

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE



Abundancia y frecuencia del género *Anaplasma* en las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de la Comarca Lagunera de Durango, por medio de secuenciación masiva de tercera generación

Por:

Irma Elizabeth Padilla Mendoza

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE

**Abundancia y frecuencia del género *Anaplasma* en las garrapatas
Rhipicephalus sanguineus de la Comarca Lagunera de Durango, por medio de
secuenciación masiva de tercera generación**

Por:

Irma Elizabeth Padilla Mendoza

TESIS

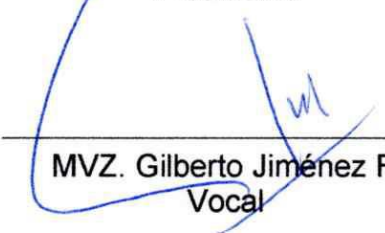
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


Dr. Sergio Iván Barraza Guerrero
Presidente


MC. Ernesto Martínez Aranda
Vocal


MVZ. Gilberto Jiménez Frías
Vocal


MC. Diana Elizabeth Salazar Nevárez
Vocal suplente


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE SALUBRIDAD E HIGIENE

**Abundancia y frecuencia del género *Anaplasma* en las garrapatas
Rhipicephalus sanguineus de la Comarca Lagunera de Durango, por medio
secuenciación masiva de tercera generación**

Por:

Irma Elizabeth Padilla Mendoza

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

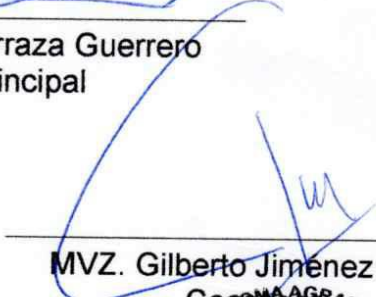
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Sergio Iván Barraza Guerrero
Asesor Principal



MC. Ernesto Martínez Aranda
Coasesor



MVZ. Gilberto Jiménez Frías
Coasesor



MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2025

1 Agradecimientos

Quiero agradecer principalmente a mis padres, Rosalinda Mendoza y Jaime Padilla, por su amor, apoyo incondicional y por siempre creer en mí. Gracias por guiarme en todo momento y por estar siempre a mi lado en cada paso de mi vida y mi formación académica.

A mis asesores, especialmente al Dr. Sergio Barraza Guerrero, por su apoyo durante la investigación y en la realización de esta tesis. Su orientación ha sido fundamental para el desarrollo de este trabajo y mi crecimiento académico.

A todos mis profesores, quienes me formaron durante mi carrera. Gracias por sus enseñanzas, por motivarme y por ser una parte esencial en mi formación.

Y finalmente, a todos los colaboradores y participantes de esta investigación. Sin su ayuda, este trabajo no habría sido posible. Gracias por su tiempo y esfuerzo.

2 Dedicatoria

Este trabajo va dedicado, en primer lugar, a mis padres. No hay palabras suficientes para expresar todo lo que les debo. Todo lo que soy y seré se los debo a ustedes. Me han dado su amor incondicional, su apoyo constante y su confianza en mis sueños y en mi potencial. Gracias por enseñarme que no hay meta demasiado grande ni obstáculo imposible, por ser mi fuente de inspiración y por estar siempre a mi lado, motivándome a seguir adelante. Gracias por ayudarme a hacer realidad mis sueños. Este logro también es suyo.

A mis abuelitos, Irma Meza Mata y Alfonso Mendoza Aguiñaga, por ser el regalo más hermoso que la vida me ha dado. Con ustedes, todo se vuelve más ligero. Gracias por enseñarme a enfrentar la vida con una sonrisa y por hacerme sentir siempre capaz de lograr lo que me proponga. Los quiero profundamente y nunca dejaré de agradecerles por todo lo que me han dado.

A mi hermano, Jaime Padilla, por su compañía y apoyo a lo largo de todos estos años. También agradezco a toda la familia Mendoza Meza y a la familia Hernandez Mendoza por su cariño y apoyo incondicional.

A mis amigos, por ser los pilares que me han sostenido durante todo este tiempo en especial a Ximena Treviño, por ser mi mejor amiga y por haber estado a mi lado en los momentos más bajos de mi vida. Gracias por nunca dejarme rendirme y por ser mi apoyo constante.

Al Dr. Enrique González Wong, por darme el ultimo empujoncito, no dejarme tirar la toalla y por creer en mi incluso cuando yo no lo hacia. Estoy eternamente agradecida contigo. Te amo.

Finalmente, a mis mascotas: Lana, Tequila, Greta y Azula. No sé cómo habría soportado tantas noches de desvelo y estrés sin su compañía. Gracias por ser mi refugio en los momentos difíciles, por regalarme su amor incondicional y por darme siempre la energía que necesitaba para seguir adelante.

3 Índice

1	Agradecimientos.....	i
2	Dedicatoria	ii
4	Resumen.....	v
5	Introducción.....	1
6	Justificación.....	2
7	Hipótesis	2
8	Objetivos	3
8.1	Objetivo general	3
8.2	Objetivos específicos	3
9	Marco teórico	3
10	Vectores	3
10.1	Garrapata.....	4
10.1.1	Morfología	4
10.1.2	Clasificación	5
10.1.3	Ciclo biológico	5
10.1.4	Alimentación	5
11	Rhipicephalus sanguineus	6
11.1	Mordedura, alimentación y reproducción	6
11.2	Microbioma bacteriano	7
12	Enfermedades transmitidas por garrapatas	7
12.1	Anaplasmosis.....	8
12.1.1	Anaplasma platys.....	8
12.1.2	Anaplasma phagocytophilum	8
12.1.3	Transmisión	9
12.1.4	Patogenia.....	9
13	Secuenciación de primera generación (SANGER).....	10
14	Next-Generation Sequencing.....	10
15	Análisis metagenómico	11
15.1	Gen 16s RNA	12
15.2	Amplicon sequence variation (ASV)	12
15.3	Análisis metagenómico de garrapatas.....	12
16	Metabarcoding	13
17	Análisis bioinformático	14
18	QIIME.	15
19	Materiales y métodos.....	15

19.1	Área de estudio	15
19.2	Trabajo de campo y elaboración de pools	16
19.3	Extracción de ADN	16
19.4	Muestras de control	17
19.5	Análisis bioinformático y estadístico	17
19.5.1	Composición taxonómica	17
20	Resultados.....	18
21	Discusión	26
22	Conclusión	28
23	Literatura citada	28

4 Resumen

La metagenómica es una disciplina que emplea técnicas de biología molecular para analizar los genomas microbianos, permitiendo estudiar la composición del microbioma bacteriano de las garrapatas y clasificar sus poblaciones a nivel de género y especie. La Comarca Lagunera de Durango se caracteriza por un clima árido, con baja humedad y altas temperaturas, lo que la convierte en una zona endémica para la garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus*. Este parásito es responsable de transmitir diversas enfermedades zoonóticas, incluida la anaplasmosis. Ante la creciente preocupación por esta enfermedad y la falta de estudios sobre su prevalencia en la región, se decidió llevar a cabo este trabajo.

Este estudio utilizó la secuenciación del gen 16S rRNA con el fin de detectar la presencia de *Anaplasma spp.* en muestras de *R. sanguineus* recolectadas en distintas localidades de la Comarca Lagunera. El objetivo de la investigación es aportar información relevante sobre la distribución de *Anaplasma spp.* en la zona, y contribuir a futuras estrategias de monitoreo epidemiológico y control de enfermedades transmitidas por garrapatas en la región.

Palabras clave: *Rhipicephalus sanguineus*, *Anaplasma Platys*, Metagenómica, Garrapata, Gen 16s rRNA

5 Introducción

La anaplasmosis es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas, causada por bacterias del género *Anaplasma*, que representa un problema significativo tanto para la salud humana como animal, debido a los efectos graves que puede provocar (Díaz et al., 2023). Las garrapatas son el principal vector de esta enfermedad, jugando un rol crucial en su propagación. La detección temprana de la enfermedad es una prioridad en Salud Pública y Veterinaria, ya que la distribución de estas garrapatas sigue expandiéndose y existen varias especies de *Anaplasma* (Dantas, 2010).

Una de las garrapatas más relevantes en este contexto es *Rhipicephalus sanguineus*, que tiene gran importancia epidemiológica al ser vector de diversas enfermedades graves tanto en animales como en humanos. Esta especie afecta principalmente a los perros, su hospedador principal, y puede transmitir diferentes bacterias causantes de enfermedades zoonóticas. Además, su capacidad de adaptación a distintos ambientes aumenta el riesgo de transmisión en diversas áreas geográficas, lo que complica su control (Dantas, 2010). En México, donde existen alrededor de 18.8 millones de perros callejeros (INEGI), estos animales representan el mayor reservorio de garrapatas, y por ende, de enfermedades transmitidas por ellas. A medida que la población de perros callejeros crece, también aumenta la propagación de *R. sanguineus*. Las garrapatas, al exponerse a temperaturas más altas, tienden a buscar hospedadores humanos más rápidamente, lo que podría estar relacionado con un mayor número de casos de enfermedades transmitidas por garrapatas, como la anaplasmosis, en regiones con veranos cálidos, como la Comarca Lagunera (Robles et al., 2015).

Anaplasma platys es la bacteria que infecta las plaquetas de los perros, causando trombocitopenia cíclica canina. Aunque los perros son los principales huéspedes, esta bacteria no infecta a los humanos (Tasayco Vásquez, 2021). En cambio, *Anaplasma phagocytophilum* es el causante de la anaplasmosis granulocítica humana, cuyos síntomas incluyen fiebre, dolor de cabeza y malestar general. El diagnóstico es complejo, ya que estos síntomas no son específicos, pero se complementa con pruebas de laboratorio, donde la trombocitopenia es un hallazgo importante. Aunque la incidencia de la enfermedad es baja, el diagnóstico difícil impide estimar con precisión su prevalencia. A nivel global, se ha visto un aumento de casos, principalmente en áreas rurales. En México, aunque la información

epidemiológica es limitada, se han registrado algunos casos aislados en el centro y norte del país (Alzate et al., 2019).

