de US\$ 300 millones (Palmer y McElwain, 1995); en Cuba, en la década de los 90, se estimaron pérdidas por mortalidad en más de US\$ 2 millones; en Argentina, fueron de US\$ 200 millones y, de más de US\$ 1.000 millones en la ganadería brasileña. En el mundo, para 1987, la FAO calculó pérdidas por más de US\$ 7.000 millones ocasionadas por anaplasmosis, babesiosis y por garrapatas, en 1.200 millones de bovinos que pastan en regiones intertropicales.

En Colombia, en 1975, por concepto de garrapatas y hemoparásitos, las pérdidas se estimaron en Col\$ 6.070 millones de pesos, desglosados de la siguiente manera: en leche, Col\$ 514 millones; por muertes, Col\$ 380 millones; por deterioro de las pieles, Col\$ 99 millones, y por disminución en la producción de carne, Col\$ 5.077 millones (Vizcaíno, 1981).

En 1982, se estimó que las pérdidas anuales ocasionadas por garrapatas en Colombia eran de Col\$ 2.379 millones y las causadas por hemoparásitos, en Col\$ 391 millones (Lobo, 1982). Benavides actualizó el estimativo de Lobo en el 2000, multiplicando los valores obtenidos por un valor de inflación fija anual de 18 % (factor de corrección: 27,39), lo cual arrojó, para el año 2000, pérdidas de Col\$ 12.368 millones por hemoparásitos y de Col\$ 65.168 millones por garrapatas (Benavides, 2000).

En Colombia tenemos muy pocos ejemplos estadísticamente cuantificados, pero podemos mencionar los siguientes. En una finca lechera del Valle del Cauca, las pérdidas debidas a hemoparasitosis (mortalidad, costos en medicamentos, mano de obra) en el periodo de 1970 a 1975, se calcularon en US\$ 5 a US\$ 13 por cabeza al año. En la misma región, las tasas de mortalidad por hemoparasitosis fueron de 4 % en bovinos menores de 24 meses y de 3 % en animales de mayor edad. También, la producción de leche en vacas que enfermaron por hemoparasitosis, disminuyó en 605 litros/lactancia y tuvieron un periodo seco de 92 días (González *et al.*, 1978a).

En la granja de Turipaná, en Montería, debido a una gran infestación por garrapatas y hemoparásitos, hubo mortalidad de 40 % y disminución del peso (38 kg/animal), y el volumen de glóbulos rojos fue menor de 48 % (Corrier *et al.*, 1979).

Se reportaron pérdidas por 1,3 millones de dólares, ocasionadas por garrapatas, babesias y anaplasma (Otte, 1979).

En una finca del Meta, en 1993, se calcularon pérdidas de Col\$ 20'448.125 en 100 vacas, por disminución de la producción de leche, pérdida de peso, gastos en químicos y mortalidad (2 %) (Mahecha, 1993), cifra que equivale a Col\$ 94'264.000, pesos actuales (Vizcaíno, 2010). En este caso no se tuvieron en cuenta los abortos presentados (6 %) ni los daños ocasionados en las pieles por las parasitosis externas.

En el departamento de Córdoba, se informó reducción en la producción de leche, debido a que las vacas perdieron su ternero (16 %) y no completaron su lactancia (Otte 1989). Además, la mortalidad fue de 16 % en terneros por hemoparásitos (Nowak, 1990). Navarrete, en 1990, encontró en este mismo departamento, que los costos por concepto de preservación de la salud ascendieron a 23,2 % de los costos variables totales en las fincas pequeñas (menores de 200 ha), a 13,7 %, en las fincas medianas (200 a 300 ha), y a 12,8 %, en las fincas grandes (más de 300 ha).

### **Alternativas inmunológicas y de control químico para las fiebres por garrapatas**

Las alternativas de control para las fiebres por garrapatas varían en relación con la localización geográfica (profilaxis, tratamiento y esterilización química e incluyen:

- a) mantener los animales libres de infección;
- b) controlar los vectores;
- c) tratamientos con fármacos específicos para neutralizar la enfermedad clínica mediante quimioterapia o previniendo la presentación de la sintomatología clínica con quimioprofilaxis, y
- d) protección mediante la aplicación de vacunas.

### **Control químico de las fiebres por garrapatas**

El control a base de fármacos debe considerar un tratamiento integral, específico y oportuno, orientado a inhibir la acción patógena de los parásitos (de la rickettsia *A. marginale* y los protozoarios *Babesia* spp.) hasta establecer un equilibrio en el binomio parásito-huésped y a restaurar la fisiología animal por los daños ocasionados por la infección, mediante un tratamiento sintomático. Este último debe considerar entre otros, la aplicación de antianémicos, antipiréticos, el equilibrio de electrolitos y, algunas veces, transfusión sanguínea.

Según el caso y las circunstancias, el tratamiento químico debe aplicarse también con criterio terapéutico o profiláctico (Waal y Combrink, 2006). El tratamiento debe administrarse en casos agudos de enfermedad o en presentación de brotes (Guglielmone *et al.*, 1988). En cuanto al tratamiento profiláctico, se requiere cuando hay un gran riesgo de infección o cuando la enfermedad ocurre con mucha frecuencia durante todo el año, en épocas que coinciden con incremento en la población de vectores (verano), y en situaciones de estrés fisiológico (partos) o estrés nutricional (escasez de alimento).

### **Control químico de la anaplasmosis**

Actualmente existen dos tipos de fármacos anaplasmidas que son terapéuticamente efectivas, el grupo de las tetraciclinas y el imidocarb.

Las tetraciclinas resultaron como una selección sistemática de muestras de suelos de muchas partes del mundo en busca de sustancias con acción antibiótica. La primera de ellas, la clortetraciclina, se introdujo en 1948, y luego, la oxitetraciclina y la tetraciclina, en 1950 y 1952, respectivamente.

Según su tiempo de eliminación, las tetraciclinas se clasifican como compuestos de acción corta, de acción intermedia o de acción prolongada, y se eliminan principalmente por el riñón y las heces. Con las tetraciclinas de corta acción, se deben administrar varios tratamientos para garantizar una buena eficacia. Mientras que con las tetraciclinas de larga acción, se mantienen niveles terapéuticos en el plasma por tres o cinco días, pudiendo potenciar el posible sinergismo entre la acción del fármaco y la respuesta inmunitaria del animal (Todorovic y González, 1979; Betancourt, 1981). No obstante, se ha demostrado que las tetraciclinas, aun las de larga acción, son aparentemente ineficaces durante el periodo de incubación, posiblemente cuando el organismo, durante su fase de infección, se encuentra blindado por los puentes intercelulares (rofeocitosis) que hipotéticamente se forman entre un glóbulo rojo infectado y otro no infectado. Esto indicaría una mayor resistencia de los anaplasmas en esa fase subclínica o de incubación, que durante el periodo clínico de la enfermedad.

La dosis de las tetraciclinas de 50 mg y 100 mg/ml, es de 10 ml/100 kg de peso (es decir, 1 ml/10 kg de peso), y para la tetraciclina de 200 mg/ml, la dosis es también de 10 ml/100 kg de peso (es decir, 1 ml/10 kg de peso).

El mecanismo de acción de las tetraciclinas se basa en su unión a la subunidad ribosómica 30s y, de esta manera, inhibe la síntesis proteica.

En general, las tetraciclinas y sus derivados se consideran atóxicos. No obstante, se han reportado algunos trastornos generales que pueden incrementarse en ciertos casos de sensibilidad individual. Se han reportado, por ejemplo, fallas en la tasa de filtración glomerular, disminución en los niveles de calcio y fósforo después de cinco días de tratamiento, irritación muscular en el sitio de la aplicación, y posible falla renal y hepática con la aplicación rápida de la oxitetraciclina. También, se presenta coloración de los dientes cuando las tetraciclinas se aplican durante las dos o tres semanas de gestación (Aronson, 1980). Estos ejemplos muestran que, si bien los antibióticos del grupo de las tetraciclinas son aparentemente atóxicos, existen factores como el estrés, la sensibilidad animal, las sobredosis y ciertos estados fisiológicos, que pueden desencadenar un cuadro leve o agudo de intoxicación. La Engemicina® 10 % LA, es una solución acuosa de oxitetraciclina, formulada en un núcleo de magnesio para minimizar la irritación y el dolor en el lugar de su aplicación. En bovinos, las vías recomendadas son la intravenosa y la intramuscular (Vademecum Veterinario, duodécima edición, p. 257-8).

En ganado de carne existen restricciones en el uso de las tetraciclinas, que deben tenerse en cuenta para su "tiempo de retiro". Por ejemplo, cuando los animales son tratados con soluciones al 5 %, el tiempo de retiro debe ser de 10 días, con soluciones al 15 %, 14 días, y con tetraciclina LA, 28 días. En ganado en producción de leche, las restricciones para el consumo son de 3 días con soluciones al 5 % y de 5 días para soluciones al 10 %.

#### **Control químico de infecciones con *Anaplasma* o *Babesia* spp. con imidocarb**

La sal carbanilídica (dipropionato o diclorhidrato de imidocarb) se seleccionó en 1969 para el control químico de las babesias, mediante pruebas selectivas de una serie de compuestos que tenían alguna acción contra *B. rodhaini*, que afecta a las ratas, y las primeras observaciones en el sentido de que también tenía efecto contra *A. marginale* comenzaron a partir de 1971 (Hart et al., 1971). En este caso, las babesias son más sensibles a la acción del fármaco que la rickettsia *Anaplasma*. En consecuencia, la dosis de imidocarb para bovinos es de 1 ml/100 kg de peso para controlar la babesiosis y, de 2,5 ml/100 kg de peso, para inhibir la anaplasmosis. Este tratamiento no debe repetirse antes de siete días.

El fármaco actúa en la anaplasmosis disminuyendo el número de organismos, al producir alteraciones estructurales, modificación en el tamaño y vacuolización, y muerte del organismo.

En la babesiosis tiene un efecto directo sobre el parásito, produce vacuolización del citoplasma y disminución de los ribosomas, así como dilatación de la cisterna del núcleo y cariorrexis (Aliu, 1983).

En Colombia, el imidocarb, a la dosis de 2 mg/kg de peso por vía intramuscular, protegió contra babesias, pero falló contra la rickettsia *Anaplasma* (Vizcaíno et al., 1979).

Después del tratamiento y según la sensibilidad animal, puede presentarse salivación, lagrimeo, descarga nasal serosa y diarrea, reacciones que pueden prevenirse con atropina. Este fármaco puede presentar también una acción anticolinesterasa y propiedades colinérgicas, razón por la cual se aconseja no bañar los animales con acaricidas organofosforados inmediatamente se aplique imidocarb.

Se debe tener en cuenta en las inmunizaciones contra babesiosis, con vacunas vivas atenuadas, que la solución del imidocarb al 10 % puede esterilizar *B. bigemina* a dosis de 0,6 mg/kg y *Babesia bovis* a dosis de 2 mg/kg (Callow y McGregor, 1970). Sólo se recomienda en bovinos la vía subcutánea o intramuscular y se subraya no aplicarla por vía intravenosa en ninguna especie.

Las normas de salud pública determinan que la carne de bovinos tratados con imidocarb solamente pueden consumirse 28 días después de su última aplicación y se recomienda no aplicarla en bovinos que produzcan leche para consumo humano. También, al aplicar vacunas contra la anaplasmosis y la babesiosis, se recomienda sólo hacerlo después de 60 días de la última aplicación de imidocarb.

### **Vacunas vivas atenuadas contra la anaplasmosis y las babesiosis**

Actualmente, para la inmunización contra las fiebres por garrapatas, las únicas vacunas moderadamente atenuadas y comercialmente disponibles en muy pocos países del mundo, son las vacunas vivas (Waal y Combrink, 2006; Benavides *et al.*, 2000). No obstante, para la protección contra la anaplasmosis existen "vacunas muertas" o experimentales, pero ninguna de ellas está disponible todavía en ninguna parte del mundo (Guglielmone *et al.*, 2006). Por otra parte, los resultados en cuanto a eficacia hasta ahora obtenidos con ellas, están aun muy por debajo de la adecuada a eficacia óptima que se consigue con las vacunas vivas y la replicación de las unidades inmunogénicas no se han conseguido en suficiente volumen para cumplir con una demanda comercial. Por lo tanto, las vacunas experimentales siguen todavía en espera.

En cuanto a las vacunas vivas, todas se derivan del sistema desarrollado inicialmente en Australia, basado en la atenuación de la capacidad patógena de los organismos de las vacunas, especialmente babesias y utilizando los organismos (*Anaplasma* y *Babesia* spp.) en dosis mínima infectiva ( $1 \times 10^7$  organismos de cada una de las noxas).

- Se ha informado la atenuación natural de *B. bovis* mediante pases rápidos en terneros sometidos a esplenectomía (Callow y Mellors, 1966), atenuación también obtenida en Colombia por igual procedimiento en el pasaje 11 (González *et al.*, 1979), de una cepa aislada en Montería por Vizcaíno *et al.*, en 1971.
- La atenuación de *A. marginale* la reportó Ristic en 1968, mediante irradiación con cobalto 60 y, luego, por pases en venados y ovinos, pero aún hoy es un tema en controversia por qué esta rickettsia revierte a su capacidad patógena original; por este motivo, algunos países reemplazan el organismo vacunal *A. marginale* por *A. centrale*, menos patógeno, considerado últimamente como una variante de *A. marginale* y que produce contra éste sólo una protección parcial. Por el procedimiento de la irradiación con cobalto 60 se logró, en Colombia, la atenuación experimental de *B. bovis* y *B. bigemina*, a una dosis de 33 krads (Vizcaíno y Urrego, 1988).
- También se ha reportado la atenuación de *B. bigemina* mediante pases lentos en terneros con el bazo *in situ* (Dalglish *et al.*, 1981), lograda también con una cepa de *B. bigemina* aislada en Villavicencio en el pasaje 5 (Vizcaíno, 1982).
- El método de la dosis mínima infectiva para la rickettsia *Anaplasma* ( $1 \times 10^7$  organismos) (Franklin y Huff, 1967), se utilizó con éxito en trabajos sobre babesias y *Anaplasma* en Colombia, en las décadas de los 70 y 80 (Vizcaíno y Todorovic, 1975; González *et al.*, 1976; Vizcaíno y Todorovic, 1987), y es también el procedimiento que se utiliza para la dosis vacunal de los organismos de la vacuna Anabasan® de LIMOR (*A. marginale*, *B. bigemina* y *B. bovis*).

Todos estos trabajos, la capacitación de profesionales colombianos en el área de hemoparásitos y el apoyo de la industria privada, permitieron la formulación de la vacuna Anabasan®, la cual se constituye en la principal alternativa para la prevención de las fiebres por garrapatas, alternativa importante para el desarrollo y mejoramiento de la ganadería en las áreas tropicales de Colombia, porque está demostrado

que la vacunación con organismos vivos y un manejo adecuado de vectores, es el método más eficaz, más económico, limpio y sostenible, para crear estabilidad enzoótica. La condición del inmunógeno de estar formulado con una dosis mínima infectiva y con organismos moderadamente atenuados, permite que se establezca rápidamente una sólida inmunidad celular en animales sensibles, que neutraliza la presentación de infecciones agudas; inmunidad que se mantiene y se incrementa si se regulan posteriormente los baños garrapaticidas en períodos espaciados que permitan permanentemente una adecuada población de garrapatas, una adecuada tasa de inoculación y la característica de coinfección que requieren estas enfermedades.

La inmunoprofilaxis de hemoparásitos con Anabasan® está especialmente recomendada para animales sensibles, de 3 a 12 meses de edad, que se movilicen a áreas endémicas de hemoparásitos, pero pueden vacunarse también animales adultos de áreas enzoóticamente inestables con moderadas precauciones después de la vacunación. Para animales adultos muy sensibles que se vacunen y se movilicen a áreas endémicas de garrapatas después de 60 días de la vacunación, se recomiendan baños periódicos, esto teniendo en cuenta la transmisión natural de *B. bovis* por la larva de *Boophilus*, la transmisión de *B. bigemina* a partir de la fase de ninfa y por el adulto de esta garrapata, y la acción residual del garrapaticida, con el fin de minimizar el estrés fisiológico que podría producir la inoculación natural simultánea de varias especies de hemoparásitos, sumado al estrés calórico y nutricional que podrían encontrar los animales en el nuevo ambiente.

El primer baño garrapaticida el día 5 después de la infestación permite que la fase de larva de *Boophilus* transmita sólo *B. bovis*.

Con el segundo baño garrapaticida el día 23 después de la infestación, se logra la transmisión de *B. bovis* por segunda vez y *B. bigemina* por primera vez.

Con el tercer baño garrapaticida el día 53 después de la infestación, se logra una transmisión de *B. bovis* por tercera vez, una segunda transmisión de *B. bigemina* y, posiblemente, la transmisión de *A. marginale*, lográndose finalmente una transmisión natural gradual de los tres microorganismos.

En animales inmunocompetentes, la vacuna Anabasan® tiene una eficacia aproximada de 85 a 90 %. Sin embargo, en algunos casos pueden presentarse reacciones clínicas moderadas y aún agudas (2 a 3 %), debido a enfermedades inmunodepresivas como leucosis, diarrea viral bovina, neosporosis, leptospirosis y, posiblemente, por la pasteurella *Mannheimia hemolítica*, etc., que se han incrementado; también, cuando se presenta alta infestación por garrapatas, animales vacunados con cualquier inmunógeno se hacen sensibles, no generan suficientes defensas y pueden presentar sintomatología aguda por cualquier patógeno. Se recomienda, en este caso, un diagnóstico del caso clínico y recurrir oportunamente al tratamiento específico.

En Colombia, en más de 85 % de su territorio, prevalece un clima tropical y ahora, con el calentamiento global se amplía cada vez más el área tropical, lo cual favorece la biología de artrópodos vectores y la transmisión de organismos patógenos, especialmente los que producen las fiebres por garrapatas (Martens et al., 1996; Betancourt, 2009 y 2010). En estas enfermedades, para evitar casuísticas clínicas y brotes esporádicos, se debe lograr mediante vacunación y con un adecuado manejo de vectores, la condición de "estabilidad enzoótica", condición que prevalece cuando las garrapatas son frecuentes durante todo el año, la tasa de inoculación de los organismos hemoparasitarios ocurre en alto porcentaje y rara vez se presenta enfermedad clínica (Benavides, 1985). En áreas donde las condiciones climático-ambientales no son favorables para la biología y reproducción de la garrapata y donde su población se reduce drásticamente mediante control intenso con acaricidas, la población de garrapatas se reduce a un mínimo y se crea inestabilidad enzoótica, lo cual permite que los animales sean cada vez más susceptibles, se hacen vulnerables a frecuentes brotes por hemoparasitosis que pueden presentarse.

La anaplasmosis y las babesiosis son enfermedades infecciosas que requieren de la infección frecuente posterior a la vacunación de los organismos de campo, para que no disminuya la condición inmune. Este es un factor que se debe tener en cuenta en un programa de vacunación con vacunas vivas que en la práctica no requieren de revacunación, porque ésta la realiza día y noche los artrópodos vectores en el

campo (moscas y garrapatas). Si después de una vacunación contra las fiebres por garrapatas se utiliza complementariamente un control intensivo de vectores, los animales incrementan la susceptibilidad y se establece una condición de “estabilidad enzoótica”.

La “inestabilidad enzoótica”, es aquella en la que los animales estarían a riesgo de enfermar por hemoparásitos con sintomatología clínica. En infecciones por *Babesia bovis* transmitidas por garrapatas en ausencia de nuevas infecciones, la inmunidad puede permanecer durante cuatro años y esta misma duración puede conseguirse mediante vacunación siempre que se tenga un manejo adecuado de vectores (Mahoney *et al.*, 1979; Mahoney *et al.*, 1973).

En el caso de la inmunidad dada por *Babesia bigemina*, los animales pueden ser nuevamente susceptibles, si permanecen sin la presencia de vectores, en tan solo 16 meses, un tiempo mucho menor que la inmunidad conferida por *Babesia bovis* (de Waal, 1996). En *A. marginale*, la inmunidad permanece por mucho más tiempo en ausencia de vectores, porque el organismo se sigue replicando *in vivo* en baja rickettsiemia, quizás por toda la vida productiva del animal (Krigel *et al.*, 1992). Luego, la permanencia de la condición de “estabilidad enzoótica” requiere de la infestación frecuente de los vectores que transmiten mecánicamente o biológicamente los organismos que ocasionan las fiebres por garrapatas.

Las experiencias australianas indican que la vacunación para prevenir los hemoparasitos, es el método más eficaz, económico y sostenible para prevenir la enfermedad clínica por anaplasmosis y por babesiosis (Bock y de Vos, 2001).

Las experiencias colombianas mediante vacunación con Anabasan® para prevenir las “ranillas del ganado” (anaplasmosis y babesiosis) y un manejo adecuado en el control de vectores, han demostrado que se consigue en 6 a 8 meses la condición de “estabilidad enzoótica”.

En el Valle del Cauca, los problemas clínicos frecuentes por hemoparasitos en los animales de la Hacienda Lucerna, se neutralizaron inmunizando los animales contra el problema de hemoparasitos y recomendando, según la raza, un umbral de infestación por garrapatas (30 garrapatas para razas cebuinas y 20 garrapatas para la raza cebú y sus cruces) (Betancourt, 2003, comunicación personal).

Los problemas por hemoparasitos se corrigieron también en la granja El Nus del ICA en Antioquia, reduciendo el número de baños garrapaticidas a tan solo tres por año (López, 2003, comunicación personal).

Las experiencias con la vacuna Anabasan® en la Hacienda Balú en Puerto Boyacá, se creó “estabilidad enzoótica” a partir de los 6 meses posteriores a la vacunación. En esta hacienda se viene vacunando de manera ininterrumpida cada 6 meses a los nuevos nacimientos desde hace 16 años y con ello se ha conseguido una protección óptima para las fiebres por garrapatas, que antes eran frecuentes (Benavides *et al.*, 2000).

Como resultado de las inmunizaciones, se ha incrementado la producción de leche y carne, libre de contaminantes químicos y los baños garrapaticidas se han reducido a tan solo dos por año (Vizcaíno, 2010, testimonio personal).

Todas estas experiencias indican que una óptima productividad ganadera se logra:

- con razas genéticamente resistentes y especializadas en productividad,
- adoptando la cultura de la protección inmune para minimizar la acción de enfermedades,
- con un manejo adecuado de vectores, integral y selectivo, y
- aplicando en la finca, las “buenas prácticas ganaderas”.

## Referencias

**Adam LG, Todorovic RA.** The chemotherapeutic efficacy of imidocarb dihydrochloride of concurrent bovine anaplasmosis and babesiosis. II. The effects of multiple treatments. *Trop Anim Hlth Prod.* 1974;6:79-84.

**Aliou YU.** Tick-borne diseases of domestic animals in Nigeria current treatment procedures. *Vet Bull.* 1983;3:223-51.

- Aronson.** Pharmacotherapeutics of Th never tetracycline. JAVMA. 1980;176:1061-8.
- Aubry P, Geale DW.** A review of bovine anaplasmosis. Transbound Emerg Dis. 2010.
- Babes V.** Sur L'hemoglobinuria bacterienne de boeufs. Compt Rend Acad Sci. 1888;107:692-700.
- Benavides OE, Ballesteros AM, Romero BY, Britto AC, Gómez J.** Prevalencia y factores de riesgo de la anaplasmosis bovina en condiciones de trópico alto. El caso de Zipaquirá, Cundinamarca, Colombia. En: Memorias, Simposio Internacional de Epidemiología y Economía Veterinaria, Viña del Mar, Chile, 17 a 21 de noviembre de 2003.
- Benavides OE, Vizcaíno O, Britto CM, Romero A.** Attenuated trivalent vaccine against babesiosis and anaplasmosis in Colombia. Ann NY Acad Sci. 2000;916:613-6.
- Benavides OE.** Consideraciones con relación a la epizootiología de anaplasmosis y babesiosis en los bovinos. Revista ACOVEZ. 1985;9:4-11.
- Benavides OE.** Medición del impacto de las alteraciones de salud sobre la productividad de la explotación ganadera. Revista ACOVEZ. 1993;17:33-5.
- Betancourt EA.** Dinámica de plagas y enfermedades en sistemas ganaderos asociada al cambio climático. Seminario Internacional sobre Cambio Climático y los Sistemas Ganaderos. Bogotá, 24 y 25 de marzo de 2009.
- Betancourt EA.** Epidemiología de la anaplasmosis bovina en Colombia. Memorias, Seminario Internacional sobre Diagnóstico, Epidemiología y Control de Enfermedades Hemoparasitarias. Palmira, 22 a 24 de noviembre de 1989.
- Betancourt EA.** Observaciones sobre la efectividad de la oxitetraciclina de acción prolongada en el tratamiento de anaplasmosis clínica natural. Revista ACOVEZ. 1981;5:43-8.
- Betancourt EA.** Vectores en la salud animal y sus correlaciones con el cambio climático global. Conferencia, Seminario Internacional sobre Cambio Global y Ganadería, Bogotá, 20 y 21 de mayo de 2010.
- Bishop JP, Adams LG.** Combination thin and thick blood films for the detection of *Babesia* parasitemia. Am J Vet Res. 1973;34:1213-4.
- Bishop JP.** Immune response of cattle inoculated with irradiated *Babesia bigemina*. (thesis). Galveston: Texas A&M University; 1971.
- Bock AJ.** Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. Aust Vet J. 2001;79:832-9.
- Brown CW, Norimine J, Knowles DP, Goff WL.** Immune control of *Babesia bovis* infection. Vet Parasitol. 2006;138:75-87.
- Callow LL, McGregor W.** The effect of imidocarb against *Babesia argentina* (= *Babesia bovis*) and *Babesia bigemina* infections of cattle. Aust Vet J. 1970;46:195-200.
- Callow LL, Mellors LJ.** A new vaccine for *Babesia argentina* (= *Babesia bovis*) infection prepared in splenectomized calves. Aust Vet J. 1966;42:464-6.
- Callow LL.** Vaccination against babesiosis in Australia. Workshop on hemoparásitos (Anaplasmosis and Babesiosis). Cali, Colombia, 17 a 22 de marzo de 1975.
- Corrier DE, Vizcaíno O, Carson CA, Ristic M, Kuttler KL, Treviño GS, Lee AJ.** Comparison of three methods of immunization against bovine anaplasmosis: an examination of postvaccinal effects. Am J Vet Res. 1980;41:1062-5.
- Corrier DE.** La epidemiología de anaplasmosis y babesiosis en las tierras bajas tropicales de Colombia. Seminario Internacional sobre Hematozoarios. Cali, Colombia, 1975.
- Cotrino BV, Gaviria BC, Espindola E.** La babesiosis en bovinos: una amenaza para la ganadería del altiplano. Bogotá: Laboratorio Médico Veterinario, Ltda.; 2007.
- Cruz J, et al.** Bases biológicas para el desarrollo de la ganadería bovina en Colombia. Bogotá; 1972.
- Dalgliesh RJ, et al.** Development of a highly infective *Babesia bigemina* vaccine of reduced virulence. Aust Vet J. 1981;57:8.
- de Waal D.** Vaccination against babesiosis, Acta Parasitol. 1996;20:487-99.
- Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al.** Reorganization of genera in the family Rickettsiaceae and Anaplastaceae in the order Ricckettsiales. Int J Syst Evol Microbiol. 2001;51:2145-65.
- Ewing SA.** Transmission of *Anaplasma marginale* by arthropods. Proceedings of the Seventh National Anaplasmosis Conference, Starkville, MS, 1981. p. 425-34.
- FAO.** El control de las garrapatas y de las enfermedades que transmiten. Manual práctico de campo; 1988. Tomo III.
- Foil LD.** Tabanids as vectors of disease agents. Parasitol Today. 1989;5:88-96.
- Franklin T, Huff JW.** A proposed method of preimmunized cattle with minimum inocula of *Anaplasma marginale*. Res Vet Sci. 1967;43:415-8.
- Friedhoff K.** Morphologic aspects of babesia in the ticks in babesiosis. London: Academic Press; 1987. p. 143-9.

- Ge NL, Kocan KM, Blonin EF, Murphy GL.** Developmental studies of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) infected ad adults using nonradioactive in situ hybridization and microscopy. J Med Entomol. 1996;33:911-20.
- González DE, Todorovic RA, López G, García OA.** Atenuación de una cepa de *Babesia argentina* (= *Babesia bovis*) de origen colombiano. Revista ICA. 1979;14:33-9.
- González EF, Corrier DE, Todorovic RA, López VG.** Epidemiología de la anaplasmosis y babesiosis bovina en el valle geográfico del río Cauca. Revista ICA. 1978;12:349-56.
- González EF, Todorovic RA, Thompson KC.** Immunization against anaplasmosis and babesiosis. Part I. Evaluation of immunization using minimum infective doses under laboratory conditions. Zeitschrift fur tropenmedizin und Parasitologie, 1976;27:427-37.
- Guglielmone AA, Mangold A, Patarroyo J, Kessler R, Cereser V, Vizcaíno O, Solari M, Nari A.** Acción y toxicidad de los fármacos utilizados contra *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*. Veterinaria Uruguaya. 1988;24:16-24.
- Guglielmone AA, Vanzini VR.** Análisis de fracasos en la prevención de la anaplasmosis y babesiosis en bovinos inoculados con vacunas vivas. Revista de Medicina Veterinaria. 1997;80:66-8.
- Hart CB, et al.** Imidocarb for control of babesiosis and anaplasmosis. Proceedings, XIX World Veterinary Congress, México, 1971.
- Howell JM, Ueti MW, Palmer GH, Scoles GA, Knowles DP.** Transovarial transmission efficiency of *Babesia bovis* tick stages acquired by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* during acute infection. J Clin Microbiol. 2007;29:426-31.
- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA.** The natural history of *Anaplasma marginale*. Vet Parasitol. 2009;167:95-107.
- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF.** Characterization of the tick-pathogen-host interface of the tick-borne rickettsia *Anaplasma marginale*. En: Bowman AS, Nutall PA, editors. Ticks: biology, disease and control. Cambridge: Cambridge University Press; 2008.
- Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone A, Meléndez RD.** Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. Clin Microbiol Rev. 2003;16:698-712.
- Kocan KM, Goff WL, Stiller D, Claypool PL, Edwards W, Ewing SA, et al.** Persistence of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) transferred successively from infected to susceptible calves. J Med Entomol. 1992;29:657-68.
- Kocan KM, Hair JA, Ewing SA, Stratton LG.** Transmission of *Anaplasma marginale* Theiler by *Dermacentor andersoni* Stiles and *Dermacentor variabilis* (Say). Am J Vet Res. 1981;42:15-8.
- Kocan KM, Stiller D, Goff WL, Claypool PL, Edwards W, Ewing SA, et al.** Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. Am J Vet Res. 1992;53:499-507.
- Krigel Y, Pipano E, Shkap V.** Duration of carriers state following vaccination. Trop Anim Health Prod. 1992;20:487-99.
- Kuttler KL, Adams LG, Zaraza H.** An epidemiologic and geographic survey of *Anaplasma marginale* and *Trypanosoma theileri* in Colombia. J Am Vet Med Ass. 1969;154:1398-99.
- Lobo CA.** Economía y producción pecuaria del país. Resúmenes, Primer Simposio de Clínica y Medicina Bovina, Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios y Zootecnistas, Bogotá, 27 a 30 de abril de 1982. p. 69-87.
- Lohr CV, Rurangirwa FR, McElwain TF, Stiller D, Palmer GH.** Specific expression of *Anaplasma marginale* major surface protein 2 salivary gland variants occurs in the midgut and is an early event during tick transmission. Infect Immun. 2002;70:114-20.
- Mahoney DF, Mirre GB.** *Babesia argentina*: The infection of splenectomized calves with extracts of larval ticks (*Boophilus microplus*). Res Vet Sci. 1974;16:112-4.
- Mahoney DF, Mirre GB.** Bovine babesiosis: Estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). Ann Trop Med Parasitol. 1971;65:309-17.
- Mahoney DF, Wright IG, Goodger BV.** Immunity in cattle to *Babesia bovis* after single infections with parasites of various origin. Aust Vet J. 1979;55:10-2.
- Mahoney DF, Wright IG, Mirre GB.** Bovine babesiosis: The persistence of immunity to *Babesia argentina* (= *B. bovis*) and *Babesia bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection. Ann Trop Med Parasitol. 1973;67:197-203.
- Mahoney DF.** The epidemiology of babesiosis in cattle. Aust J Sci. 1962;24:310-3.
- Márquez QN.** Tópicos prácticos generales sobre anaplasmosis bovina, pérdidas económicas, problemas reproductivos y tratamiento. Memorias, Taller sobre Agentes Hematópicos. El Vigía, Venezuela, 1997.
- Martens WJ, Jetten TH, Focks DA.** Sensitivity of vector-borne diseases to global warming. TEKTRAN. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture; 1996.

