



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**ESTUDIO RESTROSPECTIVO DE IDENTIFICACION DE EHRLCHIOSIS EN
PERROS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL VETERINARIO DE LA CIUDAD DE
COLIMA, COLIMA (2003-2004)**

TESIS QUE PRESENTA

SERGIO RUIZ AGUILAR

**PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

ASESOR

**MVZ. ESP. IGNACIO N. BARAJAS LOPEZ
DR. LUIS JORGE GARCIA MARQUEZ
MVZ. JOSE LUIS VAZQUEZ GARCIA**

MORELIA, MICHOACAN. MAYO 2006.



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**ESTUDIO RETROSPECTIVO DE IDENTIFICACION DE EHRlichiosis EN
PERROS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL VETERINARIO DE LA CIUDAD
DE COLIMA, COLIMA (2003-2004)**

TESIS QUE PRESENTA

SERGIO RUIZ AGUILAR

PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MORELIA, MICHUACAN, MAYO 2006.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

EVANGELINO RUIZ LOPEZ. Que desde el cielo a guiado mi camino y me dio la fortaleza para concluir lo que un día se comenzó,

MARIA DE JESUS AGUILAR SANCHEZ. Por su muestra de cariño y apoyo incondicional

A MI ESPOSA

VICKY. Por ser un pilar inquebrantable en la realización de este trabajo y todo lo logrado

A MIS HIJOS

MONSE, LIZ Y CHECO. Por ser el motor que mueve mi superación.

A MIS HERMANOS

PEDRO Porque gracias a ti y a tus sabias decisiones y apoyo e logrado lo que soy.

PABLO, EVA E IVAN. A quienes entrego este trabajo como tributo al esfuerzo de equipo que hemos hecho para lograr la familia que somos.

ESPECIAL

A SABAS, BETY, JAVIER CERVANTES CELAYA. A los cuales les ofrezco este trabajo con profundo cariño y respeto. GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS.

Porque tengo la convicción de que me dio la fuerza y entusiasmo para la culminación de este trabajo.

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO.

Por existir

FACULTA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Por el tiempo que me cobijo con sus paredes de sabiduría

ASESORES

MVZ. Esp. IGNACIO N. BARAJAS LOPEZ por la gran ayuda proporcionada, los comentarios y las correcciones hechas a este trabajo.

Dr. LUIS JORGE GARCIA MARQUEZ. Por su valioso tiempo empleado y sus conocimientos transmitidos a lo largo de la realización de mi trabajo.

MVZ JOSE LUIS VAZQUEZ GARCIA. Por su colaboración y apoyo en la realización de mi trabajo

A MIS MAESTROS

A todos y cada uno de ellos, que de una u otra forma fueron forjadores de mi formación profesional.

AL MVZ Esp. RAMON RUELAS AVILES

Por su amistad desinteresada, y por la gran ayuda prestada, autorizándome la realización de este trabajo en las instalaciones de Central Medica Veterinaria,

INDICE

INTRODUCCIÓN-----	1
MATERIAL Y METODOS-----	6
RESULTADOS-----	16
DISCUSIONES-----	19
CONCLUSIONES-----	27
LITERATURA-----	28

RESUMEN

Actualmente la relación que existe entre el hombre y el perro ha tomado un auge importante, debido a que lo utiliza para diferentes actividades de su vida cotidiana, desde mascota de compañía hasta tenerlo como vigilante o bien para ayudar a personas discapacitadas, ignorando en ocasiones que también pueden ser un medios de contagio de enfermedades zoonóticas .

El presente trabajo demuestra que hay enfermedades de los perros que pueden ser transmitidas por vectores, como el caso de la Ehrlichiosis canina que fue reportada por primera vez en México en 1996. Es causada por *Ehrlichia canis*, se encuentra principalmente donde el clima es tropical o en las estaciones del año mas calurosas. La enfermedad es transmitida por la garrapata café (*Rhipicephalus sanguineus*).

La Ciudad de Colima cuenta con las condiciones climáticas adecuadas para la reproducción de las garrapatas, reflejándose esto en los estudios realizados en un muestreo a nivel nacional en el año 2001, obteniendo un reporte en Colima del 34.5 % de perros positivos a ehrlichiosis canina, en el presente trabajo se muestrearon 64 perros de diferente edad, raza, sexo, realizando una prueba serologica de ELISA (snap 3 Dx) obteniendo 37 casos positivos, lo cual equivale a un 57.82 %.

Es importante tomar conciencia de la magnitud de la situación a la que se expone la población. Por lo cual se recomienda tener control de las garrapatas y así evitar que se infecten los perros.

Introducción

Durante más de diez mil años personas y perros han convivido en armonía, constituyen un gran apoyo en las diferentes facetas de la vida del hombre. Esta relación ha sido cultivada y perfeccionada a través del tiempo hasta llegar a ser una de las más sólidas entre todas las especies.