El análisis del gen 16S rRNA es un método eficaz para clasificar y detectar bacterias. Gracias a las técnicas de secuenciación masiva de siguiente generación (NGS), podemos secuenciar este gen a partir del ADN extraído de las garrapatas. Esto permite detectar *Anaplasma* spp. y otros patógenos con alta precisión y sensibilidad. El propósito de este estudio no es solo ampliar nuestro conocimiento sobre la frecuencia de *Anaplasma* spp. en la Comarca Lagunera de Durango, sino también investigar cómo factores como el sexo y la localidad influyen en la abundancia de *Anaplasma platys* en esta área. Con esta información, se busca proporcionar datos útiles para mejorar las estrategias de prevención y control de la anaplasmosis transmitida por garrapatas, contribuyendo así a la epidemiología de esta enfermedad (Tasayco Vásquez, 2021).

6 Justificación

En México generalmente las enfermedades transmitidas por vectores son subdiagnosticadas, contando con pocos estudios que determinen su prevalencia o frecuencia. La anaplasmosis por *Anaplasma platys* es una zoonosis que ha estado surgiendo como una enfermedad de importancia en la salud pública debido a su creciente prevalencia e incidencia y a la gravedad de sus complicaciones, destaca la necesidad de prestarle mayor vigilancia epidemiológica y de encontrar mejores métodos para su diagnóstico y prevención. Por lo tanto, los datos obtenidos en este estudio son esenciales para diseñar estrategias de diagnóstico y control más efectivas y enfocadas, lo cual puede contribuir a reducir la incidencia de enfermedades transmitidas por garrapatas en humanos y animales.

7 Hipótesis

En la Laguna de Durango existe la presencia de especies del género *Anaplasma*, potencialmente patógenas para animales y humanos.

Existe diferencia significativa en la abundancia relativa de *Anaplasma* spp. en las garrapatas *R. sanguineus* tanto en la variable localidad, así como en la del sexo de las garrapatas en la Comarca Lagunera de Durango.

8 Objetivos

8.1 Objetivo general

Analizar la frecuencia y abundancia de *Anaplasma* spp. en una población de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de la Comarca Lagunera de Durango mediante secuenciación del gen 16s rRNA.

8.2 Objetivos específicos

1. Corroborar el porcentaje de identidad de la o las secuencias se *Anaplasma* spp. obtenidas en la secuenciación por medio de BLASTn en el NCBI.
2. Determinar la frecuencia de los géneros encontrados de *Anaplasma* en cinco diferentes localidades dentro de la Laguna de Durango.
3. Determinar la abundancia absoluta y relativa de los géneros de *Anaplasma* en cinco diferentes localidades dentro de la Laguna de Durango.
4. Determinar por medio de ANOVA multifactorial si existe diferencia significativa en la abundancia de *A. platys* entre sexo y localidades de la Comarca Lagunera de Durango

9 Marco teórico

10 Vectores

Un vector biológico se refiere a cualquier organismo vivo que puede transportar y transmitir un patógeno a otro ser vivo. Los vectores biológicos más comunes son los insectos hematófagos, que, al alimentarse de la sangre de un portador infectado, ingieren microorganismos patógenos y luego los inoculan en otro individuo (Uribe y Chiquete, 2017).

Vector.	Reservorio.
Mosquitos (Aedes y Anopheles).	Humanos y primates.

Mosquitos (Phlebotomus).	Humanos, primates, marsupiales, roedores y animales domésticos.
Triatomas.	Humanos, primates, marsupiales, ratas, ratones y animales domésticos
Mosca tsé-tsé.	Humanos, animales domésticos, gacelas, antílopes.
Mosca negra.	Humanos.
Pulga.	Humanos, roedores, animales domésticos.
Garrapata.	Humanos, vacas, ovejas, cabras, avestruces, roedores y animales domésticos.

Cuadro 1. Vectores y su principal reservorio (Uribe y Chiquite, 2017).

10.1 Garrapata

Las garrapatas son consideradas los vectores más importantes en la salud veterinaria y los segundos en importancia para la salud humana, después de los mosquitos. Esta relevancia se debe a su capacidad para parasitar una amplia gama de especies huésped, afectando a la fauna silvestre, el ganado, las mascotas y los humanos (Yu et al., 2015). Existen garrapatas duras y blandas, ambas pertenecientes al grupo de los arácnidos hematófagos, y son de gran relevancia en medicina y veterinaria debido a las enfermedades que pueden transmitir. Estas enfermedades incluyen una amplia variedad de organismos patógenos como virus, bacterias, protozoos y nematodos (Márquez-Jiménez et al., 2005).

10.1.1 Morfología

Las garrapatas son ácaros macroscópicos con cuatro pares de patas y un cuerpo globoso, aplanado dorso-ventralmente y no segmentado, lo que las distingue de otros arácnidos cuyo cuerpo está dividido en dos partes (cefalo-tórax y abdomen) (Manzano et al., 2012). Los ixódidos, conocidos como "garrapatas duras", se caracterizan por una gran placa esclerotizada en la superficie dorsal llamada escudo, y sus piezas bucales se encuentran en la región anterior. En contraste, los argásidos o "garrapatas blandas" carecen de este escudo y sus piezas bucales se localizan en la cara ventral (Guillén et al., 2023).

10.1.2 Clasificación

Las garrapatas se clasifican en dos familias principales: Ixodidae (garrapatas duras) y Argasidae (garrapatas blandas), con una familia intermedia, Nuttalliellidae, que incluye la especie africana *Nuttalliella namaqua* (Polanco y Ríos, 2015).

Taxonomía de la garrapata dura

- Phylum: Arthropoda
- Clase: Arachnida
- Orden: Acarina
- Suborden: Ixodoidea
- Familia: Ixodidae
- Género: Ixodes, Amblyomma, Anomalohimalaya, Bothriocroton, Cosmiomma, Dermacentor, Haemaphysalis, Hyalomma, Margaropus, Nosomma, Rhipicentor, Rhipicephalus (Polanco y Ríos, 2015).

10.1.3 Ciclo biológico

Las garrapatas ixódidas pasan por tres etapas en su desarrollo: larva, ninfa y adulto. Las garrapatas argásidas, aunque también pasan por estas tres fases, presentan múltiples etapas en la fase de ninfa. En las ixódidas, tras alimentarse de un huésped, las hembras se desprenden y colocan sus huevos en el suelo o vegetación. De estos huevos nacen larvas, que posteriormente se transforman en ninfas y luego en adultos tras alimentarse de nuevo. Este proceso puede durar desde unos pocos meses hasta varios años, dependiendo de la especie y las condiciones ambientales (Ruiz, 2013).

10.1.4 Alimentación

Las garrapatas son parásitos externos obligados, alimentándose de la sangre de sus huéspedes (hematófagos). Este proceso de alimentación implica varios pasos: búsqueda activa del hospedador, adherencia a la piel, penetración de las piezas bucales y succión de sangre, lo que les permite aumentar su tamaño. Durante este proceso, las garrapatas pueden transmitir una variedad de patógenos a través de la saliva, fluido coxal, regurgitación intestinal o heces (Polanco y Ríos, 2015). Entre las especies de garrapatas más comunes en perros y gatos se encuentran *Ixodes ricinus* y *Rhipicephalus sanguineus* (Llòria, 2002).

11 *Rhipicephalus sanguineus*

Desde un punto de vista etológico, *Rhipicephalus sanguineus* es una garrapata endofílica, adaptada principalmente a la vida en interiores y monotrópica, ya que todas las etapas de su desarrollo se alimentan del mismo huésped. Sin embargo, también puede sobrevivir en entornos exteriores si hay refugios disponibles, como paredes de piedra caliza. Aunque generalmente es monotrópica, ocasionalmente puede alimentarse de otros huéspedes, incluidos los humanos, que no forman parte de su cadena trófica natural. Estos aspectos destacan su adaptabilidad y capacidad de supervivencia según las condiciones del entorno (Dantas, 2010).

Durante la búsqueda de un huésped, *Rhipicephalus sanguineus* muestra tanto comportamientos de búsqueda activa como de emboscada, donde espera al huésped. Estos patrones de comportamiento han evolucionado a lo largo de la historia, probablemente debido a su relación con el perro doméstico y su entorno compartido (Dantas, 2010).

11.1 Mordedura, alimentación y reproducción

El comportamiento alimentario de *R. sanguineus* es notable por su habilidad para perforar la piel del huésped con sus piezas bucales especializadas e inyectar una sustancia que facilita su adherencia. Este proceso puede causar daño tisular y hemorragia, permitiendo que la garrapata se alimente de la sangre del huésped. A través de la saliva de la garrapata, que contiene anticoagulantes e inmunomoduladores, se pueden transmitir patógenos, lo que facilita una alimentación prolongada (Catrosanto et al., 2022). Las garrapatas de esta especie tienden a adherirse a áreas específicas del cuerpo de los perros, como la cabeza, las orejas, la espalda, las regiones axilares e inguinales, y entre los dedos (Tian et al., 2018).

La garrapata café del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, pertenece a un complejo de al menos 12 especies validadas, que incluyen *R. camicasi*, *R. guilhoni*, *R. pumilio*, *R. leporis*, *R. moucheti*, *R. pusillus*, *R. rossicus*, *R. sulcatus*, *R. schulzei*, *R. afranicus*, *R. turanicus* y *R. sanguineus*, las cuales tienen una distribución amplia a nivel mundial. En México, se ha registrado la presencia de esta especie de garrapata en 24 estados de la república (Rodríguez et al., 2023).