- Mateus VG.** Epizootiología de la babesiosis bovina en el piedemonte, área de Villavicencio. Revista ICA. 1987;22:42-54.
- McCosker JE.** The global importance of babesiosis. En: Ristic M, Kreier JP, editors. Babesiosis. New York: Academic Press; 1981. p. 1-24.
- Mortalidad en un hato por casuística de babesiosis en La Calera. El Tiempo, "Sección Tierras y Ganados", 25 de abril de 2005.
- Munderloh UG, Blouin EF, Kocan KM, Ge NI, Edwards WE, Kurtal TJ.** Establishment of the tick (Acari: Ixodidae) borne cattle pathogen *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in tick cell culture. J Med Entomol. 1996;33:656-64.
- Navarrete MG.** Impacto en la producción y en la economía de las enfermedades hemoparasitarias. Experiencias de monitoreo en Colombia. En: Memorias, Seminario Internacional sobre Diagnóstico, Epidemiología y Control de Enfermedades Hemoparasitarias. Palmira, 22 a 24 de noviembre de 1989. p. 80-95
- Nowak F.** Epidemiologische untersuchungen in rinder bestaenden im mittieren simutal (Córdoba, Kolumbien) (thesis). Hannover; 1990.
- Ogwu D, Nuru S.** Transplacental transmission of trypanosome in animals and man. A review. Vet Bull. 1981;51:381.
- Palmer GH, Barbet AF, Davis WC, McGuire TC.** Immunization with an isolate-common surface protects cattle against anaplasmosis. Science. 1986;231:1299-302.
- Palmer GH, Barbet AF, Musoke AJ, Katende JM, Ruvangirwa F, Shkap V, et al.** Recognition of conserved surface protein epitopes on *Anaplasma centrale* and *Anaplasma marginale* isolates from Israel, Kenya and United States. Int J Parasitol. 1988;18:33-8.
- Palmer GH, McElwain TF.** Molecular *Babesia bovis* for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. Vet Parasitol. 1995;57:233-53.
- Palmer GH, Rurangirwa FR, Kocan KJ, Brown WC.** Molecular basis for vaccine development against the ehrlichial pathogen *Anaplasma marginale*. Parasitol Today. 1999;15:281-6.
- Patiño JF.** Líquidos y electrolitos en la práctica clínica. Aspectos fundamentales de su manejo. Tribuna Médica. 1992;85:165-75.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD.** Veterinary medicine. A. textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Tenth edition. New York: Elsevier Saunders; 2007.
- Reeves JD, Swift BL.** Latrogenic transmission of *Anaplasma marginale* in beef cattle. Vet Med Small Anim Clin. 1977;72:911-2.
- Richey EJ, Palmer GH.** Bovine anaplasmosis. Compend Contin Educ Prac Vet. 1990;12:1661-8.
- Riek RF.** The life cycle of *Babesia argentina* (= *B. bovis*) (Lignieres, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the ticks vectors *Boophilus microplus* (Canestrini). Aust J Agric Res. 1966;17:247.
- Riek RF.** The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). Aust J Agric Res. 1964;15:802.
- Ristic M.** Anaplasmosis in infections blood diseases of man and animals. New York: Academic Press; 1968. p. 478-542.
- Serrano VL.** Cambios hemodinámicos y equilibrio ácido-básico en la babesiosis y anaplasmosis bovina. Consensus, Tercer Curso de Actualización en Farmacología, Medellín, 18 a 19 de julio de 1996.
- Strik NI, Alleman AR, Barbet AF, Sorenson HL, Wamsley HL, Gaschen FP, et al.** Characterization of *Anaplasma phagocytophilum* major surface protein 5 and the extent of its cross-reactivity with *A. marginale*. Clin Vaccine Immunol. 2007;14:262-8.
- Swift BL, Palmer RJ.** Vertical transmission of *Anaplasma marginale* in cattle. Theriogenology. 1976;6:515-21.
- Tebele N, McGuire TC, Palmer GH.** Introduction of protective immunity by using *Anaplasma marginale* initial body membranes. Infect Immun. 1991;59:3199-204.
- Tropberger G.** Seroepidemiologie der babesien und Anaplasme infektionen in Kolumbien. III. Verlausuntersuchungen an Jungtieren einiger selektierter Bertaende (dissertation). Hannover; 1987.
- Vial HJ, Gorenflo A.** Chemotherapy against babesiosis. Vet Parasitol. 2006;138:147-60.
- Visser ES, McGuire TC, Palmer GH, Davis WC, Shkap V, Pipano E, Knowles PJ.** The *Anaplasma marginale* msp5 gene encodes a 19 kilodalton protein conserved in all recognized *Anaplasma species*. Infect Immun. 1992;60:5139-44.
- Vizcaíno GO, Benavides OE.** Vacuna ANABASAN®: alternativa colombiana para prevenir al ganado bovino de la anaplasmosis y las babesiosis. Revista ACOVEZ. 2004;31:7.
- Vizcaíno GO, Betancourt EA.** *Anaplasma marginale*: evaluación de dosis mínima infectiva. Revista ICA. 1983;18:329-34.

- Vizcaíno GO, Carson CA, Lee AJ, Ristic M.** Efficacy of attenuated anaplasma vaccine under laboratory and field conditions in Colombia. Am J Vet Rev. 1978;39:229-33.
- Vizcaíno GO, Corrier DE, Terry M, Carson CA, Lee AJ, Kuttler KL, et al.** Comparison on three methods of immunization against bovine anaplasmosis: Evaluation of protection afforded against field challenge exposure. Am J Vet Rev. 1980;41:1066-8.
- Vizcaíno GO, Thompson K, Mateus, VG.** Aislamiento de *Babesia argentina* (= *B. bovis*) utilizando larvas de *Boophilus microplus*. Memorias, VIII Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cúcuta, 1971. p. 1-5.
- Vizcaíno GO, Todorovic RA, González EF, Adams LG.** El imidocarb (4A65), como preventivo contra la babesiosis bovina. Revista ICA. 1979;14:277-82.
- Vizcaíno GO, Todorovic RA.** Caracterización de los antígenos de *Babesia argentina* (= *B. bovis*) y *Babesia bigemina* por los métodos de fijación del complemento, inmunodifusión, inmunolectroforesis e inmunidad cruzada. Revista ICA. 1975;10:77-85.
- Vizcaíno GO, Urrego VM.** Estudio de la respuesta inmune a una vacuna experimental bivalente de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* irradiada con cobalto 60. Memorias, XV Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga, 1986.
- Vizcaíno GO.** Anaplasmosis et babesiose: epidemiologie et lutte en Colombie. Bull Off Int Epiz. 1976;85:667-73.
- Vizcaíno GO.** Enfermedades transmitidas por garrapatas y por dípteros hematófagos: anotaciones epidemiológicas y alternativas para el control. I Foro Nacional sobre la Situación de las Garrapatas y Moscas en la Ganadería; 1992.
- Vizcaíno GO.** Impacto económico de los hemoparásitos y sus vectores en ganado de leche. Revista ICA. 1981;16:37-51.
- Vizcaíno GO.** Inmunoprevención en bovinos: alternativa eficaz, limpia y sostenible para fiebres de garrapatas. Revista ACOVEZ. 2007;37:12-5.
- Vizcaíno GO.** Vacuna nacional contra "fiebre de garrapatas". Revista Agricultura de las Américas. 1999;279:33.
- Waal DT, Combrink MP.** Live vaccines against bovine babesiosis. Vet Parasitol. 2006;138:88-96.
- Wilches CM.** Anaplasmosis y babesiosis bovina en la etapa fetal: estudio inmunológico y parámetros bioquímicos (tesis). Santafé de Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 1993.
- Zaugg JL, Hutler KL.** *Anaplasma marginale* infections in American bison: experimental infection and serologic study. Am J Vet Res. 1985;46:438-41.
- Zaugg JL, Stiller D, Coan ME, Lincoln SD.** Transmission of *Anaplasma marginale* Theiler by males of *Dermacentor andersoni* styles fed on an Idaho field-infected, chronic carrier cow. Am J Vet Res. 1986;47:2268-71.



## Rickettsiosis and other tick and flea-borne emerging diseases under the perspective of the Brazilian biomes

Cláudio L. Mafra<sup>1</sup>, Natalino H. Yoshinari<sup>2</sup>, Kátia M Famadas<sup>3</sup>, Simone B. Calic<sup>4</sup>, Nathalie C. Cunha<sup>3</sup>, Adriano Pinter<sup>5</sup>, Darci M. Barros-Batesti<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Federal University of Vícosa, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> University of São Paulo, Brazil

<sup>3</sup> Federal Rural University of Rio de Janeiro, Brazil

<sup>4</sup> Ezequiel Dias Foundation, Minas Gerais, Brazil

<sup>5</sup> Superintendence of Control of Endemic Diseases, São Paulo, Brazil

<sup>6</sup> Institute Butantan, São Paulo, Brazil

### Summary

Various human actions, whether due to governmental policy development, cultural habits or even individual interests, have caused an intense environmental change in all the Brazilian biomes. These changes, the creation and/or the elimination of forest fragments, have considerably increased the risk of human

### Institutional affiliation

Claudio L. Mafra, Federal University of Vícosa, Campus UFV, Vícosa, Minas Gerais, 36570-000, Brazil.

Phone: (55+31+)3899-3701; fax: (55+31+) 3899-2373  
mafra@ufv.br

exposure to various biological agents, including emerging pathogens of zoonotic potential that are carried by fleas and ticks.

In this perspective, we discuss the importance of events related to *Babesia*, *Borrelia*, *Ehrlichia* and *Rickettsia* organisms, their arthropod vectors and vertebrate hosts, as the findings and records, analyzing these biological agents and related risks according to different epidemiological situations and ecosystems in Brazil.

**Key words:** Ticks, fleas, Brazilian biomes, ecology, emerging diseases, development policies

The emergence and reemergence of infectious diseases highlight the fragile environmental balance currently perceived and discussed throughout the world. These problems expose the need to study and discuss the critical threshold of relationships between man and nature, and between biological and social approaches. The occurrence of phenomena with worrying repercussions in public health, arise not only as potential risks, but also as injuries increasing the health and integrity risks of the individual or the collective, with the possibility of leading to devastating consequences in all involved populations. Thus, there has been a recrudescence of old infections, as well as the emergence of new ones, with the emergence, resurgence and persistence of infectious diseases under an environmental context (Ianni, 2005).

Brazil, known for its massive and varied ecosystems, focusing on its more than 8.5 million square kilometers, has seven biomes, the Amazon Forest, Atlantic Forest, Caatinga, Cerrado, Coastal, Pampas, and Pantanal. These biomes are characterized by distinct variations in climate, soil, flora and fauna, consisting of the largest global biodiversity. According to Paglia *et al.* (2010), Brazil competes with Indonesia for the first place in biodiversity of vertebrates in the entire world. Considering various human actions, whether resulting from governmental policy development, cultural habits or even individual interests, there have been intense environmental modifications reported in recent decades in virtually all of these biomes (Oliveira, 2007). These modifications, causing the elimination or the creation of forest fragments, have considerably increased the risk of human exposure to various biological agents, including many pathogens with zoonotic potential and considerable severity from a clinical point of view.

### **Brazilian biomes**

The Brazilian biomes are characterized as described below (Brazilian Institute of Environment and Natural Resources/IBAMA -<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas>, accessed on 2010 May; Coutinho, 2006).

The Amazon biome corresponds to two fifths of South America and half of Brazil, occupying in the Brazilian territory an area of 368,989,221 ha, covering the states of Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima and small parts of the states of Maranhão, Tocantins and Mato Grosso, in the northern and northeastern regions of Brazil, respectively. Recognized as the world's largest existing tropical forest, equivalent to one third of the reserves of tropical rain forests, it is the largest gene bank in the world, containing one fifth of the global availability of freshwater. With great geological diversity, coupled with the varied topography, it has different soil types under the influence of extreme temperatures and precipitation, varying from hot humid to super humid equatorial climate, with a delicate balance in the relationship of biological populations, and a great sensitivity to anthropogenic interference in its various ecosystems.

In this biome, despite being the most striking characteristic, the forest hides a variety of ecosystems, among which are dry land forests, flooded forests, wetlands, open grasslands, and savannas, housing a great variety of species of plants and animals: 1.5 million cataloged plant species, 3,000 species of fish, 950 kinds of birds, along with many insects, reptiles, amphibians and mammals.

The Brazilian coast has the Coastal biome, a mosaic of ecosystems of high environmental significance including mangroves, dunes, beaches, islands, rocky shores, bays, marshes, cliffs, estuaries, coral reefs and other environments with different animal and plant species. This is due primarily to the differences in climate and geological features that exist along the Brazilian coast. Integrating with the extensive presence of residual Atlantic forest vegetation, the Coastal biome has the Brazilian highest biodiversity in relation to variety of species.

Under the intense process of disorderly occupation, all their ecosystems are at high risk of modification and destruction. In the Amazon region, this biome beginning in the Oiapoque in the state of Amapá, on

the border with Guyana, to the Delta of Parnaíba River in the state of Piauí, the northeast region of Brazil, has a large expanse of mangroves, lowland forests tides, dune fields and beaches. In the northeastern coast it begins at the mouth of Parnaíba River and continues to Bahia state, in the southern portion of the northeast region of Brazil; it is characterized by calciferous and sandstone reefs and dunes, that when they lose the vegetation coverage removed by the action of the wind. In this area there are also mangroves, salt marshes and woods. On the southeastern shore of Bahia state, this biome continues to the state of São Paulo, in the southeast of Brazil, being the most densely populated and industrialized area in the country, with characteristic cliffs, reefs and beaches of monazite sands.

The most important ecosystem in this area is the sandbank forest. Beginning in the Paraná state and ending at Arroio Chui in the state of Rio Grande do Sul, bordering Uruguay, the southern coast of the Coastal biome has wetlands and mangroves, with an ecosystem rich in many species of birds and mammals, such as nutria-finches, capybaras, and otters.

With an average population density five times higher than the national average, this region was the center of fronts of immigration populating this country, which are still in motion. Currently, half of the Brazilian population is living within two hundred kilometers of the sea, which amounts to more than 90 million people, whose activities directly impact on the different ecosystems of the Coastal biome and the other Brazilian biomes adjacent to it. The magnitude of shortages of basic urban services for the environmental planning of the coastal zone of Brazil, housing a large number of industrial sectors, characterized this space as at critical risk and under a high anthropogenic impact.

Considered as a unique ecosystem, with a rich presence of vegetation in a semi-arid region of Brazil, the Caatinga biome is the main ecosystem in the northeastern region, an area of semi-arid climates of 73,683,649 ha and covering 6.83% of the total extension of the country. It occupies the states of Bahia, Ceará, Piauí, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Alagoas, Minas Gerais and Maranhão.

Although it is located in a semi-arid climate, the Caatinga biome has a great variety of landscapes, with the occurrence of periodic droughts and the seasonal establishment of intermittent rivers that render the vegetation leafless. This biome is dominated by xerophytic vegetation characteristics – dry vegetation that comprise a warm, rugged landscape – with grasses, deciduous shrubs and low or medium-sized trees (3 to 7 feet tall), with lots of thorny plants, interspersed with species such as cacti and bromeliads. Surveys on the flora of this biome reveal the existence of at least 40 species of lizards, 45 species of snakes, four species of turtles, one Crocodylia species, 44 amphibian species, and one Gymnophiona species.

Timber extraction, the monoculture of sugar cane and livestock on large farms constituted the economic exploitation of this region, resulting in a significant change of its ecosystems with the replacement of native plant species for cultivation and grazing, and resulting in deforestation and common burning practices in the preparation of the land for agriculture. Approximately 80% of its original ecosystems have already undergone anthropogenic induced change.

The Cerrado biome is the second largest of the Brazilian major biomes. It accounts for a full 1/5 of the country land. Being the most extensive savanna in South America, the Cerrado is a tropical savanna ecosystem, similar to others in Africa and Australia, having its nuclear area distributed mainly on the Brazilian Central Plateau, in the states of Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, part of Minas Gerais, Bahia and the Distrito Federal. Covering 196,776,853 ha, Cerrado has with other outlying areas called ecotones or transition points with the Amazon, Atlantic Forest and Caatinga biomes.

Recognized due to its diverse ecosystem backgrounds, this biome can be present as cerrado, typical cerrado, field cerrado, dirty field cerrado, and grasslands, which have height and plant biomass in descending order, being the savanna the forest only area. Typically consisting of relatively low trees (up to 20 m), with tortuous trunks, low loads, twisted branches, thick barks and thick leaves, with location and sparse dissemination among shrubs, sub shrubs, and low vegetation consisting generally of grasses. The Cerrado biome is considered the richest savanna in the world in biodiversity, with the presence of various ecosystems and a rich flora that has over 10,000 species of plants, 4,400 unique to this area. Its fauna has at least 837 bird species, 67 genera of mammals, including 161 species and 19 of them exclusive to

this region, 150 amphibian species, of which 45 are exclusive to this region, and 120 species of reptiles, 45 of them exclusive to this area.

Until the 1950s, the Cerrado biome remained almost unchanged, while from the 1960s, with the establishment of the capital of the country (Brasília, Distrito Federal), and the opening of a new road network, wide ecosystems were converted to extensive livestock farming and agriculture of soybeans, rice and wheat. Such changes have relied mainly on implementation of new road infrastructure and energy, to connect this city to the other parts of Brazil, as well as the discovery of new regional soil characteristics, allowing for further profitable agricultural activities to the detriment of biodiversity. Today this biome contains only 20% of its original area in the characteristic state.

The Atlantic Forest, considered as the fifth most endangered area and rich in endemic species of the world, can be seen as a mosaic of diverse ecosystems, providing structure and plant composition that vary according to soil, topography and climatic features present in the broad area of the country. Currently, preserving about 7.3% of its original forest cover, and largely located in the southern and southeastern regions of Brazil, the Atlantic forest has at least 1,361 species of Brazilian fauna, with 261 species of mammals, 620 birds, 200 reptiles, 280 amphibians, and 567 of these occur only in this biome.

The exploitation of the Atlantic Forest biome has occurred since the time of the discovery of Brazil in the 1500s. The primary interest was wood exploitation, and the process of deforestation was followed by cycles of sugar cane production, gold mining, coal production, vegetable farming, timber harvesting, planting of coffee and pastures, and the production of pulp and paper. These led to the establishment of settlements, the construction of roads and dams, and a broad and intensive process of urbanization, with the emergence of the largest cities of the country, like São Paulo, Rio de Janeiro, and several smaller towns and villages. Presently, the biome's current area is highly fragmented and reduced, with remaining portions of the forest located mainly in areas of difficult access.

The important humid plains of South America, the Pantanal biome, is defined as "the largest flood plain on the planet", with a geographic location of particular relevance, representing the link between the Cerrado in central Brazil, the Chaco, in Bolivia, and the Amazon region, in the north of Brazil, identifying approximately with the Alto Paraguay. This region serves as a large reservoir of water throughout the months in the different seasons of the year, with the system of determining summer flooding between November and March in the north and between May and August in the south. As the transition area, the Pantanal biome boasts a mosaic of terrestrial ecosystems, with affinities especially with the Cerrado and in part to the Amazon Forest, and an aquatic and semi-aquatic system. This region is covered by predominantly open vegetation such as grasslands, fields, savannas and woodland savannas, which are determined mainly by soil and climatic factors and also by rain forests, extensions of the Amazon ecosystem. Their environments, which are periodically flooded, have high biological productivity, high density, and a great diversity of wildlife.

Through a series of activities that impact directly on this ecosystem, human activities in this biome have included gold and diamond mining, hunting, fishing, tourism, agriculture, and building roads and hydroelectric plants, with extensive activities in the uplands, a major source environmental impact on the region. With a pattern of rapid urban growth, many of its cities have emerged or expanded in recent decades, especially in the states of Goiás, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, with the same process of frontier expansion used for the alteration of the Cerrado biome for agriculture, using deforestation of vast areas of the plateau for rice and soybeans, and pastures. Also, the presence of gold and diamonds in the marshland of Cuiabá, Mato Grosso do Sul state, and the headwaters of the Paraguay and São Lourenço rivers attracted thousands of prospectors to the region. In the Pantanal biome, 650 species of birds, 80 mammals, 260 fish and 50 reptiles are estimated to exist.

Generically, the fields in the southern region of Brazil are known as Southern Grasslands or Pampas biome, the latter term of indigenous origin to describe a "flat region". This designation, however, represents only one type of field that is found in the southernmost state of Brazil, Rio Grande do Sul, bordering Uruguay and Argentina. Other types known as the highland fields are found in areas of transition with the field of Araucaria trees. In other areas, there are also camps with savanna-like physiognomy, caused by the pressure of livestock activities and the practice of burning to clear areas, which does not allow the

establishment of vegetation, as seen in several parts of the south fields. The geomorphological region of the Campaign plateau is the largest expanse of fields in state of Rio Grande do Sul, the furthest west, and to the southern area to the basins and its sedimentary deposits.

At first glance, the grassland vegetation on the Pampas biome shows apparent uniformity, with a grassy carpet (60 cm to 1 m), that is thin and poor in species and becomes more dense and rich on the slopes with predominantly legumes and grasses, consisting of an alluvial forest with tree species of commercial interest. It is the home of various species of mammals, some rare or endangered, such as water rats, deer, and wolves in addition to several species of birds. The Campaign region has economic activities as the beef cattle industry, with continuous and extensive grazing. Among other important economic activities in this biome are rice, corn, wheat and soybean farming, often grown in association with beef cattle and sheep, which led to intense clearing of the original forests of this region.

### **Tick and flea-borne diseases**

This review focuses on infectious emerging agents carried by ticks and fleas and addresses the ecological interactions among these organisms, their vertebrate hosts and the ecosystems in which they exist, linking them to the biological risk for the occurrence of human infections by the exposure that had increased due to human activities and environmental changes.

Among the main actions observed in anthropogenic biomes are leisure and tourism, construction of hydroelectric plants, highways and dams, burning and deforestation, and agricultural projects, including forestry and agribusiness. As a result of these activities there has been a marked fragmentation of varying sizes and proportions of these biomes. This has led to great changes in the behavior of various wild and domestic animal species, including the forced migration of wild animals to urban areas and to their periphery. Consequently, there is an exposure of domestic animals and humans living there to ticks and fleas, and to the organisms that they contain, many of them still of unknown pathogenicity.

In this context, these areas were characterized by the risk for the potential occurrence of various diseases in places with features and variables that can facilitate the maintenance and spread of pathogens carried by ticks and fleas. Additionally, the different levels of environmental change and human interventions have made areas of biomes with increased risk of introducing exotic species of vertebrates, their ticks and micro-organisms, causing outbreaks and epidemics in areas with no previous history of these diseases.

Reviewing the articles published in national and international literature, we delimited areas of actual or potential occurrence of human cases of diseases whose etiological agents are transmitted by ticks and fleas in Brazil. Among these, we can find babesiosis (Alecim *et al.*, 1983), borreliosis (Bonoldi, 2010), ehrlichiosis (Calic *et al.*, 2004), and rickettsiosis (Labruna, 2009).

These agents and their vectors were associated with different environmental characteristics of biomes and human actions that already were implemented or planned for execution in each region. Thus, in this review we considered pathogenic organisms of the genera *Babesia*, *Borrelia*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia*, relating them to the presence of their proven or potential vectors of the genera *Ornithodoros* and *Carios*, members of the family Argasidae, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* and *Rhipicephalus* (Ixodidae family), and also fleas of *Ctenocephalides* genus.

Only considering the biodiversity of ticks in Brazilian biomes, the occurrence of 61 species (Dantas-Torres *et al.*, 2009), with the *Amblyomma* genus corresponding for more than 30 of these have been actually described. Parasites of these species infect more than 150 species of birds and over 50 species of mammals, being this reference only about a restricted region in the state of São Paulo (Perez *et al.*, 2008).

Among these ticks we have *Amblyomma cajennense* (Fabricius) that is found in all the Brazilian biomes, with low specificity about the host in the larvae stage, parasiting many different species of wild and domestic animals, and eventually humans. In the adult phase, this tick parasitizes animals of medium and great size like horses, bovines, capybaras and tapirs (Guglielmone *et al.*, 2006). *Amblyomma brasiliense* (Aragão) is described in the southeastern and southern regions of Brazil, occurring majorly in wild mammals from small to medium size like agoutis, pacas and peccaries, when they afford immature stages, they had

already been found feeding on domestic animals and humans (Guglielmone *et al.*, 2006; Szabo *et al.*, 2009). *Amblyomma dubitatum* (Neumann) occurs in forested areas and also in already anthroponized places, parasitizing wild rodents, and also observed on capybaras, opossums, tapirs, bats, wild dogs, and humans (Perez *et al.*, 2008; Szabo *et al.*, 2009).

Other species of great importance, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini), occur in all Brazilian biomes. This species originally parasitizes cattle, but also has been found on dogs, deer, horses, capybaras, wild cats, and humans (Figueiredo *et al.*, 1999; Labruna *et al.*, 2001). Also, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), commonly known as the brown dog tick, is a three-host tick that feeds primarily on dogs and occasionally on other hosts, including human beings (Walker *et al.*, 2000). Usually, *R. sanguineus* parasitizes dogs in urban areas, but sometimes they are found in rural farming areas (Labruna *et al.*, 2001). In these hosts, *R. sanguineus* causes direct damages, due to its blood sucking habits, and indirect damages because of the transmission of diseases such as ehrlichiosis and babesiosis. Human parasitism by this species was recently reported in Brazil (Dantas-Torres *et al.*, 2006; Louly *et al.*, 2006), pointing to its importance as a zoonosis.

Among the great diversity of animals existent in Brazil, until now, different authors have reported the occurrence of immune response against tick and flea-borne organisms in wild animals, like opossums, and capybaras, and also in horses and dogs. Many Brazilian authors have reported these animals as reservoirs, sentinels, and/or amplified hosts for these zoonotic agents (Galvao *et al.*, 1996; Nascimento *et al.*, 2005; Angerami *et al.*, 2006; Cardoso *et al.*, 2006; Horta *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2009).

Until 2000, only three species of *Rickettsia* were known in South America, two in Typhus Group (*Rickettsia prowazekii* and *Rickettsia typhi*) and one of the spotted fever group (SFG) (*Rickettsia rickettsii*) (Labruna, Machado, 2006). These three species are recognized as pathogenic for humans, being *R. prowazekii* transmitted by lice, *R. typhi* by fleas and *R. rickettsii* by ticks.

In this new century, seven new *Rickettsiae* species were described infecting ticks in South America (Labruna, 2009). Of these, with recent description in humans, there is *R. felis*, whose known vector are the *Ctenocephalides* fleas. In the State of Minas Gerais, this rickettsial infection was confirmed in humans by serological (Raoult *et al.*, 2001) and molecular biological methods (Oliveira *et al.*, 2002), with subsequent molecular detection in the vector. Not yet isolated from humans by phylogenetic studies, this rickettsia is included in SFG (Raoult *et al.*, 2001), knowing that it has already been confirmed that this organism can infect ticks (Labruna, 2009).

From 2001 to 2009, 556 cases of Brazilian spotted fever (BSF) were notified to the health authorities in Brazilian southern and southeastern regions, and in the Distrito Federal. In the southeastern region 97 cases in Minas Gerais state, 281 in São Paulo state, 36 in Rio de Janeiro state, and 28 in Espírito Santo state were notified. In the southern region, 101 cases in Santa Catarina state, six in Paraná state, and two in Rio Grande do Sul state were notified. In the Distrito Federal, the capital of Brazil, three cases were reported. Between the years of 2007 and 2009, some notifications were also done in the states of Amapá and Tocantins, in Bahia, and in Mato Grosso, northern, northwestern and central-western regions of Brazil, respectively (Brazil, 2010). In the state of São Paulo, 128 deaths were confirmed between 2005 and 2007, according to official data (Labruna, 2009).

Clinically, cases of human rickettsial infection by *R. rickettsii*, are characterized by acute symptoms, with the presence of high fever, headache and myalgia, the classic triad, as reported in the literature (CDC, 2004; Galvão *et al.*, 2003; Paddock *et al.*, 2002; Walker *et al.*, 2004). At the onset of the disease the clinical manifestations are nonspecific, with the appearance of a maculo-papular rash that may come to pass, starting from the third to fourth day from the onset of symptoms, predominantly in the areas of the sole of the foot and in the palm of the hands. The rash is often a confounding factor with other fever character pathologies, being an important factor for the differential diagnosis due to the fact that the clinical manifestations of these infections are very similar, which complicates the etiological diagnosis (Calic, 2006). The classic triad may be associated with nausea, vomiting and abdominal pain, with between 10 to 15% of the patients not developing the rash. Other manifestations include meningoencephalitis (coma, congestion, focal neurologic deficits, ataxia, and photophobia), interstitial pneumonitis, noncardiogenic

pulmonary edema, respiratory syndrome, hypovolemia, hypotension, and acute renal failure (Walker, 2004). In the USA, this disease occurs with a rate of hospitalization of approximately 72%, being the fatality rate higher than 30% in untreated patients and, when treated, around 4% (CDC, 2004). Frequently, the deaths were related to the cases that were identified late and which were not considered in the primary clinical evaluations of the patients regarding the prospect of exposure to a tick bite.

In the year of 2001 in Brazil, the first suspected human monocytic ehrlichiosis (HME) cases were reported, which were diagnosed in a material collected from two localities in the state of Minas Gerais in which the initial suspicion was BSF. Beyond this finding, current cases of human ehrlichiosis have been also described in the state of São Paulo (Angerami *et al.*, 2006). Patients with HME clinically present symptoms characterized by fever, headache, myalgia, anorexia, nausea, vomiting, rash, cough, sore throat, diarrhea, lymphadenopathy, abdominal pain, and confusion. Severe complications include respiratory failure and renal and neurological involvement (Calic *et al.*, 2004; Walker and Dumler, 1996). Pleocytosis in the cerebrospinal fluid is commonly associated with HME (Ratnasamy *et al.*, 1996). In contrast to the BSF, the presence of rash is less common in patients with HME. This disease is caused by undifferentiated ehrlichia, usually associated with leukopenia, thrombocytopenia, and high level of liver transaminases in patients exposed to tick bites, with the infection presenting from subclinical to fatal, being tetracycline the drug of choice for therapy (Ratnasamy *et al.*, 1996; Stone *et al.*, 2004).

Human ehrlichiosis is an emerging disease well known for decades in veterinary medicine, to cause disease in animals. However, due to the increasing population of deer and small mammals in certain areas where humans invaded its lodging, the risk of developing this disease as increased. Also, the increase of the human population living close to forested areas, sometimes presenting immunosuppressive conditions (transplants, HIV, cancer, autoimmune diseases), which are at higher risk for developing severe forms of this disease (Paddock *et al.*, 2001) must be considered. American medical literature describes that patients with symptoms of HME only seek medical attention after the first week of clinical disease, which follows an incubation period of 5 to 10 days after the tick bite (Bjoerdorff *et al.*, 2002). This disease, not previously described or reported in arthropod vectors in Brazil, was found in a serological survey of dogs in an endemic region for BSF in Minas Gerais state (Galvão *et al.*, 2002).

Few human cases of babesiosis are described in the medical literature of Brazil, probably because this zoonosis is misdiagnosed. The first record of human infection with babesiosis in Brazil occurred in the early years of the 80s (Pinto *et al.*, 1983). This infectious disease is caused by an intraerythrocytic protozoan of the genus *Babesia*, currently caused by many different species, distributed around the world. Cases are usually diagnosed by examination of blood smears and the identification of antibodies against *Babesia* spp. in the serum. Clinical manifestations of human babesiosis due to *Babesia microti* include fever, chills, myalgia, and fatigue. The infections described in Europe, usually caused by *Babesia divergens*, are characterized clinically by high fever, chills, vomiting, nausea and severe anemia, sometimes followed by jaundice, hemolysis, hemoglobinuria, renal failure, pulmonary edema, and death. The clinical presentation is usually mild, but it can be severe in splenectomized or immunosuppressed patients (Yoshinari *et al.*, 2003). In general, dogs have an important role in the epidemiology of this disease because they are the reservoirs of its agents; however, human infection with *Babesia canis* is very rare (Dantas-Torres, 2008). Ticks that naturally infect dogs as *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) and *Amblyomma aureolatum* (Pallas) are transmitters of babesiosis.

