

***Rickettsia typhi* in rodents from a community with history of murine typhus from Yucatan, Mexico**

***Rickettsia typhi* en roedores de una comunidad con antecedentes de tifo murino, de Yucatán, México**

Marco Torres-Castro¹ M.Sc; Daly Martínez-Ortiz² Ph.D; Alonso Panti-May³ M.Sc; Edgar Koyoc-Cardaña³ M.Sc; Karina López-Ávila¹ Lic; Karla Dzul-Rosado¹ Ph.D; Jorge Zavala-Castro^{1,4} Ph.D; Juan Chablé-Santos³ Ph.D; Pablo Manrique-Saide^{3*} Ph.D.

¹Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Avenida Itzáes, Nro. 490 por calle 59 Col. Centro, Mérida, México. ²Servicios de Salud de Yucatán, Coordinación de Zoonosis. Calle 72, Nro. 463 por 53 y 55 Col. Centro, Mérida, México. ³Universidad Autónoma de Yucatán, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Unidad Colaborativa para Bioensayos Entomológicos. Carretera Mérida-X'matkuil, Km. 15.5, Mérida, México. ⁴Universidad Marista. Periférico Norte, Tablaje Catastral 13941 Carretera Mérida-Progreso, Mérida, México. *Correspondencia: msaide@correo.uady.mx

Received: November 2017; Accepted: June 2018.

ABSTRACT

Objective. To determine the presence of *Rickettsia typhi* in synanthropic rodents captured in the rural community of Bolmay, Yucatan, Mexico, an area with history of murine typhus cases. **Materials and methods.** Thirty *Mus musculus*, 6 *Rattus rattus* and 1 *Heteromys gaumeri* were examined. Total DNA was obtained of rodent's spleen. The identification of *Rickettsia typhi* was performed through the fragment's amplification of the *htrA* (17-kDa gene protein) by endpoint PCR. The positive products were purified and sent for sequencing and analysis with the BLAST tool. **Results.** Rickettsial DNA was identified in 27% (10/37) of the rodents: seven *M. musculus* and 3 *R. rattus*. The alignment analyses obtained identity and coverage percentages of 97 - 99% for *R. typhi*. **Conclusions.** The present study suggests the participation of synanthropic rodents in the murine typhus cycle in the region. We described the first molecular evidence of *R. typhi* in *M. musculus* of Yucatan, Mexico.

Keywords: Infection; *Mus musculus*; PCR; rats (Source: DeSC).

RESUMEN

Objetivo. Determinar la presencia de *Rickettsia typhi* en roedores sinantrópicos capturados en la comunidad rural de Bolmay, Yucatán, México, con antecedentes de tifo murino en sus habitantes. **Materiales y métodos.** Se examinaron 37 roedores: 30 *Mus musculus*, 6 *Rattus rattus* y 1 *Heteromys gaumeri*. Se obtuvo ADN total del bazo de los roedores. La identificación de *R. typhi* se realizó a través de la amplificación de un fragmento del gen *htrA* (proteína 17-kDa) por PCR punto final. Los productos positivos fueron purificados y enviados a secuenciación para su análisis de alineamiento con la herramienta BLAST. **Resultados.** La identificación de ADN rickettsial se logró en un 27% (10/37) de los roedores: siete *M. musculus* y 3 *R. rattus*. El análisis de alineamiento obtuvo porcentajes de identidades y coberturas del 97 - 99% para *R. typhi*, respectivamente. **Conclusiones.** El presente estudio sugiere la participación de los roedores sinantrópicos en el ciclo de transmisión del tifo murino en la región. Se describe la primera evidencia molecular de *R. typhi* en *M. musculus* de Yucatán, México.

Palabras clave: Infección; *Mus musculus*; PCR; ratas (Fuente: DeSC).

INTRODUCTION

Rickettsial zoonoses are caused by Gram-negative obligate intracellular bacteria of the genus *Rickettsia*, family Rickettsiaceae (1).