La prevalencia y la intensidad media de la infestación por *Rhipicephalus sanguineus* en perros pueden variar significativamente según la ubicación geográfica y la época del año. Según estudios recientes, la frecuencia de esta garrapata en perros varía considerablemente en diferentes estados de México: en poblaciones rurales de Yucatán es del 39.1%, mientras que, en estados como Sinaloa, Morelos, y Coahuila, la prevalencia alcanza el 100% (Rodríguez et al., 2023).

11.2 Microbioma bacteriano

Las garrapatas son vectores eficientes de una variedad de patógenos causantes de enfermedades, incluidos géneros como *Borrelia*, *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Francisella* y *Babesia*, los cuales son de gran importancia en salud pública. Estudios recientes muestran que las garrapatas albergan comunidades bacterianas complejas, compuestas principalmente por microorganismos simbióticos que desempeñan roles clave en la adquisición y transmisión de patógenos, así como en funciones fisiológicas y reproductivas (Quiroz-Castañeda et al., 2021). La composición de estas comunidades microbianas puede variar según la especie de garrapata, la región geográfica, la época del año y el estadio del ciclo de vida, lo que añade complejidad al estudio del microbioma de las garrapatas (Quiroz-Castañeda et al., 2021).

12 Enfermedades transmitidas por garrapatas

Los patógenos transmitidos por garrapatas son microorganismos que, al ser transferidos a vertebrados, pueden causar diversas enfermedades. Entre las más conocidas está la babesiosis, que es una hemoparasitosis causada por protozoos del género *Babesia*. Este patógeno, comúnmente transmitido por garrapatas, afecta a mamíferos y aves, siendo los vertebrados los hospedadores potenciales. La ehrlichiosis, otra enfermedad relevante, es provocada por rickettsias del género *Ehrlichia*, y afecta a múltiples especies de mamíferos. En los perros, la infección principal es causada por *Ehrlichia canis*, aunque también existen infecciones por *E. ewingii*, *E. chaffeensis* y *E. ruminantium*. Por su parte, la rickettsiosis es una zoonosis transmitida por bacterias del género *Rickettsia*, siendo *Rickettsia rickettsii* la más significativa en salud pública debido a su relación con la fiebre manchada de las Montañas Rocosas (Salazar, 2023).

12.1 Anaplasmosis

La anaplasmosis es una enfermedad bacteriana provocada por bacterias del género *Anaplasma*, que pertenecen a la familia *Anaplasmataceae*. Estas bacterias son gramnegativas, de forma pleomórfica, y varían en tamaño entre 0,4 y 2 µm. Su membrana externa tiene una estructura rugosa, sin cápsula ni lipopolisacáridos. Las especies principales asociadas a esta patología son *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum* (Atif, 2017).

12.1.1. Taxonomía

- **Reino:** Bacterias
- **Filo:** Proteobacteria
- **Clase:** Alfa proteobacterias
- **Orden:** Rickettsia
- **Familia:** Anaplasmataceae
- **Género:** *Anaplasma*

(Atif, 2017)

12.1.1 *Anaplasma platys*

Anaplasma platys es un patógeno primariamente asociado con los caninos, especialmente perros. Esta bacteria reside en las células sanguíneas y es responsable de la trombocitopenia cíclica canina. Los síntomas incluyen debilidad, letargo, anorexia, dificultad respiratoria, fiebre, secreciones mucosas, secreción ocular purulenta, esplenomegalia e hiperqueratosis del hocico. Aunque la enfermedad generalmente no es letal, el tratamiento con antibióticos, especialmente la doxiciclina, es eficaz, y suele resolverse en unas cuatro semanas (Rymaszewska y Grenda, 2008).

12.1.2 *Anaplasma phagocytophilum*

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria que se encuentra en animales domésticos, especialmente en pequeños rumiantes, pero también afecta a seres humanos. Esta bacteria es la causante de la anaplasmosis granulocítica en humanos, conocida como Anaplasmosis Granulocítica Humana (HGA). Esta enfermedad es multisistémica y presenta síntomas inespecíficos que pueden parecerse a los de la gripe común, lo que dificulta su diagnóstico. La

severidad de los síntomas varía de acuerdo con el estado del paciente (Rymaszewska y Grenda, 2008).

12.1.3 Transmisión

Las garrapatas son los principales vectores de las bacterias de *Anaplasma*. El principal reservorio de estas bacterias son los roedores, que pueden infectar a las garrapatas que se alimentan de ellos. Las especies de garrapatas capaces de transmitir *Anaplasma* incluyen a *Boophilus*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma*, *Argas* y *Ornithodoros*. La transmisión de la infección puede ocurrir por varias vías, siendo la más común la intraestadio, donde las garrapatas transmiten la bacteria durante su fase de alimentación. También existen otras formas de transmisión como la transestadio y la transovárica, en la que las garrapatas infectadas pueden transmitir la bacteria a sus descendientes. Además, se ha documentado la posibilidad de transmisión transplacentaria, lo que significa que las madres infectadas pueden transmitir la bacteria a sus crías durante el embarazo. La transmisión también puede ocurrir a través de agujas contaminadas o instrumentos quirúrgicos, lo que resalta la importancia de las prácticas de control y prevención en ambientes veterinarios y médicos (Peralta et al., 2017).

12.1.4 Patogenia

Las bacterias de *Anaplasma* son intracelulares obligadas, lo que significa que necesitan vivir dentro de las células de su hospedador para reproducirse. Una vez que la bacteria invade un eritrocito (glóbulo rojo), se forma una vacuola dentro de la célula, y la bacteria se multiplica sin destruir la célula huésped. A medida que la bacteria se reproduce, los glóbulos rojos infectados son eliminados por el sistema inmune, lo que conduce a una disminución en su número y a la aparición de anemia hemolítica. Esta condición puede manifestarse como debilidad generalizada, fatiga, ictericia (color amarillo en la piel y membranas mucosas) y otros síntomas. Sin embargo, a diferencia de otras enfermedades transmitidas por garrapatas, como la babesiosis, la anaplasmosis no produce hemoglobinemia (presencia de hemoglobina en la sangre) ni hemoglobinuria (presencia de hemoglobina en la orina). La anaplasmosis puede afectar varios órganos, siendo el bazo uno de los más involucrados, debido a su rol en la eliminación de glóbulos rojos infectados (Olguín y Bernal, 2017).

13 Secuenciación de primera generación (SANGER)

El método de secuenciación desarrollado por Sanger, también conocido como método de terminación de cadena, es una técnica clásica basada en la síntesis de una nueva hebra de ADN complementaria a la cadena molde que se desea analizar. Lo característico de esta técnica es el uso de nucleótidos especiales llamados dideoxinucleótidos (ddNTPs), los cuales no cuentan con el grupo 3'-OH. Esta característica impide que se sigan formando enlaces fosfodiéster, provocando que la cadena deje de alargarse justo en el punto donde se incorpora uno de estos ddNTPs. Para llevar a cabo la secuenciación, se preparan cuatro mezclas diferentes. Cada una contiene la cadena molde, una ADN polimerasa, un cebador marcado, una alta concentración de los nucleótidos normales (dNTPs), y una pequeña cantidad de uno de los cuatro ddNTPs. Como resultado, se generan múltiples fragmentos de ADN con diferentes longitudes, terminados aleatoriamente por un ddNTP. Posteriormente, estos fragmentos se separan por tamaño mediante electroforesis en gel de poliacrilamida, permitiendo así leer la secuencia original de la hebra molde gracias al marcador en el cebador (López et al., 2021).

14 Next-Generation Sequencing

La secuenciación de nueva generación, o NGS por sus siglas en inglés, es una técnica moderna que ha transformado el análisis genético al permitir el estudio masivo y simultáneo de múltiples fragmentos de ADN. A diferencia del método de Sanger, esta técnica puede secuenciar genomas completos o regiones específicas como el gen 16S, lo cual resulta muy útil en estudios de comunidades microbianas (metagenómica). Uno de los grandes beneficios de esta tecnología es que ya no se requiere el cultivo de bacterias ni la clonación de fragmentos. En lugar de eso, se amplifican directamente las regiones de interés, y después se realiza la secuenciación en paralelo, lo que acelera significativamente el proceso. Esto facilita la identificación de especies presentes en una muestra, incluso aquellas que se encuentran en muy baja abundancia, brindando una visión mucho más completa y precisa de la diversidad microbiana (Martínez, 2014).

15 Análisis metagenómico

La metagenómica es una estrategia fundamental dentro de la biotecnología moderna, ya que permite estudiar el material genético de todos los microorganismos presentes en una muestra, incluso aquellos que no pueden ser cultivados en laboratorio. Este enfoque, combinado con las tecnologías de secuenciación actuales, posibilita una exploración detallada de la diversidad genética en ambientes específicos. El análisis metagenómico se basa en el estudio del gen 16S rRNA, un marcador molecular que contiene regiones tanto conservadas como variables, lo que permite clasificar bacterias y arqueas en diferentes grupos taxonómicos (Cortés et al., 2020).

Este tipo de análisis sigue varios pasos clave: primero, se selecciona el ambiente o nicho ecológico del cual se va a extraer el material genético. Luego, se realiza la extracción directa del ADN o ARN, capturando así la variedad genética presente. Posteriormente, se manipula el material extraído para prepararlo para el análisis, y se construye una librería de fragmentos genéticos representativos. Finalmente, se realiza la secuenciación y se aplican herramientas bioinformáticas para interpretar los resultados. Este proceso permite identificar no solo qué microorganismos están presentes, sino también entender su posible función dentro del ecosistema (De la Fuente et al., 2014).

De forma tradicional, el gen 16S se amplificaba por PCR, se clonaban los fragmentos en bacterias recombinantes y se secuenciaban con el método Sanger, lo que ayudaba a identificar varias especies, aunque a veces subestimaba la diversidad real. Por eso, hoy se recomiendan métodos más avanzados como NGS para obtener un análisis más completo (Rodicio y Mendoza, 2004).