Another Brazilian tick borne disease with some clinical similarities to Lyme disease in Brazil, currently known as syndrome of Baggio-Yoshinari (SBY), is an emerging zoonosis transmitted by ticks (Gauditano *et al.*, 2005; Shinjo *et al.*, 2009), that is caused by spirochetes of the complex *Borrelia burgdorferi* sensu lato. In Brazil, other ticks not belonging to genus *Ixodes*, like *Amblyomma* spp., *R. sanguineus* and *R. microplus* are incriminated as disease transmitters (Mantovani *et al.*, 2007; Mantovani, 2009; Yoshinari 2009). Also the coexistence of antibodies against *Babesia* was documented in patients with SBY in the municipality of Itapevi, São Paulo, showing the possibility of both diseases being related to the same vector (Yoshinari *et al.*, 2003).

From a clinical standpoint, the acute stage of SBY is characterized by fever and flu-like manifestations, with migrans erythema present in about half of the cases. When it is not diagnosed or treated properly,

the disease can cause systemic relapsing complications such as annular erythema, secondary arthritis, neuropathy (meningitis, cranial neuritis, peripheral neuropathy, encephalitis), cardiac arrhythmia, cardiomegaly, psychiatric disorders, chronic fatigue, and uveitis. Recurring symptoms become increasingly less responsive to antibiotics. One important feature of SBY is the appearance of clinical and laboratory aspects of autoimmunity. In the chronic stage of SBY, erosive arthritis and chronic neuropathies can occur (Yoshinari et al., 1995; Yoshinari et al., 1997; Yoshinari et al., 1999; Costa et al., 2001; Fonseca et al., 2005; Gauditano and Yoshinari, 2009).

It is unclear why SBY is so different from Lyme disease at its clinical and laboratorial aspects, if both diseases are caused by *B. burgdorferi* sensu lato spirochetes. Since the etiological agent has never been isolated in Brazil and electron microscopy analysis reveals the presence of atypical cystic structures (Mantovani et al., 2007), it is assumed that SBY is caused by borrelia, an atypical morphology. This hypothesis justifies all the particularities seen in Brazilian zoonoses, like low immune response to *B. burgdorferi*, occurrence of relapsing symptoms and autoimmunity (Yoshinari, 2009; Gauditano and Yoshinari, 2009; Yoshinari et al., 2009).

In the northern hemisphere, Lyme disease is transmitted by ticks from *Ixodes ricinus* complex (Lane et al., 1991). Ticks from this genus are identified in Brazil (Onofrio et al., 2009). *Ixodes aragaoi* (Fonseca) was registered in some Brazilian states (Barros-Battesti and Knysak, 1999; Arzua et al., 2005), including endemic areas for SYB in the state of São Paulo, parasitizing small rodents, deer and dogs. However, records in humans are unknown. Furthermore, PCR analysis has shown positive results in ticks from *Rhipicephalus* genus (Mantovani, 2010).

*Borrelia* spp. microorganisms change their morphology when culture conditions are not adequate. In an attempt to adapt to new environmental conditions (Murgia and Cinco, 2004), they inhibit or lose part of their genes and alter their protein expression. Recent studies show that the genetic and protein variability in spirochetes can be influenced by geographical and biodiversity conditions (Malawista et al., 2000; Derdáková et al., 2005; Kurtenbach et al., 2006). In this sense, the existence of vectors, different from *I. ricinus* complex in Brazil, is considered as the main causative factor for the emergence of cystic forms of *B. burgdorferi* in the country (Yoshinari et al., 2009).

Over the past two decades, some groups have worked on the clinical and laboratorial characterization of emerging tick-borne zoonoses in the Brazilian territory (Bonoldi, 2009). These researches include the re-study and/or the identification of vectors involved in disease transmission among wild and domestic animals and the analysis of therapeutic response in humans. The need for such studies reflects the intense microorganism variability to adapt to a particular ecosystem. It is possible to admit that due to the existence of exotic vertebrate and invertebrate hosts in the country, a given etiological agent of a tick-borne disease can be found molecularly modified, adapted to survive at the Brazilian biodiversity.

### **Reports of tick and flea-borne diseases according the Brazilian biomes**

#### **Atlantic Forest biome**

This is an area with the highest reported occurrence of zoonotic diseases transmitted by ticks and fleas in Brazil, concentrating consequently the majority of the studies on national territory. In this area the majority of the studies on national territory are concentrated, consequently with the highest reported occurrence of zoonotic diseases transmitted by ticks and fleas in Brazil. In this region, reported or suggested cases of tick borne zoonoses are identified in areas bordering rural and urban areas, which are characterized by surrounding forests with or without environmental changes caused by human actions. The main activities undertaken in these areas include dam building, fires and deforestation, the agro-forestry enterprises, the location of farms near the reserve areas, and the occupation in a disorderly way in regions adjacent to forest fragments. An important relationship between invertebrate (ticks and fleas) and vertebrate (domestic or reservoirs animals) hosts at such described regions is observed. In general, humans acquire infections accidentally during their professional or leisure activities.

In this biome, Rio de Janeiro state is considered a risk area for SFG *Rickettsia*, especially in the Médio Paraíba region (Sul Fluminense region). Microorganisms from SFG have been described in *Amblyomma*

spp. and *R. sanguineus* (Latreille) (Rozental *et al.*, 2002), and *R. rickettsii* in *R. sanguineus* (Cunha *et al.*, 2009). Even the Baixada Fluminense is considered of potential risk of transmission for a *Babesia* species potentially pathogenic to humans (Humiczevska *et al.*, 1997).

In the state of São Paulo, the following have been found: *Rickettsia belli* in *A. aureolatum* (Pinter and Labruna, 2006; Moraes-Filho *et al.*, 2008), *Ixodes loricatus* Neumann, *A. dubitatum* (Horta *et al.*, 2007; Estrada *et al.*, 2006; Labruna *et al.*, 2004), *Amblyomma* spp. (Horta *et al.*, 2007), *A. cajennense* (Estrada *et al.*, 2006), and *Haemaphysalis justakochi* (Cooley) (Labruna *et al.*, 2007); *Rickettsia rickettsii* in *A. aureolatum* (Pinter and Labruna, 2006), and *R. sanguineus* (Moraes-Filho *et al.*, 2008); *Rickettsia rhipicephali* in *H. justakochi* (Labruna *et al.*, 2007); SFG *Rickettsia* in *A. dubitatum* (Lemos *et al.*, 1996; Melles *et al.*, 1999); *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* (Koch) (Silveira *et al.*, 2007); *Ehrlichia* spp. in dogs (Dagnone *et al.*, 2009); *Borrelia* organisms-like in *I. loricatus* and *Amblyomma* spp. (Mantovani *et al.*, 2007, Barros-Battesti and Yoshinari, 2000; Costa *et al.*, 2002); and *Babesia microti* in dogs (Dwyer *et al.*, 2009). Due to these findings, this state can be considered of potential risk for borreliosis, ehrlichiosis, and rickettsiosis in the region of Greater São Paulo and in the Basin of River Piracicaba (Perez *et al.*, 2008) and Pardo.

The first case of BSF caused by *R. parkeri* in Brazil was identified in the region of Juréia, on the southern coast of São Paulo state (Spolidorio *et al.*, 2010a). The patient presented with fever, rash and typical skin lesions known as "eschar".

In Pantanal deer (*Blastocerus dichotomus*), the presence of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma marginale* DNA was detected in the region where the Porto Primavera hydroelectric plant was built (Machado *et al.*, 2006). In this region, before the hydroelectric dam building, ticks of *R. microplus* species and *A. triste* (Koch) were predominant. After the flood impact, a change in the pattern of deer infestation by ticks was observed, with the emergence of vector *A. cajennense* (Szabó *et al.*, 2003). It is interesting to note that in Uruguay, *A. triste* was the preferential tick parasitizing this vertebrate, but after deer extinction, the tick started to infest dogs and humans (Tomas *et al.*, 1997) causing skin and lymph nodes enlargement in the latter (Conti-Dias, 2001).

Recently, a study conducted in Porto Primavera with 143 of the Pantanal deer, caught in the period between 1998 and 2002, showed the presence of anti-*E. chaffeensis* and anti-*Anaplasma phagocytophillum*, in 76.7% and 20.2%, respectively. The DNA research for *E. chaffeensis* was positive in 42.6% of tested animals (Sacchi, 2009). These data, beyond their importance, are a serious concern, since they evidence that: (1) the etiologic agent of HME is circulating in the wild environment with the potential risk of reaching the peri-domiciliary ambient; (2) environmental changes due to human interference, like floods, could change Pantanal deer distribution, bringing them close to the farms and other areas of human activity. This approximation can allow deer infestation by new species of ticks as *A. cajennense*, with the risk of introducing *E. chaffeensis* in peri-domiciliary ambient; (3) there is effective risk of domestic animals and humans to be contaminated by *E. chaffeensis* as a consequence of biodiversity and ecology changes, due to human actions.

Regarding the incidence of SBY in Brazil, a survey was done at the *Laboratorio de Investigação em Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*, which is the only public institute to perform serology for *B. burgdorferi* in the country. During the period between June 2008 and June 2009, 1104 patients were analyzed. After the exclusion of false positives, 208 cases were diagnosed as carrying SBY (Yoshinari, personal communication). These sera come from almost all Brazilian states, predominantly from São Paulo, Espírito Santo and Mato Grosso do Sul states, featuring the Atlantic Forest and Pantanal biomes on the actual occurrence of human cases of *B. burgdorferi* infection. Regarding the state of São Paulo, cases of SBY were identified in the municipalities of São Bernardo do Campo, Santo André, Campinas, Jundiaí, Franco da Rocha, Valinhos, Bragança Paulista, Atibaia, Nazaré Paulista, Mairiporã, Montpellier, Guararema, Caçapava, Peruíbe, Praia Grande, Ubatuba, São Sebastião, Registro, Guarujá, Itapecerica da Serra, Juquitiba, Embú, Sorocaba, Botucatu, Ourinhos, and Ribeirão Preto, among others municipalities. Clinical cases of SBY occur especially in places with remnants of forests at rural or coastal areas where humans live with pets and/or wild animals. SBY is considered an endemic Brazilian disease without a specific geographical location.

Also, the possible existence of co-infection among the causative agent of SBY and other agents transmitted by ticks was studied. In a group with 70 patients affected by SBY, immunofluorescence assays (IFA) for SFG *Rickettsia*, *Babesia* and *Ehrlichia*, and PCRs for babesiosis, ehrlichiosis and anaplasmosis were performed. The results showed important co-infection with rickettsial organisms of the group of so-called mild rickettsiosis. The frequency of seropositivity to *R. parkeri* was 8.6%, 22.8 % for *Rickettsia amblyommii* and 8.6% for *R. bellii*. These were statistically significant data compared with a group of 50 control subjects without SBY (Bonoldi, 2010). The results also indicate that the etiologic agents of mild rickettsial diseases and SBY are transmitted by the same ticks.

Regarding co-infection between SBY and babesiosis, it is noteworthy that the first cases of borreliosis with systemic complications and positive serology for *B. burgdorferi* were identified in the municipality of Itapevi, São Paulo, in two boys living in a condominium located in the Atlantic Forest. The patients had a previous tick bite history, followed by presence of fever, erythema migrans and arthritis, with positive serology to *B. burgdorferi* (Yoshinari *et al.*, 1992). Surprisingly, both kids developed high antibody titers against *Babesia bovis*, suggesting simultaneous transmission of *B. burgdorferi* sensu lato and *B. bovis* microorganisms by the same vector, which was subsequently confirmed in other patients with SBY (Yoshinari *et al.*, 2003).

In the state of Espírito Santo, an outbreak of BSF in the northern region (Sexton *et al.*, 1993) as well as the occurrence of SFG *Rickettsia* in *A. cajennense*, *A. dubitatum*, *R. sanguineus* and *Dermacentor nitens* (Neumann), and *R. felis* in *R. sanguineus* (Oliveira *et al.*, 2008), besides *Borrelia* organisms-like (Spolidorio *et al.*, 2010a) were reported. Actually, for these reasons, the Northern of Espírito Santo state and the adjacent region of Minas Gerais are regarded as effective areas for the occurrence of human cases of rickettsiosis in the basins of rivers Doce and Mucurí, and for ehrlichiosis in the basin of Rio Doce.

Spolidorio *et al.* (2010) searched for agents transmitted by ticks on six municipalities located in the north of Espírito Santo state (Colatina, Ecoporanga, Nova Venécia, Santa Leopoldina, São Mateus, and Vila Valério), which is a known risk area for SBY and BSF. In this study, serum samples from humans (n=201), dogs (n=92), and horses (n=27) were collected. The survey showed that the results demonstrated that 34.8% of humans, 7.6% of dogs, and 25.9% of horses were positive by IFA against at least one of the rickettsial antigens tested (*R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommii*, *R. bellii*, *R. rhipicephali*, and *R. felis*), with a high frequency of positive sera to *B. burgdorferi* in dogs (51.1%). PCR investigation for *Babesia* spp. was positive in 21.7% of dogs and 22.2% of horses, and PCR for detection of organisms of family Anaplasmataceae was positive in 27.1% of dog samples. None of the human samples tested by molecular biology procedures gave positive results. These data confirmed that this region is endemic for tick-borne zoonoses, with potential risk of human contamination.

Bonoldi (2010) studied the possibility of co-infections by other tick transmitted pathogens in 70 patients with SBY and compared the results with 50 normal individuals. She found significant humoral immune response detected by IFA against *R. parkeri*, *R. amblyommii*, and *R. bellii* in the borreliosis group, suggesting that vectors transmitters of *B. burgdorferi* and mild rickettsias organisms could be the same ticks. In this respect, clinical cases of benign spotted fever caused by *R. parkeri* (Spolidorio *et al.*, 2010a) and *R. felis* (Raoult *et al.*, 2010), transmitted by fleas and ticks as *A. triste* (Venzal *et al.*, 2004) have been discovered in Brazil. Furthermore, since *R. parkeri* was identified in dogs from the southeastern region (Saito *et al.*, 2008), and this animal seems to be reservoir for *B. burgdorferi* in the northern area of the Espírito Santo state (Calic *et al.*, 2004, Spolidorio *et al.*, 2010 b), physicians must be prepared to identify mild rickettsiosis in that region. The species *A. dubitatum*, often found in capybaras, was also described as infected by *R. bellii* and, less frequently, by *R. parkeri* (Pacheco *et al.*, 2009).

Interestingly, cases of SBY were reported in areas with great populations of capybaras in Espírito Santo and São Paulo states (Yoshinari, personal communication). Capybaras are often infested by *A. dubitatum* and it is possible that this tick species can carry and transmit pathogens of SBY and from the BSF group (Toledo *et al.*, 2008). This hypothesis is reinforced by researches done by Bonoldi (2009), Spolidorio *et al.* (2010), and also by the description of SBY emergence in a laboratory worker, following a tick bite episode by *Amblyomma* spp. (Yoshinari, personal communication).

In the state of Minas Gerais, in the central area of southeastern Brazil, the following findings were reported: SFG *Rickettsia* in *A. cajennense*, *D. nitens*, *R. microplus*, *R. sanguineus* and *Amblyomma ovale* (Koch)

(Lemos *et al.*, 1997; Cardoso *et al.*, 2006); *R. rickettsii* in *A. cajennense* (Guedes *et al.*, 2005); *R. felis* in *A. cajennense* (Cardoso *et al.*, 2006); and *Ehrlichia ewiingi* in dogs (Costa *et al.*, 2005); as well as positive serological results against *Rickettsia* organisms in domestic and wild animals (Pena *et al.*, 2009). In this state, the basin of River Doce is characterized as endemic for rickettsiosis, being the basin of River Doce and the region of the Grande Belo Horizonte proved as of effective risk for the occurrence of HME (Calic *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2005), and rickettsiosis felis (Calic *et al.*, 2005). The basin of River Doce is still considered as a potential risk area for the occurrence *Borrelia*-like organisms (Spolidorio *et al.*, 2010b).

Also, in the farther south of the Atlantic Forest, in the Itajai Vale, Santa Catarina State, there is a report of clinical cases of human rickettsiosis (Madeira, 2004) possibly caused by *R. parkeri* because the cases were not severe. Still in the southern region, in Andrianópolis municipality, João Surá locality, Paraná state, microorganisms resembling *Rickettsia* genus in hematophagous mites of the family Macronyssidae (Nieri-Bastos, 2008) and also SFG *Rickettsia* in ticks (Barros-Battesti, personal communication) were found, characterizing these areas for potential occurrence of rickettsial diseases.

In the state of Pernambuco, in the northeast of Brazil, the first findings of *Babesia* in humans in Brazil (Alecrim *et al.*, 1983) and also *Ehrlichia* (Labarthe *et al.*, 2003) occurred. These authors also reported a serological response against *Ehrlichia* in Alagoas, Ceará, and Bahia states.

### **Amazon Forest biome**

This biome is made up by one of the less studied areas for ticks and fleas, their domestic and wild vertebrate hosts, and consequently with the knowledge about the potential risk of pathogen transmission, especially those that can cause diseases to humans. The studies published until today are restricted to areas of the states of Amazonas (Talhari *et al.*, 1987; Melo *et al.*, 2003), Rondônia (Labruna *et al.*, 2004; Labruna *et al.*, 2005) and Pará (Madureira, 2007; Corrêa, 2007; Guedes Júnior *et al.*, 2008). In all the other federal units constituting this biome there is no published research.

In the state of Rondonia, the reports refer to the finding of *R. belli* in *A. ovale*, *Amblyomma sculpturatum* Neumann, *Amblyomma oblongoguttatum* Koch, *Amblyomma rotundatum* Koch and *Amblyomma humerale* Koch; *R amblyommii* in *A. cajennense* and *Amblyomma coelebs* Neumann (Labruna *et al.*, 2004); and *R. rhipicephali* in *H. justakochi* (Labruna *et al.*, 2005). These findings characterize the area as of potential risk for the occurrence of diseases caused by *Rickettsia*.

In the state of Pará, some published studies related the occurrence of *Borrelia* in the Isle of Marajó (Madureira, 2007; Corrêa, 2007) and in the localities of Ananindeua, Castanhal, São Miguel do Guama and Santa Izabel do Pará (Madureira, 2007; Corrêa, 2007; Guedes Júnior *et al.*, 2008; Gallo *et al.*, 2009), in the mainland portion of the state, with a report of one human case in the city of Belém (Rodrigues *et al.*, 2007). The region is characterized as of potential risk for the occurrence of human borreliosis by these studies.

After the first suggestive cases of ME diagnosed in Manaus (Talhari *et al.*, 1987) in the histopathologic study of 31 skin samples suggestive of ME from the same city (Melo *et al.*, 2003), 23 skin samples (74.1%) showed the histological requirements for ME, being the identified structures suggestive of *Borrelia* by Warthin Starry technique in one case. Recently, in 2009, it was confirmed in a case of SBY that occurred in a man who contracted the disease in the region of the Amazon rainforest after a tick bite, with the patient developing acute ME and arthritis as a secondary complication (Yoshinari, personal communication).

Talhari *et al.* (2010) reported 22 cases of Lyme borreliosis from the Brazilian Amazon region, all of them with cutaneous lesion. After the biopsy procedure, immunohistochemistry and focus floating microscopy for *B. burgdorferi* were done, and spirochetes were detected in five patients. The authors did not obtain *B. burgdorferi* isolations and cultures, or identification of spirochetes by PCR methods. Differently from thought of FMUSP researchers, they assumed that clinical and laboratorial features of the Amazon region patients are similar to those found in the Northern Hemisphere.

### **Cerrado biome**

Certain geographical regions in the basins of Jequitinhonha and São Francisco Rivers in Minas Gerais state, are becoming re-emergent areas for human cases of tick transmitted diseases. After a period of

more than 40 years without any description of rickettsiosis, this zoonosis turned to be reported in Brazil in the early 80s (Galvão, 1988).

In the state of Mato Grosso do Sul, the first cases of SYB (as Lyme-simile) in the Brazilian Center-West region of Brazil were described, including the first case of lymphocytic meningitis associated with this zoonosis in Brazil (Costa *et al.*, 1997; Costa *et al.*, 2001). Other reports of BYS in this region indicate that the Cerrado bioma is an important ecosystem for the occurrence of this zoonosis (Rodrigues *et al.*, 2007). Recently, in 2009, a group of about 150 tourists, most of them students from Campinas city, São Paulo state, travelled to the region of Bonito and visited many places at Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul. Four patients presented clinical symptoms compatible with SBY and one student developed EM with positive PCR for *B. burgdorferi* (Yoshinari, personal communication). Unfortunately, of the emergent tick borne transmitted diseases, only a few are known to Brazilian physicians, and also private commercial laboratories are not prepared to identify these zoonoses. In this respect, since ecotourism and leisure activities to exotic geographical places are growing, the different Brazilian Health Institutes should encourage the distribution of knowledge about these zoonoses to physicians and population, and the need for an active system of epidemiological surveillance (Angerami *et al.*, 2006).

Naka *et al.* (2008) studied a group of 100 children from Mato Grosso state, with clinical symptoms of BYS, in an attempt to verify the possibility of co-infection with pathogens of SBY and babesiosis. Serology for *B. burgdorferi* was positive in 27%, and for *Babesia bovis* in 24% of tested patients, indicating that etiological agents of both diseases were transmitted simultaneously, confirming a previous study done by Yoshinari *et al.* (2003).

The southern and central-western state of Bahia, in the northeastern region of Brazil, is considered as of potential occurrence (Plant *et al.*, 1979) for rickettsial diseases. In the Distrito Federal, the capital of Brazil, occurrence of human cases of rickettsiosis has been reported.

### ***Caatinga biome***

In the Caatinga biome located in the northwestern region of Brazil, specifically in the state of Pernambuco, we only obtained few scientific reports related to *Babesia* (Alecrim *et al.*, 1983) infections in humans.

### ***Pampas biome***

In this biome, human cases by *Rickettsia* have been found, lacking this region further studies on the fauna of ticks and fleas of importance in the transmission of emerging zoonotic agents, especially considering the occurrence of human cases by *Rickettsia* in Uruguay (Conti-Dias, 2001) and Argentina (Naka *et al.*, 2008). The serological response against *Ehrlichia* was reported by IFA (Saito *et al.*, 2008) and dot-ELISA (Labarthe *et al.*, 2003).

### **Final considerations**

All the cited biomes exhibited the occurrence of at least of one tick-related pathogen, and in most of cases, it was possible to establish the relationship with vertebrate and invertebrate hosts. Unfortunately, the amount of scientific reports varied greatly among the different biomes, possibly, reflecting better research conditions at economically developed regions like the Southeastern region, instead of higher occurrence of tick borne related zoonoses in this Brazilian geographic area.

Brazil is a huge country, resembling a true continent, with enormous geographic, fauna and flora diversities, originating many distinct biomes. Due to anthropogenic impact, the climate, natural landscape and biodiversity have changed, modifying the pattern of interaction between pathogens and hosts, which contributes to the rising and spreading of emergent tick-borne diseases. The approach of humans and domestic animals to the altered ecosystems facilitates the appearance of infections by pathogens previously found circulating only at preserved biodiversity. Also, human influence destroying natural habitat for reservoir animals and ticks, compels wild animals to come closer to urban regions, and consequently, contributing to spread exotic ticks among new vertebrate hosts. In this way, the relationship between pathogens and new vertebrate and invertebrate hosts can change, bringing the possibility to originate genetically modified microorganisms, which could cause zoonoses different from those previously described.

In this scenery, the Government, researchers and physicians must be aware of establishing an up-to-date guidance concerning emergent zoonoses, to develop new laboratorial procedures to identify and diagnose exotic pathogens and diseases, and to expand new knowledge on epidemiological and clinical features of tick or flea related diseases to the community.

It is interesting that generally, the frequency of pathogen detection by molecular or serological procedures is higher in animals and ticks than in humans, probably due to the fact that confirmatory tests are still restricted to governmental reference laboratories (rickettsiosis) or as the consequence of difficulties in the isolation and culture of exotic pathogens in the country (BYS) or little knowledge and absence of laboratorial diagnostic methods for the identification of human babesiosis and ehrlichiosis. Certainly, many patients who develop clinical symptoms after tick bite episodes remain undiagnosed or wrongly treated as having another disease. It is necessary to introduce an official compulsory notification for all tick-borne diseases by competent health governmental organizations. It is important to know that SBY seems to be a harmless disease at acute stages, but this zoonosis is relapsing in Brazil and can progress to chronic articular or neurological disorders. However, this situation is also reported in other countries and not exclusive to Brazil (McDade, 1991; Chapman *et al.*, 2006; Rathin and Rathin, 2010).

Some diseases like BYS deserve special attention. Since epidemiological, clinical and laboratorial features of this disease are different from those observed in the United States and Eurasia, Brazilian researchers and physicians must understand that it is considered as a new Brazilian exotic tick borne disease. Thus, new knowledge must be produced in Brazil and not imported from foreign countries. Certainly, the same thing could be happening with other tick or flea related diseases. Laboratories from the FMUSP attends requests for *B. burgdorferi* serology from all Brazilian states. Curiously, requests from São Paulo state are strongly higher, probably because physicians in this state are prepared to identify cases of BYS, suggesting that this disease is little known by professionals from other regions. Another important aspect is the common report of symptoms related to babesiosis and ehrlichiosis among people who request serology for borreliosis. Surprisingly, molecular biology assays employed in the Northern Hemisphere have failed to identify these diseases.

Currently, several species of ticks have been associated with different species of *Rickettsia* microorganisms belonging to SFG. The Atlantic Forest is a rich biome to understand the epidemiological and ecological features, which could interfere with rickettsiosis emergence like arthropod vectors, domestic and wild vertebrate hosts, and diagnosis of new or suspected cases. However, despite scientific efforts, a great ignorance about many questions involving host-parasite relationships still exists. The description of patients are exclusive to a few localities, many studies are old, and without the use of more appropriate and/or actual investigative technological procedures.

Due to anthropogenic actions, a serious environmental impact has been caused in all the Brazilian biomes, altering the animal and fauna biodiversity which interfere with pathogen-host relationship, bringing possibilities to human infection. A great change on government policy is necessary to attempt to create adequate conditions to identify, to diagnose and to treat tick-borne zoonoses. It is suggested to join together different specialists like taxonomists, ecologists, physicians, veterinarians, and epidemiologists, among others scientists, to aim at establishing an official guidance approaching all the features concerning these zoonoses. Importantly, results from this engagement need to be transferred to all community members, including the general population, physicians, sanitary agents and managers responsible for Brazilian Health policies.

### Acknowledgments

The authors would like to thank the workshop "State of art of wild health in Brazil" done in Itaipava, Rio de Janeiro State in November, 2009. This event was promoted by the Institutional Program of Biodiversity and Health from Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), as part of the National Plan of Public Private Actions for the Biodiversity (ProBio II) sponsored by the Brazilian Health Ministry and the World Bank. It supports starting the discussion under the approach developed on this manuscript.

## References

- Alecrim I, Pinto B, Avila T, Costa R, Pessoa I.** Registro do primeiro caso de infecção humana por *Babesia* spp. no Brasil. Revista de Patologia Tropical. 1983;12:11-29.
- Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, Silva LJ.** Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil: epidemiological aspects. Ann NY Acad Sci. 2006;1078:170-2.
- Angerami RN, Souza ER, Schumacker TTS, Gehrke FS, Nascimento EMM, Garcia MT, et al.** Human ehrlichiosis diagnosed by nested-PCR, the first four confirmed cases in Brazil. Int J Infect Dis. 2006;10(Suppl.1):S199.
- Barcellos C, Monteiro AMV, Corvalar C, Gurgel HC, Carvalho MS, Artayo P, et al.** Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde. 2009;18:285-305.
- Barros-Battesti DM, Yoshinari NH.** Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari:Ixodidae) on small wild mammals from an Atlantic Forest in the State of São Paulo, Brazil. Journal of Entomology. 2000;37:820-7.
- Bjoerdorff A, Wittesjo B, Berglum J, Massung RF, Eliasson I.** Human granulocytic ehrlichiosis as a common cause of tick-associated fever in Southeast Sweden: report from a prospective clinical study. Scand J Infect Dis. 2002;34:187-91.
- Brasil.** DATASUS. Acessado em julho de 2010. Disponível em <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php>>.
- Bonoldi V.** Estudo laboratorial de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos em pacientes com doença de Lyme-símile brasileira (síndrome Baggio-Yoshinari) (tese) São Paulo: Universidade de São Paulo; 2010.
- Calic SB.** Perfil epidemiológico da febre maculosa brasileira em Minas Gerais, 1995 a 2002: um estudo exploratório (tese). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2006.
- Calic SB, Galvão MA, Bacellar F, Rocha CM, Mafra CL, Leite RC, Walker DH.** Human ehrlichioses in Brazil: first suspect cases. Braz J Infect Dis. 2004;8:259-62.
- Calic SB, Barcellos-Rocha CM, Leite RC, Mafra CL, Galvão MA.** Old and new human rickettsiosis in Minas Gerais state, Brazil. Ann NY Acad Sci. 2005;1063:356-7.
- Cardoso LD, Freitas RN, Mafra CL, Neves CV, Figueira FC, Labruna MB, et al.** Characterization of *Rickettsia* spp. circulating in a silent peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Caratinga, Minas Gerais, Brazil. Cad Saude Publica. 2006;22:495-501.
- Centers for Disease Control and Prevention.** Fatal cases of Rocky Mountain spotted fever in family clusters--three states, 2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004;53:407-10.
- Chapman AS, Bakken OS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al.** Diagnosis and management of tick-borne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis - United States. A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2006;55(RR04);1-27.
- Conti-Dias IA.** Rickettsiosis por *Rickettsia conori* (Febre botonosa Del Mediterráneo o Febre de Marsella). Estado actual en Uruguay. Revista Médica de Uruguay. 2001;17:119-24.
- Corrêa FN.** Pesquisa de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em búfalos (*Bubalus bubalis*) do estado do Pará. Dissertação, mestrado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal; 2007.
- Costa IP, Bonoldi VLN, Yoshinari NH.** Search for *Borrelia* spp. in ticks from potential reservoir in an urban forest in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil: a short report. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97:631-5.
- Costa IP, Yoshinari NH, Barros PJL, Bonoldi VLN.** Doença de Lyme em Mato Grosso do Sul: relato de três casos incluindo o primeiro relato de meningite de Lyme no Brasil. Revista Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina de São Paulo. 1997;51:253-7.
- Costa IP, Bonoldi VLN, Yoshinari NH.** Perfil clínico e laboratorial da doença de Lyme-símile no Estado de Mato Grosso do Sul: análise de 16 pacientes. Revista Brasileira de Reumatologia. 2001;41:142-50.
- Costa PSG, Brigatte ME, Greco DB.** Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana* and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100:853-9.
- Cunha NC, Fonseca AH, Rezende J, Rozental T, Favacho ARM, Barreira JB, et al.** First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. Pesquisa Veterinaria Brasileira. 2009;29:105-8.
- Dantas-Torres F.** Causative agents of canine babesiosis in Brazil. Prev Vet Med. 2008;83:210-1.
- Dantas-Torres F, Figueiredo LA, Brandão-Filho SP.** *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parazitizing humans in Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39:64-7.
- Dagnone AS, Souza AI, Andre MR, Machado RZ.** Molecular diagnosis of Anaplasmataceae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18:20-5.

