

Evaluación de *Foldscope*, un microscopio de papel basado en origami útil para la identificación de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*

Evaluation of *Foldscope*, a paper-based origami microscope useful for taxonomic identification of *Rhipicephalus sanguineus* ticks

Recibido: 7 de noviembre del 2017

Aceptado: 14 de marzo del 2018

Publicado: 5 de octubre del 2018

Sandra Guadalupe Parada-Sánchez*, Cecilia Gabriela Meléndez-Salcido*, Martín Renato Hernández-Castaños*, Said Rafael Prado-Ávila*, Jaime Raúl Adame-Gallegos*^o

Cómo citar:

Parada-Sánchez, S. G., Meléndez-Salcido, C. G., Hernández-Castaños, M. R., Prado-Ávila, S. E., Adame-Gallegos, J. R. (2018). Evaluación de *Foldscope*, un microscopio de papel basado en origami útil para la identificación de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*. *Acta Universitaria*, 28(4), 19-24. doi: <http://doi.org/10.15174/au.2018.2134>

* Campus Universitario #2, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Circuito Universitario s/n. Chihuahua, Chihuahua. México. C.P. 31125. Correo electrónico: jadame@uach.mx. Teléfono: 614 1917306

^o Autor de correspondencia.

Palabras Clave:

Foldscope; garrapata; enfermedades transmitidas por vector; *Rhipicephalus sanguineus*.

Keywords:

Foldscope; tick; vector-borne diseases; *Rhipicephalus sanguineus*.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es evaluar la función de un microscopio de origami *Foldscope* como herramienta de apoyo en la identificación taxonómica de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*. Se recolectaron 257 muestras de garrapatas en cinco colonias de la ciudad de Chihuahua, México. Se analizaron las estructuras morfológicas más representativas para su identificación taxonómica con un estereoscopio y *Foldscope*. Con el microscopio de papel fue posible identificar palpos, base del gnatosoma, ojos, surco anal, festones, primera coxa, placa estigmatal y escudo en especímenes menores a 7 mm de longitud. El *Foldscope* es una herramienta que permite la identificación de garrapatas en campo, útil para estudios de vigilancia epidemiológica y potenciales campañas de concientización ciudadana en enfermedades transmitidas por vector.

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate an origami-based microscope *Foldscope* as a tool to support taxonomic identification of *Rhipicephalus sanguineus* ticks on the field. A total of 257 ticks were collected from five neighborhoods in the city of Chihuahua, Mexico. Representative morphological structures were analyzed for taxonomic identification with a stereoscope and a *Foldscope*. It was possible to identify key morphological structures such as palps, base of capitulum, eyes, anal groove, festoons, first coxa and spiracular plate on specimens of 7 mm in length or less. *Foldscope* is a tool that allows morphological identification of ticks on the field. It may be useful for epidemiological studies on the field and on social outreach programs aimed at raising awareness about vector-borne diseases.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores (ETV) son trastornos causados por agentes patógenos, entre ellos los parásitos en el ser humano. En todo el mundo se registran cada año más de 1000 millones de casos y más de 1 millón de defunciones como consecuencia de estas enfermedades tales como: el paludismo, dengue, esquistosomiasis, tripanosomiasis africana humana, leishmaniasis, enfermedad de Chagas, fiebre amarilla, encefalitis japonesa y oncocercosis. Así mismo, las ETV representan más del 17% de todas las enfermedades infecciosas. La distribución de estas enfermedades está determinada por una compleja dinámica de factores medioambientales y sociales. En los últimos años, la globalización, la urbanización no planificada y los problemas medioambientales como el cambio climático influyeron en su transmisión (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2017).

Los vectores son organismos vivos tales como mosquitos, pulgas o garrapatas que transmiten enfermedades infecciosas entre personas o bien de animales a personas. Las garrapatas son ectoparásitos obligados que necesitan alimentarse con sangre para completar su desarrollo. Tienen un ciclo de vida complejo y presentan una fase parasitaria de alimentación sanguínea (se fijan con hipostoma y quelíceros) así como una de vida libre (período de oviposición y entre mudas) (Barros-Battesti, Arzua & Bechara, 2006).