Los estudios actuales en metagenómica no solo se enfocan en identificar los microorganismos, sino también en conocer su papel dentro del ecosistema. Esto puede lograrse mediante técnicas de secuenciación aleatoria o dirigida, y los avances recientes han facilitado la extracción de ADN directamente de muestras ambientales, mejorando notablemente los resultados (De la Fuente et al., 2014).

15.1 Gen 16s RNA

Este gen es una herramienta esencial para clasificar microorganismos, especialmente bacterias y arqueas. Con una longitud aproximada de 1,550 pares de bases, el gen 16S contiene tanto regiones altamente conservadas como regiones variables que permiten distinguir entre diferentes taxones. Al comparar su secuencia con las que ya están registradas en bases de datos, es posible ubicar a los microorganismos en su correspondiente grupo taxonómico. Además, en algunos casos se puede incluso identificar la especie, lo que es muy útil para estudios de diversidad y análisis filogenéticos (Cortés et al., 2020).

15.2 Amplicon sequence variation (ASV)

Las ASV (por sus siglas en inglés: Amplicon Sequence Variants) representan una evolución en el análisis de secuencias. A diferencia de las OTUs, que agrupan secuencias similares bajo un umbral de similitud, las ASV identifican diferencias muy sutiles a nivel de nucleótido único, lo que brinda una resolución más precisa. Este nivel de detalle permite detectar especies específicas presentes en una muestra, lo cual es particularmente útil en estudios de microbiomas y detección de patógenos, como los que pueden encontrarse en garrapatas del género *Rhipicephalus* (Rausch et al., 2019).

15.3 Análisis metagenómico de garrapatas

En los últimos años, el uso de técnicas moleculares ha desplazado en gran medida a los métodos tradicionales para la detección de patógenos transmitidos por garrapatas. Estas nuevas técnicas ofrecen importantes ventajas como mayor rapidez, sensibilidad y especificidad, además de permitir la detección simultánea de múltiples microorganismos dentro del microbioma de estos vectores. La metagenómica, en particular, se enfoca en analizar directamente el material genético de estos microorganismos, sin necesidad de aislarlos previamente, lo que permite estudiar tanto los más comunes como los menos abundantes. Este enfoque ha abierto nuevas puertas para explorar la enorme variedad genética que existe en ambientes poco estudiados. Entre las estrategias más destacadas se encuentran la secuenciación directa del contenido genético y la metagenómica funcional, que busca identificar genes de interés a partir de librerías genéticas. Gracias a estos avances, hoy es posible obtener una visión mucho más completa y detallada de la microbiota de las garrapatas, lo cual es fundamental para entender mejor su ecología y su papel en la transmisión de enfermedades (Aguilar y Quiroz, 2024).

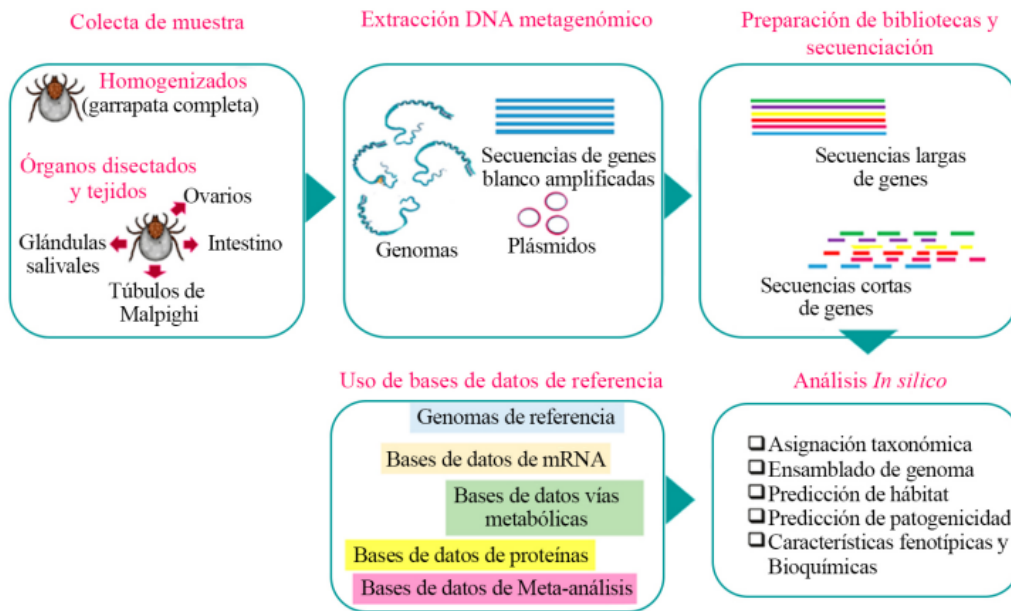


Figura 1. Metodología basada en la metagenómica para el análisis de microbiomas de garrapatas (Aguilar y Quiroz, 2024).

16 Metabarcoding

El desarrollo y avance de las tecnologías de secuenciación masiva han revolucionado la capacidad de capturar simultáneamente múltiples secuencias genéticas a partir de muestras ambientales complejas (Taberlet et al., 2018). Una de las herramientas destacadas en esta innovación es el metabarcoding, que se basa en la captura de una región específica del genoma de múltiples organismos presentes en muestras complejas como suelo, agua, heces, contenido estomacal, polen, entre otros (Taberlet et al., 2012, 2018).

En términos generales, el metabarcoding es una herramienta que se compone de siete pasos principales: 1) recolección de una muestra compleja o ambiental (agua, sedimento, suelo, heces, polen, hojarasca, etc.); 2) extracción y captura del ADN (extra o intracelular) que se encuentra en la muestra recolectada; 3) preparación de librerías (amplificación de una región de interés en el ADN extraído); 4) secuenciación de la región amplificada; 5) depuración y procesamiento bioinformático de las secuencias obtenidas; 6) agrupamiento de las secuencias por similitud y asignación taxonómica - este último opcional de acuerdo con las bases de datos de referencia existentes; y 7) análisis ecológicos de interés (Montoya et al., 2020).

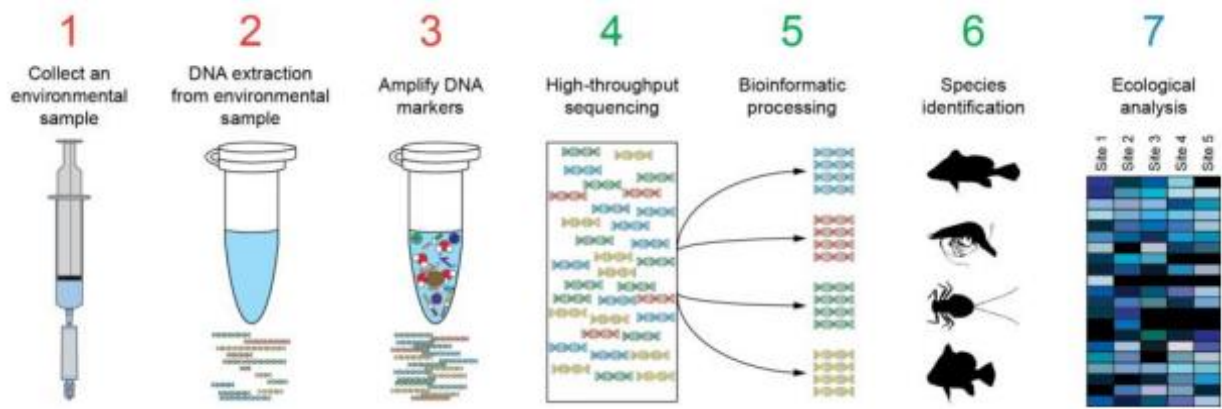


Figura 2. . Flujo de trabajo de metabarcoding (Montoya et al., 2020).

17 Análisis bioinformático

Cabe destacar que los resultados obtenidos a través de la secuenciación masiva no pueden ser interpretados sin el apoyo de herramientas bioinformáticas. A medida que se incrementa el volumen de datos generados, también crece la necesidad de contar con recursos computacionales más robustos, tanto en cuanto a programas con algoritmos especializados para el análisis, como en relación con bases de datos que contengan información detallada sobre genomas microbianos (Cortés et al., 2021).

Aplicación bioinformática	Método de análisis
MG-RAST	Anota funciones y estructuras comparando con bases de datos por homología.
MOTHUR	Analiza el gen 16S rRNA y calcula diversidad ecológica; genera gráficos como mapas de calor y dendrogramas.
QIIME	Evalúa perfiles microbianos usando el gen 16S rRNA y compara muestras.
PhaMe	Compara SNPs en genomas completos para análisis evolutivo.
VITCOMIC1	Muestra la composición filogenética usando secuencias del gen 16S.
16SPIP	Detecta patógenos clínicos con secuencias del 16S rRNA.
PICRUSt	Predice funciones microbianas a partir del 16S y genomas de referencia.
Cowpi	Analiza el microbioma ruminal usando PICRUSt.

Kraken	Clasifica ADN metagenómico usando alineación de <i>k-mers</i> .
Kaiju	Clasifica secuencias a nivel proteína, útil para géneros poco representados.

Cuadro 2 Programas bioinformáticos para el análisis de secuencias metagenómicas (Cortés, et al., 2021).

18 QIIME.

QIIME es una herramienta muy útil para analizar comunidades microbianas usando datos de secuenciación masiva, sobre todo cuando se trabaja con el gen 16S rRNA. A diferencia de los métodos más antiguos como la secuenciación Sanger, este programa aprovecha la secuenciación de nueva generación (NGS), lo que permite estudiar directamente la diversidad microbiana presente en muestras del ambiente sin tener que hacer clonaciones ni cultivos (Caporaso et al., 2010).

Lo padre de QIIME es que hace mucho más fácil todo el proceso, desde limpiar y filtrar las secuencias, hasta agruparlas en OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales), asignarles una clasificación taxonómica y analizar qué tan diversa es una muestra. Además, permite visualizar los resultados de una forma clara y entendible.