En todo el mundo los perros están considerados como animales de compañía y estamos habituados a verlos paseando por las ciudades en compañía de las familias o propietarios, pudiendo ser también utilizados en tareas específicas tales como vigilantes o guardianes de ganado y cumpliendo otras funciones igual de importantes en nuestra sociedad. Igualmente prestan una incalculable ayuda a personas invidentes e incapacitadas mejorando su calidad de vida. Pueden salvar vidas humanas y evitar catástrofes colaborando con los diferentes cuerpos de seguridad.

Actualmente hay descritas cerca de 200 enfermedades zoonóticas que el ser humano puede padecer. Existen gran cantidad de enfermedades que los animales transmiten al hombre y que pueden ser por bacterias, virus, hongos, parásitos, etc. Éstas se adquieren de diversas maneras, incluyendo mecanismos tales como vectores de los que el ejemplo típico es la enfermedad de Chagas, a través de la chinche, enfermedad de ehrlichiosis, a través de la garrapata. Otras formas son por ingestión de carnes mal cocidas, que pueden producir triquinosis o infección por toxoplasma; mordeduras que pueden transmitir la rabia; o por ingestión accidental del elemento inféctante que contamina el suelo o el agua y que dan lugar a la leptospirosis, toxocariosis, ancylostomiosis, coccidiosis y muchas otras infecciones. Los principales aliados de estas enfermedades son la ausencia de infraestructura sanitaria, bajo nivel de educación, falta de información y la falta de tenencia responsable (Phillips, 1991).

Algunas de estas enfermedades han adquirido en la actualidad mucha importancia en las regiones templadas por diversos motivos que incluyen cambios climáticos, demográficos y socioeconómicos. Otras son regionales y aun así, permanecen ignoradas. Estos problemas sanitarios son previsibles y considerando que, una vez instalada la enfermedad en aquellas formas moderadas o graves, la terapéutica es muchas veces ineficaz o significa una gran molestia para el paciente, es prioritario el desarrollo de programas oficiales de lucha para su prevención y control.

La ehrlichiosis canina causada por *Ehrlichia canis*, fue descrita por primera vez en perros Argelinos en 1935 (Donatein-Lestoquard, 1935). El agente causal es un microorganismo que transmiten las garrapatas principalmente la garrapata café (*Rhipicephalus sanguineus*) (Green, 1984; Ristic y Holland, 1992).

La enfermedad puede presentarse donde quiera que éste hemoparásito se encuentre, principalmente donde el clima es tropical o en las estaciones calurosas de los climas mediterráneos, la causa el parásito obligado intracelular *Ehrlichia canis* miembro de la familia Rickettsiaceae, se localiza dentro de una membrana en el citoplasma de los leucocitos y se reproducen por fisión binaria y así se disemina por sangre o linfa a distintos órganos: bazo, hígado, ganglios, pulmón, riñones, meninges, donde suele provocar lesiones inflamatorias. Su distribución es mundial, y su primer reporte en México fue en 1996 (García y Núñez, 1996).

La *Ehrlichia canis* puede afectar a múltiples especies entre ellas cualquiera de la familia canidae, se menciona que especies como el zorro, el coyote y el chacal son reservorios naturales. La ehrlichiosis es una enfermedad que no tiene afinidad por sexo pero se han descrito mayor afinidad en perros de edades medianas, en zonas endémicas la seroprevalencia no difiere significativamente entre perros mascotas clínicamente sanos con perros callejeros o que presentan sintomatología clínica (Atria, 2003).

Cuando las garrapatas son infectadas pueden transmitir la enfermedad por lo menos 155 días después de que se separa del huésped, esto puede ocurrir en cualquier estado de desarrollo de la garrapata (larva, ninfa o adulto), la diseminación entre las garrapatas no se da de manera trans-ovárica, sino a través de un perro infectado. La infección de los vertebrados ocurre cuando la garrapata se alimenta de sangre y sus secreciones salivales contaminan el sitio donde muerden, después de un periodo de 8-20 días sobrevienen las tres etapas de la enfermedad: aguda, subclínica y crónica, basándose en los signos clínicos y anomalías fisiopatológicas (Atria, 2003; Kueh y Gaunt, 1985; Condner y Farrismith, 1989).

FASE AGUDA. Dura de 2-4 semanas tiempo durante el cual el microorganismo se multiplica dentro de los leucocitos mononucleares infectados. Los que luego colonizan los órganos del sistema fagocítico mononuclear como bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos. Puede presentarse leucopenia y anemia como consecuencia de la respuesta inflamatoria.

- Replicación en células mononucleares infectadas.
- Diseminación hematológica a múltiples órganos.
- Vasculitis secundaria a la diseminación.
- Anemia no regenerativa, leucopenia y/o trombocitopenia.
- Ligera elevación de enzimas hepáticas.
- Ligera disminución de albúmina sérica (Atria, 2003; Beaufils, 1997).

FASE SUB-CLINICA. Dura de 6-9 semanas y puede terminar al iniciar la fase crónica, en áreas enzooticas un alto porcentaje de perros padecen la enfermedad sub-clínica por meses o años. Las manifestaciones clínicas incluyen:

- Depresión.