- Derdáková M, Lencáková D.** Association of genetic variability within the *Borrelia burgdorferi* sensu lato with the ecology, epidemiology of Lyme borreliosis in Europe. Annual Agriculture Environmental Medicine. 2005;12:165-72.
- Dwyer LH, Lopes VVA, Rubini AS, Paduan KS, Ribolla PEM.** *Babesia* spp. infection in dogs from rural areas of São Paulo State, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet., 2009;18:23-6.
- Estrada DA, Shumacker TTS, Souza CE, Neto EJR, Linhares AX.** Detecção de riquésias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acarí: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39:68-71.
- Figueiredo LT, Badra SJ, Pereira LE, Szabó MP.** Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. Rev Soc Bras Med Trop. 1999;32:613-9.
- Fonseca AH, Salles RS, Salles SAN, Madureira RC, Yoshinari NH.** Borreliose de Lyme símile: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. An Bras Dermatol. 2005;80(2):171-8.
- Gallo KR, Fonseca AH, Madureira RC, Barbosa Neto JD.** Freqüência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em equinos na mesorregião metropolitana de Belém, Estado do Pará. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2009;29:229-32.
- Galvão MAM.** Febre maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no estado e seu comportamento em área de foco peri-urbano (tese). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1996.
- Galvão MA, Dumler JS, Mafra CL, Calic SB, Chamone CB, Cesario Filho G, et al.** Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. Emerg Infect Dis. 2003;9:1402-5.
- Galvão MA, Lamounier JA, Bonomo E Tropia MS, Rezende EG, Calic SB, et al.** Emerging and reemerging rickettsiosis in an endemic area of Minas Gerais State, Brazil. Cad Saude Publica. 2002;18:1593-7.
- Galvão MAM.** A febre maculosa brasileira em Minas Gerais e seus determinantes (tese). Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz; 1988.
- Gauditano G, Bonoldi VLN, Costa IP, Battesti DMB, Barros PJL, Fonseca AH, et al.** Síndrome de Lyme-símile ou complexo infecto-reacional do carrapato - síndrome Baggio-Yoshinari. Revista Paulista Reumatologia. 2005;4:17.
- Gauditano G, Yoshinari NH.** Doença de Lyme símile no Brasil, síndrome Baggio-Yoshinari. In: Focacia R, editor. Tratado de Infectologia. Cuarta edição. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. p. 1359-79.
- Gonçalves AJR, Lopes PFA, Melo JCP, Pereira AA, Pinto AMM Lazera MS.** Rickettsioses: A propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa brasileira. Folha Médica. 1981;82:127-34.
- Guedes Junior DS, Araújo FR, Silva FJM, Rangel CP, Barbosa Neto JD, Fonseca AH.** Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the northeastern region of the State of Pará, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2008;17:105-9.
- Guedes E, Leite RC, Prata MCA, Pacheco RC, Walker DH, Labruna MB.** Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100:841-5.
- Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, et al.** Ticks (Ixodidae) on humans in South America. Exp Appl Acarol. 2006;40:83-100.
- Horta MC, Sabatini GS, Moraes-Filho J, Ogrzewalska M, Canal RB, Pacheco RC, et al.** Experimental infection of the opossum *Didelphis aurita* by *Rickettsia felis*, *Rickettsia bellii*, and *Rickettsia parkeri* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2010;10:1-9.
- Horta MC, Labruna MB, Pinter A, Linardi PM, Schumaker TTS.** *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102:793-801.
- Humiczevska M, Kuzna-Grygiel W.** A case of imported human babesiosis. Poland Wiad Parazytol. 1997;43:227-9.
- Ianni AMZ.** Biodiversidade e saúde pública: fronteiras do biológico e do social. Saúde e Sociedade. 2005;14:77-88.
- Kurtenback K, Hanincová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH.** Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. Nature Reviews/Microbiology. 2006;4:660-9.
- Labruna MB, Machado RZ.** Agentes transmitidos por carrapatos na Região Neotropical. In: Carrapatos de importância médica-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan; 2006. p. 155-164.
- Labruna MB, Kerber CE, Ferreira F, Faccini JL, De Waal DT, Gennari SM.** Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. Vet Parasitol. 2001;97:1-14.
- Labruna MB.** Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases, Fifth International Conference. Ann NY Acad Sci. 2009;1166:156-66.
- Labruna MB, Camargo LMA, Camargo EP, Walker DH.** Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondônia, Brazil. Vet Parasitol. 2005;127:169-74.

- Labruna MB, Pacheco RC, Richtzenhain LJ, Szabó MPJ.** Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the state of São Paulo, Brazil. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:869-73.
- Labruna MB, Souza SLP, Guimarães JSJr, Pacheco RC, Pinter A, Gennari SM.** Prevalência de carrapatos em cães rurais da região do norte do estado do Paraná. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:553-6.
- Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride J, Camargo LMA, Camargo EP, et al.** *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *J Med Entomol.* 2004;41:1073-81.
- Labruna MB, Whiworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A, et al.** *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian Spotted Fever is endemic. *J Clin Microbiol.* 2004;42:90-8.
- Lane RS, Piesman J, Burgdorfer W.** Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vector and hosts in North America and Europe. *Annu Rev Entomol.* 1991;36:587-609.
- Lemos ERS, Machado RD, Pires FDA, Machado SL, Costa LMC, Coura JR.** Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1997;92:477-81.
- Lemos ERS, Melles HHB, Colombo S, Machado RD, Coura JR, Guimarães AA, et al.** Primary isolation os spotted fever group from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91:273-5.
- Loully CCB, Fonseca IN, Oliveira VF, Borges LMF.** Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. *Ciencia Animal Brasileira.* 2006;7(1):103-6.
- Machado RZ, Duarte JM, Dagnone AS, Szabo MP.** Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). *Vet Parasitol.* 2006;139:262-6.
- Madeira A.** Surto de febre maculosa no estado de Santa Catarina. *Rev Bras Parasitol Vet.*, 2004;13(Suppl.):364.
- Madureira RC.** Sorologia para *Borrelia burgdorferi* em eqüinos do Estado do Pará e caracterização genotípica de isolados *Borrelia* spp (tese). Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal; 2007.
- Malawista SE, Montgomery RR, Wang XM, Fu LL, Giles SS.** Geographic clustering of an outer surface protein A mutant of *Borrelia burgdorferi*. Possible implications of multiple variants for Lyme disease persistence. *Rheumatology.* 2000;38:537-41.
- Mancini DAP.** A ocorrência de riquetsioses do grupo *Rickettsia rickettsii*. *Rev Saúde Publica.* 1983;17:493-9.
- Mantovani E.** Pesquisa de chlamydias, mycoplasmas e borrelias no sangue periférico de pacientes com Síndrome Infecto-Reacional Lyme símila. Relatório da Bolsa de Doutorado concedido pela FASPESP processo 2006/54837-5. 2009.
- Mantovani E, Costa IP, Gauditano G, Bonoldi VLN, Higuchi ML, Yoshinari NH.** Description of Lyme Disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease variation? *Braz J Med Biol Res.* 2007;40:443-56.
- McDade JE.** Diagnosis of rickettsial diseases: A perspective. *Eur J Epidemiol.* 1991;7:270-5.
- Melles HHB, Colombo S, Lemos ERS.** Isolamento de *Rickettsia* em cultura de células Vero. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999;32:469-73.
- Melo IS, Gadelha AR, Ferreira LCF.** Estudo histopatológico de casos de eritema crônico migratório diagnosticados em Manaus. *An Bras Dermatol.* 2003;78:169-77.
- Moraes-Filho J, Pinter A, Pacheco RC, Gutmann TB, Barbosa SO, González MARM, et al.** New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008;8:1-8.
- Murgia R, Cinco M.** Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi*. *APMIS.* 2004;112:57-62.
- Naka EM, Costa IP, Arão CAB, Soares CO, Yoshinari NH.** Pesquisa de anticorpos anti-Borrelia e anti-Babesia em soro de crianças com manifestações clínicas e epidemiologia compatíveis com a doença de Lyme-símile no Estado de Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2008;48:74-85.
- Nascimento EM, Gehrke F de S, Maldonado RA, Colombo S, Silva LJ, Schumaker TT.** Detection of Brazilian spotted fever infection by polymerase chain reaction in a patient from the state of São Paulo. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100:277-9.
- Nava S, Elshnawy Y, Eremeeva ME, Sumner JW, Mastropaulo M, Paddock CD.** *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1894-7.
- Nieri-Bastos FA.** Revisão taxonômica das espécies do gênero *Ornithonyssus* (Acari: Macronyssidae) parasito de pequenos mamíferos terrestres no Brasil e avaliação da infecção desses ácaros por *Rickettsia* spp. (tese). São Paulo: Universidade de São Paulo; 2008.
- Oliveira K A, Oliveira LS, Dias CCA, Silva Jr A, Almeida MR, Almada G, et al.** Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103:191-4.
- Oliveira RP, Galvão MAM, Mafra CL, Chamone CB, Calic SC, Silva SU, et al.** *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:317-9.
- Oliveira RR.** Mata Atlântica, paleoterritórios e história ambiental. *Ambiente & Sociedade.* 2007;10:11-23.

- Pacheco RC, Horta MC, Pinter A, Moraes-Filho J, Martins T F, Nardi MS, et al.** Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42:351-3.
- Paddock CD, Brenner O, Vaid C, Boyd DB, Berg JM, Joseph RJ, et al.** Short report: concurrent Rocky Mountain spotted fever in a dog and its owner. Am J Trop Med Hyg. 2002;66:197-9.
- Peña DC, Mafra CL, Calic SB, Labruna MB, Milagres BS, Walker DH, et al.** Serologic survey for antibodies to *Rickettsia* among domestic and wild animals populations in Brazil. Clin Microbiol Infect. 2009;15:243-4.
- Perez CA, Almeida AF, Almeida A, Carvalho VHB, Balestrin DC, Guimarães MS, et al.** Carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acarí: Ixodidae) e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para Febre Maculosa no estado de São Paulo. Rev Bras Parasitol Vet. 2008;17:210-7.
- Pinter A, Labruna MB.** Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. Ann NY Acad Sci. 2006;1078:523-30.
- Plaglia AP, Bérnulis RS, Develey PF.** A luta pela proteção dos vertebrados terrestres. Scientific American Brasil. 2010;39:48-53.
- Plank SJ, Teixeira RS, Milanesi ML.** Febre maculosa em Salvador: descrição de um caso. Revista de Medicina da Bahia. 1979;25:330-4.
- Raoult D, La Scola B, Enea M, Fournier PE, Roux V, Fenollar F, et al.** A flea-associated *Rickettsia* pathogenic for humans. Emerg Infect Dis. 2001;7:73-81.
- Rathin N, Rathin A.** Rickettsial Infections: Indian perspective. Indian Pediatr. 2010;47:157-64.
- Ratnasamy N, Everett ED, Roland WE, McDonald G, Caldwell CW.** Central nervous system manifestations of human ehrlichiosis. Clin Infect Dis. 1996;23:314-9.
- Rodrigues BD, Meireles VMB, Braz MN.** Borreliose de lyme símile: relato de caso. Revista de Parassitologia Médica. 2007;21:63-7.
- Rozental T, Bustamante MC, Amorim M, Serra-Freire NM, Lemos ERS.** Evidence of spotted fever group *Rickettsiae* in state of Rio de Janeiro, Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2002;44:155-8.
- Sacchi ABV.** Identificação e Prevalência de agentes rickettsiais (Rickettsiales: Anaplasmataceae) em cervos do Pantanal (*Blastocerus dichotomus*), utilizando método sorológico e molecular (tese). Jaboticabal: UNESP; 2009.
- Saito TB, Cunha-Filho NA, Pacheco RC, Ferreira F, Pappen FG, Farias NA, et al.** Canine infection by *Rickettsiae* and *Ehrlichiae* in southern Brazil. Am J Trop Hyg. 2008;79:102-8.
- Sexton DJ, Muniz M, Corey GR, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Dumler JS, et al.** Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: Description of a focus of infection in a new endemic region. Am J Trop Med Hyg. 1993;49:222-6.
- Shinjo SK, Gauditano G, Marchiori PE, Bonoldi VLN, Costa IP, Mantovani E, et al.** Manifestações neurológicas na síndrome de Baggio-Yoshinari (síndrome brasileira semelhante à doença de Lyme). Revista Brasileira Reumatologia. 2009;49:492-505.
- Silveira I, Pacheco RC, Szabó MPJ, Ramos HGC, Labruna MB.** *Rickettsia parkeri* in Brazil. Emerg Infect Dis. 2007;13:1111-3.
- Souza CE, Moraes-Filho J, Ogrzewalska M, Uchoa FC, Horta MC, Souza SS, Borba RC, Labruna MB.** Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. Vet Parasitol. 2008;161:116-21.
- Spolidorio MG, Labruna MB, Zago AM, Donatele DM, Caliari KM, Yoshinari NH.** Hepatozoon canis infecting dogs in the State of Espírito Santo, southeastern Brazil. Vet Parasitol. 2009;163:357-61.
- Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH.** A novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. Emerg Infect Dis. 2010a;16:521.
- Spolidorio MG, Labruna MB, Machado RZ, Moraes Filho J, Zago AM, Donatele DM, et al.** Survey for tick-borne zoonoses in the State of Espírito Santo, southeastern Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2010b;83:201-6.
- Szabó MP, Labruna MB, Garcia MV, Pinter A, Castagnoli KC, Pacheco RC, et al.** Ecological aspects of the free-living ticks (Acarí: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. Ann Trop Med Parasitol. 2009;103:57-72.
- Szabó MPJ, Labruna MB, Pereira MC, Duarte JM.** Ticks (Acarí: Ixodidae) in wild marsh deer (*B. dichotomus*) from Southeast Brazil: Infestation before and after habitat loss. J Med Entomol. 2003;40:269-74.
- Talhari S, Schettine APM, Parreira VJ.** Eritema crônico migrans, doença de Lyme - Estudo de três casos. 42º Congresso Brasileiro de Dermatologia, Goiânia, 1987.
- Toledo RS, Tamekun K, Haydu VB, Vidotto O.** Dinâmica sazonal de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acarí: Ixodidae) em um parque urbano da cidade de Londrina, PR. Revista Brasileira Parassitologia Veterinária. 2008;17(Supl.1):50-4.
- Tomas WM, Beccaceci MD, Pinder L.** Cervo do pantanal (*Blastocerus dichotomus*). In: Duarte JMB, editor. Biologia e Conservação de Cervídeos; 1997. p. 24-40.

- Venzal JM, Portillo A, Estrada-Peña A, Castro O, Cabrera PA, Oteo JA.** *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:1493-5.
- Walker DH, Dumler JS.** Emergence of ehrlichioses as human health problems. *Emerg Infect Dis.* 1996;2:18-29.
- Walker DH.** Clinical, epidemiologic, and control perspectives of rickettsioses and ehrlichioses in the Américas. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2004;13:18-27.
- Walker JB, Keirans JE, Horak IG.** The genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae): A guide to the brown ticks of the world. 1th edition. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. p. 643 .
- Yoshinari NH, Barros PJ, Bonoldi VLN.** Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. *Revista Hospital Clínicas Faculdade Medicina São Paulo.* 1997;52:111-7.
- Yoshinari NH, Barros PJ, Gauditano G, Fonseca AH.** Report of 57 cases of Lyme-like disease (LLD) in Brazil. *Arthritis Rheumatism.* 1999;43:S188.
- Yoshinari NH, Barros PJL, Fonseca AH.** Borreliose de Lyme – zoonose emergente de interesse multidisciplinar. *News Lab.* 1995;3:90-104.
- Yoshinari NH.** Uma longa jornada para entender a *Borrelia burgdorferi* no Brasil. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2009;49:483-5.
- Yoshinari NH, Abrao MG, Bonoldi VLN, Soares CO, Madruga CR, Scofield A, et al.** Coexistence of antibodies to tick-borne agents of babesiosis and Lyme borreliosis in patients from Cotia county, state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:311-8.
- Yoshinari NH, Barros PJ, Cruz FCM, Oyafuso LK, Mendonça M, Baggio D, et al.** Clínica e sorologia da doença de Lyme no Brasil. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 1992;32:S57.
- Yoshinari NH, Vasconcelos SA, Tiriba AC, Gauditano G, Mantovani G, Bonoldi VLN.** Relato inusitado de micro-organismos latentes em animais: riscos à pesquisa e à saúde dos funcionários? *Revista Brasileira de Reumatologia.* 2009;49:506-28.



## Vectores y cambio climático

Jesús Antonio Betancourt

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA

### Introducción

A medida que han ido aumentando los reportes de trabajos diversos y que las metodologías de análisis de información se han ido desarrollando, se han ido quedando sin argumentos quienes niegan la existencia del fenómeno del cambio climático. La literatura científica nacional e internacional documenta sólidamente la temática del cambio climático y de su interacción con fenómenos biológicos y con aspectos sociales, económicos y políticos (Randolph, 2009).

En la misma forma, una mayor claridad en el manejo de los conceptos de cambio y variabilidad climática ha contribuido a una mejor documentación de tales fenómenos. La variabilidad climática y sus efectos han sido últimamente objeto de mayor atención, por ser algo que se percibe más cercano a nosotros en el pasado reciente y que muestra sus efectos en forma casi inmediata. Las definiciones de cambio y variabilidad climática son ofrecidas, entre otros, por Boshell (2008) y el *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) (2001).

### Las enfermedades y el cambio climático

Desde que se empezó a discutir el tema del cambio climático y su relación con la salud, se ha afirmado que las enfermedades transmitidas por artrópodos son las más sensibles al fenómeno (WHO, 2000; Randolph, 2009; Lucientes, 2007). Se ha considerado que la respuesta de las poblaciones de artrópodos a las variaciones en el clima no es lineal y que, por lo tanto, un pequeño incremento en la temperatura puede aumentar hasta en diez veces la población de determinado artrópodo (WHO, 2000). Asimismo, las enfermedades mediadas por otros vectores se pueden ver afectadas por los fenómenos climáticos. Tal es el caso de la fascioliasis o de la esquistosomiasis. El cambio climático no sólo puede afectar

enfermedades causadas por protozoos, virus o bacterias, sino que puede influir en la fisiología de los animales y el hombre y participar, así sea indirectamente, en enfermedades de origen tóxico, carencial o metabólico. Torremorel (2010) llega a afirmar que “[...] cualquier enfermedad infecciosa que directa o indirectamente responda a las condiciones ambientales, puede ser afectada por el cambio climático”.

### Efectos biológicos del cambio climático

Kovats *et al.* (2001) clasifican los efectos biológicos atribuidos al cambio climático en cuatro clases, así:

- 1) **efectos en fisiología:** tasas metabólicas o de desarrollo de procesos en plantas y animales;
- 2) **efectos en distribución de especies:** en respuesta a los cambios en la temperatura y en la precipitación;
- 3) **efectos en fenología:** tiempo de los eventos del ciclo evolutivo o del ciclo de vida, y
- 4) **adaptaciones:** reducción en el tiempo para producir una generación y tasas más rápidas de crecimiento.

Los mismos autores presentan como cambios importantes que aumentan la capacidad vectorial de los artrópodos, los siguientes:

- 1) aumento de las tasas de supervivencia y de la distribución de vectores, lo cual aumenta su abundancia y disponibilidad en determinadas zonas;
- 2) mayor duración e intensidad del patrón temporal de actividad del vector a través del año, e
- 3) incremento de las tasas de desarrollo y reproducción del patógeno dentro del vector y, por lo tanto, reducción del período extrínseco de incubación (WHO, 2000; Kovats *et al.*, 2001).

### Las variaciones climáticas y las enfermedades transmitidas por vectores

[...] La variabilidad climática interanual en Suramérica tropical está fuertemente asociada al ENSO (El Niño *Southern Oscillation*). La mayoría de la región, incluyendo a Colombia, experimenta períodos secos prolongados y temperaturas por encima de lo normal durante El Niño y, generalmente, opuestas durante La Niña”. Poveda *et al.* (2000).

La variabilidad climática interanual y la “interdecadal” influyen directamente en la epidemiología de las enfermedades transmitidas por vectores (WHO, 2000). Al parecer, el mayor efecto del cambio climático en la transmisión de enfermedades, es posible que ocurra en los extremos del rango de temperatura a la cual sucede la transmisión. Para muchas enfermedades, dicho rango en el límite bajo es de 14 a 18 °C y, en el límite alto, es de 35 a 40 °C.

El calentamiento en el rango bajo, tiene efecto significativo no lineal en el período extrínseco de incubación y, por consiguiente, en la transmisión de la enfermedad. En el rango alto, la transmisión puede aun cesar. Sin embargo, entre 30 y 32 °C, la capacidad vectorial puede aumentar, debido a reducción en el período extrínseco de incubación, a pesar de una reducción en la tasa de reproducción del vector. Los mosquitos (*Anopheles*, *Aedes*, *Culex*), responsables de la transmisión de muchas enfermedades, son sensibles a los cambios de temperatura, tanto en su ambiente acuático como en su estado adulto. Al aumentar la temperatura del agua, la larva toma menos tiempo para madurar y, por lo tanto, hay mayor capacidad para producir más descendencia durante el período de transmisión. En condiciones más cálidas, los mosquitos adultos hembra digieren la sangre más rápidamente y se alimentan con mayor frecuencia, lo que aumenta la intensidad de la transmisión (WHO, 2000; Poveda *et al.*, 2000).

Un incremento en la precipitación aumenta el número y la calidad de los sitios de cría de vectores como mosquitos, garrapatas y otros, y la mayor densidad de la vegetación aumenta los sitios de descanso. Igualmente, con mayor precipitación se pueden incrementar los sitios de refugio y la calidad de comida para reservorios, lo que lleva a brotes de enfermedad. Poveda *et al.* (2000) estudiaron el comportamiento de la malaria y el dengue durante épocas de El Niño y concluyeron que ambas enfermedades exhiben picos durante tales periodos. Durante el fenómeno de El Niño, se aumentan las temperaturas mínima y media (asociadas a una elevación de la temperatura del aire) y se reduce la precipitación, lo que favorece

el desarrollo y la transmisión de los vectores, arriba mencionados. Además, una menor precipitación propicia el estancamiento de aguas que normalmente estarían fluyendo.

### **Avances de investigación en Corpoica sobre plagas y enfermedades de interés pecuario, en relación con el cambio climático**

En los últimos tres años, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), con la cofinanciación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, ha venido adelantando investigaciones sobre algunas plagas y enfermedades de interés pecuario y su posible relación con el cambio climático. Algunos de los avances de los resultados son los que se mencionan a continuación.

#### ***Garrapata Rhipechelus (Boophilus) microplus***

Esta especie de garrapata, cuyo establecimiento en altitudes superiores a los 2.400 metros sobre el nivel de mar (msnm) parecía improbable hace 33 años (Evans, 1978), ha sido ya encontrada en bovinos del altiplano cundiboyacense a 2.903 msnm (Cortés *et al.*, 2010). Más aún, los estudios de bioecología desarrollados en localidades situadas a diferentes altitudes, evidenciaron que *R. (B.) microplus*, puede poner huevos –y los huevos pueden eclosionar– en las condiciones de Ubaté, a 2.569 msnm, condiciones en las cuales se observó supervivencia larvaria hasta de 119 días.

Aunque estos hallazgos sugieren una expansión en la distribución geográfica de *R. (B.) microplus*, no se puede afirmar categóricamente que tal migración sea exclusivamente debida al cambio climático. De hecho, muy pocos estudios presentan pruebas de un efecto exclusivo del cambio climático en enfermedades transmitidas por vectores. Un ejemplo es la diseminación de la “lengua azul” en el norte de Europa, asociada con la expansión hacia el norte de *Culicoides imicola* (Torremorell, 2010). Kovats *et al.* (2001) presentan como requisitos mínimos para aceptar una relación causal entre cambio climático y cambios en salud, los siguientes:

- a) demostración de sensibilidad biológica al clima;
- b) demostración meteorológica de cambio climático, y
- c) demostración de cambio entomológico/epidemiológico en asociación con cambio climático.

#### ***Anaplasma marginale***

Aunque en el estado actual de las investigaciones aún no se podría comparar la prevalencia serológica de esta especie en bovinos reportada hace varias décadas, con la encontrada en estudios actuales, los resultados obtenidos del examen de extendidos sanguíneos coloreados con Giemsa sugieren un gran salto a lo ancho en la latitud de la distribución de esta especie y en la prevalencia misma de las infecciones con este parásito.

Mientras que hace 41 años, Kuttler *et al.* (1970) encontraron una prevalencia de 3 % de *A. marginale* en bovinos del Centro de Investigación Tibaitatá, las observaciones actualmente en progreso en bovinos del altiplano cundiboyacense muestran el parásito en 95 % de las fincas y en 28 % de los animales examinados por métodos parasitológicos. Estos altos porcentajes sugieren que *A. marginale* está bien establecido en el altiplano desde hace varios años, época en la cual posiblemente fue introducido con las moscas picadoras *Stomoxys calcitrans* y *Haematobia irritans*, las cuales están ampliamente diseminadas en esta región del país, como lo han comprobado los estudios en marcha y las observaciones realizadas por García (2011).

#### ***Clostridium* sp.**

Las investigaciones en progreso han permitido no sólo el aislamiento de varias especies de *Clostridium*, sino que han demostrado asociación entre su presencia y algunos episodios de muerte súbita en bovinos, con posterioridad a inundaciones en la zona de estudio (Ortiz D, comunicación personal).

#### ***Collaria scenica***

Los estudios en curso han detectado la presencia de esta plaga, llamada “la chinche de los pastos”, en altitudes superiores a los 3.000 msnm, las cuales son superiores a las registradas anteriormente (2.600 a 2.800 msnm), lo cual sugiere migración a nuevas altitudes. El insecto, registrado en 1998 en

Cundinamarca (Martínez y Barreto, 1998), se ha expandido al departamento de Boyacá, en lo que parece ser también una migración en sentido longitudinal (Barreto N, comunicación personal).

### **Uso de modelos como herramienta para distribución actual y potencial de las especies**

Desde el desarrollo de varias versiones de CLIMEX® para la garrapata *R. (B.) microplus* (Sutherst y Dallwitz, 1979; Sutherst y Maywald, 1985), se han empleado varios modelos como herramienta para simular la distribución de especies de artrópodos vectores de enfermedades y para predecir el comportamiento de las plagas y enfermedades en condiciones futuras de cambio climático.

Poveda *et al.* (2000) usaron un modelo epidemiológico basado en el concepto de capacidad vectorial, teniendo en cuenta la temperatura del aire en la superficie y con base en un modelo de circulación atmosférica general (ECHAM3), para observar el comportamiento de la malaria y el dengue. En el Reino Unido, Gale *et al.* (2008) describieron el desarrollo de un marco climático para el análisis de riesgo, combinando factores y sucesos que interactúan, mediante los cuales el cambio climático puede afectar las enfermedades del ganado.

El marco considera también elementos como: uso de la tierra, prácticas en la finca, factores zoológicos, sociales y ambientales, acontecimientos extremos e, incluso, la biología molecular de los patógenos, para predecir el riesgo de entrada de los mismos al Reino Unido.

El marco considera cuatro módulos, a saber:

- a) impacto del cambio climático en reservorios vertebrados,
- b) impacto del cambio climático en el vector,
- c) grado de contacto animal, y
- d) movimientos y transmisión por rutas ambientales.

Gardiner *et al.* (1981) y Gardiner y Gray (1986), emplearon modelos para estudiar el ciclo de vida de *Ixodes ricinus* pero, en ese momento, aún no tenían suficiente información para analizar la expansión del artrópodo hacia el norte de Europa. Gray *et al.* (2009) mencionaron el empleo de modelos de factores climáticos favorables para predecir el establecimiento de varias especies de garrapata en Europa, más al norte de su distribución conocida. Algunas de ellas son: *I. ricinus* e *Ixodes persulcatus* (vectores de encefalitis transmitida por garrapatas y enfermedad de Lyme); *Dermacentor reticulatus* (vector de babesiosis canina, fiebre Q y anaplasmosis); *Hyalomma marginatum* (vector de fiebre hemorrágica de Crimea), y *Rhipicephalus sanguineus* (vector de babesiosis canina). Estrada-Peña (2002) describió un modelo de simulación para la densidad de población y prevalencia de *Boophilus decoloratus* en África, usando información ambiental provista por sensores remotos. El mismo autor (Estrada-Peña, 1999, 2001) presentó estudios de distribución de *R. (B.) microplus* en Suramérica y Centroamérica. Beugnet y Marie (2009) describieron un modelo (FleaTickRisk de CLIMPACT), que predice la actividad semanal de tres especies de garrapata en Europa, la actividad de la pulga del gato, *Ctenocephalides felis*, la abundancia de parásitos y el riesgo de transmisión de enfermedades.

Los modelos, sin embargo, deben ser interpretados con cautela, antes de afirmar categóricamente la diseminación de una plaga y de la enfermedad transmitida por ella. Muchos modelos son alimentados con series de información meteorológica y con insumos como el índice de vegetación de diferencia normalizada (*Normalized Difference Vegetation Index*, NDVI), pero tienen poca o ninguna información biológica que cubra la complejidad de los ciclos de la plaga y de la transmisión de un determinado patógeno por la misma.

Por otro lado, no se debe olvidar que diversos factores sociales pueden contribuir y aun ser más relevantes que el clima, a afectar la distribución de plagas y enfermedades. Si se enfoca exclusivamente el cambio climático, se pueden ignorar tales factores y se obtienen predicciones menos exactas. Algunos factores sociales y económicos que se deben considerar, enunciados por Torremorell (2010), son:

- alteración del hábitat,
- presencia de especies invasoras,

- agricultura,
- viajes y migración,
- resistencia a pesticidas y medicamentos,
- malnutrición,
- urbanismo y calentamiento urbano,
- densidad de población,
- calidad de los servicios de salud,
- pobreza y
- educación.

A lo anterior se suman aspectos que pueden afectar el microclima e influir en la dispersión y el establecimiento de una especie de artrópodo, como son:

- pendiente,
- cubierta de nieve;
- vegetación,
- capa de residuos orgánicos (basuras, hojarasca) y
- capa subyacente del suelo.

### **Enfermedades y plagas que pueden sufrir cambios en su distribución asociados con el cambio climático**

Cada vez se van sumando más enfermedades a la lista de aquellas transmitidas por vectores que parecen estar expandiéndose, en asocio, al menos parcialmente, con el cambio climático. Algunas de ellas se presentan en la tabla que aparece al final del artículo.

### **Estudios requeridos**

Se requieren muchos estudios y desarrollos a largo plazo (hasta 10 años), para obtener información que ayude a mejorar los modelos de distribución y predicción de plagas y enfermedades. Gray *et al.* (2009) y la FAO-IAEA (2010) presentaron algunos de ellos, así:

- desarrollo de técnicas para detección temprana, rápida y segura de enfermedades,
- incidencia de enfermedades,
- distribución y abundancia de vectores,
- biología de vectores,
- abundancia y distribución de huéspedes y reservorios, y
- biología de vegetación relevante.

“Estos estudios permitirán el desarrollo de modelos para predecir escenarios futuros de enfermedades transmitidas por vectores, que tengan en cuenta los procesos biológicos dinámicos en vez de simplemente la posibilidad de ocurrencia de favorabilidad climática para una especie de artrópodo en particular” (Gray *et al.*, 2009).

### **Bibliografía**

- Beugnet F, Marie JL.** Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. *Vet Parasitol.* 2009;163:298-305.
- Boshell F.** Elementos de análisis para el manejo de las amenazas del cambio climático en la agricultura colombiana. *Innovación y Cambio Tecnológico (CORPOICA).* 2008;7:38-53.
- Centers for Disease Control and Prevention.** Vector-borne and zoonotic diseases. Atlanta: CDC; 2010.

**Enfermedades y plagas que pueden expandirse fuera de su rango de distribución habitual, en asocio con el cambio climático.**

Enfermedad	Agente causal	Vector, huésped intermediario o reservorio
Fascioliasis	<i>Fasciola hepatica</i>	Caracol <i>Lymnaea</i>
Esquistosomiasis	<i>Schistosma</i> sp.	Caracoles de agua
Encefalitis transmitida por garrapatas	<i>Flavivirus</i>	<i>Ixodes ricinus</i>
Leishmaniasis	<i>Leishmania</i> sp.	<i>Lutzomia</i> sp. <i>Phlebotomus</i>
Babesiosis canina, tularemia, fiebre Q, anaplasmosis	<i>Babesia canis</i> ; <i>Francisella tularensis</i> ; <i>Coxiella burnetii</i> ; <i>Anaplasma marginale</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> ; <i>Dermacentor reticulatus</i> , <i>D. andersoni</i> ; <i>Amblyomma americanum</i> ; <i>D. variabilis</i> <i>Ixodidae</i> , <i>Argasidae</i> , <i>B. microplus</i> , <i>Dermacentor</i> sp.
Enfermedad de Lyme	<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. scapularis</i>
Babesiosis, erlichiosis	<i>Babesia bovis</i> , <i>B. bigemina</i> , <i>B. canis</i> , <i>E. canis</i>	<i>Rhipicephalus</i> ( <i>Boophilus</i> ) <i>microplus</i> , <i>R. sanguineus</i>
Fiebre hemorrágica de Crimea	Virus	<i>Hyalomma marginatum</i>
Malaria	<i>Plasmodium vivax</i> , <i>P. falciparum</i>	<i>Anopheles</i> sp.
Dengue	Virus	<i>Aedes</i> sp.
Tripanosomiasis	<i>Trypanosoma b. gambiense</i> , <i>T. b. rhodesiense</i> , <i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i>	<i>Glossina</i> sp., dípteros hematófagos
Enfermedad de Chagas	<i>T. cruzi</i>	<i>Reduviidae</i>
Anaplasmosis	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Rhipicephalus</i> ( <i>Boophilus</i> ) <i>microplus</i> , dípteros hematófagos
Fiebre amarilla	Virus	<i>Culicidae</i> sp.
Influenza aviar	Virus	Aves migratorias
Fiebre del Valle de Rift	<i>Phlebovirus</i>	<i>Aedes</i> sp.
Lengua azul	Virus	<i>Culicoides imicola</i>
Síndrome pulmonar	Hantavirus	Ratón venado
Dirofilariosis	<i>Dirofilaria repens</i> y otras	Mosquitos, otros dípteros hematófagos
Encefalitis equinas y humanas	Virus	Mosquitos
Fiebre manchada de las Montañas Rocosas	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor</i> sp.
Anaplasmosis granulocítica humana	<i>A. phagocytophila</i>	<i>Ixodes</i>

**Cortés JA, Betancourt JA, Argüelles J, Pulido LA.** Distribución de garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* en bovinos y fincas del altiplano cundiboyacense (Colombia). CORPOICA, Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 2010;11:73-84.