Algunas especies de garrapatas se alimentan de una variedad de especies hospedadoras mientras que otras son más selectivas, incluso algunas son exigentes en extremo y se alimentan de una sola especie de hospedador. Por otra parte, se reconocen por su capacidad de parasitar vertebrados domésticos, silvestres y al hombre, lo cual representa una amenaza para la salud de sus hospedadores (Guglielmo, Estrada, Keirans & Robbins, 2003). En este sentido, más de un solo agente transmitido por garrapatas puede causar la enfermedad ya que múltiples exposiciones a estas pueden asociarse a los hábitos de vida y pueden transmitir más de una infección en forma simultánea (Mutz, 2009). Las garrapatas son transmisores de diferentes patógenos de importancia en el área clínica y veterinaria, así como en salud pública en muchos países del mundo. Entre las enfermedades zoonóticas emergentes que se transmiten por garrapatas se encuentran: babesiosis, hepatozoonosis, ehrlichiosis, rickettsiosis, borreliosis y enfermedad de Lyme, las cuales han centrado la atención pública así como esfuerzos científicos colectivos hacia el estudio de estos artrópodos.

El aumento de la movilización de mascotas así como la habilidad de las garrapatas para encontrar nichos en nuevas condiciones climáticas han propiciado una rápida extensión de rangos zoogeográficos por muchas especies

de garrapatas. El incremento en el número de garrapatas también ha sido asociado con el mayor acceso a ambientes naturales y al aumento de la población de hospedadores silvestres (venados, pequeños mamíferos, zorros, entre otros) que ahora tienen una asociación más cercana con la actividad humana (Ramírez-Barrios *et al.*, 2008).

En cuanto a las garrapatas que afectan a los perros, *Rhipicephalus sanguineus* es la más común y la de mayor distribución mundial. Se le encuentra entre los 50° N y 35° S y en América desde Canadá hasta Argentina (Alcaino, Gorman & Jimenez, 1990). Su hospedador natural es el perro por lo que es raro encontrar esta especie lejos de asentamientos humanos, de hecho se considera una especie intradomiliar que con frecuencia infesta al hombre (Ramírez-Barrios *et al.*, 2008).

En este contexto, es necesario identificar al menos el género y, de ser posible, la especie de las garrapatas en cualquiera de sus estadios a través de sus estructuras más representativas como: el surco anal, setas posthipostomales, ojos, festones, setas marginales y setas dorsales del tarso I (Vargas, 2006).

Los microscopios son instrumentos que proporcionan una conexión esencial y visual entre el macromundo y el micromundo. Sin embargo, algunas aplicaciones exigen soluciones no convencionales que se deben a desafíos contextuales y soluciones entre el costo y el funcionamiento. Por ejemplo *in situ*, el examen de especímenes en el campo proporciona oportunidades importantes para estudios ecológicos, la investigación biológica y la selección médica (Cybulski, Clements & Prakash, 2014).

La microscopía es una herramienta integral de la medicina clínica y la salud pública, sin embargo esta tecnología básica puede no estar disponible de manera habitual en centros de salud o en entornos con recursos limitados (Petti, Polage, Quinn, Ronald & Sande, 2006). En este sentido, los microscopios basados en la telefonía móvil se han utilizado en la configuración del campo para el diagnóstico de la malaria, la esquistosomiasis y las helmintiasis transmitidas por el suelo (Bogoch *et al.*, 2014). Estos dispositivos tienen la ventaja de ser portátiles y fáciles de usar. Las innovaciones recientes que apoyan las pruebas de diagnóstico de bajo costo en lugares con escasos servicios incluyen el uso del teléfono móvil montado sobre un microscopio de papel con base de origami, al cual se llama *Foldscope*, para el diagnóstico de infecciones por *Schistosoma haematobium* (Ephraim, Duah, Andrews & Bogoch, 2014).