Gracias a eso, se pueden identificar miles de microorganismos en una sola muestra, lo que hace que sea una herramienta muy completa y confiable. Por eso, QIIME se ha convertido en una de las plataformas más utilizadas en estudios de ecología microbiana y metagenómica (Caporaso et al., 2010).

19 Materiales y métodos

19.1 Área de estudio

La región de la Comarca Lagunera se encuentra conformada el sureste del estado de Coahuila y noroeste del estado de Durango. Este territorio se ubica entre los meridianos 102° 00 y 104° 47 de longitud oeste, y los 24° 22 y 26° 23 de latitud norte. Comprende quince municipios, de los cuales diez corresponden a Durango y cinco a Coahuila, con un total de 48 mil 887 punto

50 kilómetros cuadrados (Páez, 2005). El trabajo se elaboró en cinco municipios de la Comarca Lagunera del estado de Durango, México; Gómez Palacio, Lerdo, Mapimí-La cadena, Ceballos y Tlahualilo. La región de la comarca Lagunera es una región con clima semiárido.

19.2 Trabajo de campo y elaboración de pools

El trabajo de muestreo se realizó en los meses de octubre a noviembre del 2023, se recolectaron garrapatas tanto de perros en estado de calle y peri-domésticos así como garrapatas en el ambiente, tratando de tomar sólo garrapatas no ingurgitadas, no prendidas o que aparentaban poco tiempo de alimentarse. Con pinzas de punta fina se tomaban las garrapatas lo más cercanas a la piel, con una presión uniforme y constante se tiraban hacia arriba teniendo cuidado de retirarlas en una sola pieza. Las garrapatas fueron depositadas en frascos de 150 ml polipropileno estériles. Las garrapatas se llevaron al laboratorio con vida y se identificaron como *Rhipicephalus sanguineus* (Walker et al., 2000). Se agruparon (generación de pools) en seis pools por localidad, tres de machos y tres de hembras respectivamente, con 50 garrapatas por cada pool de las cinco localidades, lo que resultó en 30 pools o 1500 garrapatas.

19.3 Extracción de ADN

La extracción de ADN de las garrapatas se realizó con el kit ZymoBIOMICS® DNA Miniprep Kit (Zymo Research, Irvine, CA) siguiendo el protocolo establecido. La concentración y la calidad del ADN obtenido de las muestras se midieron en un Qubit® 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.).

Preparación de la biblioteca específica y secuenciación

Las muestras fueron procesadas y analizadas con el servicio de secuenciación dirigida ZymoBIOMICS® (Zymo Research, Irvine, CA). Todo el gen 16S se amplificó utilizando los cebadores 27f (AGRGTTYGATYMTGGCTCAG) y 1492r(RGYTACCTTGTTACGACTT3) con códigos de barras y adaptadores. Se utilizaron 2 ng de ADN como plantilla de PCR para cada muestra. La PCR se realizó con la ADN polimerasa Kapa Hifi HotStart durante 25 ciclos siguiendo las condiciones mencionadas en el protocolo (PacBio, 2022). Después de eso, el producto de PCR de cada reacción se limpió con el kit Select a-Size DNA Clean & Concentrator MagBead (Zymo Research, Irvine, CA) manteniendo los fragmentos >300 pb. Luego, la biblioteca de cada reacción se cuantifica mediante NanoDrop y se agrupa con la misma masa de ADN. Para preparar la secuenciación de PacBio, la biblioteca agrupada se procesó aún

más utilizando el kit de preparación SMRTbell® 3.0. Finalmente, la biblioteca se secuenció en una célula SMRT 8M en el sistema Sequel II.

19.4 Muestras de control

Se utilizó como control positivo para el proceso de preparación de la biblioteca el estándar de ADN de la comunidad microbiana ZymoBIOMICS® (Zymo Research, Irvine, CA). Se incluyeron controles negativos (es decir, control de extracción en blanco, control de preparación de biblioteca en blanco) para evaluar el nivel de carga biológica transportada por el proceso de laboratorio húmedo.

19.5 Análisis bioinformático y estadístico

19.5.1 Composición taxonómica

El análisis de secuencias se realizó con QIIME2 (Bolyen et al., 2019). Posteriormente, utilizamos el algoritmo Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2 (DADA2) para eliminar el ruido de la secuencia, lo que incluyó la eliminación de secuencias de baja calidad, el filtrado de secuencias ruidosas, quiméricas y singleton, y la corrección de errores en secuencias de borde (Callahan et al., 2016, 2017). Luego, obtuvimos los archivos de salida de DADA2 que incluyen una tabla de características (tabla ASV sin procesar) y secuencias ASV representativas. Luego, se utilizó el complemento clasificador de características QIIME2 para alinear las secuencias ASV con la base de datos Greengenes2 (McDonald et al., 2023) para asignar la taxonomía. Las abundancias absolutas y relativas se obtuvieron sólo para nivel de especie.

A partir de aquí el análisis se enfocó en *Anaplasma platys*. Para validar que la secuencia obtenida en el análisis corresponda exactamente con el gen de *A. platys* se obtiene una previsualización en QIIME2 view (<https://view.qiime2.org/>) de aquí utilizamos el feature ID de *A. platys* obtenido del archivo gg_taxonomy.qzv. Con el archivo anterior obtenido rep-seqs.qzv se captura la secuencia completa la cual es llevada a Microbial Nucleotide BLAST y se ejecuta un BLASTn. De ahí se obtiene; Blast Research Request Id, accession, total score, description, scientific name y finalmente el porcentaje de identidad, el cual se busca que sea el 100%.

Se realizó una gráfica de sectores que compara la abundancia relativa de *Anaplasma platys* con el resto de las bacterias obtenidas de las garrapatas. Hay que destacar que la abundancia relativa se mide con respecto a todo el microbioma en general que posé la garrapata *R.*

sanguineus a nivel de especie y de ahí se obtiene el porcentaje del agente Patógeno analizado (*A. platys*).

A partir de la presencia o ausencia del *A. platys* en cada pool de cada localidad se obtuvo la frecuencia del taxón. Además, se generaron gráficas de barras que muestran los pools que obtuvieron mayor abundancia relativa por cada localidad.

Finalmente, se realizó una ANOVA factorial (dos factores) y análisis post hoc para ver la interacción de y entre localidades y sexo y si influye en la abundancia de *A. platys* y ver si hay diferencias entre las localidades de la Laguna de Durango.

20 Resultados

En el presente trabajo se registró a la bacteria *Anaplasma platys* en cuatro de las cinco localidades analizadas dentro de la Comarca Lagunera de Durango, y en 9 de los 30 pools analizados.

La siguiente secuencia fue corroborada en la base de datos del NCBI (National Center of Biotechnology Information) por medio de BLAST Microbes Genomes:

AACGAACGCTGGCGGCAAGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGATTTTTGTCGTAGCTTG
 CTATGATAAAAATTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCTAGTAGTATG
 GGATAGCCACTAGAAATGGTGGGTAATACTGTATAATCCCTGCGGGGGAAAGATTTATC
 GCTATTAGATGAGCCTATGTTAGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCCTACCAAGGCA
 GTGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGTACGGTCCAG
 ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGC
 TATGCCGCGTGAGTGAGGAAGGCCTTAGGGTTGTAAACTCTTTCAGTGGGGAAGATAA
 TGACGGTACCCACAGAAGAAGTCCCGGCAAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACG
 GAGGGGGCAAGCGTTGTTCTGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCATGTAGGCGGTTCGGTA
 AGTTAAAGGTGAAATGCCAGGGCTTAACCCTGGAGCTGCTTTTAATACTGCCAGACTCG
 AGTCCGGGAGAGGATAGCGGAATTCCTAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTAGGAG
 GAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTATCTGGTCCGGTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCG
 TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGAGTGCTGAA
 TGTGGGGACGTTTTGTCTCTGTGTTGTAGCTAACGCGTTAAGCACTCCGCCTGGGGACT
 ACGGTCGCAAGACTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCA
 TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCACTTCTTGACATGGAGATTAGATC

CTTCTTAACGGAAGGGCGCAGTTCGGCTGGATCTCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCTG
 TCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGTAACCCTCATCCTTA
 GTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGGCACTTTAAGGAGACTGCCAGTGGTAAACTGGAGGAA
 GGTGGGGATGATGTCAAGTCAGCACGGCCCTTATGGGGTGGGCTACACACGTGCTACA
 ATGGTGACTACAATAGGTTGCAATGTCGCAAGGCTGAGCTAATCCGTAAAAGTCATCTCA
 GTTCGGATTGTCCTCTGCAACTCGAGGGGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAT
 CAGCATGCCACGGTGAATACGTTCTCGGGTCTTGTACACACTGCCCCGTCACGCCATGGG
 AATTGGCTTAACTCGAAGCTGGTGCGCCAACCGCAAGGAGGCAGCCATTTAAGGTTGGG
 TCAGTGACTAGGGTG.

Esta secuencia coincidió con el Blast Research Request Id: 9JYF9MWV016, accession: NZ_CP046391.1, total score 2634; description: *Anaplasma platys* strain S3 chromosome, scientific name: *Anaplasma platys*, con un porcentaje de identidad del 100.00%.

Considerando los nueve pools positivos a *A. platys*, se obtuvo una media de abundancia absoluta de 242.46 ASVs para esta especie bacteriana, lo que representa un 1.08% en abundancia relativa, ocupando la novena posición general del microbioma de la garrapata *R. sanguineus* (Fig. 1).