**Estrada-Peña A.** Geostatistics and remote sensing using NOAA-AVHRR satellite imagery as predictive tools in tick distribution and habitat suitability estimations for *Boophilus microplus* in South America. Vet Parasitol. 1999;81:73-82.

**Estrada-Peña A.** Climate warming and changes and habitat suitability for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Central America. J Parasitol. 2001;87:978-87.

**Estrada-Peña A.** A simulation model for environmental population densities, survival rates and prevalence of *Boophilus decoloratus* (Acari: Ixodidae) using remotely sensing environmental information. Vet Parasitol. 2002;104:71-8.

**Evans DE.** *Boophilus microplus* ecological studies and a tick fauna synopsis related to the developing cattle industry in the Latin American and Caribbean region (thesis). London: London Polytechnic; 1978.

**FAO-IAEA.** Climate change and the expansion of animal and zoonotic diseases. What is the agency's contribution? Joint FAO-IAEA Program. Nuclear Techniques in Food and Agriculture. 2010.

**Gale P, Adkin A, Drew T, Woldridge M.** Predicting the impact of climate change in livestock diseases in Great Britain. Vet Rec. 2008;162:214-5.

**García-Castro FE.** Indicadores de bienestar animal en explotaciones de ganado vacuno lechero en Colombia, desarrollo y evaluación (tesis). Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2011.

- Gardiner WP, Gettinby G, Gray JS.** Models based on weather for the development phases of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. Vet Parasitol. 1981;9:75-86.
- Gardiner WP, Gray JS.** A computer simulation of the effects of specific environmental factors on the development of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. Vet Parasitol. 1986;19:133-44.
- Genchi C, Kramer LH, Rivas F.** Dirofilarial infections in Europe. Vector-borne and zoonotic diseases. In press. March 21, 2011.
- Gray JS, Dauthel H, Estrada-Peña A, Kahl O, Lindgren E.** 2009. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. Interdiscip Perspect Infect Dis. 2009;12.
- IPCC.** Summary for policy makers. Climate change 2001. The Scientific bases. Cambridge: Cambridge University Press; 2001.
- Kovacs RJ, Campbell L, MacMichael AJ, Woodward A, Cox J.** Early effects of climate change. Do they include changes in vector-borne diseases? Phil Trans Roy Soc Lond. 2001;356:1057-68.
- Kuttler K, Adams LG, Zaraza H.** Estudio epizootiológico del *Anaplasma marginale* y de *Trypanosoma theileri* en Colombia. Revista ICA. 1970;5:127-48.
- Lucientes J.** El cambio climático y su influencia en las enfermedades transmitidas por insectos vectores. Revista Albeitar. 2007;104:8-11.
- Martínez E, Barreto N.** La chinche de los pastos *Collaria scenica* Stal. en la Sabana de Bogotá. Boletín de Investigación. 1998.
- Poveda G, Graham N, Epstein P, Rojas W, Quiñones M, Vélez ID, et al.** Climate and ENSO variability associated with vector-borne diseases in Colombia. En: Díaz HF, Markgraf V, editors. El Niño and the Southern Oscillation, multiscale variability and global and regional impacts. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. p. 183-204.
- Randolph SE.** To what extent has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? Vet Parasitol. 2009;.
- Sutherst RW, Dallwitz MJ.** Progress in the development of a population model for the cattle tick *Boophilus microplus*. En: Piffl E, editor. Proceedings of the 4th International Congress of Acarology, Austria, 1974. Budapest: Academiai Kiado; 1979. p. 557-63.
- Sutherst RW, Maywald GF.** A computerized system for modeling climates in ecology. Agric Ecosyst Environ. 1985;13:281-99.
- Torremorell M.** Climate change and animal diseases. (II) Pig. Pfizer Animal Health. 2010.
- WHO.** Climate change and vector-borne diseases: A regional analysis. Bull World Hlth Org. 2000;78.

---

## Perspectiva tropical de rickettsias y otros agentes transmitidos por garrapatas en mascotas

Efraín Benavides

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Medicina Veterinaria,  
Universidad de La Salle, Sede Norte, Bogotá, D.C., Colombia

### Introducción

Los parásitos externos, o ectoparásitos, que afectan animales domésticos y silvestres y al hombre, son en su mayoría artrópodos, organismos de exoesqueleto quitinoso y patas articuladas, que poseen reproducción sexual y sufren de ecdisis durante su período de crecimiento (1). Los principales ectoparásitos incluyen ácaros e insectos y algunos durante su evolución han desarrollado piezas bucales especializadas para la succión de sangre y han adquirido el hábito hematófago, mientras otros se han adaptado admirablemente a su rol parasitario sobre los animales, desarrollando estructuras para adherirse a los pelos, como es el caso de los piojos, o estrategias para sobrevivir a partir de escamas y detritos celulares del entorno animal (1,2).

Dentro de la amplia gama de ectoparásitos que pueden afectar a los animales y al hombre, se destacan los dípteros hematófagos y las garrapatas, por su capacidad de alimentarse de sangre del huésped. En esta asociación evolutiva surgieron los hemoparásitos, o parásitos sanguíneos, que en su inicio se cree eran simbiontes del intestino del artrópodo y luego se adaptaron a las células del huésped (1,3). Aunque algunos incluyen en esta categoría solamente a los protozoarios sanguíneos, debido a sus asociaciones epidemiológicas, en medicina veterinaria se reconoce como hemoparásitos a las rickettsias (4), pero

también, se incluyen bacterias de otros grupos taxonómicos, como *Bartonella* y *Borrelia* (5), y, más recientemente, las que se han reclasificado como las micoplasmosis hemotrópicas (6).

En cada ecosistema y nicho ecológico donde se ha desarrollado esa evolución simultánea huésped-parásito, han ocurrido particulares dinámicas hemoparasitarias. Por lo general, cada especie de mamífero o ave posee un hemoparásito y vector específico, algunos de los cuales se mantienen muy cerrados en esta relación y otros poseen mayor diversidad de presentación en cuanto a selección de huéspedes. Así, se reconocen los hemoparásitos de los bovinos (4), de los equinos (7) y de los caninos (8), y, en general, cada especie animal posee sus parásitos de la sangre que lo pueden llegar a afectar dependiendo de los vectores existentes en su hábitat (5). Luego, se puede inferir que la distribución del vector marca la distribución del hemoparásito en una población dada, tal como se ha descrito para las rickettsias (9), que viven en focos primarios enzootícos y dan lugar a brotes esporádicos u ocasionales. De esta forma, Azad y Beard (9) indican que

“[...] consecuentemente, la coevolución de la rickettsia con los artrópodos es responsable de muchas características de esa especial relación huésped-patógeno, como la replicación eficaz del patógeno, mantenimiento a largo plazo de la infección y transmisión transovárica y transestadal”.

Dados los diversos componentes de la globalización y la mayor movilidad de personas y animales, la humanidad enfrenta actualmente gran preocupación en relación con las enfermedades emergentes y reemergentes. Se considera que 60 % de los patógenos emergentes en humanos son zoonóticos (de origen animal) y, de éstos, más de 71 % tiene orígenes silvestres (10). Esto posiblemente ha motivado a diversos grupos locales de investigación a realizar esfuerzos por tratar de comprobar la circulación de esos agentes en nuestro territorio, generalmente utilizando herramientas serológicas (11, 12 y 13). Sin embargo, se corre el riesgo de interpretar de forma inadecuada las asociaciones epidemiológicas entre vectores, mamíferos o aves que constituyen los reservorios silvestres y nichos naturales, y el potencial epidemiológico de cada uno de esos agentes.

Por esta razón, esta revisión se centra en orientar esos esfuerzos desde la perspectiva del pensamiento conceptual “una salud”, que busca la integración de esfuerzos entre el personal que trabaja en salud humana y en salud animal, además de zoólogos, ecologistas, epidemiólogos, genetistas y, en general, todas las ramas del conocimiento que puedan relacionarse con la salud, animal, humana y ambiental, con énfasis en la epidemiología y la salud pública (14,15), compartiendo una concepción desde la perspectiva veterinaria de la dinámica de la población de agentes transmitidos por vectores en poblaciones animales, particularmente de especies silvestres.

Se presenta una revisión sobre la distribución de las garrapatas en Colombia, con énfasis en las que afectan a las mascotas, y se discuten las implicaciones sobre los riesgos de transmisión de patógenos emergentes en el trópico.

### **Las garrapatas en Colombia con énfasis en las que afectan a los perros**

La razón de centrar esta revisión en las garrapatas que afectan al perro, reside en el rol actual que cumplen las mascotas en nuestra sociedad, donde casi toda familia posee un perro o un gato, y las obvias posibles implicaciones zoonóticas de la presencia de ectoparásitos y su riesgo de transmisión de zoonosis en el entorno familiar.

La primera descripción académica de la presencia de garrapatas en Colombia se remonta a 1940 (16), en un documento que ha sido recientemente reimpreso como clásico por *Biomédica*. Allí se presentan unas claves para su clasificación y se describe con detalle la existencia de garrapatas blandas del género *Ornithodoros* spp., y se describen como vectores de la fiebre recurrente de humanos. En ese trabajo se describen cuatro especies de *Ixodes* spp.; *Ixodes loricatus*, recolectadas de la “chucha real”, *Metachirus longicaudatus colombianus*, y de *Didelphys marsupialis* en el departamento del Meta; *Ixodes brunneus* recolectada de un ave en Bogotá; *Ixodes boliviensis* capturada en *D. marsupiales* en Boyacá, e *Ixodes juvenis* en una iguana.

En relación con las garrapatas que afectan a los perros, en ese trabajo se describe la presencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* en un perro que nunca había salido de Bogotá y en perros de diversos municipios de clima medio y cálido (16).

Indiscutiblemente, *R. sanguineus*, también conocida como la garrapata parda del perro, es la especie de ixódido de mayor distribución en caninos domésticos en diversas regiones del país; infelizmente, existen pocas publicaciones para corroborar esta afirmación. La presencia de esta especie en el país es descrita en el trabajo de Luque (17), lo mismo que en una publicación del *Walter Reed Army Medical Center* (18), en el que se indica que se encuentra en perros, mulas y conejos. Además, en un trabajo realizado en los Llanos Orientales (19), se describe la presencia de *R. sanguineus* en los perros de la región de Carimagua, en los límites del Meta y el Vichada.

En la tabla 1 se presenta una relación de las principales especies de garrapatas que podrían utilizar al perro como huésped, bajo las condiciones colombianas (elaboración personal con el aporte de G. López; comunicación personal, 2010). Fuera de *R. sanguineus*, que tiene la capacidad de domiciliarse, todas las otras garrapatas que pueden afectar al perro se asocian con su actividad en fincas o zonas rurales, donde existen los huéspedes primarios. La segunda garrapata de importancia en perros es *Amblyomma cajennense*, especie que tiene la capacidad de parasitar una amplia gama de huéspedes domésticos y silvestres, es de amplia distribución en Colombia (16), en especial, los valles interandinos (18,20), y se encuentra desde Argentina hasta el sur de México (21).

En perros de áreas rurales, además, se encuentran otras garrapatas del género *Amblyomma*, particularmente *Amblyomma maculatum*, que en la literatura científica internacional es conocida como la garrapata de la costa del golfo. Fue descrita en Colombia parasitando equinos en el departamento del Tolima (16) y luego se describieron al bovino y al perro como sus huéspedes más comunes en el país (18). Además, diversas especies de *Amblyomma* spp. pueden llegar a parasitar perros; se destaca el reporte de frecuente presencia de *Amblyomma aureolatum* en perros domésticos en Brasil (21). Por otra parte, *Anocentor nitens* y *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pueden afectar ocasionalmente al perro, principalmente en las fases de larva y ninfa. Esto cuenta para caninos que bien viven en o visitan fincas, donde existen los huéspedes primarios de cada especie de garrapata.

La garrapata parda del perro es fácil de reconocer, particularmente en sus fases adultas. Es una garrapata parda que posee el rostro corto y la base del capítulo de forma hexagonal, además de que su escudo no es ornamentado (16,22). El macho tiene un tamaño entre 2 y 3 mm, su escudo cubre la totalidad del dorso y la base del capítulo es hexagonal. La diferencia con la hembra es que el escudo sólo cubre la porción anterior del dorso; a medida que se llena de sangre durante las últimas horas de permanencia sobre el huésped, aumenta su tamaño y puede alcanzar entre 7 y 9 mm.

Por su parte, las garrapatas *Amblyomma* spp. se pueden diferenciar porque poseen un rostro largo y, generalmente, un escudo ornamentado (22). Cabe destacar, sin embargo, que este grupo es el más biodiverso en la América tropical; actualmente se reconocen 57 especies (21), de forma que existen diversas sugerencias de claves para su precisa identificación, la cual debe ser adelantada por expertos (16,23,24).

En el caso de las garrapatas *Ixodes* spp., en Colombia no se reporta su presencia en perros. Este género de garrapatas es de particular importancia, por su reportado potencial para la transmisión de zoonosis, particularmente, *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus*, pero se debe explicitar que las garrapatas que se presentan en el neotrópico difieren de las garrapatas del neoártico (21,25). En el caso colombiano se han comprobado doce especies del género (18,20), la mayoría sobre animales de la fauna silvestre, principalmente roedores y marsupiales. En el caso del neotrópico, Guglielmone *et al.* (21) indican la existencia de 45 especies; se destaca que *Ixodes boliviensis* se multiplica sobre carnívoros silvestres. Las especies *I. scapularis* e *I. pacificus* se consideran de distribución neoártica, enfatizándose que no existen en estas latitudes. Por otra parte, la garrapata paleoártica *Ixodes ricinus*, que fue descrita en el pasado en la región (17), se ha venido a aclarar que realmente se trata de *Ixodes paracircinus* (26), esta especie neotropical afecta artiodáctilos, particularmente vacunos, y en Colombia se encuentra en los límites de Antioquia y Chocó, particularmente en los municipios de Abriaquí y El Carmen de Atrato (G. López, comunicación personal, 2010).

### Potencial vectorial de zoonosis de las garrapatas del perro

En el gremio de médicos veterinarios que atienden mascotas, hay particular preocupación por el diagnóstico e importancia clínica de las enfermedades transmitidas por garrapatas en perros, en especial,

**Tabla 1.** Algunas garrapatas que existen en Colombia (Neotrópico) y que pueden llegar a alimentarse sobre caninos.

Nombre científico	Nombre común	Huésped primario	Características de afección en caninos
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Garrapata marrón del perro	Caninos	Esta especie tiene la capacidad de domiciliarse. Frecuente presencia en climas medios y cálidos del país.
<i>Amblyomma cajennense</i>	Garrapata de Cayena o garrapata venadera	Equinos, bovinos	Afecta a caninos que viven en fincas y que salen a los potreros. Valles interandinos. Rostro largo y escudo vistoso.
<i>Amblyomma maculatum</i>	Garrapata de la costa del golfo	Pequeños roedores y aves	Puede afectar ocasionalmente a perros de fincas en contacto con fauna silvestre.
<i>Anocentor nitens</i>	Garrapata tropical del caballo	Équidos	Los perros en contacto con caballos en potreros, ocasionalmente pueden adquirir estadios larvarios y ninfas.
<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	Garrapata común de ganado	Bovinos	Cuando existen grandes poblaciones de larvas en los potreros donde se mantiene el ganado, los perros pueden adquirir la infestación.

la babesiosis y la ehrlichiosis caninas. Sin embargo, es escasa la documentación científica sobre la real presentación de estos casos en diversas ciudades o regiones rurales del país. Por lo tanto, es importante comprender las asociaciones epidemiológicas de estos agentes con los vectores que existen en nuestro país, para poder hacer apropiadamente la inferencia de su posible potencial zoonótico.

La ehrlichiosis canina es una de las enfermedades de más frecuente diagnóstico en consultorios veterinarios de pequeños animales, tanto en Bogotá como en ciudades de clima cálido. En opinión del autor de esta ponencia, esta enfermedad está “sobrediagnosticada” debido a la inadecuada interpretación de resultados del uso de kits de diagnóstico importados y a dificultades para el diagnóstico morfológico de los organismos.

Se debe tener presente que estos organismos fueron reorganizados a inicios de la década anterior (27), lo cual brinda una nueva perspectiva para su comprensión y su epidemiología, y para entender su rol zoonótico. En la tabla 2 se presenta una relación de la situación actual de los organismos de la familia Anaplasmataceae que pueden llegar a afectar al perro. *Ehrlichia canis*, organismo causante de la ehrlichiosis monocítica canina y transmitido por la garrapata *R. sanguineus*, se considera de distribución mundial. Este organismo no debe considerarse como agente con potencial zoonótico; en cambio, *Ehrlichia chaffeensis*, el agente causal de la ehrlichiosis monocítica humana, puede llegar a afectar al perro y es transmitido por la garrapata *Amblyomma americanum* (28). Afortunadamente, esta garrapata posee distribución neoártica y su descripción en algunos especímenes en Centroamérica, parecen corresponder a clasificaciones erradas (21).

Otro hemoparásito también transmitido por *A. americanum* es el agente causal de la ehrlichiosis granulocítica canina y humana: *Ehrlichia ewingii*. La distribución de este agente parece estar restringida a Norteamérica, lo que coincide con la distribución del vector. Existe, además, un agente que causa ehrlichiosis granulocítica en humanos, la que hoy se conoce como la anaplasmosis granulocítica humana, que corresponde a *Anaplasma phagocytophilum* (previamente conocido como *Ehrlichia equi*), el cual en América es transmitido por *I. scapularis* e *I. pacificus* y, en Europa, por *I. ricinus*; es decir, su distribución es neoártica y paleoártica (28).

*Anaplasma platys* (previamente, *Ehrlichia platys*), agente causal de la trombocitopenia cíclica canina, es también transmitido por *R. sanguineus*, se considera de amplia distribución y no posee potencial zoonótico. Por otro lado, las ex ehrlichias que se asocian con transmisión por trematodos y moluscos, como el agente causante de la intoxicación por salmón, pertenecen ahora al género *Neorickettsia* spp.

Existen diversos grupos de investigación que están preocupados por la enfermedad de Lyme en nuestro territorio (12,29,30), cuyo agente, la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, se conoce es transmitida por

**Tabla 2.** Situación actual de la clasificación de ehrlichias y anaplasmas que se pueden multiplicar en el perro, indicando sus vectores y distribución geográfica conocida.

Nombre actual	Nombre previo	Enfermedad asociada	Huéspedes naturales	Vector primario	Célula afectada	Distribución
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Ehrlichiosis monocítica humana	Humano, perro, ciervo	<i>Amblyomma americanum</i>	Mononucleares	Estados Unidos, Europa, África, Centroamérica
<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Ehrlichia canis</i>	Ehrlichiosis canina	Perros, zorros, chacales	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Mononucleares	Mundial
<i>Ehrlichia ewingii</i>	<i>Ehrlichia ewingii</i>	Ehrlichiosis granulocítica canina y humana	Humanos y perro	<i>Amblyomma americanum</i>	Granulocitos	Estados Unidos
<i>Anaplasma platys</i>	<i>Ehrlichia platys</i>	Trombocitopenia cíclica canina	Perros	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Plaquetas	Estados Unidos, Taiwán, Venezuela, Grecia, Israel, Tailandia,
<i>Neorickettsia helminthoeca</i>	<i>Neorickettsia helminthoeca</i>	Intoxicación del salmón	Perros	<i>Nanophyetus salmonicola</i> Tremátodo en pescados	Mononucleares	California, Oregón, Idaho, Washington

Modificado de: <http://riki-lb1.vet.ohio-state.edu/background/ehrlichiaspp.php>

garrapatas *Ixodes* spp. en el neoártico y el paleoártico (31,32), pero parece ser que no se sustenta la permanencia del ciclo silvestre de esta enfermedad en el trópico. Aunque algunas aves migratorias pudieran portar el agente, las garrapatas de ese género son bien escasas en nuestro territorio y, también, es escasa la población de mamíferos mayores (ungulados) que servirían como huéspedes amplificadores. En un estudio en el que se examinaron miles de garrapatas *Ixodes* spp. en Colombia, no se demostró infección por borrelias (29).

Similar situación parece estar ocurriendo con la comprensión de la epidemiología y distribución de los protozoos transmitidos por garrapatas en perros. Existen, al menos, cuatro piroplasmas genéticamente distintos en caninos (33,34), las que se conocen como babesias grandes, y hay tres subtipos de *Babesia canis* (*B. c. canis* y *B. c. vogeli*, en Europa y norte de África, y *B. c. rossi* en Sudáfrica), pero se desconoce la situación en Colombia. *Babesia gibsoni*, piroplasma pequeño que existe en Asia, Norteamérica y África, posee potencial zoonótico y no hay registros de su existencia en Colombia. Debe destacarse que sólo las babesias pequeñas se consideran de potencial zoonótico (35), particularmente *Babesia microti* de roedores, y, aparentemente, una pequeña babesia de perros en Norteamérica conocida como WA1 y que se relaciona con *B. gibsoni* (36). De forma tal que el reclamo de la existencia de babesiosis en humanos en Colombia (13) parece fuera de contexto en vista de la comprensión de la epidemiología de estos organismos.

La enfermedad transmitida por garrapatas en humanos y perros en Colombia es, posiblemente, la enfermedad de Tobia, o fiebre macular, causada por la *Rickettsia rickettsii* (37-39). Esta enfermedad está totalmente subdiagnosticada, pero el ciclo de vida silvestre y semiurbano se mantiene en fincas de clima medio, principalmente en regiones donde existe la garrapata *A. cajennense*.

Como patógeno importante de perros en el país, tampoco debe descartarse la importancia de la hepatozoosis canina, causada por el protozoo *Hepatozoon americanum* y *Hepatozoon canis*, que es transmitido por garrapatas *Amblyomma* spp., particularmente *A. maculatum* (40). Este agente es también subdiagnosticado y puede ser importante causa de enfermedad en perros de áreas donde existe el vector. Finalmente, se cuenta a las micoplasmosis hematópicas (6) causadas por la bacteria de la familia Mycoplasmataceae, *Mycoplasma haemocanis* (previamente, *Haemobartonella canis*), que es

transmitida por pulgas y por la garrapata *R. sanguineus*, y es importante causa de anemias en mascotas, principalmente en animales inmunodeprimidos (40).

## Conclusión

Las garrapatas han evolucionado independientemente en las diversas zonas biogeográficas del planeta y han establecido ciclos silvestres de agentes causantes de enfermedad en animales y en humanos, los que hoy se conocen como zoonosis emergentes. Es importante estudiar las asociaciones entre huésped y parásito desde la visión de “una salud”, para evitar caer en la trampa de la interpretación errónea de las interfases epidemiológicas. Se requiere cautela al publicitar la presencia y el potencial zoonótico de organismos transmitidos por garrapatas en el trópico, correspondientes a agentes que son importantes en países templados, pues, en muchos de ellos, ni el vector ni el ciclo silvestre se sostienen en estos ecosistemas.

## Referencias

1. **Sousley EJL.** Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. London: Baillière Tindall. 1982. p. 809.
2. **Eldridge BF, Edman JD.** Medical entomology: A textbook on public health and veterinary problems caused by arthropods. The Netherlands: Kluwer Academic, Dordrecht; 2003. p. 672.
3. **Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Keirans JE, Robbins RG.** Ticks (Acari: Ixodidae) of the neotropical zoogeographic region. Atalanta, Houten, The Netherlands: International Consortium on Ticks Tick-borne Diseases; 2003.
4. **Zwart D.** Haemoparasitic diseases of bovines [*Babesia* spp., *Theileria* spp., *Cowdria ruminantium*, *Anaplasma marginale*]. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 1985;4:447-58.
5. **Pawelczyk A, Bajer A, Behnke JM, Gilbert FS, Sinski E.** Factors affecting the component community structure of haemoparasites in common voles (*Microtus arvalis*) from the Mazury Lake District region of Poland. Parasitol Res. 2004;92:270-84.
6. **Willi B, Novacco M, Meli M, Wolf-Jäckel G, Boretti F, Wengi N, et al.** Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: Transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. Schweiz Arch Tierheilkd. 2010;152:237-44.
7. **Kyewalabye Kaggwa E, Lawal IA.** *Babesia equi* and *Trypanosoma vivax* infections in donkeys. Rev Elev Med Vet Pays Trop. 1989;42:205-10.
8. **Matjila PT, Leisewitz AL, Jongejan F, Penzhorn BL.** Molecular detection of tick-borne protozoal and ehrlichial infections in domestic dogs in South Africa. Vet Parasitol. 2008;155:152-7.
9. **Azad AF, Beard CB.** Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. Emerg Infect Dis. 1998;4:179-86.
10. **Cutler SJ, Fooks AR, van der Poel WH.** Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. Emerg Infect Dis. 2010;16:1-7.
11. **Buelvas F, Alvis N, Buelvas I, Miranda J, Mattar S.** Alta prevalencia de anticuerpos contra Bartonella y *Babesia microti* en poblaciones rurales y urbanas en dos provincias de Córdoba, Colombia. Rev. Salud Pública. 2008;10:168-77.
12. **Zuluaga Á, Botero F, Herrera WL, Robledo J, Cortés A, Lotero MC.** Enfermedad de Lyme: un caso comprobado en Colombia. CES Medicina. 2000;14:44-50.
13. **Ríos L, Álvarez G, Blair S.** Serological and parasitological study and report of the first case of human babesiosis in Colombia. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36:493-8.
14. **Zinsstag J, Schelling E, Bonfoh B, Fooks AR, Kasymbekov J, Waltner-Toews D, et al.** Towards a ‘One Health’ research and application tool box. Vet Ital. 2009;45:121-33.
15. **Villamil LC.** Un mundo, una salud y los objetivos de desarrollo del milenio (ODM): retos y perspectivas de la salud pública. Rev Sapuvet de Salud Pública. 2010;1:21-39.
16. **Osorno-Mesa E.** Las garrapatas de la República de Colombia. Rev Acad Col Ciencias. 1940;4:6-24.
17. **Luque G.** Current knowledge of tick species distribution in Latin America. Proceedings, Workshop Ecology and Control of Bovine Ectoparasites in Latin America, Cali, Aug. 1975. 1978; p. 23-7.
18. **Defense Pest Management Information Analysis Center, DPMIAC.** Disease vector ecology profile. Colombia. U.S., Armed Forces Pest Management Board. Forest Glen Section. Washington, D.C.: Walter Reed Army Medical Center, 1998. Disponible en:<https://www.afpmb.org/pubs/dveps/colombia.pdf>.
19. **Wells EA, D'Alessandro A, Morales GA, Angel D.** Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. J Wildl Dis. 1981;17:153-62.
20. **López G.** Bioecología y distribución de garrapatas en Colombia. En: Control de garrapatas. Compendio No. 39. Medellín: Instituto Colombiano Agropecuario; 1980. p. 33-43.

21. **Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Keirans JE, Robbins RG.** Ticks (Acarí: Ixodidae) of the Neotropical Zoogeographic Region. Atalanta, Houten, The Netherlands: International Consortium on Ticks Tick-borne Diseases; 2003.
22. **López VG.** Clave para identificación de garrapatas de la familia Ixodidae. Control de garrapatas, Compendio N° 39. Antioquia, Chocó: ICA Regional 4: 1980. p. 135-67.
23. **Jones EK, Clifford CM, Keirans JE, Kohls GM.** The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to species of *Amblyomma* in the western hemisphere. Brigham Young Univ Sci Bull, Biological Series. 1972;17:1-40.
24. **López G, Parra D.** *Amblyomma neumannii*, Ribaga 1902. Primera comprobación en Colombia y claves para las especies de *Amblyomma*. Rev ICA. 1985;20:152-62.
25. **Benavides OE, López VG.** Revisión crítica de presencia y distribución de garrapatas duras (Ixodida: Ixodidae) en territorio colombiano. Resúmenes, XXXVII Congreso, Sociedad Colombiana de Entomología, Bogotá, D.C., 30 de junio, 1 y 2 de julio de 2010.
26. **Keirans JE, Clifford CM, Guglielmone AA, Mangold AJ.** *Ixodes (Ixodes) paracircinus*, n. sp. (Acarí: Ixodoidea: Ixodidae), a South American cattle tick long confused with *Ixodes ricinus*. J Med Entomol. 1985;22:401-7.
27. **Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al.** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int J Syst Evol Microbiol. 2001;51:2145-65.
28. **Parola P, Davoust B, Raoult D.** Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. Vet Res. 2005;36:469-92.
29. **Mattar S, López, G.** Searching for Lyme disease in Colombia: A preliminary study on the vector. J Med Entomo. 1998;35:324-6.
30. **Miranda J, Mattar S, Perdomo K, Palencia L.** Seroprevalencia de borreliosis, o enfermedad de Lyme, en una población rural expuesta de Córdoba, Colombia. Rev Salud Pública. 2009;11:480-9.
31. **Jaenson TG, Eisen L, Comstedt P, Mejlon HA, Lindgren E, Bergström S, et al.** Risk indicators for the tick *Ixodes ricinus* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Sweden. Med Vet Entomol. 2009;23:226-37.
32. **Guerra M, Walker E, Jones C, Paskewitz S, Cortinas MR, Stancil A, et al.** Predicting the risk of Lyme disease: Habitat suitability for *Ixodes scapularis* in the north central United States. Emerg Infect Dis. 2002;8:289-97.
33. **Carret C, Walas F, Carcy B, Grande N, Précigout E, Moubri K, et al.** *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. J Eukaryot Microbiol. 1999;46:298-303.
34. **Persing DH, Conrad PA.** Babesiosis: New insights from phylogenetic analysis. Infect Agents Dis. 1995;4:182-95.
35. **Homer MJ, Aguilar-Delfín I, Telford SR 3rd, Krause PJ, Persing DH.** Babesiosis. Clin Microbiol Rev. 2000;13:451-69.
36. **Kjemtrup AM, Conrad PA.** Human babesiosis: An emerging tick-borne disease. Int J Parasitol. 2000;30:1323-37.
37. **Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernández J, Parra E, et al.** Rocky Mountain spotted fever, Colombia. Emerg Infect Dis. 2007;13:1058-60.
38. **Hidalgo M, Miranda J, Heredia D, Zambrano P, Vesga JF, Lizarazo D, et al.** Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011;106:117-8.
39. **Hidalgo M, Vesga JF, Lizarazo D, Valbuena G.** A survey of antibodies against *Rickettsia rickettsii* and *Ehrlichia chaffeensis* in domestic animals from a rural area of Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2009;80:1029-30.
40. **Ewing SA, Panciera RJ.** American canine hepatozoonosis. Clin Microbiol Rev. 2003;16:688-97.



## ***Ehrlichia*-eukaryote interactions and tandem and ankyrin repeat protein effectors**

Jere W. McBride, Tian Luo, Bing Zhu, Abdul Wakeel, and Jeeba Kuriakose

Department of Pathology, Center for Biodefense and Emerging Infectious Diseases,  
Institute for Human Infections and Immunity, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA

### **Introduction**

Significant progress has been made in the identification of host cell processes that are modulated by *Ehrlichia* in order to survive in mammalian phagocytes. However, the effector proteins involved in manipulating these host cell processes have remained largely undetermined.

Recent availability of genome sequences and new molecular approaches to investigate host-pathogen interactions have focused attention on two small groups of *Ehrlichia*-encoded proteins that contain tandem (TRPs) and/or ankyrin repeats (Anks). These proteins were first recognized as major immunoreactive proteins that elicit strong host antibody responses, yet little was known about their functional role during infection. It is now evident that ehrlichial TRPs and Anks are effectors involved in novel, complex and multidimensional molecular strategies to reprogram host cell defense mechanisms (11,15).

*Ehrlichia* have small genomes, but are able to adapt to distinct hosts and survive intracellularly in innate immune effector cells using molecular strategies that are not fully understood. However, there are numerous genes identified in *Ehrlichia* associated with host-pathogen interactions including those encoding proteins with tandem and ankyrin repeats, poly (G-C) tract (short sequence repeats), and a multigene outer membrane protein family of porins (9).