- Pérdida de peso.
- Mucosas pálidas.
- Flacidez abdominal.
- Episodios de ceguera.
- Infecciones secundarias, edema escrotal y de extremidades (Walter y Taylor, 1970; Atria, 2003; Beaufils, 1997).

FASE CRÓNICA. Se caracteriza por una respuesta ineficaz del sistema inmune de eliminar el agente infeccioso, dependiendo esto de múltiples factores, como la cepa actuante, enfermedades concomitantes, raza y edad. Durante esta fase se produce una alteración en la producción de los elementos sanguíneos por parte de la médula ósea (Atria, 2003; Beaufils, 1997).

Es difícil distinguir las diversas fases según la clínica (Birchar, 1994).

Justificación

En la ciudad de Colima, Col. la ehrlichiosis canina es una enfermedad que ha adquirido mucha importancia en la clínica veterinaria. La ciudad de Colima cuenta con las condiciones climáticas, demográficas y socioeconómicas propicias para el desarrollo de los vectores. Se considera importante estudiar su prevalencia y sus manifestaciones clínicas en el estado de Colima.

Planteamiento del problema

Debido a que en la actualidad los perros son considerados como una parte importante de la familia y han ido en aumento y hasta el día de hoy se estima una población canina de 14,220 en el estado de Colima (INEGI, 2003) es conveniente tomar en consideración las enfermedades zoonóticas como la ehrlichiosis canina que pueden presentar un riesgo para la población humana.

Hipótesis

En la ciudad de Colima existen las condiciones climáticas tropicales para que se desarrollen los vectores de la ehrlichiosis, aumentando la posibilidad de que se presente la enfermedad en perros de esta ciudad.

Objetivo general

El propósito de la presente investigación fue determinar la frecuencia de perros enfermos de ehrlichiosis canina en el Hospital de Central Medica Veterinaria de la ciudad de Colima, Colima, México.

Objetivos particulares

1. Determinar el porcentaje de perros positivos a la ehrlichiosis canina.
2. Determinar el porcentaje de perros positivos de acuerdo a la raza, sexo y edad.
3. Determinar el porcentaje de perros con signos clínicos de la enfermedad.
4. Determinar la presencia de garrapatas de perros positivos a la enfermedad.
5. Evaluar los principales cambios hematológicos de los perros positivos.
6. Evaluar la respuesta al tratamiento de la enfermedad.

Material y métodos

El presente estudio se realizó en el Hospital de Central Médica Veterinaria ubicado en la ciudad de Colima, Colima; que está localizado geográficamente al Norte 19° 31', al Sur 18° 41' de latitud Norte; al Este 103° 29', al Oeste 104° 41' de longitud Oeste, colindando al Norte con Jalisco; al Este con Jalisco y Michoacán de Ocampo; al Sur con Michoacán de Ocampo y el Océano Pacífico; al Oeste con el Océano Pacífico y Jalisco. El clima es cálido sub-húmedo con lluvias en verano con una precipitación pluvial promedio anual de 800 a 1000 mm; la temperatura media anual es de 24 a 26° C, a una altura de 500 msnm (INEGI, 2003).

Se utilizaron 64 perros de diferentes razas, sexo, edad y peso, que reunieron los criterios de inclusión en el presente trabajo, se les tomó una muestra de sangre de 2 mL y se depositó en un tubo con ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA) para realizar la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*.

Material

Dentro del material considerado están:

- Hojas de Expedientes clínicos
- Termómetro
- Estetoscopio
- Lámpara de diagnóstico
- Báscula
- Máquina de rasurar Oster profesional de uso veterinario
- Hoja para máquina del N° 40
- Liga para torniquete

- Jeringa de 3 ml
- Torundas
- Alcohol
- Tubos de tapa color lavanda con ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA).
- Pruebas de inmuno ensayo de enzimas, el cual contiene un frasco de conjugado (Anti-HTWM/B. burgdorferi/*Ehrlichia canis* HRPO), dispositivos de prueba, tubos de muestra, pipetas de transferencias. (IDEXX Laboratories)
 1 8,0 mL frasco de conjugado peroxidasa rábano picante (HRPO) anti. *E. canis*
 0,6 mL solución sustrato
 0,4 mL solución de lavado

Material biológico

- 64 perros.

Métodos

Se identificaron 64 pacientes caninos que se presentaron a consulta en el Hospital de Central Medica Veterinaria de la ciudad de Colima, Col., sospechosos o con signología clínica de ehrlichiosis para ser incluidos en el estudio.

Los criterios de inclusión en el estudio fueron: pacientes con información mínima de historia clínica, al examen físico presentaran por lo menos alguno de los siguientes signos clínicos: epistaxis, ectoparásitos (garrapatas), emaciación, dolor articular o antecedentes de enfermedades respiratorias recurrentes, o que convivan con caninos positivos a ehrlichiosis. A los pacientes se les tomo una muestra de sangre en las venas periféricas (yugular, cefálica o safena) mediante punción con jeringa.