The new classification of the *Rickettsia* genus describes six groups (2): 1) Louse-or flea-borne typhus fever group, with two sub-groups: 1. Epidemic or louse-borne, European or historic typhus fever, whose infectious agent is *Rickettsia prowazekii* or *R. prowazekii* variety *prowazekii*; 2. Endemic or murine typhus fever, whose etiological microorganism is *Rickettsia mooseri* or *R. prowazekii* var. *mooseri*, also known as *Rickettsia typhi*. 2) Tick-borne spotted fever group, with three sub-groups: 1. New world, in which *Rickettsia rickettsii* is the bacteria agent that causes the Rocky Mountain spotted fever and the Brazilian São Paulo typhus fever; 2. Old world, in which are found the Mediterranean or Marseilles spotted fever (whose etiological agent is *Rickettsia conorii*), the South and East Africa tick typhus (caused by *R. rickettsii* var. *pijperi*), the North Asian tick rickettsiosis or tick typhus (whose infectious agent is *Rickettsia sibirica*) and the North Australian tick typhus; 3. Gamasid rickettsioses (varioliiform or vesicular), which etiological agent is *Rickettsia acari*. 3) Mite-borne fever group, in which Tsutsugamushi fever or Japanese river fever is included (caused by *Rickettsia orientalis* o *Rickettsia tsutsugamushi*). 4) Pneumotropic group of rickettsioses (Q fever group). 5). Paroxysmal group of rickettsioses. 6) Group of rickettsiae and rickettsial diseases of domestic animals. *Rickettsia typhi* has worldwide distribution, being endemic in the American continent from Canada to Argentina, predominantly in tropical and sub-tropical regions (3).

It has been described that the *R. typhi* classic enzootic cycle of transmission involves synanthropic rodents (i.e. *Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*), which act as the most important hosts of the arthropod vector, the Oriental rat flea (*Xenopsylla cheopis*) (3), which eventually parasitizes the human. A peri-domestic transmission cycle has also been mentioned in which cats, dogs, opossums, sheep and their respective fleas participate as alternative vectors (4). Fleas transmit *R. typhi* to the dogs, who can be involved in the transmission cycle in the American continent (5).

In humans, murine typhus causes nonspecific symptoms (headache, fever and rashes), so the clinical diagnosis is often confused with other febrile diseases, especially in the acute stage. Humans acquire the infection by living mainly with rodents and their reservoir ectoparasites (3,4). Murine typhus has been reported in Mexico in several States, including Yucatan, where several studies have been conducted with the objective of identifying the vectors and reservoirs involved in the transmission cycle (3).

INTRODUCCIÓN

Las rickettsiosis son enfermedades zoonóticas, ocasionadas por bacterias Gram-negativas de vida intracelular obligada, pertenecientes al género *Rickettsia*, familia Rickettsiaceae (1).

La nueva clasificación del género *Rickettsia* describe seis grupos (2): 1) Grupo tifo ocasionado por piojos o pulgas, con dos sub-grupos: 1. Tifo histórico epidémico o europeo, cuyo agente infeccioso es *Rickettsia prowazekii* o *R. prowazekii* variedad *prowazekii*; 2. Tifo endémico o murino, cuyo microorganismo etiológico es *Rickettsia mooseri* o *R. prowazekii* var. *mooseri*, conocida también como *Rickettsia typhi*. 2) Grupo de las fiebres manchadas, con tres sub-grupos: 1. Nuevo mundo, en el cual se encuentra *Rickettsia rickettsii*, bacteria causal de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas y el tifo brasileño o de São Paulo; 2. Viejo mundo, en el cual están la fiebre Mediterránea o de Marsella (cuyo agente etiológico es *Rickettsia conorii*), el tifo por garrapatas del sur y este de África (ocasionado por *R. rickettsii* var. *pijperi*), las rickettsiosis por garrapatas del norte de Asia o tifo por garrapatas (cuyo agente infeccioso es *Rickettsia sibirica*) y el tifo por garrapatas del norte de Australia. 3. Rickettsiosis por ácaros gamasidos (vesicular o varioliiforme), ocasionadas por *Rickettsia acari*. 3) Grupo de las fiebres transmitidas por ácaros (grupo tsutsugamushi), en el cual se encuentra la Fiebre de Tsutsugamushi o fiebre japonesa del río, cuyo microorganismo patógeno es *Rickettsia orientalis* o *Rickettsia tsutsugamushi*. 4) Grupo pneumotrópico de rickettsiosis (grupo de fiebre Q). 5) Grupo paroxístico de rickettsiosis y 6) Grupo de rickettsias y rickettsiosis de animales domésticos. *Rickettsia typhi* presenta una distribución mundial, siendo endémica en el continente americano desde Canadá hasta Argentina, predominantemente en regiones tropicales y subtropicales (3).