Defining molecular *Ehrlichia*-host interactions is necessary to understand how these obligately intracellular vector-borne bacteria adapt to tick and mammalian hosts and evade innate and adaptive host cell defenses. *Ehrlichia* provides an attractive and manageable microbial model system to understand the pathogen-eukaryotic host cell interactions, by advancing our understanding of this inter-kingdom relationship, and knowledge of the molecular pathobiology of intracellular microbes (plant and animal), as well as the molecular biology of the eukaryotic cell.

This summary will focus on new insights from studies conducted in our laboratory on TRPs and Anks and their role in molecular host-pathogen interactions.

### ***Ehrlichia* tandem and ankyrin repeat proteins**

*Ehrlichia* have a group of major immunoreactive proteins that contain long period tandem repeats that we now understand are involved in molecular pathogen-host interactions. TRPs in pathogenic bacteria have been associated with host-pathogen interactions such as adhesion and internalization (5,13), actin nucleation (4) and immune evasion (3). Many TRPs in *Ehrlichia* have been completely molecularly characterized, and major continuous species-specific antibody epitope(s) have been mapped to the acidic serine-rich TRs of *E. chaffeensis*, TRP120, TRP47, and TRP32 (1,6,8), and in TRs of the *E. canis* orthologs TRP140, TRP36, and TRP19, respectively (1,6,10).

The presence of long period tandem repeats distributed in intergenic and coding regions of *Ehrlichia* is well recognized and is associated with expansion and contraction of these regions. These long period TRs that appear to have evolved after divergence of the species, through active locally occurring independent events that create and delete TRs through a mechanism compatible with DNA slippage (2). The generation of TRs by *Ehrlichia* appears to be a host adaptation mechanism. The TRs of different *Ehrlichia* species have no phylogenetic relationships, indicating that duplication occurred after diversification of the repeat-encoding DNA (2). However, homology between TRs and other functional protein domains and motifs of eukaryotic origin have been reported (14). Immunoelectron microscopy has identified these TRPs extracellularly, associated with the morular fibrillar matrix and the morula membrane (1,8,13).

*Ehrlichia* have a small subset of proteins that contain Anks and are among only a few prokaryotes that are known to have proteins with Ank domains. In eukaryotes, the ankyrin repeat (Ank) is a ubiquitous motif that mediates protein-protein interactions. Ank domains may occur in combinations with other types

of domains and cooperatively fold into structures that mediate molecular recognition via protein-protein interactions. The most extensively studied Ank protein in *E. chaffeensis* is a 200 kDa protein (Ank200) that has a central domain that contains 19 Ank repeats flanked by acidic (pI 4 to 5) C- and N-terminal domains with a predominance of glutamate and aspartate residues (7). In addition, like the TRPs, the *E. canis* and *E. chaffeensis* Ank200s have a high proportion of polar amino acids, including serine and threonine (7,12).

### ***Ehrlichia* TRP interactions with host proteins**

We have recently examined molecular interactions between *E. chaffeensis* TRP47 and the host and identified multiple interactions with specific host cell targets including polycomb group ring finger 5 (PCGF5), Src protein tyrosine kinase Fyn, protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2 (PTPN2), adenylate cyclase-associated protein 1 (CAP1), and immunoglobulin lambda-like polypeptide 1 (IGLL1) with distinct cellular functions associated with signaling, transcriptional regulation, vesicle trafficking, and cellular proliferation and differentiation (14).

The interactions between TRP47 and the host cell illustrate the complexity and diversity of pathogen-host interactions that occur. Although the relevance of these ehrlichiae-host molecular interactions in the context of ehrlichial pathobiology remains to be determined, the host targets identified suggest that TRP47 is a multifunctional effector that plays an important role in establishing bacterial infection and promoting intracellular survival.

In more recent work, we determined that the *E. chaffeensis* TRP120 interacts with a large and diverse group of host cell proteins associated with major biological process themes including transcriptional regulation, post-translational protein modification, and actin cytoskeleton organization and biogenesis. Target proteins with the highest frequency of interaction with TRP120 were the human immunoglobulin lambda locus (IGL), cytochrome c oxidase subunit II (COX2), Golgi-associated gamma adaptin ear-containing ARF binding protein 1 (GGA1), polycomb group ring finger 5 (PCGF5), actin gamma 1 (ACTG1), and unc-13 homolog D (*C. elegans*; UNC13D). The TR domain of TRP120 interacted only with PCGF5, indicating that distinct TRP120 domains contribute to specific pathogen-host interactions and other protein domains are required.

### ***Ehrlichia* TRP and Ank interactions with host chromatin**

Nuclear effector proteins have been identified in several intracellular human bacterial pathogens including *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Shigella* and *Yersinia*. It is well documented that *E. chaffeensis* significantly alters the transcriptional levels of approximately 5% of host genes within 24 hours of infection (16). Genes that are modulated include those coding for apoptosis inhibitors, regulation of cell cycle and differentiation, signal transduction, proinflammatory cytokines, biosynthetic and metabolic proteins, and membrane trafficking proteins.

We have recently determined that the *E. chaffeensis* TRP120 and Ank200 interact with the host cell chromatin through distinct DNA motifs, targeting many host cell genes. We have determined the *E. chaffeensis* TRP120 directly binds a defined host cell DNA motif through a novel tandem repeat DNA binding domain that has never been described previously in a human pathogen. Using a direct DNA sequencing approach, we found that TRP120 has a large number of binding sites throughout the genome, but binds strongly to a defined group of host cell process genes involved in transcriptional regulation, protein modification, signaling, and apoptosis. TRP120 directly activated host cell target genes, supporting the conclusion that *E. chaffeensis* TRP120 acts as transcriptional activator of eukaryotic host genes.

These new findings have broad implications related to prokaryotic-eukaryotic interactions that include mechanisms of transcriptional modulation of the host cell, the characteristics of bacterial effector proteins, structure and function of prokaryote DNA binding proteins, functional and non functional eukaryote *cis*-regulatory code, and alternative mechanisms for immune escape through direct transcriptional regulation of host defense genes by obligately intracellular pathogens.

### **Expression of TRP effectors in tick and mammalian hosts**

Understanding the dynamic changes in pathogen gene and protein expression that occurs in infected hosts is essential to understanding pathobiology and a rational basis for exploring vaccine candidates.

We have examined *Ehrlichia* gene transcription in mammalian and tick hosts because of our lack of information regarding *E. chaffeensis* gene expression, and understanding of the genes essential for ehrlichial adaptation to mammalian and arthropod hosts. We have determined that the expression of many *E. chaffeensis* genes is influenced by the host environment. In addition, we examined *E. chaffeensis* gene expression in tick cells representing the established vector and another common tick that is not the vector of *E. chaffeensis*.

Significant differences in *E. chaffeensis* gene expression were not observed between the two tick cells, and in the arthropod and mammalian hosts, similar expression patterns were observed in *E. chaffeensis* genes involved in metabolic and cellular processes. However, differentially expressed genes were primarily hypothetical genes, translation and post-translational modification genes. Notably, the some TRPs were strongly upregulated in the mammalian host, including TRP47, which had the highest expression levels of any ehrlichial gene.

Characterization and understanding of differentially expressed genes will lead to the identification of virulence factors essential for infection and transmission of the pathogen from the arthropod vector to the mammalian host and development of effective vaccines.

## References

1. Doyle CK, Nethery KA, Popov VL, McBride JW. Differentially expressed and secreted major immunoreactive protein orthologs of *Ehrlichia canis* and *E. chaffeensis* elicit early antibody responses to epitopes on glycosylated tandem repeats. *Infect Immun.* 2006;74:711-20.
2. Frutos R, Viari A, Vachier N, Boyer F, Martinez D. *Ehrlichia ruminantium*: genomic and evolutionary features. *Trends Parasitol.* 2007;23:414-9.
3. Gravkamp C, Horensky DS, Michel JL, Madoff LC. Variation in repeat number within the alpha C protein of group B streptococci alters antigenicity and protective epitopes. *Infect Immun.* 1996;64:3576-83.
4. Jewett T J, Fischer ER, Mead DJ, Hackstadt T. Chlamydial TARP is a bacterial nucleator of actin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:15599-604.
5. Kumagai Y, Matsuo J, Hayakawa Y, Rikihisa Y. Cyclic di-GMP signaling regulates invasion of *Ehrlichia chaffeensis* into human monocytes. *J Bacteriol.* 2010;192:4122-33.
6. Luo T, Zhang X, McBride JW. Major species-specific antibody epitopes of the *Ehrlichia chaffeensis* p120 and *E. canis* p140 orthologs in surface-exposed tandem repeat regions. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:982-90.
7. Luo T, Zhang X, Nicholson WL, Zhu B, McBride JW. Molecular characterization of antibody epitopes of *Ehrlichia chaffeensis* ankyrin protein 200 and tandem repeat protein 47 and evaluation of synthetic immunodeterminants for serodiagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17:87-97.
8. Luo T, Zhang X, Wakeel A, Popov VL, McBride JW. A variable-length PCR target protein of *Ehrlichia chaffeensis* contains major species-specific antibody epitopes in acidic serine-rich tandem repeats. *Infect Immun.* 2008;76:1572-80.
9. Mavromatis K, Doyle CK, Lykidis A, Ivanova N, Francino MP, Chain P, et al. The genome of the obligately intracellular bacterium *Ehrlichia canis* reveals themes of complex membrane structure and immune evasion strategies. *J Bacteriol.* 2006;188:4015-23.
10. McBride JW, Doyle CK, Zhang X, Cardenas AM, Popov VL, Nethery KA, et al. Identification of a glycosylated *Ehrlichia canis* 19-kilodalton major immunoreactive protein with a species-specific serine-rich glycopeptide epitope. *Infect Immun.* 2007;75:74-82.
11. McBride JW, Walker DH. Molecular and cellular pathobiology of *Ehrlichia* infection: targets for new therapeutics and immunomodulation strategies. *Expert Rev Mol Med.* 2011;13:e3.
12. Nethery KA, Doyle CK, Zhang X, McBride JW. *Ehrlichia canis* gp200 contains dominant species-specific antibody epitopes in terminal acidic domains. *Infect Immun.* 2007;75:4900-8.
13. Popov VL, Yu XJ, Walker DH. The 120-kDa outer membrane protein of *Ehrlichia chaffeensis*: preferential expression on dense-core cells and gene expression in *Escherichia coli* associated with attachment and entry. *Microb Path.* 2000;28:71-80.
14. Wakeel A, Kuriakose JA, McBride JW. An *Ehrlichia chaffeensis* tandem repeat protein interacts with multiple host targets involved in cell signaling, transcriptional regulation, and vesicle trafficking. *Infect Immun.* 2009;77:1734-45.
15. Wakeel A, Zhu B, Yu XJ, McBride JW. New insights into molecular *Ehrlichia chaffeensis*-host interactions. *Microbes Infect.* 2010;12:337-45.
16. Zhang JZ, Sinha M, Luxon BA, Yu XJ. Survival strategy of obligately intracellular *Ehrlichia chaffeensis*: novel modulation of immune response and host cell cycles. *Infect Immun.* 2004;72:498-507.

## Estado actual de las rickettsiosis entre las enfermedades hemorrágicas en el sureste de México

Jorge Zavala

Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán,  
Mérida, Yucatán, México.

Entre las enfermedades hemorrágicas más importantes que podemos encontrar en el sureste de México, se encuentran la leptospirosis, la toxoplasmosis, las rickettsiosis y, ocupando el primer lugar, el dengue hemorrágico.

Debido a su importancia e impacto en la salud pública y, principalmente, por la necesidad de establecer un diagnóstico diferencial adecuado y oportuno, el dengue hemorrágico y las rickettsiosis son las dos enfermedades de mayor interés en el ámbito médico.

En 1979 se describió el primer caso de dengue en el sureste mexicano y en 1984 se reportó el primer caso de dengue hemorrágico durante una epidemia del virus del dengue serotipo 4 en Yucatán.

Las estadísticas son muy variadas y normalmente se detectan incrementos en el número de enfermos, tanto de dengue clásico como de dengue hemorrágico, llegando a reportarse en el 2010 casi 50-50 % entre ambos. Los incrementos obedecen a los cambios demográficos, cambios climáticos, desastres naturales y a otros factores de riesgo, como han sido las migraciones de poblaciones del campo a las ciudades que se concentraron en áreas semiurbanas, con el establecimiento de viviendas precarias, hacinamiento, deficientes servicios públicos de agua y recolección de basuras, y a factores culturales y de usos y costumbres que muchas veces incrementan el riesgo de transmisión de la enfermedad.

Hasta principios de los años 90, los datos recabados año tras año crearon la idea de que el dengue hemorrágico causaba el 100 % de los casos de fiebres hemorrágicas en el sureste mexicano, a pesar de que algunos pacientes no presentaban anticuerpos contra el virus y arrojaban resultados negativos en las pruebas diagnósticas.

Algunos historiadores consideran que la historia de las rickettsiosis en México se remonta hasta tiempos antes de la Conquista, refiriéndose al tifo exantemático causado por *R. prowasekii*, aunque esta enfermedad cobró más fuerza y fue documentada durante la Conquista y la época colonial. Más adelante, en el México posterior a la revolución, se describió la presencia del tifo "murino" causado por *R. typhi*, y la fiebre de las Montañas Rocallosas en el norte y centro de México.

La historia de las rickettsiosis en el sureste mexicano y su relación con el dengue hemorrágico comienzan en 1996, cuando se describió el 40 % de seropositividad a *Rickettsia* del grupo de las fiebres manchadas, en pacientes con diagnóstico clínico de dengue, pero con serología negativa para el virus, y se consolida en 1999, cuando se reportó 5,6 % casos positivos para *Rickettsia* en una encuesta serológica en población abierta.

En el 2000 se confirmaron los primeros casos humanos por rickettsiosis causada por *R. felis* en Yucatán y en el 2006 se estrechó la relación con el dengue, cuando se reportó el primer caso fatal causado por *R. rickettsii* en un paciente con un síndrome hemorrágico y con diagnóstico de dengue.

A partir de ese momento, la vigilancia epidemiológica de los casos de fiebres hemorrágicas causadas por *Rickettsia*, permitió la detección de nuevos casos humanos e indicó un riesgo para la salud pública de la región sureste, y se amplió la amenaza con la aparición por primera vez de casos humanos de tifo "murino" e infecciones causadas por *R. akari*.

Es importante señalar que se pueden presentar condiciones patológicas atípicas en pacientes con especies de *Rickettsia* que no presentan la sintomatología clásica de fiebre hemorrágica. En pacientes infectados por *R. felis* se ha descrito de forma frecuente un compromiso pulmonar que asemeja infiltrados neumónicos, e incluso hemorrágicos, y se han presentado casos con un compromiso hepático importante que nos hace pensar en la necesidad de establecer diagnóstico diferencial, en áreas endémicas de rickettsiosis, con varias enfermedades como la hepatitis y el síndrome pulmonar hemorrágico, el cual presenta una causalidad variada.

A 15 años del primer reporte de la existencia de infección por *Rickettsia* en el sureste mexicano, podemos considerar que ocupa el segundo lugar entre las enfermedades hemorrágicas después del dengue; sin embargo, el diagnóstico diferencial oportuno y adecuado con esta enfermedad viral es de vital importancia para evitar desenlaces fatales, sobre todo en la población infantil. Asimismo, es indispensable establecer parámetros de vigilancia epidemiológica que nos permitan detectar condiciones atípicas de la enfermedad que puedan confundirse con otras enfermedades virales y bacterianas, como la hepatitis, el síndrome neumónico y el síndrome pulmonar hemorrágico y, por ende, evitar casos fatales por la falta de un tratamiento oportuno y adecuado.



## **Respuesta inmunitaria contra las rickettsias y el desarrollo de vacunas**

Gustavo Valbuena

Department of Pathology, The University of Texas Medical Branch, Galveston, TX USA

*Rickettsia* es un género de la familia Rickettsiaceae con múltiples especies patógenas para humanos y animales que comparten tres factores importantes con implicaciones en la patogénesis y respuesta inmunológica:

- 1) son transmitidas por vectores artrópodos;
- 2) son bacterias intracelulares obligadas que viven en el citoplasma celular, y
- 3) las principales células blanco son las células endoteliales que recubren el interior de los vasos sanguíneos y linfáticos.

La única excepción es *Rickettsia akari*, el agente etiológico de rickettsialpox, que infecta principalmente monocitos y macrófagos.

Estos tres factores son muy importantes por las siguientes razones:

- 1) la saliva de los vectores puede modificar la respuesta inmunológica del huésped;
- 2) el nicho citoplásico requiere un tipo especial de respuesta inmunológica, y
- 3) las células blanco son células muy importantes que regulan múltiples sistemas y funciones, incluyendo angiogénesis, hemostasis, permeabilidad, tono vascular y respuesta inflamatoria (1-3).

Sin embargo, en la actualidad sabemos muy poco sobre las implicaciones de esos tres factores en la patogénesis de las rickettsiosis y en la respuesta inmunitaria contra las rickettsias. Lo poco que sabemos al respecto se basa principalmente en inferencias sugeridas por otros modelos. Por ejemplo, el papel que juegan los factores que son inoculados por el vector en forma simultánea con las rickettsias durante la transmisión, no se ha investigado. Se piensa que este aspecto es muy importante porque existe información científica de garrapatas *Ixodes* (las cuales no transmiten rickettsias en las Américas) que demuestra que la respuesta inmunitaria contra microbios, como *Borrelia*, es modificada por componentes de la saliva de la garrapata transmisora (4-7).

La localización de las rickettsias en el citoplasma de las células endoteliales es otro factor determinante crítico de la patogénesis de las rickettsiosis, porque implica que todos los órganos del cuerpo están comprometidos. Por lo tanto, estas son verdaderas infecciones sistémicas. Es posible que se establezcan nuevos focos de infección vascular a partir de células endoteliales infectadas que se desprenden y obstruyen los capilares por la formación de embolias en otras áreas que están corriente abajo en la circulación (8,9). Este carácter sistémico de las infecciones causadas por rickettsias explica, al menos en parte, la razón por la cual estas enfermedades pueden ser muy serias, independientemente de la edad del individuo o del estado y la suficiencia de su sistema inmunitario (10-14).

Las manifestaciones más graves, aquellas que causan la mayor mortalidad, son la consecuencia del daño del endotelio pulmonar y cerebral. Dichas manifestaciones incluyen edema pulmonar, neumonía

intersticial, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, meningoencefalitis, convulsiones y coma (15-19).

A pesar de compartir mecanismos de patogénesis similares, no todas las rickettsiosis tienen la misma seriedad. Este hecho puede explicarse por la participación e interacción de otros factores, que incluyen diferencias en la virulencia de las especies de *Rickettsia* y diferencias dependientes del vector: diferentes especies y diferentes estadios de desarrollo pueden determinar diferentes resultados.

### **La respuesta inmunitaria contra rickettsias**

Varios artículos recientes han resumido la literatura científica más relevante al respecto (20,21). El desarrollo de la respuesta inmunitaria adaptativa (anticuerpos y linfocitos T específicos para antígenos de rickettsias) es determinado, condicionado y modificado por los mecanismos de inmunidad innata activados durante la fase temprana de la infección. Y es aquí donde los componentes de la saliva del vector pudieran jugar un papel muy importante. Este punto es particularmente relevante para las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas, puesto que todas son transmitidas por garrapatas, principalmente de los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor* y *Rhipicephalus*. Debido a que estos artrópodos se alimentan por varios días, su saliva debe tener elementos anticoagulantes e inmunomoduladores para poder completar su alimentación en forma exitosa (6,22).

En este momento no conocemos la identidad de las células que son infectadas justo después de la inoculación. Algunas rickettsias del grupo de las fiebres manchadas producen una escara (área de necrosis e inflamación) después de proliferar en el sitio de inoculación (23). Las rickettsias que hacen esto también tienden a causar linfadenitis local y esto sugiere que la vía de propagación inicial es a través de los vasos linfáticos. Además, las fiebres manchadas que se manifiestan de esta forma son menos graves. Esto contrasta con el hecho de que la fiebre manchada de las Montañas Rocosas o fiebre de Tobia (causada por *R. rickettsii*) es una enfermedad muy grave, sin escara o linfadenopatía local. Una hipótesis que necesita ser probada experimentalmente es que la infección por *R. rickettsii* es más grave porque se disemina en forma hematógena más rápidamente que las rickettsiosis que se diseminan inicialmente por vía linfática.

Uno de los problemas en el estudio de los sucesos tempranos que ocurren durante la inoculación, es que los modelos animales actuales usan inyección directa de rickettsias propagadas en cultivo celular o de huevos (24,25). Aunque los datos obtenidos a partir de ratones inoculados con rickettsias son interesantes y, probablemente, válidos, es importante analizarlos a la luz de dos consideraciones importantes. La primera es que el estado fisiológico de rickettsias cultivadas en células o huevos es probablemente diferente del de rickettsias presentes dentro del vector artrópodo; por lo menos, es claro que es diferente cuando se comparan rickettsias en cultivo celular con rickettsias en tejidos de huéspedes infectados (26). Además, se sabe que las rickettsias transmitidas por garrapatas están en un estado inactivo y sólo se reactivan cuando la garrapata comienza su alimentación. La segunda es que los factores inmunomoduladores de la saliva no contribuyen a la patogénesis de los modelos de ratón. Este aspecto puede tener impacto incluso en el desarrollo de vacunas; por ejemplo, hay vacunas que proveen protección adecuada en el contexto de la inoculación directa del patógeno, pero no en el contexto de transmisión mediada por un vector artrópodo (27).

Lo que sabemos de la respuesta inmunitaria contra las rickettsias a partir de modelos animales, es lo siguiente:

- 1) las células asesinas naturales (NK) se activan tempranamente y producen IFN- $\gamma$  (28,29). Esta citocina es importante porque puede activar las funciones bactericidas del endotelio vascular (30,31).
- 2) La inmunidad celular de tipo Th1 es crítica en una respuesta inmunitaria adecuada (32,33). Los linfocitos T CD8+ con función citolítica son particularmente importantes (34,35). Sin embargo, su regulación es igualmente importante dado que la citólisis de células endoteliales es potencialmente muy peligrosa. Esto se debe a que estas células normalmente previenen la activación de la coagulación y regulan el equilibrio hídrico entre el compartimento intravascular y el compartimento extravascular. La muerte indiscriminada de las células endoteliales podría causar edema y trombosis graves. Puesto que el

edema y la trombosis son parte de la historia natural de las rickettsiosis, una pregunta que debe ser investigada es si parte de las manifestaciones clínicas podrían ser el resultado de daño inmunitario.

- 3) Los linfocitos T reguladores podrían participar en el desarrollo de las formas más graves de las rickettsiosis mediante la producción de IL-10 (36). 4) Las células dendríticas son importantes en la inducción de una respuesta inmunitaria adecuada (37,38).

### **El endotelio en la respuesta inmunitaria contra rickettsias**

La mayoría del conocimiento actual sobre el papel del endotelio en las rickettsiosis se deriva de estudios *in vitro* (39). Dichos estudios demuestran que la infección del endotelio por rickettsias estimula la producción de citocinas y quimiocinas como IL-1 $\alpha$ , IL-6 y CXCL8 (40,41), y la expresión de moléculas de adhesión como E-selectina, VCAM-1, ICAM-1 (42-44) y  $\alpha$ V $\beta$ 3 integrina (45). El factor de transcripción NF- $\kappa$ B parece ser el centro de estas respuestas (46-48), aunque otros mediadores, como STAT1 y STAT3, también participan (49).

Es importante aclarar y enfatizar que aún no sabemos si la respuesta del endotelio a la infección por rickettsias *in vitro* es un buen modelo de la respuesta del endotelio *in vivo*. La mayor parte de los datos se derivan de información obtenida con líneas celulares o células endoteliales primarias derivadas de la vena de cordones umbilicales, ambas cultivadas en condiciones estáticas. El problema es que existe suficiente información que demuestra cuán diferentes son las células endoteliales cultivadas *in vitro* en comparación con sus equivalentes *in vivo*. Estas diferencias se deben a la regulación del fenotipo endotelial ejercida por el microambiente tisular (50-54) y el flujo constante de la sangre (55-57). Además, muchas diferencias se deben a la gran heterogeneidad del endotelio en las diferentes áreas anatómicas del sistema vascular (58-60). Estas diferencias son consecuencia de especializaciones estructurales y funcionales del endotelio para cumplir sus funciones de homeostasis en cada órgano (1,3,61-65). Cuando el endotelio se cultiva *in vitro*, particularmente en condiciones estáticas, estas células pierden muchas características de su fenotipo nativo. Por ejemplo, el flujo de sangre normalmente estimula la manifestación de un fenotipo antiinflamatorio en las células endoteliales (57,66,67). Esta condición se pierde durante el cultivo *in vitro*, al igual que el glucocálix normalmente presente en la superficie (68-70).

El estudio de las rickettsiosis ofrece la oportunidad de explorar interacciones dependientes del antígeno entre linfocitos T y células endoteliales. Ésta es un área que no ha sido investigada en profundidad y que se ha abordado principalmente desde la perspectiva de modelos de transplantes de órganos (71-73).

Hay dos características del endotelio que sugieren una función importante en la presentación antigénica (63,71). Una es que el endotelio de la microcirculación (arteriolas, capilares y vénulas) tienen contactos cercanos y frecuentes con los linfocitos T que normalmente están circulando. La otra es que, en humanos, las células endoteliales normalmente expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II. Además de la capacidad de presentar antígeno a linfocitos T, incluso mediante el mecanismo de presentación cruzada (74), el endotelio tiene receptores de la inmunidad innata por los cuales puede responder a patógenos invasivos (75). Por lo tanto, los ricketsiólogos debemos considerar a las células endoteliales como un miembro más del sistema inmunitario.

### **Vacunas**

Actualmente no existen vacunas comercialmente disponibles contra las rickettsias. Varias vacunas fueron desarrolladas en el siglo pasado, pero todas tenían problemas de producción, seguridad, y eficacia (76-81). Más recientemente, varios investigadores han trabajado en la producción de una vacuna consistente de subunidades basados en la demostración de que dos proteínas de membrana, OmpA (82,83) y OmpB (84,85), pueden estimular respuestas inmunitarias protectoras en el modelo de ratón. Un problema es que el ímpetu para esta investigación fue el hecho de que estas dos proteínas estimulan la inmunidad mediada por anticuerpos (inmunidad humoral). Debido a que la inmunidad mediada por linfocitos T (inmunidad celular) es muy importante en la respuesta inmunitaria natural contra rickettsias y a que sabemos que antígenos reconocidos por anticuerpos, linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ tienden a ser diferentes (86), es muy importante identificar antígenos relevantes para cada una de las ramas del sistema inmunitario y no solamente para una de esas ramas.

Existen pruebas de que la respuesta inmunitaria contra las rickettsias mediada por linfocitos T tiene reactividad cruzada; es decir que una especie de *Rickettsia* puede estimular una respuesta protectora contra una especie diferente de *Rickettsia*, incluso entre rickettsias pertenecientes a diferentes grupos (87-91). Inicialmente, este hallazgo fue sorpresivo puesto que la respuesta inmunitaria humoral no tiene reactividad cruzada importante y fue una de las bases para separar las rickettsias en grupos del tifo y fiebres manchadas (92). A la luz de la información genómica con la que actualmente contamos para varias rickettsias, esta reactividad y protección cruzadas no son tan sorpresivas. Esto se debe al gran nivel de conservación en la secuencia del ADN (93-97). Toda esta información sugiere que la producción de una vacuna universal contra todas o la mayoría de rickettsias es posible.

Los dos elementos esenciales en el desarrollo de una nueva vacuna son la identificación de antígenos relevantes y la definición de indicadores inmunitarios de protección para guiar la selección de antígenos, vehículos, vectores, adyuvantes y la frecuencia de nueva estimulación. En cuanto a los indicadores inmunitarios de protección, es importante anotar que los linfocitos T multifuncionales están demostrando ser uno de los mejores factores predictores (98-103).

Por otro lado, las nuevas tecnologías de la biología de sistemas, como la proteómica, la genómica y otras "ómicas" (104), están permitiendo que podamos analizar dichos indicadores de respuestas inmunitarias protectoras desde una perspectiva que refleja la complejidad fisiológica del sistema inmunitario. Debido a que la obtención de muestras de personas con rickettsiosis es difícil, el estudio de la respuesta a las dos vacunas más exitosas en la historia de las vacunas, fiebre amarilla (103,105) y sarampión (102), podría proveer suficientes paradigmas para guiar el proceso del descubrimiento y creación de una vacuna efectiva universal contra las rickettsias.

En cuanto al descubrimiento de antígenos, este aspecto es particularmente complicado para aquellos antígenos reconocidos por los linfocitos T, debido a la necesidad de sistemas de tamización que involucren células presentadoras y linfocitos T que sean histocompatibles. La mayor parte del descubrimiento de antígenos hecho hasta ahora en el campo de las vacunas, ha estado sesgado hacia la respuesta humoral debido a la facilidad técnica de hacer las tamizaciones. Aunque los anticuerpos son protectores en muchos casos, incluyendo las rickettsiosis, la respuesta inmunitaria fisiológica siempre incluye todas las ramas del sistema inmunitario adaptativo. Por lo tanto, el mejor sistema consiste en el desarrollo de estrategias paralelas para el descubrimiento de antígenos reconocidos por cada una de las ramas del sistema inmunitario adaptativo. Una mejor vacuna probablemente deba incluir los mejores antígenos reconocidos por cada componente del sistema inmunitario adaptativo.

Gracias a la actual disponibilidad de secuencias completas de los genomas de varias rickettsias (14, en este momento), es posible investigar la antigenicidad de cada gen desde la perspectiva de linfocitos B (anticuerpos), linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. Los genes de rickettsia pueden ser producidos como productos de PCR o en forma sintética. Esta última estrategia tiene la ventaja de que la secuencia puede ser optimizada para su mejor expresión (106,107). Una vez los genes estén clonados en un plásmido, es posible transferirlos a vectores de expresión en eucariotes con modificaciones que favorezcan la presentación antigenica mediante moléculas de clase I (para linfocitos T CD8+) o clase II (para linfocitos T CD4+) del complejo mayor de histocompatibilidad, o directamente a anticuerpos. Para la tamización de la respuesta de linfocitos T, dichos vectores deben ser transferidos y expresados en células presentadoras de antígeno que sean histocompatibles con los linfocitos T. La activación de linfocitos anti-*Rickettsia* de memoria puede, entonces, usarse para identificar antígenos candidatos.

El propósito de esta estrategia es la producción de una vacuna de subunidades. Sin embargo, otra alternativa que seguramente puede funcionar es la de una vacuna con rickettsias atenuadas. De hecho, la cepa Madrid E de *R. prowazekii* fue usada como una vacuna efectiva en el pasado. El problema fue que revertía fácilmente a un fenotipo virulento. El cambio genético que explica el fenotipo de atenuación fue recientemente identificado como una mutación puntual en el gen de una metiltransferasa (108). Por lo tanto, la delección del gen completo permitiría la producción de una vacuna atenuada más segura. Esto será posible una vez las técnicas de manipulación genética para rickettsias sean desarrolladas a un punto en que funcionen en forma constante.