El *Foldscope* (*Foldscope Instruments*, <https://www.foldscope.com/>) es un aparato que se elabora con base de papel. Éste contiene un diodo (Light Emitting Diode [LED])

que emite luz y puede acercarse hasta el ojo para la visualización de especímenes. Es un microscopio con base en origami óptico que puede ser montado con una hoja de papel plana en menos de 10 min Su costo es menor de \$1 dólar americano y proporciona una magnificación de 140X de resolución submicrónica, pesa menos de dos monedas de cinco centavos (8.8 g), es pequeño y cabe en un bolsillo ($70 \text{ mm}^3 \times 20 \text{ mm}^3 \times 2 \text{ mm}^3$), no requiere alimentación externa, puede resistir caídas de un edificio de 3 pisos o incluso ser pisado por una persona sin deteriorarse. Se maneja colocando una muestra que se monta en un portaobjetos mientras se gira y se enfoca con los pulgares (Cybulski, Clements & Prakash, 2014).

En un estudio realizado por Ephraim *et al.* (2014) para visualizar *S. haematobium* con un *Foldscope*, se utilizó la cámara de un iPhone 5S montado con cinta e imanes sobre el lente del microscopio. Este novedoso aparato puede ser un trampolín para los dispositivos portátiles en diagnóstico futuros. Tiene posibilidad de ser utilizado en entornos clínicos y como herramienta de apoyo para estudios epidemiológicos en un futuro próximo, con ajustes técnicos que logren aumentar la sensibilidad de diagnóstico. Además, es posible incrementar la validación de estos dispositivos para el estudio de otros patógenos (Ephraim *et al.*, 2014).

El uso del *Foldscope* como herramienta de apoyo en el diagnóstico diferencial de vectores asociados a ETV constituye un campo de investigación prometedor. Así mismo, presenta ventajas frente a un microscopio de luz por ser una herramienta económica, fácil de usar y resistente puede utilizarse en zonas marginales en donde no se tiene acceso a la microscopía convencional o inclusive donde no existe energía eléctrica. El objetivo de este estudio es identificar garrapatas testigo mediante claves morfométricas haciendo uso de microscopía-estereoscopia óptica tradicional y del microscopio *Foldscope* con enfoque en la identificación taxonómica de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en la entidad. Esto con el fin de promover su uso en campañas de vacunación, esterilización, fumigación, entre otras que realizan en conjunto los departamentos de salud municipales, estatales y/o federales de Chihuahua.

MATERIAL Y MÉTODOS

El método de muestreo que se seleccionó para el estudio fue aleatorio simple. Se realizó entre los meses de agosto del 2016 a enero del 2017 con la colaboración de brigadas estudiantiles de la Facultad de Ciencias Químicas con aprobación previa del Comité de Ética institucional. El muestreo se llevó a cabo en 5 colonias de la ciudad de

Chihuahua: Misiones Universidad, La Villa, Barrio del Norte, 2 de octubre y Villa Juárez, en coordinación con actividades planeadas por el Centro Antirrábico de Chihuahua. En cada sitio, la selección de los perros a examinar se realizó de acuerdo a la disponibilidad de los propietarios, sin una preselección de raza, edad o estatus sanitario. La recolección de las garrapatas se llevó a cabo con el consentimiento de los dueños de las mascotas.

Los animales seleccionados se manejaron de forma individual y, de manera posterior, se les practicó un examen físico visual y por palpación de piel para la detección de garrapatas en cualquier estadio. El procedimiento consistió en desprender la garrapata a contrapelo de la piel del animal con ayuda de pinzas, con suaves movimientos de tracción para así evitar que el gnatosoma (aparato bucal) de la garrapata se desprendiera del cuerpo y quedara clavado en el interior de la piel, lo cual quitaría utilidad a la muestra. Una vez recolectadas las muestras, se introdujeron en un tubo falcón de 50 ml con alcohol etílico al 70%, se etiquetó y se siguió la metodología con base en trabajos previos (Martínez, 2015).

Durante el proceso de identificación de garrapatas, las muestras fueron analizadas por dos personas mediante estereoscopia convencional y haciendo uso del microscopio de papel. Para el inicio de la identificación, cada una de las muestras se separó, se enumeró en forma consecutiva y se observó a una magnificación de 3X con el estereoscopia. De esta manera, se asignó género y especie, estadio y sexo a cada garrapata. Para ello, se utilizó una guía morfológica gráfica interna, elaborada por nuestro grupo con base en el trabajo descrito por Walker (2003).