Se ha descrito que el ciclo enzoótico clásico de transmisión de *R. typhi* involucra roedores sinantrópicos (i.e. *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*), como los hospederos más importantes del artrópodo vector, la pulga oriental de la rata (*Xenopsylla cheopis*) (3), la cual eventualmente parasita al humano. También se ha mencionado un ciclo de transmisión peridoméstico en el cual participan gatos, perros, zarigüeyas, ovejas y sus respectivas pulgas como vectores alternativos (4). Las pulgas transmiten *R. typhi* a los perros, los cuales podrían participar en el ciclo de transmisión en el continente americano (5).

En el humano, el tifo murino ocasiona síntomas inespecíficos (dolor de cabeza, fiebre y erupciones cutáneas), por lo que el diagnóstico clínico suele confundirse con otras enfermedades febriles, sobre todo en la etapa aguda. Los humanos adquieren la infección al convivir principalmente con los roedores y sus ectoparásitos reservorios (3,4). En México, este padecimiento ha sido reportado en diversos Estados, entre ellos Yucatán en el sureste del país,

In May and June 2011, an outbreak of murine typhus was reported in inhabitants of the rural community of Bolmay, Yucatan, Mexico. The patients presented fever, headache, shivering, and skin rash among other symptoms (Ministry of Health of Yucatan, unpublished data). The cases were diagnosed by the Weil-Felix method as screening and ELISA as confirmatory. Additionally, Martínez-Ortiz et al (5), reported the *R. typhi* molecular detection from blood samples in 5.5% (7/128) of dogs in the same community; however, the potential role of other synanthropic vertebrates as hosts or reservoirs in the local transmission cycle was not determined. The objective of the present investigation was to determine the presence of *R. typhi* in synanthropic rodents (*Mus musculus* and *R. rattus*) captured in Bolmay, Yucatan, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Study site. Bolmay is located on the east of Yucatan, Mexico (Figure 1) (20°32'56" N, 87°56'04" W). It has a population of 312 inhabitants, distributed in 60 households built mostly with perishable or recycled materials.

The climate in the region is warm sub-humid with summer rains, with an annual temperature average of 32°C. The predominant vegetation in the periphery of the locality is low deciduous forest with patches of fodder grass and fruit trees. The land use around the urban settlement is mainly for agricultural activities and livestock production.

Capture and collection of biological samples in rodents. The capture, management, and euthanasia of the animals were carried out under the recommendations of the American Veterinary

en donde se han realizado investigaciones con el objetivo de identificar los vectores y reservorios involucrados en el ciclo de transmisión (3).

En mayo y junio de 2011, se notificó un brote de tifo murino en habitantes de la comunidad rural de Bolmay, Yucatán, México, en el cual los pacientes presentaron fiebre, cefalea, escalofríos y erupciones cutáneas, entre otros síntomas (Secretaría de Salud de Yucatán, datos no publicados). Los casos se diagnosticaron mediante el método de Weil-Félix como tamizaje y ELISA como confirmatorio. Adicionalmente, Martínez-Ortiz et al (5) reportaron la detección molecular de *R. typhi* a partir de muestras de sangre en 5.5% (7/128) de perros en esta comunidad; sin embargo, no se investigó la probable participación de otros hospederos o reservorios en el ciclo de transmisión local. El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia de *R. typhi* en roedores sinantrópicos (*Mus musculus* y *R. rattus*) capturados en Bolmay, Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. Bolmay se localiza al este de Yucatán (Figura 1), México (20°32'56" N, 87°56'04" W). Tiene una población de 312 habitantes, repartidos en 60 viviendas construidas en su mayoría con materiales perecederos o reciclados.

El clima en la región es cálido sub-húmedo con lluvias en verano, con una temperatura anual promedio de 32°C. La vegetación predominante en la periferia de la localidad es selva baja caducifolia con parches de pasto forrajero y árboles frutales. El uso de suelo alrededor del asentamiento urbano es principalmente para actividades agropecuarias como la ganadería y la agricultura.