A cada paciente incluido en el estudio se le registro el siguiente protocolo:

1. Obtención de la información básica de la historia clínica
2. Realización del examen físico
3. Toma de muestra sanguínea
4. Realización de la prueba serológica ELISA
5. Resultados (positivo / negativo)
6. Tratamiento y evolución

Historia clínica

Reseña:

Fecha:

N° de caso.

Raza:

Sexo:

Edad:

Nombre:

Peso:

Nombre del propietario:

Dirección:

Nombre de la persona encargada:

Historia clínica:

Motivo de la consulta:

Tiempo de evolución del problema:

Tratamiento que le hallan aplicado:

Enfermedades anteriores de importancia:

Ha tenido contacto con animales enfermos:
Tipo de alimentación:
Sale su mascota a la calle:
Vacunas vigentes aplicadas:
Desparasitaciones vigentes:
Ingesta de agua:
Orina su macota:
A variado de peso su mascota últimamente:
Actitud general:
Condición general:
Como es su apetito:
Como esta defecando:
A tenido parásitos externos:
Ciclo sexual reproductivo:
Algún comentario al respecto:
Se le ha practicado alguna cirugía:
Presenta vómito:
A observado alteraciones neurológicas:
A observado trastornos respiratorios:
A observado prurito:
A observado alteraciones locomotoras:
A observado problemas de visión:
Comentarios del MVZ que tomo la historia clínica:

Examen físico

Frecuencia respiratoria:
Frecuencia cardiaca:
Pulso:
Temperatura

Peso:

Actitud general:

Condición general:

Evaluación de:

Piel y pelo:

Sistema circulatorio:

Sistema respiratorio:

Sistema digestivo:

Sistema genitourinario:

Sistema nervioso:

Orejas y ojos:

Nódulos linfáticos:

Mucosas:

Dientes y nariz:

Palpación abdominal:

Músculo esquelético:

Hidratación:

Toma de muestra

Muestra sanguínea:

Los pacientes incluidos en el estudio se rasuraron y de forma aséptica se les tomo la muestra sanguínea de la vena cefálica, safena o yugular, para el caso de cachorros se utilizo la vena yugular, para sujetar al perro para la toma de muestra de la vena cefálica el ayudante sujeta la cabeza con una mano y con la otra sujeta el miembro anterior, aplicando cierta presión sobre la vena cefálica haciendo que esta resalte. En el caso de toma de muestra de la vena yugular el ayudante sujeta al perro de la cabeza en extensión y con la otra mano sujeto el cuerpo exponiendo la región de la vena yugular. Se colectaron 2 ml de sangre en tubos con tapa color

lavanda con ácido tetraacético de etilendiamina (EDTA) a dosis de 1 mg por cada ml de sangre (Núñez, 2005).

Los anticuerpos se detectaron con la técnica de inmunoensayo enzimática (ELISA) disponible en forma comercial (Snap 3dx, Idexx, Columbia, USA) para ehrlichiosis canina.

Prueba serológica

Para la detección de anticuerpos contra ehrlichiosis se utilizó una prueba comercial (Snap 3Dx, Idexx, Columbia, USA) de inmunoensayo de enzimas para la detección simultánea del antígeno de *Dirofilaria immitis*, el anticuerpo de *Borrelia burgdorferi* y anticuerpo *Ehrlichia canis* en sangre total, suero o plasma, de los pacientes muestreados.

Las muestras se remitieron para su procesamiento al laboratorio de patología clínica veterinaria (Unidad de Patología y Diagnóstico Integral Animal, situado en la calle Aquiles Sedán, 594, Jardines Residenciales, Colima, Colima).

Procedimiento de la prueba.

1. Usando la pipeta se colocaron 3 gotas de muestra (sangre entera) a un tubo de muestra (tapa azul).
2. Se coloca el frasco en posición vertical y se agregaron 4 gotas de conjugado al tubo de muestra.
3. Se tapo el tubo de muestra y se mezcló bien, se agito el tubo de tres a cinco veces.
4. Se colocó el dispositivo sobre una superficie plana. Se vació el contenido del tubo de muestra a la cubeta de muestra, se tuvo el cuidado de no salpicar el contenido fuera de la cubeta. La muestra fluyó a través de la ventanilla de resultados llegando al círculo de activación en 30-60 segundos aproximadamente. Parte de la muestra quedó en la cubeta de muestra.
5. Se observó cuidadosamente para detectar un color azul en el sitio de activación, cuando comenzó a aparecer el color azul en el círculo de activación se pulsó firmemente el activador hasta que está a nivel con el cuerpo del dispositivo.
6. Se realizó la lectura del resultado de la prueba a los 8 minutos.

Hemograma

A algunos pacientes se les realizó un hemograma completo para evaluar la fórmula roja, blanca y frotis sanguíneo.