Para comparar la utilidad *Foldscope* frente a la estereoscopia convencional, se prosiguió con la identificación de las mismas haciendo uso del *Foldscope* original y del *Foldscope* "modificado". A este último se le colocó en la parte inferior un LED alimentado con una pila de 4 voltios debido al espesor de la mayoría de los especímenes. Así mismo, se forró con aluminio la parte superior de este para lograr proyectar la luz sobre la muestra (figura 1). La identificación se realizó siguiendo la metodología planteada por Cybulski, Clements & Prakash (2014). En breve, se colocó el espécimen en un portaobjetos, haciendo giro y enfoque con los pulgares. Una vez hecho esto, la muestra se observó sujetando el *Foldscope* con ambas manos, se colocó uno de los ojos lo suficientemente cerca de la microlente, estando la ceja en contacto con el papel y haciendo uso del teléfono móvil montado al *Foldscope*. Las muestras se observaron a una magnificación de 140X, se realizó la identificación de cada una de sus estructuras y se les asignó género y especie, estadio y sexo a cada garrapata.

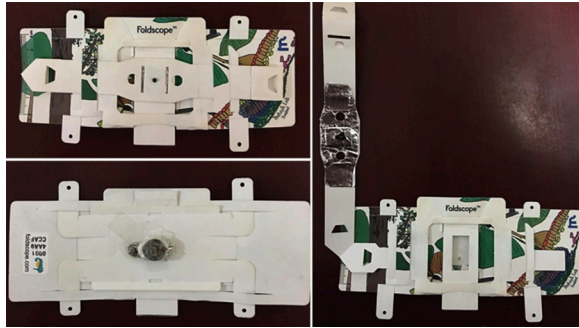


Figura 1

Foldscope original (izquierda, arriba) y modificado con extra LED (izquierda, abajo) y recubrimiento de aluminio (derecha).
Fuente: Elaboración propia.

RESULTADOS

De las 5 zonas muestreadas en la ciudad de Chihuahua (Chihuahua) se recolectaron 257 garrapatas que se distribuyeron de la siguiente manera: Misiones Universidad ($n = 13$), La Villa ($n = 7$), Barrio del Norte ($n = 72$), 2 de octubre ($n = 146$) y Villa Juárez ($n = 19$). Todos los perros muestreados resultaron hospederos de *R. sanguineus* en diferentes estadios de su ciclo de vida: hembras ($n = 65$), machos ($n = 153$), ninfas ($n = 32$) y larvas ($n = 7$). Las garrapatas fueron identificadas con base en la guía morfológica gráfica elaborada por el grupo investigador, descrita con anterioridad. Esta resultó una herramienta que facilitó el proceso de identificación y fue posible determinar las estructuras principales del artrópodo: palpos, ojos, surco anal, festones, primera coxa y placa estigmatal (figura 2). Con ambos *Foldscope* (original y modificado con LED) fue posible la identificación de las estructuras de las garrapatas. Sin embargo, con el *Foldscope* modificado el proceso de identificación incrementó su efectividad al obtener con este una imagen más clara, con lo cual fue posible determinar las estructuras con mayor nitidez en comparación con el *Foldscope* original (figura 3).

DISCUSIÓN

El estereoscopio óptico convencional a pesar de ser útil para la identificación de garrapatas no lo es para estudios en campo, ya que muestra numerosas desventajas frente al *Foldscope*, sobre todo en zonas rurales o despobladas donde el acceso a herramientas microscópicas o estereoscópicas se complica por las condiciones precarias del entorno, la falta de electricidad, la dificultad de traslado del equipo, entre otros. La importancia médica y veterinaria que tienen las garrapatas, por su papel como vectores de varias enfermedades y su amplia distribución en el entorno implica la necesidad de implementar una estrategia que

permita su identificación en zonas con las características descritas. Esto se presenta por la dificultad de transportar el equipo así como por la ausencia de elementos básicos. En este sentido, el *Foldscope* resulta una herramienta útil ya que por su tamaño pequeño, bajo costo, durabilidad y por no requerir electricidad, puede facilitar la identificación rápida del artrópodo en la zona en que se realiza el estudio de campo.