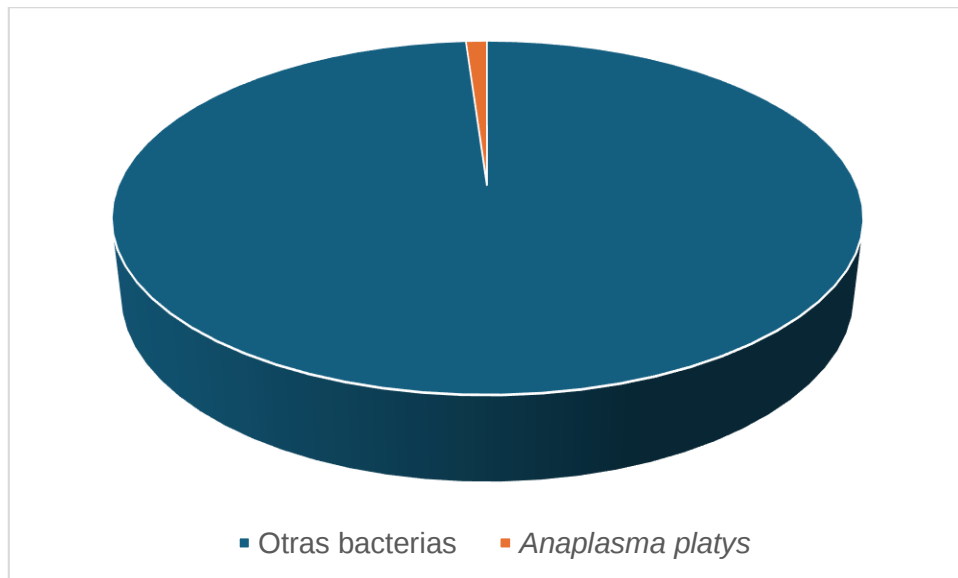


Figura 1. Gráfica de sectores que compara la abundancia relativa de *Anaplasma platys* vs. la abundancia de las otras bacterias dentro de las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en la Comarca Lagunera de Durango.

El municipio de Ceballos registró tres pools positivos a *A. platys* lo que representa un 50% de frecuencia en esta localidad. El pool más abundante en *A. platys* fue el CM1, que correspondió a machos de *R. sanguineus* con 7.21% de abundancia relativa (Fig. 2). Ceballos tuvo una media de abundancia en el estudio de 1.31%.

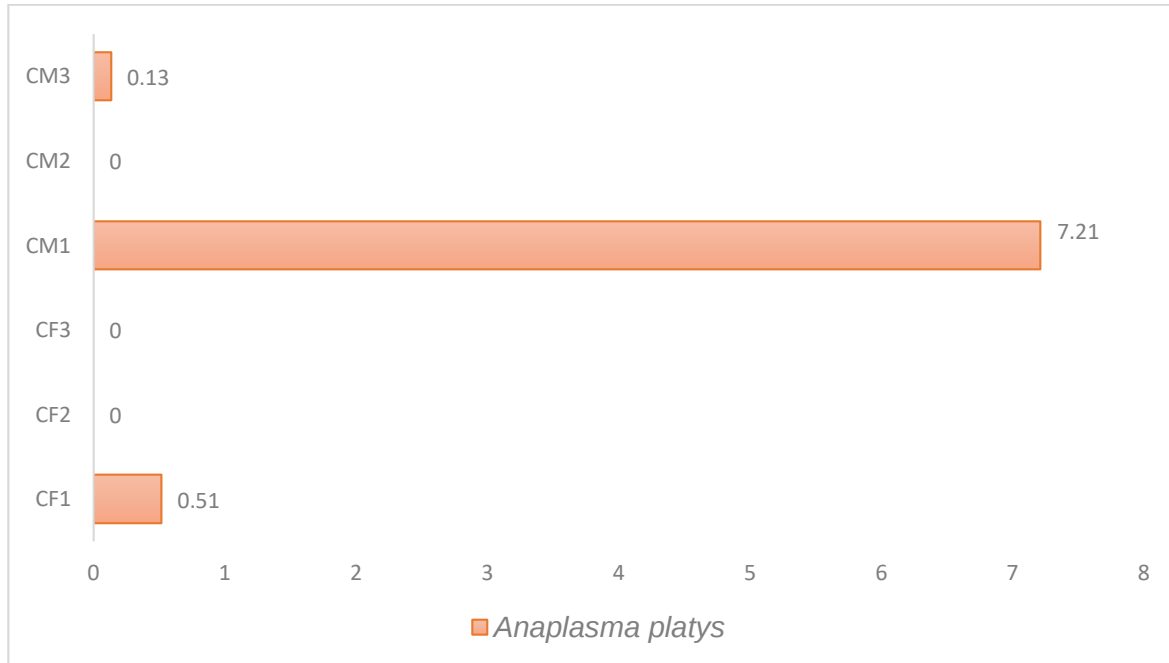


Figura 2. Gráfica de barras que muestra la abundancia relativa de *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* del municipio de Ceballos, Durango.

Para Gómez Palacio hubo presencia de *A. platys* en dos de los seis pools analizados lo que representa un 33.33% de frecuencia en este municipio. El pool que mostró mayor abundancia fue el pool de hembras GF3 (2.33%); Fig. 3. Gómez Palacio tuvo una media de abundancia en el estudio de 0.49%.

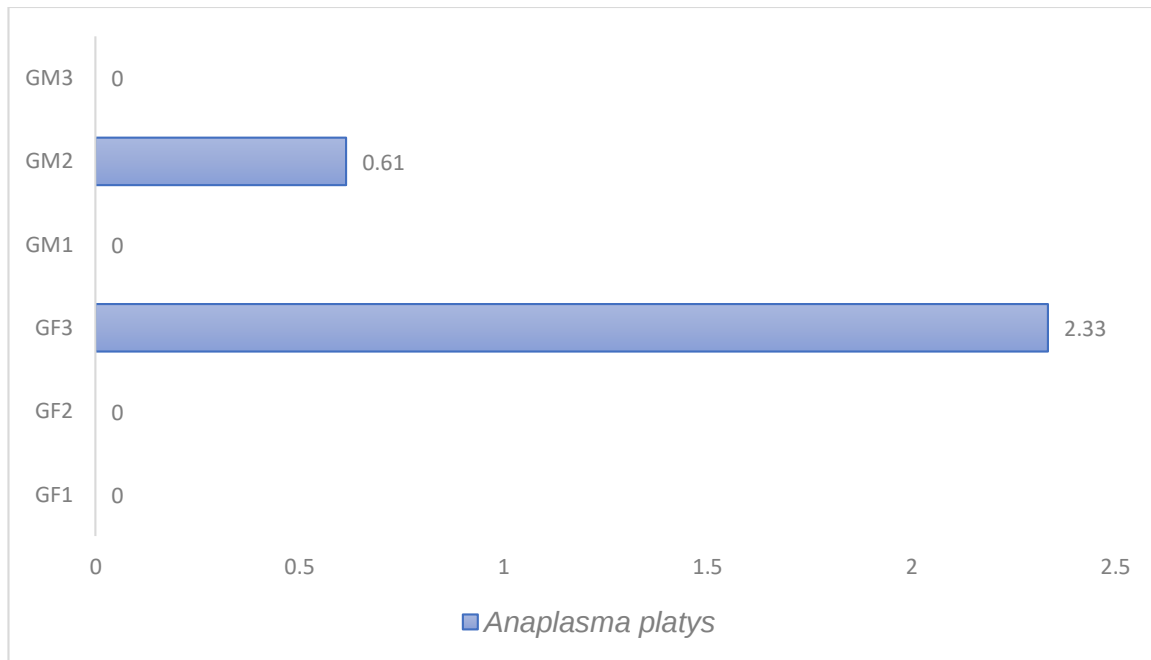


Figura 3. Gráfica de barras que muestra la abundancia relativa de *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* del municipio de Gómez Palacio, Durango.

En el municipio de Lerdo no fue detectado *A. platys*. Sin embargo, en lo que respecta a Mapimí-La Cadena se registró esta bacteria en tres de los seis pools analizados, equivalente a un 50% de frecuencia. Un pool de machos (MM2) fue el más sobrerrepresentado en el análisis general con 13.17% (Fig. 4). La media general de Mapimí-La Cadena fue de 3.45%, la más alta en este estudio, en comparación con las otras localidades.

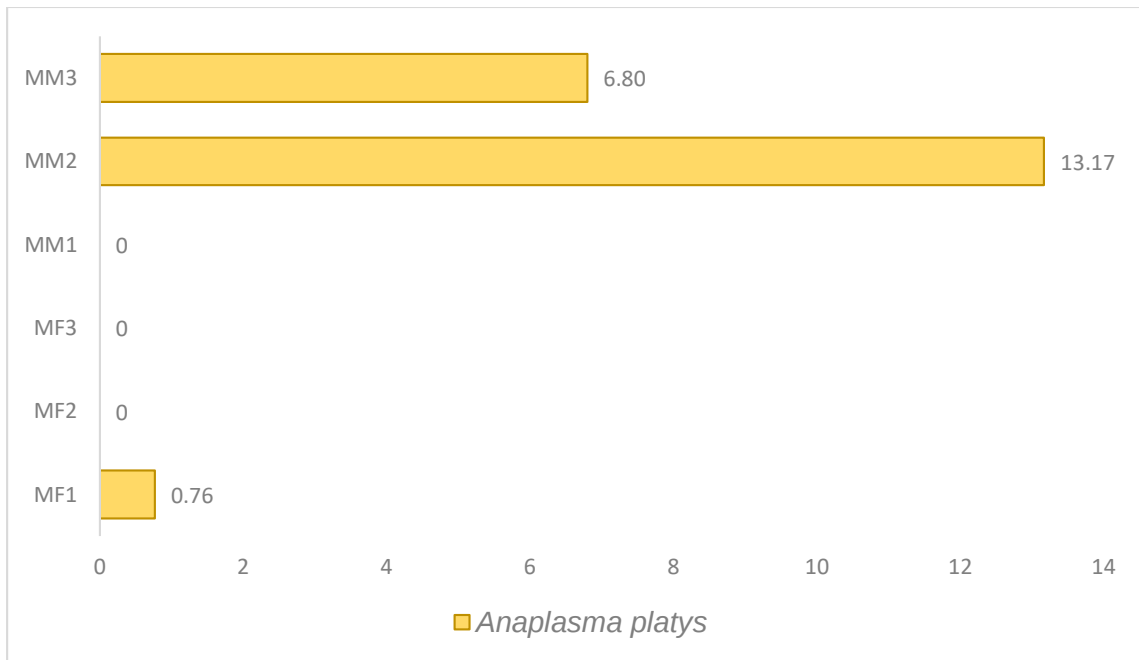


Figura 4. Gráfica de barras que muestra la abundancia relativa de *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* del municipio de Mapimí-La Cadena, Durango.