Protocolo de tratamiento

Tratamiento

El tratamiento que se proporcionó a los perros positivos a ehrlichiosis fue a base de dipropionato de imidocarb a una dosis de 5 mg/kg/pv de forma

subcutánea y repitiendo la dosis a los 14 días (Imizol, lab. Shering Plough), Se utilizo el sulfato de atropina como inhibidor de la colinesterasa parasimpatomimética en forma subcutánea para evitar reacciones adversas. (Birchard, 1994).

En el caso de pacientes que presentaron problemas de infecciones secundarias se implementaron tratamientos de acuerdo a la signología que presentaron al momento de la revisión (Green, 1984).

15 días después del último tratamiento se realizo una valoración clínica para observar la evolución, se registraron los pacientes que respondieron y los que no respondieron al tratamiento.

Evaluación de resultados

Una vez obtenidos los resultados se caracterizo a la población de perros afectados considerando la reseña (raza, sexo, edad, habitad), hallazgos al examen físico y en su caso la respuesta clínica al tratamiento con dipropionato de imidocarb.

Tabla de registro de pacientes seleccionados para la realización de la prueba.

N° de paciente	Raza	Edad	sex o	Emacia - cion	Garrapatas	epixtasis	Dolor articular	fiebre	Problemas de piel	resultado	Respuesta al tx	No supero tx
1	Maltes	1.4	M	**	**	**		**	**	+	-	**
2	Rottwailer	6.5	M	**	**	**		**		+	-	**
3	Doberman.	4.2	M		**					+	+	
4	Siberian h.	3.2	M		**					-		
5	Labrador	6.0	M		**		**		**	-		
6	Samoyedo	13	M	**	**	**	**	**	**	+	-	**
7	Labrador	2.6	M		**					-		
8	poodle	5.2	H		**					-		
9	Doberman	5.8	M		**	**		**		+	+	
10	P. alemán	4.2	H		**					+	+	
11	Criollo	3	M		**				**	+	+	
12	Labrador	.7	M	**	**					-		
13	Bóxer	.6	H	**	**			**		+	-	**
14	p. alemán	4	M		**					+	+	
15	Poodle	5.6	M		**				**	-		
16	Criolla	2.5	M		**					+	+	
17	Criollo	.5	H		**					-		
18	Criollo	10.2	M		**					-		
19	Criollo	5.4	H	**	**			**		-		
20	Criollo	8	H		**					+	+	
21	Criollo	8.6	M		**				**	-		
22	Criollo	4.4	M		**					-		
23	Criollo	12	H	**	**		**			-		
24	Criollo	1.4	H		**					-		
25	Bull terrier	2.7	H		**	**				+	+	
26	Bull terrier	1.8	H		**				**	+	+	
27	P. alemán	7.2	H		**					-		
28	Criollo	7.6	H		**			**		-		
29	P. alemán	12.5	H		**				**	-		
30	Cocker	2.3	H		**	**				+	+	
31	Doberman	8	M		**					+	+	
32	P. alemán	.11	H		**					-		
33	Labrador	3.8	M		**					+	+	
34	p. alemán	7.5	M		**					-		
35	Criolla	2.7	H		**				**	+	+	
36	Labrador	2.8	M	**	**	**				+	+	
37	Labrador	2.8	M		**					+	+	
38	Cocker	1.5	M		**					-		
39	Poodle	4.3	M	**	**		**			-		
40	Poodle	12	M		**					+	+	
41	Poodle	8	M		**					+	+	
42	Schnauzer	3.8	H	**	**	**			**	+	-	**
43	Collie	2.6	H		**					-		
44	Poodle	9	M		**	**	**			+	+	
45	Poodle	6.2	M		**					+	+	
46	Poodle	6.8	M		**				**	+	+	
47	Labrador	3	M		**					+	+	
48	Bull terrier	6.3	H	**	**					-		
49	P.Australia	2.7	M		**				**	-		
50	Poodle	9.9	H		**					+	+	
51	Poodle	9.2	H		**					+	+	
52	Poodle	7.4	M		**					+	+	
53	Labrador	4.6	M	**	**	**	**		**	+	+	
54	Cocker	1.3	H		**					-		
55	Cocker	8	M		**	**				+	+	
56	Boxer	3.1	M		**					-		
57	Poodle	5.2	M		**					+	+	
58	Cocker	3.4	M		**			**	**	+	+	
59	Poodle	6.5	M		**					+	+	
60	Dálmata	8.6	H		**					-		
61	Rottwailer	4.6	H		**					-		
62	Cocker	2.9	H		**					+	+	
63	Labrador	5.6	M		**					+	+	
64	Schnauzer	3.2	H		**	**				+	+	

Prueba estadística

La prueba estadística que se utilizó para evaluar las variables fueron tablas de contingencias usando 2 X K y todas las variables son analizadas por regresión binomial logística $P \leq 0.20$ (Waine, 1979).

Se utilizó el programa llamado "JMP: the statistical discovery software version 5.

Resultados

De enero 2003 a diciembre del 2004 se presentaron a consulta 1210 pacientes al Hospital de Central Medica Veterinaria de los cuales 64 presentaron semiología sospechosa a ehrlichiosis canina con presencia de garrapatas y hemorragias espontáneas. Se practicó la técnica diagnóstica de ELISA a los 64 pacientes, resultando 37 (57.82 %) positivos y 27 (42.18%) negativos.