## Referencias

1. Michiels C. Endothelial cell functions. *J Cell Physiol.* 2003;196:430-43.
2. Danese S, Dejana E, Fiocchi C. Immune regulation by microvascular endothelial cells: Directing innate and adaptive immunity, coagulation, and inflammation. *J Immunol.* 2007;178:6017-22.
3. Pober JS, Min W, Bradley JR. Mechanisms of endothelial dysfunction, injury, and death. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:71-95.
4. Wikle SK. Tick modulation of host immunity: An important factor in pathogen transmission. *Int J Parasitol.* 1999;29:851-9.
5. Brossard M, Wikle SK. Tick immunobiology. *Parasitology.* 2004;129(Suppl.):S161-76.
6. Francischetti IM, Sa-Nunes A, Mans BJ, Santos IM, Ribeiro JM. The role of saliva in tick feeding. *Front Biosci.* 2009;14:2051-88.
7. Socolovschi C, Mediannikov O, Raoult D, Parola P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and ixodid ticks. *Vet Res.* 2009;40:34.
8. George F, Brouqui P, Boffa MC, Mutin M, Drancourt M, Brisson C, et al. Demonstration of *Rickettsia conorii*-induced endothelial injury *in vivo* by measuring circulating endothelial cells, thrombomodulin, and von Willebrand factor in patients with Mediterranean spotted fever. *Blood.* 1993;82:2109-16.
9. La Scola B, Raoult D. Diagnosis of Mediterranean spotted fever by cultivation of *Rickettsia conorii* from blood and skin samples using the centrifugation-shell vial technique and by detection of *R. conorii* in circulating endothelial cells: A 6-year follow-up. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2722-7.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Fatal cases of Rocky Mountain spotted fever in family clusters--three states, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004;53:407-10.
11. Paddock CD, Greer PW, Ferebee TL, Singleton J, McKechnie DB, Treadwell TA, et al. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: Immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. *J Infect Dis.* 1999;179:1469-76.
12. Paddock CD, Holman RC, Krebs JW, Childs JE. Assessing the magnitude of fatal Rocky Mountain spotted fever in the United States: Comparison of two national data sources. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:349-54.
13. Lee N, Ip M, Wong B, Lui G, Tsang OT, Lai JY, et al. Risk factors associated with life-threatening rickettsial infections. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78:973-8.
14. Lee CS, Hwang JH, Lee HB, Kwon KS. Risk factors leading to fatal outcome in scrub typhus patients. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:484-8.
15. Walker DH, Valbuena GA, Olano JP. Pathogenic mechanisms of diseases caused by *Rickettsia*. *Ann NY Acad Sci.* 2003;990:1-11.
16. Rizzo M, Mansueto P, Di Lorenzo G, Morselli S, Mansueto S, Rini GB. Rickettsial disease: Classical and modern aspects. *New Microbiol.* 2004;27:87-103.
17. Bechah Y, Capo C, Mege JL, Raoult D. Epidemic typhus. *Lancet Infect Dis.* 2008;8:417-26.
18. Chen LF, Sexton DJ. What's new in Rocky Mountain spotted fever? *Infect Dis Clin North Am.* 2008;22:415-32.
19. Demeester R, Claus M, Hildebrand M, Vlieghe E, Bottieau E. Diversity of life-threatening complications due to Mediterranean spotted fever in returning travelers. *J Travel Med.* 2010;17:100-4.
20. Walker DH, Ismail N. Emerging and re-emerging rickettsioses: Endothelial cell infection and early disease events. *Nat Rev Microbiol.* 2008;6:375-86.
21. Valbuena G, Feng HM, Walker DH. Mechanisms of immunity against rickettsiae. New perspectives and opportunities offered by unusual intracellular parasites. *Microbes Infect.* 2002;4:625-33.
22. Reck J, Berger M, Marks FS, Zingali RB, Canal CW, Ferreira CA, et al. Pharmacological action of tick saliva upon haemostasis and the neutralization ability of sera from repeatedly infested hosts. *Parasitology.* 2009;136:1339-49.
23. Walker DH, Occhino C, Tringali GR, Di Rosa S, Mansueto S. Pathogenesis of rickettsial eschars: The tache noire of boutonneuse fever. *Hum Pathol.* 1988;19:1449-54.
24. Walker DH, Popov VL, Feng HM. Establishment of a novel endothelial target mouse model of a typhus group rickettsiosis: Evidence for critical roles for gamma interferon and CD8 T lymphocytes. *Lab Invest.* 2000;80:1361-72.
25. La MV, François P, Rovery C, Robineau S, Barbuy P, Schrenzel J, et al. Development of a method for recovering rickettsial RNA from infected cells to analyze gene expression profiling of obligate intracellular bacteria. *J Microbiol Methods.* 2007;71:292-7.
26. Renesto P, Rovery C, Schrenzel J, Leroy Q, Huyghe A, Li W, et al. *Rickettsia conorii* transcriptional response within inoculation eschar. *PLoS One.* 2008;3:e3681.

27. Peters NC, Kimblin N, Secundino N, Kamhawi S, Lawyer P, Sacks DL. Vector transmission of leishmania abrogates vaccine-induced protective immunity. *PLoS Pathog.* 2009;5:e1000484.
28. Billings AN, Feng HM, Olano JP, Walker DH. Rickettsial infection in murine models activates an early anti-rickettsial effect mediated by NK cells and associated with production of gamma interferon. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65:52-6.
29. Jordan JM, Woods ME, Soong L, Walker DH. Rickettsiae stimulate dendritic cells through toll-like receptor 4, leading to enhanced NK cell activation *in vivo*. *J Infect Dis.* 2009;199:236-42.
30. Feng HM, Popov VL, Walker DH. Depletion of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha in mice with *Rickettsia conorii*-infected endothelium: Impairment of rickettsicidal nitric oxide production resulting in fatal, overwhelming rickettsial disease. *Infect Immun.* 1994;62:1952-60.
31. Walker DH, Popov VL, Croquet-Valdes PA, Welsh CJ, Feng HM. Cytokine-induced, nitric oxide-dependent, intracellular antirickettsial activity of mouse endothelial cells. *Lab Invest.* 1997;76:129-38.
32. Valbuena G, Jordan JM, Walker DH. T cells mediate cross-protective immunity between spotted fever group rickettsiae and typhus group rickettsiae. *J Infect Dis.* 2004;190:1221-7.
33. Mansueto P, Vitale G, Di Lorenzo G, Arcoleo F, Mansueto S, Cillari E. Immunology of human rickettsial diseases. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2008;22:131-9.
34. Feng H, Popov VL, Yuoh G, Walker DH. Role of T lymphocyte subsets in immunity to spotted fever group Rickettsiae. *J Immunol.* 1997;158:5314-20.
35. Walker DH, Olano JP, Feng HM. Critical role of cytotoxic T lymphocytes in immune clearance of rickettsial infection. *Infect Immun.* 2001;69:1841-6.
36. Fang R, Ismail N, Shelite T, Walker DH. CD4+ CD25+ Foxp3- T-regulatory cells produce both gamma interferon and interleukin-10 during acute severe murine spotted fever rickettsiosis. *Infect Immun.* 2009;77:3838-49.
37. Fang R, Ismail N, Soong L, Popov VL, Whitworth T, Bouyer DH, et al. Differential interaction of dendritic cells with *Rickettsia conorii*: Impact on host susceptibility to murine spotted fever rickettsiosis. *Infect Immun.* 2007;75:3112-23.
38. Jordan JM, Woods ME, Feng HM, Soong L, Walker DH. Rickettsiae-stimulated dendritic cells mediate protection against lethal rickettsial challenge in an animal model of spotted fever rickettsiosis. *J Infect Dis.* 2007;196:629-38.
39. Valbuena G, Walker DH. Infection of the endothelium by members of the order Rickettsiales. *Thromb Haemost.* 2009;102:1071-9.
40. Kaplanski G, Teyssiere N, Farnarier C, Kaplanski S, Lissitzky JC, Durand JM, et al. IL-6 and IL-8 production from cultured human endothelial cells stimulated by infection with *Rickettsia conorii* via a cell-associated IL-1 alpha-dependent pathway. *J Clin Invest.* 1995;96:2839-44.
41. Sporn LA, Marder VJ. Interleukin-1 alpha production during *Rickettsia rickettsii* infection of cultured endothelial cells: Potential role in autocrine cell stimulation. *Infect Immun.* 1996;64:1609-13.
42. Sporn LA, Lawrence SO, Silverman DJ, Marder VJ. E-selectin-dependent neutrophil adhesion to *Rickettsia rickettsii*-infected endothelial cells. *Blood.* 1993;81:2406-12.
43. Dignat-George F, Teyssiere N, Mutin M, Bardin N, Lesaule G, Raoult D, et al. *Rickettsia conorii* infection enhances vascular cell adhesion molecule-1- and intercellular adhesion molecule-1-dependent mononuclear cell adherence to endothelial cells. *J Infect Dis.* 1997;175:1142-52.
44. Damås JK, Davi G, Jensenius M, Santilli F, Otterdal K, Ueland T, et al. Relative chemokine and adhesion molecule expression in Mediterranean spotted fever and African tick bite fever. *J Infect.* 2009;58:68-75.
45. Bechah Y, Capo C, Grau G, Raoult D, Mege JL. *Rickettsia prowazekii* infection of endothelial cells increases leukocyte adhesion through alphavbeta3 integrin engagement. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15 Suppl 2:249-50.
46. Sahni SK, van Antwerp DJ, Eremeeva ME, Silverman DJ, Marder VJ, Sporn LA. Proteasome-independent activation of nuclear factor kappaB in cytoplasmic extracts from human endothelial cells by *Rickettsia rickettsii*. *Infect Immun.* 1998;66:1827-33.
47. Sahni SK, Rydkina E, Joshi SG, Sporn LA, Silverman DJ. Interactions of *Rickettsia rickettsii* with endothelial nuclear factor-kappaB in a "cell-free" system. *Ann NY Acad Sci.* 2003;990:635-41.
48. Sporn LA, Sahni SK, Lerner NB, Marder VJ, Silverman DJ, Turpin LC, et al. *Rickettsia rickettsii* infection of cultured human endothelial cells induces NF-kappaB activation. *Infect Immun.* 1997;65:2786-91.
49. Sahni SK, Kiriakidi S, Colonne MP, Sahni A, ad Silverman DJ. Selective activation of signal transducer and activator of transcription (STAT) proteins STAT1 and STAT3 in human endothelial cells infected with *Rickettsia rickettsii*. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(Suppl.2):303-4.
50. Durr E, Yu J, Krasinska KM, Carver LA, Yates JR, Testa JE, et al. Direct proteomic mapping of the lung microvascular endothelial cell surface *in vivo* and in cell culture. *Nat Biotechnol.* 2004;22:985-92.

51. Lacorre DA, Baekkevold ES, Garrido I, Brandtzaeg P, Haraldsen G, Amalric F, et al. Plasticity of endothelial cells: Rapid dedifferentiation of freshly isolated high endothelial venule endothelial cells outside the lymphoid tissue microenvironment. *Blood*. 2004;103:4164-72.
52. Roy S, Patel D, Khanna S, Gordillo GM, Biswas S, Friedman A, et al. Transcriptome-wide analysis of blood vessels laser captured from human skin and chronic wound-edge tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:14472-7.
53. Amatschek S, Kriehuber E, Bauer W, Reininger B, Meraner P, Wolpl A, et al. Blood and lymphatic endothelial cell-specific differentiation programs are stringently controlled by the tissue environment. *Blood*. 2007;109:4777-85.
54. Calabria AR, Shusta EV. A genomic comparison of *in vivo* and *in vitro* brain microvascular endothelial cells. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28:135-48.
55. Dai G, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S, Zhang Y, Vaughn S, Blackman BR, et al. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:14871-6.
56. Gaucher C, Devaux C, Boura C, Lacolley P, Stoltz JF, Menu P. *In vitro* impact of physiological shear stress on endothelial cells gene expression profile. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2007;37:99-107.
57. Liu Y, Zhang Y, Schmelzer K, Lee TS, Fang X, Zhu Y, et al. The antiinflammatory effect of laminar flow: The role of PPARgamma, epoxyeicosatrienoic acids, and soluble epoxide hydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:16747-52.
58. Davies PF. Endothelial transcriptome profiles *in vivo* in complex arterial flow fields. *Ann Biomed Eng*. 2008;36:563-70.
59. Murphy TJ, Thurston G, Ezaki T, McDonald DM. Endothelial cell heterogeneity in venules of mouse airways induced by polarized inflammatory stimulus. *Am J Pathol*. 1999;155:93-103.
60. St Croix B, Rago C, Velculescu V, Traverso G, Romans KE, Montgomery E, et al. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science*. 2000;289:1197-202.
61. Aird WC. Spatial and temporal dynamics of the endothelium. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1392-406.
62. Wagner DD, Frenette PS. The vessel wall and its interactions. *Blood*. 2008;111:5271-81.
63. Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:803-15.
64. Rao RM, Yang L, Garcia-Cardenas G, Luscinskas FW. Endothelial-dependent mechanisms of leukocyte recruitment to the vascular wall. *Circ Res*. 2007;101:234-47.
65. Komarova Y, Malik AB. Regulation of endothelial permeability via paracellular and transcellular transport pathways. *Annu Rev Physiol*. 2010;72:463-93.
66. Tsai YC, Hsieh HJ, Liao F, Ni CW, Chao YJ, Hsieh CY, et al. Laminar flow attenuates interferon-induced inflammatory responses in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 2007;74:497-505.
67. Di Francesco L, Totani L, Dovizio M, Piccoli A, Di Francesco A, Salvatore T, et al. Induction of prostacyclin by steady laminar shear stress suppresses tumor necrosis factor-alpha biosynthesis via heme oxygenase-1 in human endothelial cells. *Circ Res*. 2009;104:506-13.
68. Chappell D, Jacob M, Paul O, Rehm M, Welsch U, Stoeckelhuber M, et al. The glycocalyx of the human umbilical vein endothelial cell: An impressive structure *ex vivo* but not in culture. *Circ Res*. 2009;104:1313-7.
69. Potter DR, Jiang J, Damiano ER. The recovery time course of the endothelial cell glycocalyx *in vivo* and its implications *in vitro*. *Circ Res*. 2009;104:1318-25.
70. Potter DR, Damiano ER. The hydrodynamically relevant endothelial cell glycocalyx observed *in vivo* is absent *in vitro*. *Circ Res*. 2008;102:770-6.
71. Choi J, Enis DR, Koh KP, Shiao SL, Pober JS. T lymphocyte-endothelial cell interactions. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:683-709.
72. Valujskikh A, Heeger PS. Emerging roles of endothelial cells in transplant rejection. *Curr Opin Immunol*. 2003;15:493-8.
73. Al-Lamki RS, Bradley JR, Pober JS. Endothelial cells in allograft rejection. *Transplantation*. 2008;86:1340-8.
74. Bagai R, Valujskikh A, Canaday DH, Bailey E, Lalli PN, Harding CV, Heeger PS. Mouse endothelial cells cross-present lymphocyte-derived antigen on class I MHC via a TAP1- and proteasome-dependent pathway. *J Immunol*. 2005;174:7711-5.
75. Opitz B, Hippensiel S, Eitel J, Suttorp N. Extra- and intracellular innate immune recognition in endothelial cells. *Thromb Haemost*. 2007;98:319-26.
76. Balayeva NM, Nikolskaya VN. Analysis of lung culture of *Rickettsia prowazekii* E strain with regard to its capacity of increasing virulence in passages on the lungs of white mice. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1973;17:294-303.
77. Nikolskaya VN, Balayeva NM. Homogeneity of *Rickettsia prowazekii* E strain egg culture as to the capacity to increase virulence in passages on white mouse lungs. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1973;17:505-6.

78. **Mason RA, Wenzel RP, Seligmann EB, Ginn RK.** A reference, inactivated, epidemic typhus vaccine: Clinical trials in man. *J Biol Stand.* 1976;4:217-24.
79. **DuPont HL, Hornick RB, Dawkins AT, Heiner GG, Fabrikant IB, Wisseman CL, et al.** Rocky Mountain spotted fever: A comparative study of the active immunity induced by inactivated and viable pathogenic *Rickettsia rickettsii*. *J Infect Dis.* 1973;128:340-4.
80. **Clements ML, Wisseman CL, Woodward TE, Fiset P, Dumler JS, McNamee W, et al.** Reactogenicity, immunogenicity, and efficacy of a chick embryo cell-derived vaccine for Rocky Mountain spotted fever. *J Infect Dis.* 1983;148:922-30.
81. **Woodward TE.** Rickettsial vaccines with emphasis on epidemic typhus. Initial report of an old vaccine trial. *S Afr Med J.* 1986;16(Suppl.):73-6.
82. **Crocquet-Valdés PA, Díaz-Montero CM, Feng HM, Li H, Barrett AD, Walker DH.** Immunization with a portion of rickettsial outer membrane protein A stimulates protective immunity against spotted fever rickettsiosis. *Vaccine.* 2001;20:979-88.
83. **Sumner JW, Sims KG, Jones DC, Anderson BE.** Protection of guinea-pigs from experimental Rocky Mountain spotted fever by immunization with baculovirus-expressed *Rickettsia rickettsii* rOmpA protein. *Vaccine.* 1995;13:29-35.
84. **Churilla A, Ching WM, Dasch GA, Carl M.** Human T lymphocyte recognition of cyanogen bromide fragments of the surface protein of *Rickettsia typhi*. *Ann N Y Acad Sci.* 1990;590:215-20.
85. **Li Z, Díaz-Montero CM, Valbuena G, Yu XJ, Olano JP, Feng HM, et al.** Identification of CD8 T-lymphocyte epitopes in OmpB of *Rickettsia conorii*. *Infect Immun.* 2003;71:3920-6.
86. **Moutaftsi M, Bui HH, Peters B, Sidney J, Salek-Ardakani S, Oseroff C, et al.** Vaccinia virus-specific CD4+ T cell responses target a set of antigens largely distinct from those targeted by CD8+ T cell responses. *J Immunol.* 2007;178:6814-20.
87. **Feng WC, Waner JL.** Serological cross-reaction and cross-protection in guinea pigs infected with *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia montana*. *Infect Immun.* 1980;28:627-9.
88. **Jerrells TR, Jarboe DL, Eisemann CS.** Cross-reactive lymphocyte responses and protective immunity against other spotted fever group rickettsiae in mice immunized with *Rickettsia conorii*. *Infect Immun.* 1986;51:832-7.
89. **Eisemann CS, Nypaver MJ, Osterman JV.** Susceptibility of inbred mice to rickettsiae of the spotted fever group. *Infect Immun.* 1984;43:143-8.
90. **Gage KL, Jerrells TR.** Demonstration and partial characterization of antigens of *Rickettsia rhipicephali* that induce cross-reactive cellular and humoral immune responses to *Rickettsia rickettsii*. *Infect Immun.* 1992;60:5099-106.
91. **Feng HM, Walker DH.** Cross-protection between distantly related spotted fever group rickettsiae. *Vaccine.* 2003;21:3901-5.
92. **Vishwanath S.** Antigenic relationships among the rickettsiae of the spotted fever and typhus groups. *FEMS Microbiol Lett.* 1991;65:341-4.
93. **Andersson SG, Zomorodipour A, Andersson JO, Sicheritz-Pontén T, Alsmark UC, Podowski RM, et al.** The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature.* 1998;396:133-40.
94. **Ogata H, Audic S, Renesto-Audiffren P, Fournier PE, Barbe V, Samson D, et al.** Mechanisms of evolution in *Rickettsia conorii* and *R. prowazekii*. *Science.* 2001;293:2093-8.
95. **McLeod MP, Qin X, Karpathy SE, Gioia J, Highlander SK, Fox GE, et al.** Complete genome sequence of *Rickettsia typhi* and comparison with sequences of other rickettsiae. *J Bacteriol.* 2004;186:5842-55.
96. **Gillespie JJ, Williams K, Shukla M, Snyder EE, Nordberg EK, Ceraul SM, et al.** *Rickettsia* phylogenomics: Unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PLoS One.* 2008;3:e2018.
97. **Weinert LA, Werren JH, Aebi A, Stone GN, Jiggins FM.** Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. *BMC Biol.* 2009;7:6.
98. **Wu CY, Kirman JR, Rotte MJ, Davey DF, Perfetto SP, Rhee EG, et al.** Distinct lineages of T(H)1 cells have differential capacities for memory cell generation *in vivo*. *Nat Immunol.* 2002;3:852-8.
99. **Darrah PA, Patel DT, De Luca PM, Lindsay RW, Davey DF, Flynn BJ, et al.** Multifunctional TH1 cells define a correlate of vaccine-mediated protection against *Leishmania major*. *Nat Med.* 2007;13:843-50.
100. **Lindenstrøm T, Agger EM, Korsholm KS, Darrah PA, Aagaard C, Seder RA, et al.** Tuberculosis subunit vaccination provides long-term protective immunity characterized by multifunctional CD4 memory T cells. *J Immunol.* 2009;182:8047-55.
101. **Tenzer S, Wee E, Burgevin A, Stewart-Jones G, Friis L, Lamberth K, et al.** Antigen processing influences HIV-specific cytotoxic T lymphocyte immunodominance. *Nat Immunol.* 2009;10:636-46.
102. **Miller JD, van der Most RG, Akondy RS, Glidewell JT, Albott S, Masopust D, et al.** Human effector and memory CD8+ T cell responses to smallpox and yellow fever vaccines. *Immunity.* 2008;28:710-22.
103. **Akondy RS, Monson ND, Miller JD, Edupuganti S, Teuwen D, Wu H, et al.** The yellow fever virus vaccine induces a broad and polyfunctional human memory CD8+ T cell response. *J Immunol.* 2009;183:7919-30.

104. **Rinaudo CD, Telford JL, Rappuoli R, Seib KL.** Vaccinology in the genome era. *J Clin Invest.* 2009;119:2515-25.
105. **Gaucher D, Therrien R, Kettaf N, Angermann BR, Boucher G, Filali-Mouhim A, et al.** Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *J Exp Med.* 2008;205:3119-31.
106. **Ternette N, Tippler B, Uberla K, Grunwald T.** Immunogenicity and efficacy of codon optimized DNA vaccines encoding the F-protein of respiratory syncytial virus. *Vaccine.* 2007;25:7271-9.
107. **Siegismund CS, Hohn O, Kurth R, Norley S.** Enhanced T- and B-cell responses to simian immunodeficiency virus (SIV)agm, SIVmac and human immunodeficiency virus type 1 Gag DNA immunization and identification of novel T-cell epitopes in mice via codon optimization. *J Gen Virol.* 2009;90:2513-8.
108. **Zhang JZ, Hao JF, Walker DH, Yu XJ.** A mutation inactivating the methyltransferase gene in avirulent Madrid E strain of *Rickettsia prowazekii* reverted to wild type in the virulent revertant strain Evir. *Vaccine.* 2006;24:2317-23.



## Conferencias magistrales

### I ENCUENTRO NACIONAL DE FIEBRES HEMORRÁGICAS

#### El dengue: un virus reemergente

Jairo A. Méndez

Coordinador, Grupo de Virología, Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud;  
docente catedrático, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El virus del dengue es un flavivirus transmitido por mosquitos del género *Aedes* y es el responsable de un creciente problema de salud pública que afecta a millones de personas al año en áreas tropicales de todo el mundo; el virus produce un espectro de manifestaciones clínicas en humanos, que varían desde un malestar semejante a la gripe, conocido anteriormente como fiebre de dengue o dengue clásico, hasta una enfermedad grave conocida en el pasado como fiebre hemorrágica de dengue.

**Métodos.** Este trabajo busca actualizar la situación del dengue en un contexto nacional, tanto a nivel virológico como epidemiológico. Asimismo, teniendo en cuenta la variabilidad genética del virus del dengue, se demuestra la circulación de genotipos en nuestro medio, algunos con un potencial elevado para generar las formas más graves de la enfermedad. Las muestras analizadas han sido recolectadas dentro del sistema de vigilancia de la enfermedad, en los programas de salud pública liderados por el Instituto Nacional de Salud.

**Conclusiones.** La caracterización genética de cepas del mismo serotipo se ha convertido en un elemento crítico para llegar a entender claramente los patrones epidémicos de distribución del virus y la responsabilidad de cepas específicas en los casos de dengue hemorrágico, ya que es posible que el aumento en la transmisión del virus por todo el mundo durante los últimos 50 años haya elevado la tasa de evolución del virus, generando genotipos más virulentos. Este proceso evolutivo puede estar ligado a los importantes cambios en la forma clínica de la enfermedad que se han presentado durante los últimos años.



#### Caracterización molecular de la leptospirosis: fundamentos para el diseño de estrategias de estudio en Colombia

Piedad Agudelo-Flórez

Grupo de Investigación Medicina Tropical, Instituto Colombiano de Medicina Tropical,  
Universidad CES, Sabaneta, Colombia

La leptospirosis es reconocida como una enfermedad infecciosa cosmopolita que emerge principalmente en zonas tropicales donde las condiciones de humedad y temperatura favorecen su transmisión. El agente etiológico es un grupo de espiroquetas patógenas pertenecientes al género *Leptospira*.

Estas bacterias se reproducen en los túbulos renales de huéspedes susceptibles y adaptados. Los niveles de adaptación a *Leptospira* spp. oscilan desde rangos altos, en los cuales la bacteria causa infección crónica y asintomática (roedores silvestres y sinantrópicos), pasando por un nivel de adaptación medio, en los cuales la infección se presenta con cuadros crónicos (animales bovinos, equinos, porcinos y caninos) y cuadros agudos potencialmente fatales, en huéspedes susceptibles (seres humanos). Además, la espiroqueta puede sobrevivir por tiempos prolongados en el agua y el suelo alcalinos, y ser fuente continua de exposición ambiental.

Para el humano, la enfermedad representa una zoonosis debido a que éste adquiere la infección al entrar en contacto directo o indirecto con orina procedente de animales infectados. Por ser huésped susceptible, la enfermedad puede cursar como un cuadro leve de influenza o asociarse con falla hepatorrenal o con síndrome pulmonar hemorrágico, cuadros clínicos que son potencialmente fatales.

La epidemiología de la leptospirosis es compleja y dinámica, y para comprenderla se requiere de la identificación de los huéspedes de la bacteria (animal y ambiente) y los factores de riesgo implicados en su transmisión (ocupación, actividades deportivas y recreativas, inundaciones y contacto con roedores, entre otros). Este conocimiento requiere de la tipificación del agente bacteriano. Tradicionalmente, esta tipificación se ha basado en la identificación de variantes antigenicas del lipopolisacárido de membrana (variación de la porción de los carbohidratos) de las cepas circulantes procedentes de una zona geográfica determinada.

Basados en esta serotipificación, entre las especies patógenas se han descrito más de 230 de estas variantes, conocidas con el término de serovariiedades, o serovar, y que, a su vez, se han agrupado en 24 serogrupos. Los serovares se identifican usando la prueba de aglutinación de absorción cruzada (*Cross Agglutinin Absorption Test, CAAT*) y los serogrupos se identifican usando la prueba de microaglutinación (*Microagglutination Test, MAT*). Estos métodos de serotipificación se llevan a cabo en centros de referencia mundial.

El desarrollo que ha tenido la biología molecular en los últimos veinte años ha permitido que se conozca la totalidad del genoma de *Leptospira* y esté disponible en bases de datos de amplia distribución. Esto, a su vez, ha permitido reemplazar la tradicional clasificación serológica del género por la genética. Esta genotipificación se basa en estudios de hibridación del ADN al obtener homologías de, al menos, el 70 % del material genético entre la especie tipo de referencia y un aislamiento en estudio. Por este método se conocen actualmente veinte especies distribuidas en ocho claramente patógenas, cinco de capacidad patógena intermedia, y siete saprófitas o de vida libre, lo que da a entender la amplia diversidad genética del género.

Otros métodos moleculares han permitido diferenciar hasta el nivel de serovariedad. Entre éstos se cuentan polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP*), amplificación aleatoria del ADN polimórfico, electroforesis de campo pulsado (*Pulsed Field Gel Electrophoresis, PFGE*), análisis de múltiples *loci* con número variable de repeticiones en tandem (*Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis, MLVA*) y tipificación por análisis de secuencias de múltiples locus (*Multilocus Sequence Typing, MLST*). Además, para la determinación de especies y análisis filogenéticos, se lleva a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior secuenciación de los productos obtenidos. Para desarrollar estas pruebas, se han usado secuencias específicas de genes de expresión constitutiva o marcadores de capacidad patógena, entre los que se incluyen *rpl* (rRNA 23S), *rrs* (rRNA 16S), *flaB*, *lipL32*, *OmpL1*, *secY*, *Lig* y *gyrB*, entre otros.

En general, se ha reconocido que las pruebas moleculares para identificar especies y serovariiedades de *Leptospira* presentan alto poder discriminatorio, y ofrecen resultados reproducibles y de exacta interpretación. Esto disminuye los problemas asociados con la transferencia de tecnología y la reproducibilidad de pruebas entre laboratorios de referencia y los ubicados en áreas endémicas.

El propósito de la conferencia es presentar los adelantos que nuestro grupo de investigación y, en algunos casos, en proyectos cooperativos con otros grupos nacionales e internacionales, ha llevado a cabo para caracterizar la leptospirosis usando herramientas moleculares. Todo esto con el propósito de aportar bases fundamentales para el diseño de estrategias de estudio que permitan conocer la epidemiología de la leptospirosis en Colombia.

#### **Aportes a la identificación de aislamientos colombianos de *Leptospira* spp.**

Se han llevado a cabo estudios para determinar la utilidad de la prueba de PCR convencional (en formatos simple y múltiple, usando iniciadores previamente descritos en la literatura científica) para la identificación de especies saprófitas y patógenas de *Leptospira* spp. tanto de referencia como aislamientos colombianos de diferentes fuentes, humanas, animales y ambientales. Se han evaluado como blancos de amplificación

los genes *lipL32*, *flaB* y *secY* como marcadores de capacidad patógena de *Leptospira* spp. y el gen *rrs* (rRNA 16S), como marcador de género. Las amplificaciones de los aislamientos colombianos obtenidos con las PCR se secuencian para establecer la especie de *Leptospira* a la cual pertenecen.

Los resultados de estos estudios han permitido establecer la utilidad de la PCR para identificar las especies patógenas de *Leptospira*. En el caso de la PCR *lipL32*, el límite de detección es de 1:10.000, similar a la que previamente se reportó en la publicación original usando PCR en tiempo real, lo cual indica que la sensibilidad de la prueba es reproducible en condiciones de PCR convencional. Por su parte, la PCR *secY/flaB* en formato múltiple difiere en el límite de detección para cada uno de los iniciadores, debido a que para el gen *secY* el límite de detección fue 10 veces menor que el obtenido para el gen *flaB*. Por lo tanto, en términos de límite de detección, la PCR *lipL32* es más sensible que la PCR *secY/flaB*, lo que, además, la convierte en herramienta potencial para el diagnóstico de leptospirosis si se valida usando muestras clínicas de pacientes en fases tempranas de la infección o, incluso, que hubieran iniciado el tratamiento antibiótico.

Por otro lado, debido a la diversidad de especies de *Leptospira*, se hace necesario disponer de una herramienta molecular que permita la caracterización del género. Con este propósito se evaluaron iniciadores dirigidos al gen que codifica para la subunidad ribosómica 16S rRNA y con capacidad de adaptación al formato de PCR múltiple asociado al marcador de capacidad patógena de *lipL32* que ya habíamos evaluado. Para esto, se consultaron en la literatura científica iniciadores dirigidos al gen 16S rRNA de *Leptospira* spp. Se seleccionaron secuencias que por análisis bioinformático amplificaran todas las especies de *Leptospira*. Los iniciadores escogidos se probaron con el ADN de 25 cepas de referencia mediante prueba de PCR. Se seleccionó un par de iniciadores 16S rRNA que amplificaron todas las especies de *Leptospira* del panel de referencia y que se ajustaba al formato de PCR múltiple asociado al gen *lipL32*. El límite de detección se estableció en una dilución 1:1.000 y la especificidad fue de 100 %.

Dado que la leptospirosis es una enfermedad ambiental, este tipo de herramienta molecular es apropiada para ampliar el espectro de detección que se obtiene con la PCR en formato simple, contando así con marcadores genéticos de especies patógenas, saprófitas e intermedias, que permiten hacer seguimiento de las muestras de origen ambiental para fines de epidemiología molecular y estudios de brote.

Cuando estos marcadores moleculares (*lipL32* y *rrs*) se probaron con los aislamientos colombianos y, posteriormente, secuenciados, se identificaron especies de *Leptospira* que no habían sido reportadas para Colombia. En dos aislamientos procedentes de personas y en dos de animales caninos, la especie identificada fue *L. santarosai*. En un roedor silvestre se identificó la especie *L. kirschneri*. Estos resultados amplían el espectro epidemiológico de *Leptospira* spp. para Colombia.

#### Aportes a la identificación de especies reservorio de *Leptospira* spp. en áreas urbanas

Con el propósito de conocer el papel de los roedores sinantrópicos en la epidemiología urbana de la leptospirosis, se determinó la prevalencia de infección por *Leptospira* spp. en ellos. Para esto, se hizo un estudio descriptivo de la zona urbana de Medellín, Colombia, donde se hicieron capturas sistemáticas de roedores. Aquellos que se capturaron, se sacrificaron y se les extrajo el riñón para cultivo en medios específicos para *Leptospira*. A los cultivos positivos se les estableció por métodos moleculares su capacidad patógena por detección del gen *lipL32*. Además, se determinó por secuenciación la especie de *Leptospira* diseminada por los roedores muestreados.