El municipio de Tlahualilo solo presentó un pool positivo a *A. platys* lo que representa un 16.66% de frecuencia. Dicho pool perteneció a machos con una abundancia relativa general de 0.85% (Fig. 5). La media de abundancia de *A. platys* en Tlahualilo fue de 0.14%.

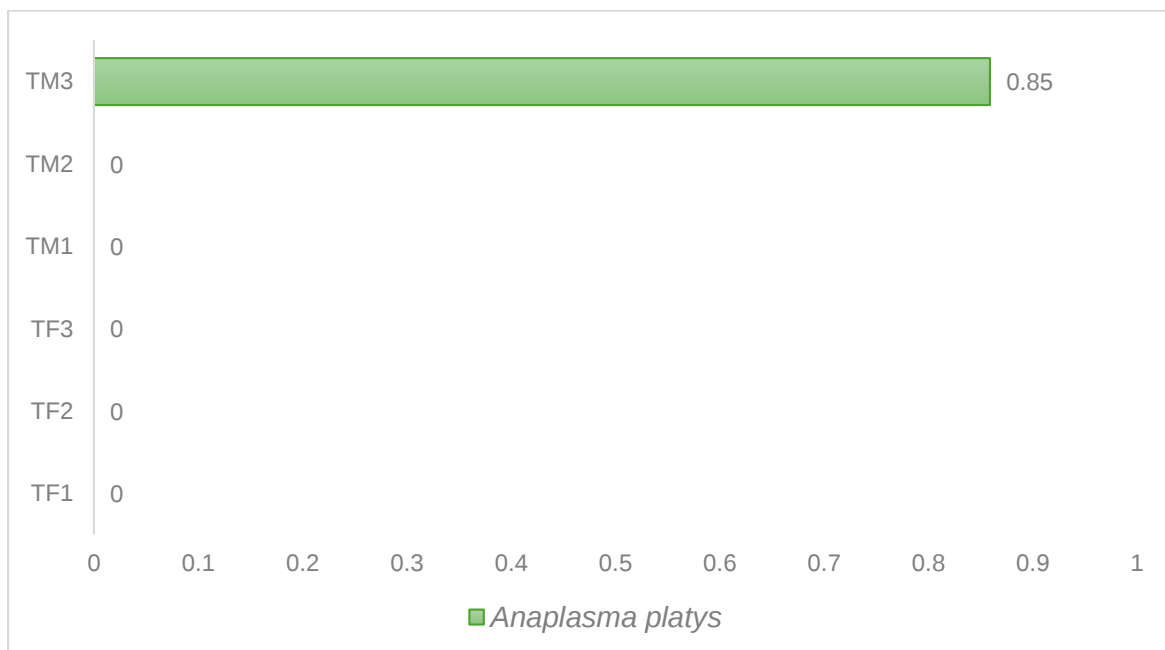


Figura 5. Gráfica de barras que muestra la abundancia relativa de *Anaplasma platys* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* del municipio de Tlahualilo, Durango.

En ANOVA factorial no se observó diferencia significativa en cuanto a la abundancia absoluta de *A. platys* entre localidades ($F = 1.648$, g.l. = 4,20; $p = 0.201$), ni entre sexos ($F = 2.829$, g.l. = 1,20; $p = 0.108$). La interacción tampoco resultó significativa ($F = 1.618$, g.l. = 4,20; $p = 0.209$). Esto indica que las abundancias de *A. platys* se mantuvieron homogéneas en la región bajo estudio (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Resultado del ANOVA factorial comparando la abundancia absoluta entre localidades, entre sexos y su interacción en las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en la Comarca Lagunera de Durango.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: abundancia

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5005956.133 ^a	9	556217.348	1.766	.139
Intersección	1763702.533	1	1763702.533	5.600	.028
Localidad	2076690.467	4	519172.617	1.648	.201
Sexo	890963.333	1	890963.333	2.829	.108
Localidad * Sexo	2038302.333	4	509575.583	1.618	.209
Error	6299249.333	20	314962.467		

Total	13068908.000	30			
Total corregido	11305205.467	29			

a. R al cuadrado = .443 (R al cuadrado ajustada = .192)

Tabla 2. Resultado del análisis Post Hoc (Bonferroni) comparando la abundancia absoluta entre localidades de la Comarca Lagunera de Durango.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: abundancia

Bonferroni

(I) Localidad	(J) Localidad	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	95.6667	324.0177 3	1.000	-926.0910	1117.4243
	3	-203.1667	324.0177 3	1.000	-1224.9243	818.5910
	4	-584.8333	324.0177 3	.862	-1606.5910	436.9243
	5	130.0000	324.0177 3	1.000	-891.7577	1151.7577
2	1	-95.6667	324.0177 3	1.000	-1117.4243	926.0910
	3	-298.8333	324.0177 3	1.000	-1320.5910	722.9243
	4	-680.5000	324.0177 3	.486	-1702.2577	341.2577

3	5	34.3333	324.0177 3	1.000	-987.4243	1056.0910
	1	203.1667	324.0177 3	1.000	-818.5910	1224.9243
	2	298.8333	324.0177 3	1.000	-722.9243	1320.5910
	4	-381.6667	324.0177 3	1.000	-1403.4243	640.0910
	5	333.1667	324.0177 3	1.000	-688.5910	1354.9243
4	1	584.8333	324.0177 3	.862	-436.9243	1606.5910
	2	680.5000	324.0177 3	.486	-341.2577	1702.2577
	3	381.6667	324.0177 3	1.000	-640.0910	1403.4243
	5	714.8333	324.0177 3	.392	-306.9243	1736.5910
5	1	-130.0000	324.0177 3	1.000	-1151.7577	891.7577
	2	-34.3333	324.0177 3	1.000	-1056.0910	987.4243
	3	-333.1667	324.0177 3	1.000	-1354.9243	688.5910
	4	-714.8333	324.0177 3	.392	-1736.5910	306.9243

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 314962.467.

21 Discusión

En este estudio, la primera hipótesis planteaba que en la Laguna de Durango existían especies del género *Anaplasma* potencialmente patógenas para animales y humanos, y los resultados confirmaron dicha hipótesis. Esto se debe a que se detectó *Anaplasma platys* en cuatro de las cinco localidades analizadas dentro de la Comarca Lagunera, lo que respalda la idea de que *Anaplasma* está presente en la región. Sin embargo, la segunda hipótesis, que sugería que habría diferencia significativa en la abundancia relativa de *Anaplasma spp.* según la localidad y el sexo de las garrapatas, no se cumplió; por lo tanto, se acepta la hipótesis nula. Los análisis estadísticos mediante ANOVA multifactorial no mostraron diferencias significativas en la abundancia de *A. platys* entre las distintas localidades ni en función del sexo de las garrapatas. Esto indica que, aunque *A. platys* sí está presente en la región, su abundancia relativa no varía significativamente entre localidades o entre los machos y hembras de *Rhipicephalus sanguineus*.

Después de analizar la frecuencia y abundancia de *A. platys* en garrapatas *R. sanguineus* en la Comarca Lagunera de Durango, los resultados muestran que fue detectado en cuatro de las cinco localidades estudiadas, aunque con ciertas variaciones. En las localidades donde se encontró, la frecuencia y abundancia relativa no fueron iguales. Por ejemplo, en Ceballos y Mapimí-La Cadena se observaron las mayores frecuencias, con un 50% de pools positivos en cada una. En Ceballos, la mayor abundancia relativa fue en machos (7.21%), y en Mapimí-La Cadena también fueron los machos quienes mostraron una abundancia alta (13.17%). Esto sugiere que en estas zonas podría haber condiciones que favorecen la proliferación de *A. platys*. En Gómez Palacio, la frecuencia fue de 33.33%, con abundancia relativa en hembras de 2.33%. En cambio, en Lerdo no se encontró presencia de *A. platys*, y en Tlahualilo solo hubo un pool positivo, con frecuencia del 16.66% y abundancia relativa del 0.85%.

Comparando con lo que encontró Shu et al. (2021) en su estudio en Hainan, China, ellos observaron que la microbiota de *R. sanguineus* sí presentaba diferencias según el sexo, lo cual no ocurrió en este estudio. En la Comarca Lagunera, no hubo diferencia significativa entre machos y hembras en cuanto a la presencia de *Anaplasma spp.*, lo que puede deberse a que, a diferencia del estudio de Shu et al., las condiciones ambientales de Durango como el clima seco y la baja humedad no favorecen mucho la variación en la microbiota entre sexos. Es decir, aunque en China encontraron que factores biológicos como la fisiología reproductiva o el

comportamiento podían influir en el perfil microbiano de las garrapatas, aquí no parece haber esa misma influencia.

Además, Estrada-Peña et al. (2004) explican que el clima tiene un papel importante en la biología de *R. sanguineus*, especialmente la temperatura y la humedad. A mayor temperatura, aumenta su actividad y agresividad, lo que puede elevar el riesgo de transmisión de patógenos. Pero también se señala que la humedad afecta la longevidad de las garrapatas, sobre todo de las hembras, ya que necesitan ciertos niveles de humedad para poner sus huevos. Esto nos ayuda a entender por qué puede que no haya mucha variación entre localidades: Durango es mayormente cálido y seco, y ese ambiente probablemente limita la proliferación de garrapatas y de *Anaplasma*, haciendo que los niveles de abundancia se mantengan similares entre localidades. A su vez, esto puede influir en que la microbiota no varíe mucho tampoco, ya que si no hay condiciones ambientales que cambien de una zona a otra, es más probable que el perfil microbiano se mantenga constante.