De los 37 pacientes positivos se incluyeron razas puras 33 (89.19%) y 4 criollos (10.81%). Las razas puras que presentaron más positivos fueron: 10 perros Poodle (27.03%), 6 Labradores (16.23%), 4 Cocker (10.81%) y otras razas entre el 8.12 al 2.7 %.

En relación al sexo se presentaron 25 machos (67.57%) y 12 hembras (32.43%). Las edades de los pacientes positivos oscilaron entre los 6 meses y 15 años, los porcentajes se presentan en el cuadro 1.

La semiología de los 37 pacientes seropositivos a ehrlichiosis canina fue: 27 (73%) animales presentaron: epistaxis, petequias y equimosis en mucosa oral y piel, mucosas pálidas, flacidez abdominal, edema escrotal, uveítis y pérdida progresiva de peso. 37 animales (100%) presentaron o tuvieron garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* con diferentes grados de infestación. A los animales positivos se les aplicaron dos tratamientos a base de 5 mg/kg de peso por vía intramuscular de dipropionato de imidocarb con intervalo de 14 días y 32 pacientes (86.50%) respondieron favorablemente. Los porcentajes se muestran en el cuadro 2.

De 29 hemogramas realizados a perros positivos a *Ehrlichiosis canina* los cambios más relevantes fueron: anemia normocítica normocrómica no regenerativa con hiperproteinemia, con leucocitosis ligera y neutrofilia con presencia de 3% de mórulas de *Ehrlichiosis canina* en el citoplasma de monocitos; y en el recuento de plaquetas por el método indirecto fue de trombocitopenia. Los resultados se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 1. Porcentaje de animales seropositivos a ehrlichiosis canina de acuerdo con la raza, sexo y edad en un hospital veterinario de la ciudad de Colima, Col. México.

Variables	Número de pacientes	Porcentajes %
Razas		
Puras	33	89.19
Criollos	4	10.81
Sexo:		
Machos	25	67.57
Hembras	12	32.43
Edad:		
Menos de un año	1	2.70
1 – 3 años	10	27.03
3 – 7 años	15	40.54
7 – 10 años	8	21.62
10 – 15 años	3	8.11

Cuadro 2. Porcentaje de animales seropositivos a ehrlichiosis canina de acuerdo con la semiología, presencia de garrapatas y respuesta al tratamiento en un hospital veterinario de la ciudad de Colima, Col. México.

Variables	Número de pacientes	Porcentajes %
Con signos de enfermedad	27	73
Sin signos de enfermedad	10	27
Con garrapatas	37	100
Sin garrapatas	0	0
Respuesta favorable al tratamiento	32	86.50
No respondieron al tratamiento	5	13.50

Cuadro 3. Valores promedio de 29 hemogramas practicados a los pacientes seropositivos a ehrlichiosis canina en el hospital de Central Medica Veterinaria del Estado de Colima, Col. México.

Analito	Promedio	Rango normal	Interpretación
Hematocrito %	33	37 – 55	Bajo
Hemoglobina g/dl	10	12 – 18	Bajo
Glóbulos rojos 10 ⁶ x/mm	3.5	5.5 – 8.5	Bajo
VCM fl	74	60 – 77	Normal
CMHC gr/dl	34	32 – 36	Normal
Proteína plasmática gr/dl	8.0	6 – 7.5	Elevado
Glóbulos blancos mil/mm ³	17179	6000 – 17000	Elevado
Neutrófilos segmentados mm	14674	3000 – 11400	Elevado
Linfocitos mm	3221	1000 – 4800	Normal
Monocitos mm	641	150 – 1350	Normal
Eosinófilos mm	374	100 – 750	Normal

3 % de los casos presentaron mórula de *E. canis* en monocitos sanguíneos

Resultados por medios estadísticos

Los siguientes factores se asociaron con animales seropositivos a la ehrlichiosis:

Signos: para esta variable si existe una relación entre los que presentaron signología y los que no OR 3.94, CI= 1.70-9.10, P= < 0.0016.

Sexo: para esta variable si existe una relación entre los machos y las hembras OR= 2.77, CI= 1.24-6.20, P= < 0.0186.

Raza: para esta variable si existe una relación entre las razas puras y los criollos OR= 15.96, CI= 5.18-49.16, P= < 0.0000.

El tratamiento: para esta variable si existe una relación entre los animales tratados y no tratados OR=11.8, CI= 4.18-33.25, P= < 0.0000.

Las demás variables fueron altamente significativas.

Discusiones

La seroprevalencia de Ehrlichiosis canina del 57.82 % en esta investigación es superior a la reportada en Colima de 34. 5 % por (Núñez, 2001). y a la prevalencia de 44.1 % de infección de 120 perros de Mérida, Yucatán (Rodríguez, *et al.*, 2005), prevalencia igual o menor se reporta en la región Norte de México con una prevalencia de 16 – 70%, así como la zona sureste con una prevalencia de 21 – 44 % (Núñez, 2001).