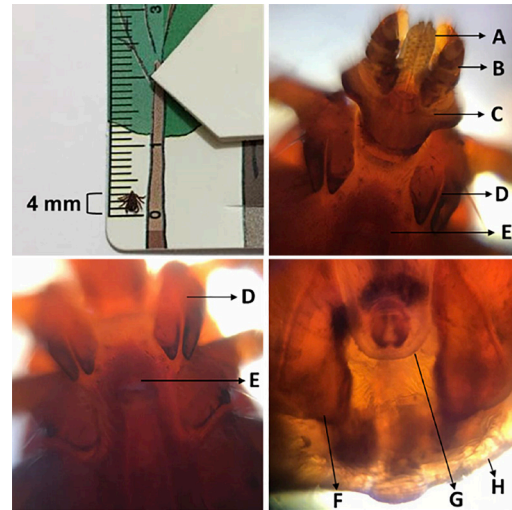


Figura 2

Muestra de *R. sanguineus* tomadas con una cámara de teléfono móvil sobre un *Foldscope* donde se muestran: A. Quelíceros, B. Pedipalpos, C. Base del gnatosoma, D. Primera coxa, E. Apertura genital, F. Escamas anales, G. Surco anal y H. Festones. La ampliación de todas las imágenes es de 140X con el lente del microscopio.
Fuente: Elaboración propia.

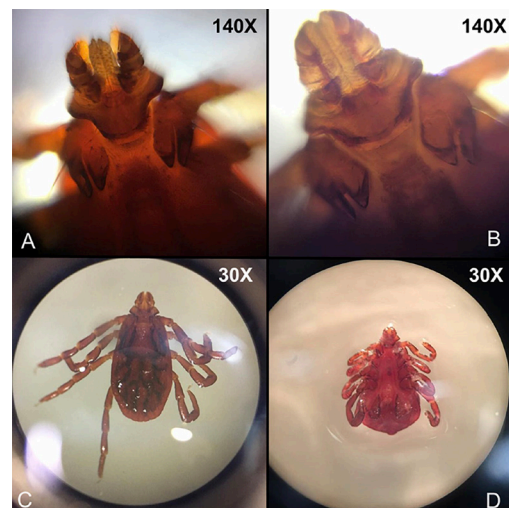


Figura 3

Muestra: Garrapata (*R. sanguineus*). A: *Foldscope* modificado B: *Foldscope* original c/ Led C: Estereoscopio S/Luz integrada D: Estereoscopio C/luz integrada.
Fuente: Elaboración propia.

La única limitante con el uso del *Foldscope* se presentó con muestras mayores a los 7 mm de longitud sobre todo con hembras que ya se habían alimentado. Sin embargo, esta situación no representa una restricción, ya que donde se encuentra una hembra adulta es posible encontrar diferentes estadios (larvas, ninfas, adultos) del artrópodo. Además, los machos adultos o inclusive hembras no alimentadas son los más apropiados para la identificación por su tamaño.

Este microscopio, en conjunto con el desarrollo de otras herramientas con características similares como: una centrifuga de papel para separar muestras sanguíneas en campo (Bhamla *et al.*, 2017) o una aplicación para dispositivos móviles con enfoque en la identificación de mosquitos con importancia clínica a través de grabaciones de sus zumbidos (Mukundarajan, Hol, Castillo, Newby & Prakash, 2017) representan ideas innovadoras con un alto potencial de impacto en los sectores sociales más vulnerables.

Es conveniente el involucrar a la población que radica en áreas de potencial transmisión con el fin de generar conciencia acerca de los vectores, a través de brigadas universitarias que involucren a los estudiantes de licenciatura y posgrado para su participación en campañas de salud municipales, estatales o federales y en actividades de divulgación científica como en la XL Semana de Química Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH-FCQ entrada en el blog oficial de *Foldscope*: <https://microcosmos.foldscope.com/?p=9665>).

Por otra parte, así como otros estudios han reportado la utilidad de *Foldscope* para la identificación de agentes patógenos como *S. haematobium* utilizando un teléfono móvil (Ephraim *et al.*, 2014), se considera que además de ser sencillo llevar a cabo las adaptaciones que facilitan el uso de este dispositivo, resulta novedoso y puede ser un trampolín para los futuros dispositivos portátiles de diagnóstico. En este contexto, este microscopio de origami puede ser utilizado en entornos clínicos y epidemiológicos, así como en campañas de conciencia ciudadana que se efectúan en regiones marginadas del país. Es posible afirmar como una ventaja la relativa facilidad para aumentar la sensibilidad de diagnóstico y mejoras posibles tales como incrementar el campo de visión a través de la pantalla del móvil, así como la posible validación de estos dispositivos en otros vectores de interés en términos de salud pública.