Captura y toma de muestras biológicas en roedores. La captura, manejo y eutanasia de los animales, se realizó bajo las recomendaciones de la *American Veterinary Medical Association* (AVMA) y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). De igual forma, se contó con la aprobación de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Registro No.: SGPA/DGVS/02528/13) de México.

La captura de roedores se efectuó con trampas Sherman (8 x 23 x 9 cm; HB Sherman Traps Inc®, Florida, Estados Unidos) en 48 viviendas de habitantes diagnosticados con tifo murino o con síntomas febriles en años anteriores al muestreo (Secretaría de Salud de Yucatán, datos no publicados). Se colocaron tres trampas cebadas con una mezcla de hojuelas de avena y saborizante artificial de vainilla, durante cuatro noches consecutivas en octubre de 2014. Las trampas fueron situadas en el interior de la casa o en los alrededores durante las mañanas y se inspeccionaron en el transcurso del día siguiente.

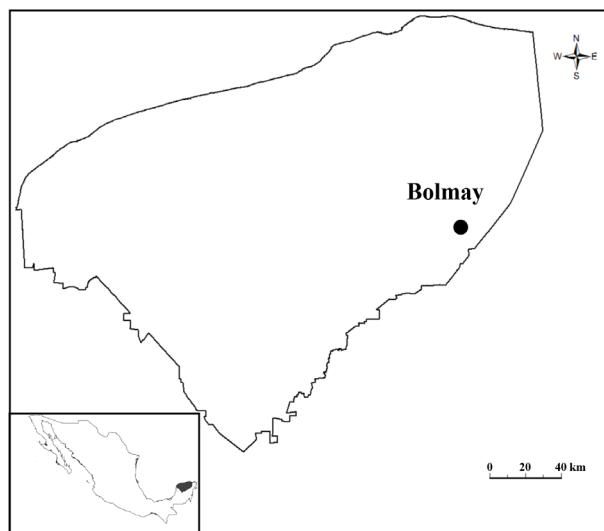


Figure 1. Geographic location of Yucatan in Mexico (shaded area), showing study community (black dot).

Medical Association (AVMA) and the Official Mexican Standard (NOM-062-ZOO-1999). Likewise, it was approved by the Ministry of Environment and Natural Resources from Mexico (Registry: SGPA / DGVS / 02528/13).

The rodents were trapped using Sherman traps (8 x 23 x 9 cm, HB Sherman Traps Inc[®], Tallahassee, Florida, United States) in 48 households of inhabitants diagnosed with murine typhus or with febrile symptoms in previous years (Ministry of Health from Yucatan, unpublished data). Three traps baited with a mixture of oat flakes and artificial vanilla flavoring, were placed for four consecutive nights in each dwelling in October 2014. The traps were placed inside or around the house during the mornings and inspected during the next day.

The captured rodents were transferred and processed in a field laboratory, located in the study site, conditioned for that purpose. The rodents were anesthetized with sodium pentobarbital intraperitoneal way (60mg/kg) and euthanized by cervical dislocation. Likewise, data were recorded included species, sex and age (mice: sub-adults \leq 9g, adults $>$ 9g; rats: sub-adults \leq 70g, adults $>$ 70g) (6). After euthanasia, the spleen was aseptically collected and imbibed in 70% ethanol and stored at -70° C. The search and collection of ectoparasites were carried out; however, they were not considered in the present study.

DNA extraction and molecular identification of *Rickettsia* spp. Prior to the extraction process, all tissues were washed for five minutes with bidistilled water to remove excess of alcohol.

Spleen's total DNA extraction was performed with the DNeasy Blood and Tissue kit (QIAGEN[®], Valencia, California, United States), following the specifications of the manufacturer. The extracted DNA was quantified with a spectrophotometer (NanoDrop 2000[®], ScientificTM Thermo, Waltham, Maryland, United States) and stored at -20° C, until its use in the molecular test.

For the molecular detection of *R. typhi*, an endpoint PCR test was used to amplify a fragment of the *htrA-17-kDa* (antigen) gene that codes for the surface protein, highly conserved in microorganisms of the genus *Rickettsia* and specific for molecular diagnosis (7).