La seroprevalencia es mayor a la reportada en un estudio de 5 años de 1997 a 2001 en Cartagena, Colombia donde la prevalencia de ehrlichiosis canina fue de 45.6 % de seropositivos en una población canina de 2873 animales. (Ortegon, *et al.*, 2005).

La seropositividad es muy superior a la reportada en diferentes partes de los Estados Unidos, como: Arizona en donde realizaron un estudio retrospectivo para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* por medio de inmunofluorescencia indirecta en 339 perros durante 1975, en Phoenix, Arizona, encontrando 40 de 339 (12%) de positivos a ehrlichiosis canina. (Stephenson, E. H, and Ristic, M., 1978).

En Connecticut y New York analizaron 60 sueros de perros durante 1986 para buscar anticuerpos de *Ehrlichia canis* y encontraron 7 de 60 (11.7%) de prevalencia. (Magnarelli, L. A., and Anderson, J. F. 1993).

En Oklahoma estudiaron 65 perros de las regiones norte centro y norte este de Oklahoma para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* encontrando 10 de 65 (15.4%) de animales seropositivos.(Murphy, G. *et al.*, 1998).

En la clínica del Colegio de Medicina Veterinaria de Carolina del Norte se analizaron anticuerpos desde 1990 al 2000 y encontraron una prevalencia a *Ehrlichia canis* de 16.7% de reactores positivos. (Smith, B. *et al.*, 2004).

En Tennessee determinaron la prevalencia de seropositivos a *Ehrlichia canis* en 90 perros adultos y correlacionaron los resultados entre ELISA, inmunofluorescencia indirecta y PCR. Usando ELISA 1 positivo de 90 (1.1 %), inmunofluorescencia 10 de 90 (11%) y PCR no se logro determinar. Concluyen que existe discordancia entre las pruebas utilizadas por que los perros se exponen a diferentes variedades de *Ehrlichia*. (Seaman, R *et al.*, 2004).

La seropositividad del presente estudio es muy superior a los reportado en Israel, Italia, Alemania y África, en donde la seroprevalencia de Israel fue del 30% en perros de mascotas siendo la parte norte y centro de Israel la de mayor seroprevalencia con un 23.9%. (Baneth *et al.*, 1996).

Estudiaron a 423 perros para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* en Italia encontrando 85 de 423 (20%) seropositivos. (Bounavoglia, D. *et al.*, 1995).

En Alemania utilizaron sueros de 996 perros de Switzerland, Zurich para determinar anticuerpos de *Ehrlichia canis* encontrando 22 de 996 (2.2%) de seroprevalencia a *Ehrlichia canis*. (Pusterla, N., *et al.*, 1998).

En África estudiaron a 68 perros y detectaron anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, encontrando 26 de 68 (38.2%) de seropositividad en Tunisia, Senegal y Chad. (Brouqui, P. *et al.*, 1991).

La seropositividad del presente estudio fue superior a lo reportado en Asia en donde utilizaron PCR para detectar *Ehrlichia canis*, en Japón encontraron en la parte subtropical de Okinawa 27.6% y perros de la isla de Miyako 45%, la Isla de Ishigaki 11.1%. (Inokuma, H., *et al.*, 2001).

Se estudiaron 150 sueros de perros de Japón de Yamaguchi y Neighbouring para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* por medio de la inmunofluorescencia indirecta y encontraron 10% de prevalencia de *Ehrlichia canis*. (Watanabe, M et al., 2004).

Los perros seropositivos a Ehrlichiosis canina en el presente estudio de acuerdo a la raza y al sexo; las razas puras 33.19% y los machos 67.57% fueron los que predominaron, resultando igual a lo reportado por (Stephenson, 1978 y Ortegón et al., 2005); en donde encontraron que el 12% de los perros positivos a *Ehrlichia canis*, la prevalencia fue alta para perros de raza pura (21%) como Pastor Alemán comparada con el 8% de razas criollas. (Sthepenson, E. H y Ristic, M., 1978).

El 62.3% corresponde a machos y el 37.7% a las hembras positivas a *Ehrlichia canis*. En Cartagena. (Ortegón, S. E., et al., 2005).

En otro estudio el grupo racial con mayor número de casos positivos fue Pinscher, Schnauzer, Molossian, Mastín, Semmenhund suizo con 31% seguido de perros de juguete y otras razas miniaturas con 18.8 % y el grupo de razas no reconocidas con 17.5 %. (Ortegón, S. E., et al., 2005).

Sin embargo, en cuanto al sexo no es tan significativo como lo señalan en la seroprevalencia del 12 % de *Ehrlichia canis* entre sexo no es significativo. (Sthepenson, E. H y Ristic, M., 1978).

El 88% de los 17 perros con ehrlichiosis granulocítica en Minnesota y Wisconsin fueron de raza pura y el 76% fueron hembras. (Greig, B. et al., 1996).