CONCLUSIÓN

El *Foldscope* constituye una herramienta eficiente y práctica para la identificación de garrapatas *in situ*. En lugares

donde no se tiene acceso a la energía eléctrica es una herramienta que puede ser utilizada en estudios de campo sobre la distribución geográfica de las especies y reconocimiento de áreas marginales, así como la detección de especies exóticas y estimación de riesgo por vectores de enfermedades. Además, facilita la identificación rápida del artrópodo en la zona en que se realiza el estudio en campo, con lo que se simplifica el proceso de preparación y se agiliza la emisión de resultados.

AGRADECIMIENTOS

Especial agradecimiento al Dr. Manu Prakash de la Universidad de Stanford por su colaboración al proporcionar las muestras de *Foldscope* como parte del "Beta Trial" mundial, para poder llevar a cabo este proyecto.

REFERENCIAS

- Alcaino, H., Gorman, T., & Jimenez, F. (1990). Ecología del *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la Región Metropolitana de Chile. *Austral journal of veterinary sciences*, 22, 159-168.
- Barros-Battesti, D. M., Arzua, M., & Bechara, G. H. (2006). *Carrapatos de importância medicoveterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo: Vox : ICTTD-3: Butantan.
- Bhamla, M. S., Benson, B., Chai, C., Katsikis, G., Johri, A., & Prakash, M. (2017). Hand-powered ultralow-cost paper centrifuge. *Nature Biomedical Engineering*, 1(1), 9.
- Bogoch, I. I., Coulibaly, J. T., Andrews, J. R., Speich, B., Keiser, J., Stothard, J. R., N'Goran, E. K., & Utzinger, J. (2014). Evaluation of portable microscopic devices for the diagnosis of *Schistosoma* and soil-transmitted helminth infection. *Parasitology*, 141(14), 1811-1818.
- Cybulski, J. S., Clements, J., & Prakash, M. (2014). Foldscope: origami-based paper microscope. *PLoS ONE*, 9(6).
- Ephraim, R. K., Duah, E., Andrews, J. R., & Bogoch, I. I. (2014). Ultra-Low-Cost Urine Filtration for *Schistosoma haematobium* Diagnosis: A Proof-of-Concept Study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(3), 544-546.
- Guglielmono, A. A., Estrada Peña, A., Keirans, J. E., & Robbins, R. G. (2003). Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. *Folia parasitológica*, 51(3), 375.
- Martínez Ibáñez, F. (2015). *Inspección de Ganado Muestreo y Colecta de Garrapatas*. BM Editores. Recuperado el 5 de noviembre de 2017 de <http://bmeditores.mx/inspeccion-ganado-muestreo-colecta-garrapatas>
- Mukundarajan, H., Hol, F. J., Castillo, E. A., Newby, C., & Prakash, M. (2017). Using Mobile Phones As Acoustic Sensors For High-Throughput Surveillance Of Mosquito Surveillance. *bioRxiv*, 1-38.

- Mutz, I. (2009). Las infecciones emergentes transmitidas por garrapatas. *Ann Nestlé*, 67(3), 123-134.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). *Enfermedades transmitidas por vectores*. WHO. Recuperado el 5 de noviembre de 2017 de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/es/>
- Petti, C. A., Polage, C. R., Quinn, T. C., Ronald, A. R., & Sande, M. A. (2006). Laboratory Medicine in Africa: A Barrier to Effective Health Care. *Clinical Infectious Diseases*, 42(3), 377-382.
- Ramírez-Barrios, R. A., Chacín, E., Barboza, G., Fernández, G., Valera, Z., Villalobos, A., & Angulo-Cubillán, F. (2008). Garrapatas (acari: ixodidae) recolectadas de caninos bajo asistencia Veterinaria en Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 18(3), 267-270.
- Vargas, M. (2006). Clave para los géneros más comunes de larvas de Ixodida (Acari: ixodidae). *Agronomía Costarricense*, 30(1), 101-105.
- Walker, A. R. (2003). *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. Edinburgh: Bioscience Reports.