The reaction was carried out with the primers proposed by Webb et al (7): 17kD1 (3'-GCTCTTGCAACTTCTATGTT-5') and 17kD2 (3'-CATTGTTTCGTCAGGTTGGCG-5'), which amplify a fragment of 434bp. The thermal cyclers conditions were: initial denaturation at 95° C for 5 minutes, followed by 35 cycles at 94° C for 30 seconds, 58° C for 45 seconds, 72° C for 1 minute and a final extension of 72° C for 7 minutes. The reagents used

Los roedores capturados fueron trasladados y procesados en una estación de campo localizada en el sitio de estudio, condicionada para tal objetivo. Los roedores fueron anestesiados con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (60mg/kg) y eutanasiados por dislocación cervical. Asimismo, se registraron datos como especie, sexo y edad (ratones: sub-adultos \leq 9g, adultos $>$ 9g; ratas: sub-adultos \leq 70g, adultos $>$ 70g) (6). Posterior a la eutanasia, se colectó el bazo de manera aséptica, el cual fue embebido en etanol al 70% y conservado a -70° C. Se realizó la búsqueda y recolección de ectoparásitos; sin embargo, no fueron considerados en el presente estudio.

Extracción de ADN e identificación molecular de *Rickettsia* spp. Previo al proceso de extracción, los tejidos fueron lavados durante cinco minutos con agua bidestilada para retirar el exceso de alcohol.

La extracción de ADN total del bazo se realizó con el estuche comercial *DNeasy Blood and Tissue* (QIAGEN[®], Valencia, California, Estados Unidos), siguiendo las especificaciones del comerciante. El ADN extraído se cuantificó con ayuda de un espectrofotómetro (NanoDrop 2000[®], ScientificTM Thermo, Maryland, Estados Unidos) y se conservó a -20° C, hasta su empleo en la prueba molecular.

Para la detección molecular de *R. typhi*, se empleó una prueba de PCR punto final, con el objetivo de amplificar un fragmento del gen que codifica para la proteína de superficie *htrA-17-kDa* (antígeno), altamente conservado en microorganismos del género *Rickettsia* y específico para el diagnóstico molecular (7).

La reacción se realizó con los cebadores propuestos por Webb et al (7): 17kD1 (3'-GCTCTTGCAACTTCTATGTT-5') y 17kD2 (3'-CATTGTTTCGTCAGGTTGGCG-5'), los cuales amplifican un fragmento de 434pb. Las condiciones del termociclador fueron: desnaturalización inicial a 95° C durante cinco minutos, seguida de 35 ciclos a 94° C por 30 segundos, 58° C durante 45 segundos, 72° C por un minuto y una extensión final de 72° C durante siete minutos. Los reactivos empleados tuvieron las siguientes concentraciones iniciales, en un volumen final de 25 μ l: 10X de amortiguador PCR, 2.5mM de MgCl₂, 10 μ M de dNTP's mix, 10 μ M de cada cebador, 1.25 U de Taq ADN polimerasa recombinante (Thermo ScientificTM, Waltham, Estados Unidos) y 150ng/ μ l de ADN templado.

En todas las reacciones se emplearon control positivo (*R. parkeri*) y negativo (agua estéril). Los productos de la PCR fueron analizados por electroforesis en geles de poliacrilamida al 8%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados con un fotodocumentador (Bio-Rad[®], California, Estados Unidos).

had the following initial concentrations, in a final volume of 25 µl: 10X of PCR buffer, 2.5mM of MgCl₂, 10 µM of dNTP's mix, 10 µM of each primer, 1.25 U of recombinant Taq DNA polymerase (Thermo Scientific™, Waltham, United States). Unidos) and 150ng/µl of template DNA.

In all reactions, positive (*R. parkeri*) and negative (sterile water) controls were used. The PCR products were analyzed by electrophoresis in 8% polyacrylamide gels, stained with ethidium bromide and visualized with a photodocumentation system (Bio-Rad®, Hercules, California, United States).

Purification, sequencing and analysis. The purification of the positive products was implemented with the QIAquick® PCR Purification kit (QIAGEN®, Valencia, California, United States).

