

de que en la mayoría de los casos son confundidas con otras causas de síndrome febril agudo. A pesar de que en la actualidad se cuenta con técnicas de diagnóstico estandarizadas, muchas de éstas no están disponibles para las entidades clínicas, ya que requieren instalaciones de alto nivel de complejidad y en el caso de la inmunofluorescencia puede presentar reacción cruzada entre las diferentes especies del género (63,82), razón por la cual hoy en día las rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas siguen siendo un reto en el ámbito diagnóstico.

3.5 Importancia de los animales (domésticos y silvestres) en la transmisión de enfermedades rickettsiales y sus manifestaciones clínicas

Los principales reservorios de las rickettsias son las garrapatas, tal como se ha mencionado anteriormente, las cuales pueden llegar a transmitir la infección de forma transestadial o transovarialmente. Sin embargo, se ha demostrado también la intervención de otros organismos comúnmente conocidos como reservorios “amplificadores”, los cuales cumplen un papel imprescindible debido a la capacidad patogénica de la bacteria y su intervención es importante cuando los porcentajes de infección natural por garrapatas es bajo. A su vez, deben cumplir con algunas condiciones para ser considerados buenos “amplificadores” tales como (11):

- Deben ser abundantes en el área endémica de *R. rickettsii*.
- Deben ser hospederos importantes para las garrapatas.
- Deben ser susceptibles a la infección por *R. rickettsii*.
- Una vez infectado por *R. rickettsii*, el hospedero debe desarrollar una rickettsemia de longitud y grado suficiente para infectar a las garrapatas que se alimentan de éste.
- Debe ser una especie prolífica, para tener una introducción continua de animales no inmunes en la población huésped.

Los perros y gatos son los animales domésticos donde más se han estudiado las rickettsias (84). Los perros juegan un papel importante como anfitriones biológicos de las garrapatas y aumentan la población de este tipo de vectores infectados que en algún momento pueden entrar en estrecho contacto con la población humana y causar la enfermedad, a su vez, en las zonas endémicas son utilizados como animales centinelas para los estudios epidemiológicos de interés, cabe resaltar que en Colombia existen pocos estudios relacionado con animales amplificadores en zonas endémicas (33,85,86). Al igual que los humanos, los animales son susceptibles a ser infectados por estas bacterias; los perros por ejemplo, presentan síntomas como fiebre, letargia, vómito, depresión, anorexia, petequias, equimosis, epistaxis, conjuntivitis, diarrea, pérdida de peso y deshidratación. A medida que va progresando la enfermedad se van agravando los síntomas causando afecciones más complejas a nivel ocular, neurológico y otras patologías como anemias, trombocitopenias, dolor en las articulaciones (87). Es importante resaltar que la sintomatología no es la misma en todos los casos, varía dependiendo del agente infeccioso involucrado.

Por otra parte, los caballos son animales domésticos que han sido también muy estudiados y actualmente existen reportes en los que se documentan que cuando son infectados por *R. rickettsii* no muestran signos clínicos ni anormalidades hematológicas, sin embargo, logran

desarrollar anticuerpos anti-rickettsiales (88), lo cual resulta muy útil para su identificación por medio de pruebas serológicas.

3.6 Diagnóstico

El gran reto en la actualidad, es el diagnóstico de la enfermedad que debido a la dificultad en el diagnóstico diferencial y a la reacción cruzada con otros patógenos, en muchas ocasiones, son confundidos por infecciones de origen viral o bacteriano. Existen métodos tanto directos como indirectos para la detección de la rickettsiosis en cada una de sus diferentes fases (convaleciente y aguda) entre los que se encuentran los cultivos celulares, pruebas moleculares, inmunohistoquímica y pruebas serológicas (89).

Las rickettsias al ser bacterias intracelulares obligadas no crecen en medios de cultivo convencionales, por lo que para su aislamiento y proliferación se requiere de animales de laboratorio, huevos embrionados o líneas celulares como Vero, HEL, L-929 o de artrópodos (90). Es importante resaltar que su crecimiento es muy lento además el efecto citopático no es siempre detectable por esta técnica. Actualmente, la única prueba diagnóstica confirmatoria absoluta es el aislamiento de *R. rickettsii* de la sangre de los pacientes, a través de técnicas de inoculación en cultivos celulares, como por ejemplo la técnica del vial de Shell (91). Sin embargo, muy pocos laboratorios en el país poseen la capacidad técnica para realizar el cultivo de este microorganismo, ya que no cuentan con toda la normativa en materia de bioseguridad (90).

La persistencia de anticuerpos después de una infección por rickettsias es variable, y depende del patógeno involucrado y los factores inherentes al hospedero. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es considerada la técnica de referencia en estudios serológicos para *Rickettsia* pues presenta una sensibilidad de 91,7% y una especificidad de 82,0%, valores que pueden variar según los antígenos empleados (92,90). En este tipo de ensayos se deben evaluar, idealmente, muestras de suero pareadas, con el fin de detectar seroconversión (≥ 4 títulos o ≥ 2 veces la dilución) frente antígenos específicos (93). Aunque esta prueba es de fácil acceso y manejo, su mayor limitación surge de las frecuentes reacciones cruzadas que se presentan entre las diferentes especies de *Rickettsia*, en particular, cuando éstas integran el mismo grupo filogenético (89). Otro método en el cual se utilizan muestras de suero, es la técnica Western Blot asociada con inmunoabsorción cruzada, el cual tiene como objetivo identificar el agente involucrado en la infección, descartando reacciones cruzadas con otras especies (3).

Así mismo, las técnicas moleculares, como la PCR y la secuenciación, permiten un diagnóstico rápido y específico al detectar material genético del microorganismo en tejidos infectados (biopsias), garrapatas, cultivos. La técnica comprende la amplificación de genes conservados del género *Rickettsia* (*gltA*, *OmpA*, *OmpB*, *sca4*, *htrA* y 16S rDNA) los cuales son identificados por medio de PCR convencional o qPCR (3). En los últimos años se ha utilizado exitosamente la PCR en tiempo real para la detección de rickettsias en distintas muestras clínicas, la cual permite la obtención de resultados en menos de 1 hora para la correcta identificación entre especies de rickettsias pertenecientes al grupo de fiebres manchadas (94).