Se capturaron 254 *Rattus norvegicus*, de los cuales, el 20 % fue positivo por cultivo. La capacidad patógena por *lipL32* fue establecida en 12 aislamientos, y cuatro de ellos fueron secuenciados e identificados como de la especie *L. interrogans*. La investigación demostró, con herramientas moleculares de estudio, el papel de los roedores sinantrópicos en la epidemiología urbana de la enfermedad, al actuar como diseminadores de especies patógenas de *Leptospira* que contaminan agua y alimentos con el consecuente riesgo de infección para el ser humano y para otras especies animales de esta zona urbana y densamente poblada de Colombia, donde se han reportado casos humanos de leptospirosis.

Por otro lado, el marcador molecular *lipL32* también se usó para estudiar un brote de síndrome icterico hemorrágico que se presentó en monos capuchinos de la familia Cebidae. La presentación de leptospirosis en estos animales es inusual; no obstante, era necesario estudiarlos como diagnóstico diferencial de

un posible brote de fiebre amarilla. Se estudiaron 52 monos que habían sido confiscados en el área metropolitana del valle de Aburrá, Antioquia. La confirmación de caso se hizo por cultivo para *Leptospira* spp. seguido por la determinación de la capacidad patógena del aislamiento por la amplificación de gen *lipL32*. Por este método se confirmaron 16 casos de leptospirosis que presentaron ictericia y hemorragia pulmonar.

Dado que *Leptospira* spp. no es un patógeno reconocido para cébidos, era necesario conocer la fuente de infección para esta especie de primate. Para esto, fue necesario establecer la serovariedad de *Leptospira* asociada al brote. Se estandarizó la prueba de tipificación por análisis de secuencias de múltiples locus (MLST) con la amplificación de siete genes de expresión constitutiva (*pntA*, *sucA*, *pfkB*, *tpiA*, *mreA*, *gluU*, *fadD*), inicialmente, con 22 serovariedades de referencia y, posteriormente, con un aislamiento obtenido del brote.

Para este aislamiento en estudio se obtuvieron amplicones de los siete genes para ser secuenciados por métodos estándares. Cada perfil alélico se usó para definir la secuencia tipo por comparación con aquéllas disponibles en la base de datos <http://leptospira.mlst.net>. El aislamiento se identificó como *L. interrogans* ST 17 perteneciente a la serovariedad Icterohaemorragiae, e implicó a los roedores como la fuente de infección para los primates.

Este estudio permitió evidenciar el riesgo que presentan los animales silvestres para la población humana. En este caso, la acción del hombre sobre la vida silvestre crea nuevos reservorios de leptospirosis y nuevas rutas de transmisión intraespecífica e interespecífica de la enfermedad en ambientes urbanos, lo que ocasiona problemas de salud pública de proporciones insospechadas.

### Conclusión

Estos estudios presentan la validez de pruebas moleculares para la identificación de aislamientos colombianos de *Leptospira* provenientes de diferentes fuentes, desde los niveles de especie hasta los de serovariedad. Las metodologías que han sido implementadas por nuestro grupo de investigación permiten caracterizar aspectos epidemiológicos de la enfermedad. Además, algunas de estas metodologías tienen potencial para ser validadas en trabajos futuros para el diagnóstico molecular de leptospirosis en diferentes muestras clínicas y ambientales.

En el caso colombiano, a pesar de que la enfermedad es de amplia distribución y de los múltiples huéspedes conocidos de la bacteria, que se constituyen como fuentes permanentes de infección intraespecífica e interespecífica y reconocidos orígenes de brotes epidémicos, no se cuenta por parte de los entes de salud pública con el conocimiento epidemiológico de la enfermedad con indicadores claros en poblaciones afectadas que lleven a conocer los factores de riesgo o las fuentes de infección para las poblaciones de interés pecuario y población humana.

La deficiente calidad de los datos de vigilancia de las redes de salud pública colombiana puede ser atribuida, en parte, al hecho de no disponer actualmente en sus laboratorios de herramientas moleculares de tipificación de especies y serovariedades autóctonas de *Leptospira*.

Por todo lo anterior, es recomendable que los entes de salud pública del país establezcan las herramientas moleculares para la tipificación de *Leptospira* spp. La necesidad sentida de disponer de estas herramientas, radica en que el conocimiento generado mediante ellas es la base para orientar estrategias de prevención y control de la enfermedad en forma estructurada, a nivel nacional.

### Bibliografía

- Aguadelo-Flórez P, Londoño AF, Quiroz VH, Ángel JC, Moreno N, Loaiza ET, et al.** Prevalence of *Leptospira* spp. in urban rodents from a groceries trade center of Medellín, Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2009;81:906-10.
- Ahmed N, Devi SM, Valverde M, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al.** Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006;5:28-37.
- Ko AI, Goarant C y Picardeau M.** Leptospira: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nature Reviews. 2009; 7: 736-47.
- Moreno N, Aguadelo- Florez P.** Application of conventional and multiplex PCR assays for identification of isolates of *Leptospira* spp. in Colombia. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2010;27:548-56.

**Salaün L, Mérien F, Gurianova S, Baranton G, Picardeau M.** Application of multilocus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of the agent of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3954-62.

**Szonyi B, Agudelo-Flórez P, Ramírez M, Moreno N, Ko AI.** An outbreak of severe leptospirosis in capuchin (*Cebus*) monkeys. *Vet J.* 2011;188:237-9.

## Evidencia serológica y genética de la presencia de virus emergentes en roedores urbanos y rurales de Antioquia, Colombia\*

Andrés Londoño<sup>1</sup>, Víctor H. Quiroz<sup>1</sup>, Javier Díaz<sup>2</sup>, Piedad Agudelo<sup>3</sup>, Margarita Arboleda<sup>3</sup>, Silvana Levis<sup>4</sup>, Juan D. Rodas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Instituto Colombiano de Medicina Tropical, CES, Sabaneta, Colombia

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas, Pergamino, Argentina

### Introducción

En las últimas tres décadas se han descubierto más de 20 arenavirus y 15 hantavirus en el continente americano. Vale la pena mencionar que otros hantavirus ya eran conocidos desde hace mucho tiempo en los continentes asiático y europeo, por lo que estos agentes descubiertos más recientemente en Norteamérica, Centroamérica y Suramérica han sido reconocidos como “virus emergentes” (Lee, 1990; Schmaljohn, 2007; OPS, 2009).

Los agentes de estos dos grupos, aunque asociados con diferentes formas clínicas (los arenavirus son causa de fiebres hemorrágicas en Suramérica y, los hantavirus, de un síndrome pulmonar o cardiopulmonar), comparten semejanzas estructurales y biológicas, y son principalmente transmitidos por roedores silvestres y, en ocasiones, por algunos urbanos (Snell, 2003).

Entre el 2004 y 2006, se demostró la presencia de anticuerpos por una prueba serológica (ELISA) contra el virus “sin nombre” (prototipo de los hantavirus en Norteamérica) en sueros humanos y de roedores capturados en el departamento de Córdoba (13,5 % y 2,1 %, respectivamente) (Máttar, 2004; Alemán, 2006). Coincidientemente, en el 2006 se presentó en el Urabá antioqueño un brote de síndrome pulmonar humano que fue inicialmente “confundido” con infección por hantavirus y, posteriormente, diagnosticado como *Rickettsia rickettsii* (Ministerio de la Protección Social, 2006), lo que estimuló nuestra curiosidad por investigar la posibilidad de etiología viral en síndromes hemorrágicos y respiratorios “indiferenciados” detectados en la mencionada zona.

### Materiales y métodos

En agosto del 2006 recibimos apoyo de Colciencias para adelantar un proyecto de investigación en el tema (*Search for serological and genetic evidence of emergent and re-emergent agents in humans and urban and rural rodents in Antioquia, Colombia\**) y, en el 2007, iniciamos capturas de roedores en las poblaciones de Apartadó, Turbo y Necoclí, utilizando trampas Sherman y Tomahawk con cebo de mantequilla de maní, hojuelas de avena y esencia de vainilla, según las prácticas seguidas por Mills *et al.* (Mills, 1998b).

Simultáneamente, se captaron 221 muestras de suero sanguíneo de humanos con síndromes febriles indiferenciados (negativos para malaria), en fase aguda, presencia de signos clínicos de enfermedad, y en fase convaleciente, dos semanas después de la desaparición de los síntomas, cuando se esperaba encontrar respuesta inmunitaria asociada con la curación de la enfermedad.

Posteriormente, se estandarizaron dos pruebas serológicas (ELISA) para la búsqueda de anticuerpos contra hantavirus en roedores y humanos. La primera fue suministrada por Tony Schountz de *Northern Colorado University* (Estados Unidos) y detecta reactividad contra una proteína recombinante del hantavirus sin

\* El presente resumen representa parte del informe técnico final del proyecto aquí mencionado y no ha sido publicado en su totalidad en ningún otro medio visual o escrito. No obstante, algunos de los resultados de esta investigación ya han sido aceptados para publicación en la revista *Vector-borne and zoonotic diseases*, y su resumen puede ser visto en línea de Pubmed (Londoño *et al.*, 2011).

nombre (VSN), principal representante de los hantavirus del Nuevo Mundo en Norteamérica (Schountz, 2007); la segunda prueba fue suministrada por Silvana Levis del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas de Pergamino, Argentina. Esta prueba ELISA detecta anticuerpos contra el virus Maciel (Mac), como representante de los hantavirus suramericanos (Londoño *et al.*, 2011). Igualmente, contamos con una prueba molecular (RT-PCR anidada) para la detección de secuencias del genoma de hantavirus en muestras de tejidos de animales seropositivos, la cual fue generosamente compartida por Antonio Tenorio del Instituto de Salud Carlos III (España), y permite detectar tanto hantavirus tanto del Viejo como del Nuevo Mundo, los cuales pueden llegar a tener hasta 50 % de divergencia en sus secuencias.

## Resultados

Se capturaron y muestrearon 354 roedores, entre urbanos o periurbanos (124 *Rattus rattus*, 24 *Rattus norvegicus* y 71 *Mus musculus*) y rurales o silvestres (109 *Zygodontomys cherrei*, 22 *Proechimys* sp. y 4 *Heteromys* sp.). La clasificación taxonómica de estos animales se llevó a cabo en el Laboratorio de Mastozoología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. La mayoría de los roedores, tanto urbanos como silvestres, fueron capturados en el municipio de Necoclí (107 de 119 y 130 de 135, respectivamente; total, 237 de 354, 67 %), seguido por Turbo (104 de 219 y 5 de 135; total, 109 de 354, 31 %) y Apartadó (8 de 119 y 0 de 135; total, 8 de 354, 2 %).

De todos los animales se recolectaron muestras de sangre y de tejidos (bazo, hígado, pulmón y riñón). Todos los sueros de los animales capturados fueron probados con ELISA del VSN (prueba de hantavirus norteamericanos); de éstos, 14 fueron positivos y todos silvestres (*Zygodontomys cherrei*, pertenecientes a la subfamilia Sigmodontinae), y los datos fueron corroborados con ELISA Mac (prueba de hantavirus suramericanos). A todos los *Zyg* seropositivos para hantavirus, se les extrajo ARN de tejido pulmonar (órgano blanco donde persisten los hantavirus) y el ARN fue probado por RT-PCR anidado. Los resultados de esta prueba mostraron que de los 14 roedores seropositivos, 11 tenían secuencias genéticas del virus, de las cuales, ocho fueron enviadas a secuenciar y se obtuvieron seis productos suficientemente claros para ser utilizados en un análisis filogenético (comparación de secuencias genéticas entre hantavirus de todo el mundo).

Dado que no se presentó discordancia entre las dos pruebas serológicas, se decidió utilizar sólo la prueba ELISA con el Ag Maciel (hantavirus suramericanos), para probar los sueros humanos. Se identificaron dos individuos positivos, uno de ellos procedente de la zona urbana del municipio de Apartadó dedicado a oficios varios, y el segundo, procedente de zona rural del corregimiento de Las Changas en el municipio de Necoclí, y dedicado a la agricultura. No se encontraron secuencias genéticas de hantavirus en pacientes humanos.

## Discusión

Los resultados del análisis genético muestran una gran cercanía genética entre los virus detectados en roedores de Colombia y otros previamente reportados en Venezuela y Panamá, en donde se presentaron brotes humanos de síndrome pulmonar por hantavirus, en el año 2000 (península de Azuero) (Vincent, 2000).

Este estudio, además de aportar evidencia serológica, se convierte en el primero en aportar prueba genética de la presencia de hantavirus en el territorio colombiano. Además, se propone a *Z. cherriei* como el posible reservorio del “nuevo” hantavirus colombiano, por ser ésta la única especie de roedores en la que se demostró la circulación del mismo, tanto por pruebas serológicas como moleculares.

Vale la pena mencionar que el roedor seropositivo en nuestro estudio es también el reservorio del hantavirus panameño “Calabazo” (Salazar-Bravo, 2004; Weksler, 2006), el cual, de paso, muestra la más cercana identidad genética con el detectado en Necoclí, lo que lo convertiría en el hantavirus más próximo.

También, vale la pena aclarar que el mayor número de capturas en el municipio de Necoclí se explica porque después de ocho meses de trabajo de campo, éste fue identificado como el único de los tres municipios que ofrecía un buen número de capturas, con diversidad de especies silvestres (uno de los principales intereses de nuestro trabajo) y variados hábitats, razón por la cual se decidió hacer las seis

salidas restantes sólo en esta zona. Asimismo, el mayor número de animales silvestres capturados en esta región, a la postre los únicos “infectados” con el hantavirus detectado, explicaría la mayor cantidad de serologías positivas proveniente de este municipio.

Las serologías positivas para hantavirus en casos humanos febris en este estudio, fueron sólo de 1 % (2 de 220) y no se pudieron relacionar con la presentación clínica actual. Sin embargo, es importante resaltar que uno de los pacientes seropositivos reside en el corregimiento Las Changas de Necoclí, sitio donde se encontraron los roedores positivos. La diferencia en los resultados entre este trabajo y los anteriores puede explicarse en parte por la población objeto de estudio en cada uno; Máttar *et al.* Máttar (2004) utilizaron muestras de 88 personas sanas, todos trabajadores de zonas rurales, mientras que, en el presente estudio, se trató de pacientes febris negativos para malaria, de los cuales, sólo 36,8 % (81 pacientes) vivía en ambientes rurales y únicamente 16% (13 de 81 pacientes rurales) se dedicaba a la agricultura. Otras razones para las diferencias encontradas pueden estar en el uso de pruebas serológicas diferentes y en las zonas de estudio, las que, aunque vecinas, presentan características ecológicas diferentes.

En los países vecinos, como Venezuela, hay reportes de 1,7 % de serologías positivas en 1.380 personas sanas distribuidas a lo largo del país y prácticamente no se han descrito casos de la enfermedad (Rivas, 2003). Otros estudios muestran la circulación de dos hantavirus dentro de ese país (Caño Delgadito y Maporal), los cuales no se han asociado con sintomatología clínica (Fulhorst, 1997; Milazzo, 2002). En Perú, hay sólo un estudio de hantavirus, denominado HTN-007 y obtenido a partir de muestras de tejido de un roedor silvestre seropositivo de la especie *Oligoryzomys microtis* (Powers, 1999), y hasta la fecha no se cuentan con reportes en Ecuador. Esto podría dar a entender que las infecciones por hantavirus podrían no ser un problema de salud pública tan importante para el norte de Suramérica como lo es para el Cono Sur; también, podría suceder que se esté presentando un subregistro de casos por deficiencias en la vigilancia epidemiológica y deficiencias en técnicas diagnósticas y, finalmente, podría explicarse por el desconocimiento de sus efectos clínicos sobre nuestra población, así como una confusión con otros síndromes similares más comúnmente esperados en nuestro medio (dengue, leptosporosis, rickettsiosis).

Otro panorama se observa en los demás países del sur (Argentina, Uruguay, Paraguay y Chile) y centro de Suramérica (Bolivia), donde se lleva a cabo una vigilancia activa y se tiene bien definida la ecoepidemiología de los reservorios presentes en cada zona y la descripción de nuevos hantavirus, entre los que se encuentran especies patógenas y no patógenas.

A propósito de lo anterior, un caso que podría generar curiosidad en el concierto suramericano es el de Bolivia, donde se maneja un buen registro ecoepidemiológico de este tipo de enfermedades (transmitidas por virus de roedores) (Hjelle, 1996; Padula, 2000; Carroll, 2005), aunque su infraestructura en salud no dista mucho de la de Colombia. La razón para la mejor vigilancia de este tipo de entidades infecciosas se puede encontrar en otros antecedentes históricos, como lo es el brote de fiebre hemorrágica provocado por el arenavirus Machupo, en 1959. Dicho brote se relacionó con el aumento de su reservorio natural, el roedor *Calomys callosus* y, gracias a la colaboración de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, los bolivianos recibieron apoyo científico y se generó un mejor conocimiento sobre el origen de esta clase de enfermedades y se propició la adopción de medidas de control para evitar la diseminación de otros agentes transmitidos por roedores (Johnson, 1965; Mercado, 1975).

Un caso similar a este, lo podríamos encontrar en nuestro vecino país de Panamá, donde una epidemia a finales del siglo XX les instó a buscar apoyo logístico de Estados Unidos y definir tanto los reservorios más probables para el hantavirus causante de dicho brote, como los factores de riesgo comprometidos en el suceso (Vincent, 2000).

## Conclusiones

Queda para el futuro hacer una caracterización más completa de este “supuesto” nuevo agente y determinar su distribución geográfica y su capacidad para infectar y producir enfermedad en los humanos. Además, sería importante hacer estudios similares en otras regiones del país (Llanos Orientales, Villavicencio, Sucre, Valle, etc.) y establecer para esto una red de cooperación y trabajo conjunto. Sabemos que algunos

investigadores de estas regiones están adelantando sus propios trabajos, pero aún no conocemos sus resultados y creemos que podrían usar algunos de nuestros recursos técnicos para mejorar el conocimiento de las infecciones por agentes transmitidos por roedores en el contexto nacional.

Hasta donde sabemos, estos resultados representan la primera prueba serológica de circulación de hantavirus en roedores del departamento de Antioquia y la primera detección de secuencias genéticas (presumiblemente) de hantavirus en Colombia, y abre las puertas para hacer la caracterización de un hantavirus, posiblemente nuevo, el cual podría utilizarse para preparar reactivos autóctonos para la generación de pruebas serológicas más específicas y sensibles, aumentando así, posiblemente, el número final de humanos serorreactivos tanto en Antioquia como, en un futuro próximo en estudios ecoepidemiológicos y clínicos más amplios, en todo el territorio colombiano.

## Referencias

- Alemán A, et al.** Primera evidencia serológica de infección por hantavirus en roedores, en Colombia. Rev Salud Pública. 2006;8:1-12.
- Carroll D, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome in Central Bolivia: Relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. Am J Trop Med Hyg. 2005;72:42-6.
- Fulhorst CF, et al.** Isolation, characterization and geographic distribution of Caño Delgadito virus, a newly discovered South American hantavirus (family Bunyaviridae). Virus Res. 1997;51:159-71.
- Hjelle B, Torrez-Martínez N, Koster F.** Hantavirus pulmonary syndrome-related virus from Bolivia (letter). Lancet. 1996; 347:57.
- Johnson K.** Epidemiology of Machupo virus infection. Am J Trop Med Hyg. 1965;14:816-8.
- Lee HW, et al.** Geographical distribution of hemorrhagic fever with renal syndrome and hantaviruses. Arch Virol. 1990; (Suppl.1):5-18.
- Londoño AF, Díaz FJ, Agudelo-Florez P, Levis S, Rodas JD.** Genetic evidence of hantavirus infections in wild rodents from northwestern Colombia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011 Feb 1. Epub ahead of print.
- Máttar S, Parra M.** Serologic evidence of hantavirus infection in humans, Colombia. Emerg Infect Dis. 2004;10:2263-4.
- Mercado R.** Rodent control programmes in areas affected by Bolivian haemorrhagic fever. Bull World Health Organ. 1975;52:691-6.
- Milazzo ML.** Maporal viral infection in the Syrian golden hamster: A model of hantavirus pulmonary syndrome. J Infect Dis. 2002;186:1390-5.
- Mills J, et al.** Métodos para trámpeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudios virológicos. Atlanta: CDC; 1998.
- Ministerio de la Protección Social, Dirección General de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.** Inf Quinc Epidemiol Nac. 2006;11:177-86.
- Organización Panamericana de la Salud.** Agosto de 2009. Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/AD/DPC/CD/hantavirus-1993-2004.htm>.
- Padula P, et al.** Genetic diversity, distribution, and serological features of hantavirus infection in five countries in South America. J Clin Microbiol. 2000;38:3029-35.
- Powers A, et al.** Isolation and genetic characterization of a Hantavirus (Bunyaviridae: Hantavirus) from a rodent, *Oligoryzomys microtis* (Muridae), collected in northeastern Perú. Am J Trop Med Hyg. 1999;61:92-8.
- Rivas YJ, et al.** The seroprevalences of anti-hantavirus IgG antibodies among selected Venezuelan populations. Ann Trop Med Parasitol. 2003;97:61-7.
- Salazar-Bravo J, et al.** Serosurvey of wild rodents for hantaviruses in Panamá, 2000-2002. J Wildl Dis. 2004;40:103-9.
- Schmaljohn C, Nichol S.** Field's Virology. Fifth edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
- Schountz T, et al.** Rapid field immunoassay for detecting antibody to sin nombre virus in deer mice. Emerg Infect Dis. 2007;13:1604-7.
- Snell N.** Examining unmet need in infectious disease. Drug Discov Ther. 2003;8:22-30.
- Vincent M, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome in Panamá: Identification of novel Hantaviruses and their likely reservoirs. Virology. 2000;277:14-9.
- Weksler M.** Phylogenetic relationships of *Oryzomys* Rodents (Muroidea: Sigmodontinae): Separate and combined analyses of morphological and molecular data. Bulletin of the American Museum of Natural History. 2006;296:1-149.

## CONFERENCIA DE CIERRE

### Consideraciones sobre algunas enfermedades olvidadas por los servicios de salud pública y sanidad animal

Elmer Escobar

Academia Nacional de Medicina, Bogotá, D.C., Colombia

En el informe sobre la salud del mundo 2007, Margaret Chan, Directora General de la Organización Mundial de la Salud (OMS), comenta:

“El mundo ha cambiado de forma extraordinaria desde 1961, año en que la OMS publicó su primer conjunto de reglamentos jurídicamente vinculantes para prevenir la propagación internacional de enfermedades” (1).

Hasta ese entonces, la atención internacional se centraba en la vigilancia, prevención y control de seis enfermedades que ameritaban cuarentena, algunas de ellas zoonosis: el cólera, la peste bubónica, la fiebre recurrente, la viruela, el tifus y la fiebre amarilla (1).

Las condiciones que presenta la Tierra se han modificado significativamente en los últimos cincuenta años como consecuencia del crecimiento demográfico, los desplazamientos de la población, la urbanización, la incursión de la población en zonas anteriormente despobladas, la destrucción de las selvas, las modificaciones de las prácticas agropecuarias, las variaciones de las poblaciones de animales domésticos, insectos y roedores, y los fenómenos naturales, como las inundaciones y las sequías (1).

En la Quinta Cumbre de las Américas, realizada en Trinidad y Tobago en abril de 2009, los jefes de Estado de los países americanos acordaron apoyar la agenda de la salud para las Américas, 2008–2017, de la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS).

Entre las estrategias se establecía proteger los avances logrados en salud, para lo cual era necesario fortalecer y ampliar los programas de vacunación, y mitigar el impacto de las situaciones de emergencia y de desastres, que son factores de riesgo para algunas enfermedades, especialmente para aquellas transmitidas por vectores. Igualmente, se recomendaba mejorar los sistemas de vigilancia epidemiológica.

Teniendo en cuenta que algunas de las enfermedades olvidadas son zoonosis, haremos referencia al reciente informe oficial de la *American Public Health Association* (APHA) y la Organización Panamericana de la Salud, que consigna la siguiente definición de zoonosis: “Infección transmisible, en condiciones naturales de los animales vertebrados a los seres humanos. Puede ser enzoótica o epizoótica” (2,3).

Es importante destacar que:

“El enlace entre la salud humana y la salud animal es muy importante para la salud pública ya que el 61 % de todas las especies de organismos patógenos para el hombre son de carácter zoonótico, así como el 75 % de los emergentes” (3).

En el 2005, la pobreza, posiblemente el principal factor responsable de la relación desnutrición-hambre-enfermedad-muerte, afectó a 213 millones de personas (40,6 % de la población) en Latinoamérica y el Caribe y se estima que 88 millones de personas (16,8 %) padecían pobreza extrema (3).

Esta situación resalta dos aspectos del impacto de la enfermedad y su prevención y el control:

- un gran porcentaje de las zoonosis afecta a la población más pobre, y
- al controlar o reducir la incidencia de las zoonosis, se incrementa la disponibilidad de proteína de origen animal y, por consiguiente, disminuye el hambre y la desnutrición.

La OMS, en un informe del 2004, reconoció que de 102 enfermedades infecciosas importantes analizadas, 85 eran ocasionadas por exposición a riesgos ambientales, incluidos los animales domésticos y salvajes (4).

Sin embargo, debido a la deficiencia de los programas y procedimientos permanentes de vigilancia epidemiológica de muchas de las enfermedades transmisibles, es muy difícil estimar su impacto sanitario

y económico. Varias pandemias recientes han requerido para su control el sacrificio de millones de aves domésticas, centenares de miles de animales, destrucción de millones de toneladas de carne y restricción comercial de muchos productos de origen animal (5).

Ante la complejidad que presentan las zoonosis con capacidad de producir epizootias, múltiples actores tienen responsabilidad en su manejo: la comunidad afectada; las autoridades gubernamentales de los niveles nacional, departamental y municipal; las autoridades de salud pública; las autoridades de agricultura y sanidad animal; las autoridades de aduana; los transportadores; los productores agropecuarios; los industriales y comerciantes de productos de origen animal; las autoridades de policía; los medios de comunicación; la industria farmacéutica, de productos biológicos, pesticidas, insecticidas, y productos de protección biológica.

Considerando la situación anterior, los organismos internacionales de las áreas de salud humana, salud animal y producción agropecuaria, con la participación de expertos de 18 países, realizaron una conferencia sobre salud pública veterinaria y control de zoonosis en Terrano, Italia, en 1999, y posteriormente, una conferencia internacional coordinada por la FAO/OMS y la Organización de Estados Iberoamericanos (OEI), en el 2001, con el propósito de determinar:

- diagnóstico, vigilancia, control, prevención, eliminación o erradicación;
- riesgos relacionados con el trabajo y enfermedades asociadas con animales vivos y subproductos;
- producción y desarrollo de productos biológicos;
- control de poblaciones de animales reservorios o que son nocivos;
- vigilancia, prevención y control de las enfermedades transmitidas por los alimentos de origen animal;
- inspección de carnes;
- participación en las investigaciones de brotes de enfermedades;
- actividades relacionadas con el medio ambiente: estudio de vectores agua, vida silvestre y animales que sirven de indicadores de enfermedades;
- investigación biomédica;
- manejo de emergencias y desastres naturales u ocasionados por el hombre;
- aspectos sociales en catástrofes naturales o desastres ocasionados por el hombre, y
- aspectos sociales y culturales relacionados con los animales y sus nexos con el hombre (6).

En el análisis de un brote o de una epidemia, se debe analizar cada uno de los factores causales, considerando su situación geográfica, clima, condiciones meteorológicas, poblaciones humanas y animales en riesgo, aspectos demográficos, y factores de producción y comercialización presentes.

Haciendo énfasis en las epizootias recientes presentadas, los principales factores identificados que favorecieron su presentación fueron los siguientes:

- los mecanismos de transmisión;
- las facilidades de transporte y de comunicación de las personas, animales y sus productos;
- urbanización, ruralización o ingreso de personas o animales a zonas selváticas, desérticas o despobladas;
- introducción de nuevas prácticas agropecuarias en toda la cadena de producción, transformación y consumo de alimentos;
- cambios en el ambiente, deforestación, reforestación, construcción de embalses, obras hidroeléctricas, distritos de riego, carreteras, obras públicas, minería, etc.;
- cambios climáticos, como períodos anormales de lluvias, sequías, huracanes, deslizamientos, etc.;
- desastres naturales, tsunamis, erupciones volcánicas, incendios forestales e inundaciones;

- guerras, conflictos armados, desplazamiento forzado, migraciones internas, recolección de cosechas, etc.;
- contacto y exposición a animales domésticos o salvajes o con vectores: turismo ecológico, vacaciones, fiestas regionales, trabajo en zonas de riesgo y actividades ilícitas;
- envejecimiento de la población;
- hambre y desnutrición;
- VIH/sida o cualquier situación que produzca inmunodepresión;
- convivencia o contacto con mascotas, animales sinantrópicos urbanos (palomas, aves ornamentales, roedores y reptiles);
- hacinamiento y promiscuidad de la población, y falta de higiene;
- infestación con plagas;
- características de la vivienda, tipo de construcción, materiales, y vulnerabilidad a insectos, roedores y otras plagas;
- suministro de agua potable, y disposición de aguas hervidas y basuras;
- hábitos higiénicos y culturales de la población (7,8,9).

Existen zoonosis desatendidas con programas discontinuos y con deficiencias técnicas y financieras. La peste bubónica, peste neumática o peste septicémica, es causada por *Yersinia pestis* y afecta especialmente a los roedores y las pulgas, que la transmiten al hombre y a otros vertebrados.

En las Américas persisten focos naturales en los roedores de la región occidental de los Estados Unidos y algunas regiones de Ecuador, Perú, Bolivia y nordeste del Brasil. Es una enfermedad de notificación obligatoria.

Los roedores silvestres son los reservorios de la enfermedad, que se perpetúa por la transmisión del agente etiológico por medio de las pulgas y puede permanecer muchos años en forma desapercibida. Existen alrededor de 230 especies y subespecies de roedores reservorio y más de 1.500 especies de pulgas, de las cuales, 200 están vinculadas con la peste (8,9).

En los brotes de estas zoonosis que se presentaron a finales de la década de los 90 en algunas regiones de Perú y Ecuador, se identificaron los siguientes factores de riesgo: presencia de la enfermedad en el área (hasta 40 años), el fenómeno del Niño, incremento de la población de roedores silvestres, mal o deficiente almacenamiento de granos y cereales, crianza de curíes en los domicilios, hacinamiento de las personas, falta de higiene y proliferación de pulgas en los domicilios.

En la evaluación de los programas de control hecha en ambos países, se identificaron como factores exitosos los siguientes: la información y la educación de la comunidad sobre la epidemiología, prevención y control de la epidemia; el fortalecimiento de los sistemas de vigilancia epidemiológica; la localización de las personas afectadas y su tratamiento oportuno en forma controlada, siguiendo los protocolos establecidos; la notificación obligatoria de casos humanos y animales; y el desarrollo de un programa de control de pulgas en personas, dormitorios, viviendas, animales domésticos, roedores, depósitos de alimentos, galpones y corrales de animales. Es muy importante que el programa de control de pulgas se efectúe antes de la eliminación de los roedores, para evitar su paso a personas y animales (5,7).

La breve descripción de estos brotes de peste bubónica, y sus factores de prevención y control, serían aplicables a muchas de las enfermedades en las cuales el ambiente, los animales domésticos y salvajes, y algunos parásitos, se presentan en el ciclo epidemiológico de la enfermedad.

Finalmente, es necesario tener en cuenta que algunos agentes infecciosos podrían utilizarse en el terrorismo biológico. Se han identificado 39 agentes con potencial uso en bioterrorismo entre virus, parásitos, bacterias y sus toxinas; entre ellos se pueden destacar el carbunco, la viruela, el botulismo, tularemia, *Y. pestis*, virus del Ébola y otras fiebres hemorrágicas, y todas aquellas capaces de producir intoxicaciones alimentarias (10).

## Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** Informe sobre la salud del mundo 2007. Un porvenir más seguro. Protección de la salud pública mundial en el siglo XXI. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2007.
2. **Organización Mundial de la Salud, Organización para las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.** Comité de expertos FAO-OMS en zoonosis. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1958.
3. **Heymann D**, editor. El control de las enfermedades transmisibles. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2005.
4. **Organización Mundial de la Salud.** Informe sobre la salud del mundo 2004. Cambiemos el rumbo de la historia. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2004.
5. **Organización Panamericana de la Salud.** Salud en las Américas 2007- Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2007.
6. Conferencia FAO/OMS/OEI 2001.
7. **Escobar E.** Zoonosis: infecciones transmisibles en condiciones naturales de los animales vertebrados a los seres humanos. En preparación.
8. **Acha P.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2001. Volumen I.
9. **Acha P.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2003. Volumen II.
10. **Centers for Diseases Control and Prevention.** Bioterrorism. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2008. Disponible en: <http://emergency.cdc.gov/bioterrorism>.