Only five purified products accomplished the specifications to be sequenced at the Biotechnology Institute (IBT) of the *Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)*. The obtained sequences were aligned with homologous *Rickettsia* spp. sequences, deposited in the GenBank®, through the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program, National Center for Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), using the Megablast algorithm.

RESULTS

Table 1 shows the frequencies of the captured rodent by species, as well as by sex, age and the results obtained in the PCR.

The identification of rickettsial DNA was achieved in a 27% (10/37) of the studied rodents. Six (60%) of them were captured in the peridomestic area and 4 (40%) inside the house.

The alignment analysis with the BLAST tool of the sequences obtained, showed a 97 - 99% coverage and identity, respectively, to species *R. typhi* isolate UADY-061313 (GenBank accession number: JX198507.1). Regarding *Rickettsia akari*, the analysis yielded a 27 - 47% coverage and identity, respectively (GenBank access: AF445383.1), far from the most relevant results.

Purificación, secuenciación y análisis. La purificación de los productos positivos se llevó a cabo con el estuche comercial QIAquick® PCR Purification Kit (QIAGEN®, California, Estados Unidos).

Únicamente cinco productos purificados cumplieron con las especificaciones para ser secuenciados en el Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Las secuencias fueron editadas con el programa MEGA v7.0 y posteriormente se alinearon con secuencias homólogas de *Rickettsia* spp. depositadas en el GenBank®, mediante el programa *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) en el *National Center for Biotechnology Information* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), usando el algoritmo Megablast.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las frecuencias de captura de roedores por especie, así como por sexos, edades y los resultados obtenidos en la PCR.

La identificación de ADN rickettsial se logró en un 27% (10/37) de los roedores estudiados. Seis (60%) de ellos se capturaron en el peridomicilio y 4 (40%) en el domicilio.

El análisis de alineamiento con la herramienta BLAST de las secuencias obtenidas, arrojó un 97 - 99% de cobertura e identidad, respectivamente, para *R. typhi* isolate UADY-061313 (número de acceso en GenBank: JX198507.1). Con respecto a *Rickettsia akari*, el análisis arrojó 27 - 47% de cobertura e identidad, respectivamente (número de acceso en GenBank: AF445383.1), lejos de los resultados más relevantes.

DISCUSIÓN

Los roedores representan el orden más abundante y diverso de mamíferos, participando en la ecología y transmisión de diversos patógenos a los humanos y otros animales domésticos o silvestres. Muchas enfermedades zoonóticas transmitidas por vectores como las rickettsiosis tienen en estos animales sus hospederos o reservorios naturales (8).

Table 1. Frequency of rodent captures, sex, age and results of the PCR test for *Rickettsia* from Bolmay, Yucatán, Mexico.

Species	Sex (%)		Age (%)		PCR result (%)	
	Female	Male	Juvenile	Adult	Positive	Negative
<i>Mus musculus</i>	14 (37.8)	16 (43.3)	8 (21.6)	22 (59.5)	7 (18.9)	24 (64.9)
<i>Rattus rattus</i>	3 (8.1)	3 (8.1)	3 (8.1)	3 (8.1)	3 (8.1)	3 (8.1)
<i>Heteromys gaumeri</i>	1 (2.7)	-	-	1 (2.7)	-	-
Total	18 (48.6)	19 (51.4)	11 (29.7)	26 (70.3)	10 (27)	27 (73)

DISCUSSION

Rodents represent the most abundant and diverse order among all mammals; participating actively in the transmission cycle of various pathogens to humans and other domestic or wild animals. Many zoonoses transmitted by vectors such as rickettsial diseases, have their natural hosts or reservoirs in these animals (8).

In Yucatan, the most frequent rodents in the domestic and peridomestic environments are *M. musculus* and *R. rattus* species, which have been identified as zoonotic agents hosts of great importance for public and veterinary health (9) including *R. typhi*, which also has been reported in dogs (5) and humans (3).

The infection with *R. typhi* in *R. rattus* has been previously identified in Yucatan by Peniche-Lara et al through the amplification of a fragment of the same gene used in this study (10). These authors reported an infection frequency of 25% in animals captured in the city of Merida. In this study, the location was a rural community ~180km from the previous record, which suggests that *R. typhi* has a wide distribution in the region. Nevertheless, more epidemiological investigations are needed to verify this hypothesis.