Cicuttin et al. (2014), en su estudio en Bahía Blanca, Argentina, encontraron un 35.5% de *A. platys* en muestras sanguíneas de perros infestados por *R. sanguineus*, lo cual es una frecuencia más alta que la de este estudio. Bahía Blanca tiene un clima muy diferente al de Durango, con lluvias la mayor parte del año, lo que da lugar a un ambiente más húmedo que favorece tanto a las garrapatas como a su microbiota. Esto resalta cómo el clima, especialmente la humedad, puede tener un impacto fuerte en la presencia y abundancia de patógenos como *A. platys*.

Se puede inferir entonces que los microclimas en los municipios analizados del estado de Durango comparten características similares: el mismo tipo de clima, vegetación, orografía, y un mismo huésped (el perro). Por eso, la distancia entre localidades no parece suficiente para generar variaciones importantes en la composición bacteriana de las garrapatas *R. sanguineus*, al menos en cuanto a *A. platys* se refiere.

Todos estos hallazgos refuerzan la importancia de seguir haciendo vigilancia epidemiológica en enfermedades transmitidas por vectores, sobre todo porque enfermedades zoonóticas como la anaplasmosis están aumentando y pueden afectar tanto la salud pública como la animal. Además, conocer mejor la distribución y frecuencia de *Anaplasma spp.* nos permite diseñar mejores estrategias de prevención y control en la región de la Comarca Lagunera de Durango.

22 Conclusión

Los resultados más relevantes de este estudio fueron la detección de *Anaplasma platys* en cuatro de cinco localidades de la Comarca Lagunera de Durango, lo que confirma la presencia de este agente en la región. Aunque no se encontraron diferencias significativas en su abundancia entre localidades ni entre sexos de garrapatas, la presencia de *A. platys* representa un posible riesgo para la salud animal y, en menor medida, para la salud humana. Por lo tanto, se recomienda realizar futuras investigaciones más amplias que analicen tanto la incidencia como la prevalencia de *Anaplasma* spp., especialmente en perros, su principal hospedero, para seguir monitoreando esta enfermedad en la región.

23 Literatura citada

- Aguilar, H. y Quiroz, R. E. (2024). Análisis del microbioma de las garrapatas de ganado, un nuevo abordaje basado en metagenómica. *CIENCIA ergo-sum*, 31
- Aguilar, H., Quiroz, R. E., Castro, E., Hernández, R., & Santoyo, I. (2021). Avance en el estudio del microbioma de garrapatas: una visión hologenómica en busca de nuevas estrategias para su control: Advances in the study of the tick microbiome: a hologenomic view in search of new strategies for its control. *Revista Del Centro De Investigación De La Universidad La Salle*, 14(56), 123–136.
- Atif, F.A. (2015) *Anaplasma Marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*: Rickettsiales pathogens of Veterinary and Public Health Significance. *Parasitology Research*, 114(11), pp. 3941–3957.
- Barker, S.C. and Murrell, A. (2008) Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names, *Ticks*, pp. 1–39.
- Bonilla-Roso, G. *et al.* (2008) METAGENÓMICA, GENÓMICA Y ECOLOGÍA MOLECULAR: LA NUEVA ECOLOGÍA EN EL BICENTENARIO DE DARWIN. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 11(1):41-51.

- Castrosanto, M.A., Mukerjee N., Ramos, A.R., Maitra, S., Manuben, J.J.P., Das, P. (2022). Abetting host immune response by inhibiting rhipicephalus sanguineus Evasin-1: An in silico approach. PLoS ONE 17(9).
- Cicuttin, G. L., De Salvo, M. N., & González, P. E. (2014). *Detección molecular de Rickettsia massiliae y Anaplasma platys en garrapatas Rhipicephalus sanguineus y caninos domésticos del municipio de Bahía Blanca (Argentina)*. Revista Argentina de Microbiología, 46(2), 120–123.
- Coello, R., Cedeño, P., Salazar, M.L., Ríos, T. (2017). Anaplasmosis en canes de la zona urbana del cantón Palenque. Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento. 1(5).
- Cortés, N. *et al.* (2014) Metagenómica: una ventana de oportunidad a nuevos genes y genomas microbianos. Revista Iberoamericana de Ciencias, 1(7) 45-58.
- Cortés, N. G., Ordóñez, P. L. & Domínguez, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. Rev Mex Cienc Pecu, 11(4).
- Dantas, F. (2010) 'Biology and ecology of the brown dog tick, rhipicephalus sanguineus', *Parasites & Vectors*, 3(1).
- Díaz, A.A., Obregón, D., Santos, H.A., Corona, B. (2023).Advances in the Epidemiological Surveillance of Tick-Borne Pathogens. Pathogens 2023, 12(633).
- El Hamiani Khatat, S. *et al.* (2021) Epidemiological and clinicopathological features of Anaplasma phagocytophilum infection in dogs: A systematic review, *Frontiers in Veterinary Science*, 8.
- Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J.-L., & Walker, A. R. (2004). *Ticks of domestic animals in the Mediterranean region: A guide to identification of species*. University of Zaragoza.
- Guillén, M. S., Callejas, I. & Oteo, J.A. (2023). Enfermedades transmitidas por garrapatas. Protoc diagn ter pediatr, 2.
- Juasook, A. *et al.* (2021) Molecular detection of tick-borne pathogens in infected dogs associated with Rhipicephalus sanguineus tick infestation in Thailand. *Veterinary World*, pp. 1631–1637.

Llória, M.T. (2002). Garrapatas parásitos animales. *Farmacia profesional*, 16(5).

López, C. C. *et al.* (2021) Aplicaciones de las técnicas de secuenciación masiva en la Microbiología Clínica. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), 71.

Manzano, R., Díaz, V. & Pérez, R. (2012). Garrapatas: Características anatómicas, epidemiológicas y clínico vital. Detalles de la influencia de las garrapatas sobre la producción y la sanidad animal. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 160(8).

Márquez, F. j., Hidalgo, A., Contreras, F., Rodríguez, J.J. & Muniain, M.A. (2005). Las garrapatas (Acarina: Ixodida) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 23(2).

Montoya, P., Franco, N. D., González, M. C., Baena, N., Pulido, P., Salazar, A., Tovar, E. & Gonzalez, M. (2021). 3.1 Protocolos de genómica para monitoreo ambiental asociado a acciones de respuesta por impacto o contingencia ambiental formalizados y listos para ser transferidos a usuarios interesados. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

PacBio. (2022). *Amplification of bacterial full-length 16S gene with barcoded primers*

Páez, S. A. C. (2005). La Laguna en el siglo XVIII. Toponimia, cartografía e identidad.

Rausch, P. *et al.* (2019) Comparative analysis of Amplicon and metagenomic sequencing methods reveals key features in the evolution of Animal Metaorganisms, *Microbiome*, 7(1).

Rodriguez-Vivas, R. *et al.* (2023) La garrapata café del perro, *Rhipicephalus sanguineus*: Biología y control. *Vanguardia Veterinaria*, 10-16.

Rodríguez, R.I., Ojeda, M.M., González, M.E., Rosado, J.A. (2019). Las garrapatas como vectores de enfermedades zoonóticas en México. *Bioagrobiencias* 12(1): 19-26.

Rubio, M. C. *et al.* (2015), *Rhipicephalus sanguineus* on canines in Sinaloa, México. *REDVET* 6 (3).

Ruiz, F. (2013). Biología, ecología y distribución de las garrapatas parásitas de pequeños animales en España. *Argos*, 1(1).

Rymaszewska, A. & Grenda, S. (2008) Bacteria of the genus *Anaplasma* - characteristics of *Anaplasma* and their vectors: A Review, *Veterinární medicína*, 53(11), pp. 573–584.

- Salazar, E. (2023) Principales zoonosis transmitidas por garrapatas: aspectos ecoepidemiológicos y de salud pública. *Vanguardia Veterinaria*, 9-19.
- Shu, C. *et al.* (2024) Microbial community characteristics and pathogens detection in *Rhipicephalus sanguineus* and *Haemaphysalis hystricis* from Hainan Island, China, *Frontiers in Microbiology*, 15.
- Shu, C., Wu, C., Yang, X., Li, Y., & Gong, P. (2021). *Microbial community characteristics and pathogens detection in Rhipicephalus sanguineus and Haemaphysalis hystricis from Hainan Island, China*. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 682758.
- Tasayco, W. R. & Vásquez, J.M. (2021). Frecuencia de *Anaplasma* sp. y *Ehrlichia* sp. en caninos con sintomatología compatible con enfermedad hemoparasitaria en Huánuco, Perú. *Salud tecnol. vet*, 2.
- Theran, J. S., Dulcey, L. A., Saenz, E., Jaimes, E. M., Gutiérrez, E. A., Ordoñez, K., & Gil Sierra, D. J. (2022). Ehrlichiosis y anaplasmosis, revisión de tema sobre una enfermedad atípica emergente en humanos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(3).
- Uribe, C. & Chiquete, N. (2017). Las enfermedades transmitidas por vectores y el potencia. Uso de *Wolbachia*, una bacteria endocelular obligada, para erradicarlas. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 60(6).
- Vidal Alzate, J. *et al.* (2019). Prevalencia de *Anaplasma* spp. en humanos: Revisión Sistemática de la literatura entre 2000 y 2017. *Revista Investigaciones Andina*, 21(39), pp. 239–252.
- Walker, J. B., Keirans, J. E., & Horak, I. G. (2000). *The genus Rhipicephalus (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world*. Cambridge University Press.
- Yu, Z. *et al.* (2015) Tick-borne pathogens and the vector potential of ticks in China. *Parasites & Vectors*, 8(1).