The molecular evidences of the presence of *R. typhi* in the domestic mouse (*M. musculus*) are scarce around the world. The present investigation records the infection with *R. typhi* in *M. musculus* for the first time, and suggests they could have a role as potential reservoirs in Yucatan. In this same rodent, Panti-May et al (11) reported the infection with *R. felis* in a sub-urban area of the city of Merida, Yucatan.

Serological studies have also referenced the infection with *R. typhi* in synanthropic rodents. In Spain, Lledó et al (12), reported a seroprevalence of 20% and 17.5% in *R. rattus* and *M. musculus* from urban environments. Also, Chareonviriyaphap et al (13), described the circulation of antibodies in rats and mice captured in four Thailand regions, concluding that the genus *Rattus* is a host of great importance in the transmission cycle of this bacteria. In Taiwan, Chi-Chien et al (14), established a seroprevalence of 6.3% in *M. musculus*, but did not obtain molecular infection evidence in these animals. On the other hand, in rodents of the genus *Rattus*, they found high frequencies of seroconversion, possibly due to the frequent circulation of the arthropod vectors.

The rodents probably acquire the infection with *Rickettsia* spp. from the fleas and mites described as vectors of these bacterium (8), which can transmit the etiological agents to various domestic or wild animals and even to humans (15). This has been suggested in Merida, Yucatan, by Peniche-Lara et al (10), who reported the *R. felis* presence in two species of fleas collected in synanthropic rodents.

En Yucatán, los roedores más frecuentes y numerosos en ambientes domésticos y peridomésticos son las especies *M. musculus* y *R. rattus*, los cuales han sido identificados como portadores de agentes zoonóticos de importancia en salud pública y veterinaria (9), incluyendo *R. typhi* que ha sido reportada también en perros (5) y humanos (3).

La infección con *R. typhi* en *R. rattus* ha sido identificada previamente en Yucatán por Peniche-Lara et al., a través de la amplificación de un fragmento del mismo gen empleado en este estudio (10). Estos autores reportaron una frecuencia de infección de 25% en animales capturados en la ciudad de Mérida. En el presente estudio, la localidad fue una comunidad rural a 180km del registro previo, lo que sugiere la amplia distribución de *R. typhi* en la región. No obstante, son necesarias más investigaciones epidemiológicas para comprobar esta hipótesis.

Las evidencias moleculares de la presencia de *R. typhi* en el ratón doméstico (*M. musculus*) son escasas alrededor del mundo. En esta investigación se documenta por primera vez la circulación de *R. typhi* en *M. musculus*, lo que los convierte en potenciales reservorios de esta bacteria en Yucatán. En este mismo roedor, Panti-May et al (11) reportaron la infección con *R. felis* en una zona sub-urbana de la ciudad de Mérida, Yucatán.

Estudios serológicos han referenciado la infección con *R. typhi* en roedores sinantrópicos. En España, Lledó et al (12), reportaron una seroprevalencia del 20% y del 17.5% en *R. rattus* y *M. musculus*, respectivamente, obtenidos de ambientes urbanos. Asimismo, Chareonviriyaphap et al (13), describieron la circulación de anticuerpos en ratas y ratones capturados en cuatro regiones de Tailandia, concluyendo que el género *Rattus* es un hospedero de gran importancia en el ciclo de transmisión de esta bacteria. En Taiwán, Chi-Chien et al (14), establecieron una seroprevalencia del 6.3% en *M. musculus*, pero no obtuvieron evidencia molecular de infección en estos animales. Por otra parte, en roedores del género *Rattus*, encontraron altas frecuencias de seroconversión, posiblemente debido a la frecuente circulación de los artrópodos vectores.

Los roedores probablemente adquieren la infección con *Rickettsia* spp. de las pulgas y ácaros descritas como vectores de estas bacterias (8), los cuales pueden transmitir los agentes etiológicos a diversos animales domésticos o silvestres e incluso al humano (15). En la región esto ha sido sugerido por Peniche-Lara et al (10), quienes documentaron la presencia de *R. felis* en dos especies de pulgas recolectadas de roedores sinantrópicos.

The present study demonstrated the presence of *R. typhi* DNA in rodents captured in a rural community of Yucatan, Mexico, with antecedents of murine typhus, and contributes to the knowledge of the transmission cycle of *R. typhi* in this area, but further studies are needed to identify other reservoirs, hosts, and vectors, involved in this cycle.

El presente estudio demostró la presencia de ADN de *R. typhi* en roedores capturados en una localidad del interior de Yucatán, México, con antecedentes de tifo murino, lo cual contribuye al conocimiento del ciclo de transmisión de *R. typhi* presente en dicha comunidad; no obstante, es recomendable realizar más estudios para identificar otros reservorios, hospederos y vectores, involucrados en dicho ciclo.

REFERENCES

- Mansueto P, Vitale G, Cascio A, Seidita A, Pepe I, Carroccio A, et al. New insight into immunity and immunopathology of Rickettsial diseases. Clin Dev Immunol. 2012; Article ID 967852. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/967852>
- Shpynov SN, Fournier PE, Pozdnichenko, Gumenuk AS, Skiba AA. New approaches in the systematics of rickettsiae. New Microbes New Infect. 2018; 23:93-102.
- Dzul-Rosado K, González-Martínez P, Peniche-Lara G, Zavala-Velázquez J, Zavala-Castro J. Murine typhus in humans, Yucatan, Mexico. Emerg Infect Dis. 2013; 19(6):1021-1022.
- Eisen RJ, Gage KL. Transmission of flea-borne zoonotic agents. Annu Rev Entomol. 2012; 57:61-82.
- Martínez-Ortiz D, Torres-Castro M, Koyoc-Cardaña E, López K, Panti-May A, Rodríguez-Vivas I, et al. Detección molecular de *Rickettsia typhi* en perros de una comunidad rural de Yucatán, México. Biomedica. 2016; 36(Supl.1):45-50.
- Panti-May JA, Hernández-Betancourt S, Ruíz-Piña H, Medina-Peralta S. Abundance and population parameters of commensal rodents present in rural households in Yucatan, Mexico. Int Biodeterior Biodegradation. 2012;66:77-81.
- Webb L, Carl M, Malloy D, Dasch G, Azad A. Detection of Murine Typhus in fleas by using the Polymerase Chain Reaction. J Clin Microb. 1990; 28(3):530-534.
- Sosa-Gutiérrez C, Vargas M, Torres J, Gordillo-Pérez G. Tick-Borne Rickettsial pathogens in rodents from Mexico. J Biomed Sci Eng. 2014; 7(11):884-889.
- Panti-May JA, Hernández-Betancourt SF, Torres-Castro MA, Machain-Williams C, Cigarroa-Toledo N, Sodá L, et al. Population characteristics of human-commensal rodents present in households from Mérida, Yucatán, México. Manter (Linc). 2016; 5:1-6.
- Peniche-Lara G, Dzul-Rosado K, Pérez-Osorio C, Zavala-Castro J. *Rickettsia typhi* in rodents and *R. felis* in fleas in Yucatan as a possible causal agent of undefined febrile cases. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2015; 57(2):129-132.
- Panti-May JA, Torres-Castro M, Hernández-Betancourt S, Dzul-Rosado K, Zavala-Castro J, López K, et al. Detection of *Rickettsia felis* in wild mammals from three municipalities in Yucatan, Mexico. Ecohealth. 2015; 12(3):523-527.
- Lledó L, Gegúndez I, Ruiz E, Rodríguez L, Bacellar F, Saz JV. *Rickettsia typhi* infection in wild rodents from central Spain. Ann Trop Med Parasitol. 2003; 97(4):411-414.
- Chareonviriyaphap T, Leepitakrat W, Lerdthusnee K, Chao CC, Ching WM. Dual exposure of *Rickettsia typhi* and *Orientia tsutsugamushi* in the field-collected Rattus rodents from Thailand. J Vector Ecol. 2014; 39(1):182-189.
- Kuo CC, Shu PY, Mu JJ, Wang HC. High prevalence of *Rickettsia* spp. infections in small mammals in Taiwan. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015;15(1):13-20.
- Quintero JC, Londoño AF, Díaz FJ, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, Rodas JD. Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noreste de Antioquia, Colombia. Biomedica. 2013; 33(Supl 1):38-51.