El grupo racial de razas puras con mayor seroprevalencia de *Ehrlichia canis* se le atribuye a que dichas razas son las de mayor predilección por parte de la

comunidad de Colima, estos resultados difieren a los encontrados por (Ettinger, 1997) quien lo atribuye a perros pastores.

A pesar de los resultados encontrados y no ser significativos la raza y el sexo, se comparte la idea que la raza influye en la medida que sea de mayor utilización. Todas las razas sin importar el sexo que habitan en zonas endémicas de la ehrlichiosis canina deben considerarse en riesgo de infección.

La distribución de perros seropositivos a *Ehrlichia canis* con relación a la edad, se determinó que el grupo de 3 a 7 años de edad tuvo una mayor predisposición con prevalencia de 40.54 % seguida de los perros entre 1 a 3 años de edad con 27.03 % de prevalencia. Estos resultado difieren a los encontrados por Ortegón *et al.*, 2005, en donde mencionan que la edad de mayor prevalencia en caso de perros se registro en menores de 1 año con un 49.4 %, segundo de 1 a 5 años con 36.9 % y la menos observada en los mayores de 10 años con 2.9 %. (Ortegón, S. E., *et al.*, 2005).

Y son similares a las reportadas por (Sthepenson y Ristic, 1978 y Greig, *et al.*, 1996) quienes encontraron la seroprevalencia del 12% de *Ehrlichia canis* que se presento en perros de 12 semanas a 13 años de seropositivos. (Sthepenson, E. H y Ristic, M., 1978).

La edad promedio de 8 años fue la más frecuente en 17 perros de Wisconsin y Minnesota con ehrlichiosis granulocítica. (Greig, B. *et al.*, 1996).

La seroprevalencia para perros menores de un año fue de 14.9 %; para adultos de 1 a 8 años 36.4 % y para perros mayores de 8 años 34.2 %. (Núñez, 2001).

Es importante señalar que en este estudio el 73 % de los perros presentaron signos clínicos compatibles con la enfermedad y el 27 % carecían de signología, manteniéndose en fase subclínica, esto es comparable a lo reportado por (Núñez,

2001., López, 2004., Kakoma *et al.*, 2000), quienes señalan que un 54 % presentaron signos clínicos a ehrlichiosis canina. (Núñez, 2001).

Los hallazgos clínicos van desde letargia, anorexia, pirexia, anemia, pérdida de peso 50 – 60 %. Linfomegalia y hemorragias (petequias y epistaxis) en el 30 a 40 %. (López, 2004).

El diagnóstico clínico de la Ehrlichiosis canina se basa en las manifestaciones de fiebre, anorexia, trombocitopenia, descarga nasolagrimal y epistaxis, así como presencia del vector, sin embargo se tiene que hacer un diagnóstico definitivo demostrando la presencia del agente etiológico a través de PCR. (Kakoma, I. *et al.*, 2000).

De los animales seropositivos a la Ehrlichiosis canina 37 (100 %) estuvieron infestados por garrapatas, resultados superiores a los reportados por (Núñez, 2001) quien señala que el 79 % de los perros positivos en México tuvieron garrapatas.

El 86.50 % de los perros positivos a Ehrlichiosis canina respondieron al tratamiento y solo 5 casos (13.50%) no respondieron. Cuando se utilizaran drogas para el tratamiento de Ehrlichiosis canina como tetraciclinas, doxyciclina e imidocarb los resultados son muy variables en su eficacia y cuestionables por resultar inadecuados como lo señalan los siguientes autores.

Ehrlichiosis canina en Tailandia se utilizó tetraciclina (66 mg/kg de peso corporal / día / 14 días/ vía oral) como tratamiento terapéutico y profiláctico y en el 60 % de los perros desapareció la enfermedad. (Davidson, D. *et al.*, 1978).

Experimentalmente infectaron perros con *Ehrlichia canis* y después fueron tratados con doxyciclina y resulta cuestionable la eficacia, dosis y duración del tratamiento. (Iqbal, Z y Rikihisa, Y., 1994).

Infectaron experimentalmente a perros con *Ehrlichia canis* desarrollando trombocitopenia y títulos altos de anticuerpos detectados por inmunofluorescencia indirecta, de 6 a 8 semanas post-infección, se trataron con dipropionato de imidocarb (5mg/kg subcutáneamente) y a las 12 semanas (5mg/kg intramuscularmente). El resultado de este experimento confirma que este tratamiento es efectivo para tratar perros infectados con ehrlichiosis canina. (Matthewman, L. *et al.*, 1994).

Evaluaron a 68 perros con títulos de anticuerpos de *Ehrlichia canis*, el tratamiento fue variable primero se dio tetraciclina y/o doxyciclina y encontraron una persistencia de anticuerpos, prolongada fase sub-clínica, medicación prolongada (210 días). Se sugiere que esta combinación es inadecuada. (Bartsch, R. C., y Greene, R. T. 1996).

Se evaluó la eficacia del tratamiento con doxyciclina (10 mg/kg de peso corporal cada 24 horas por 42 días) en perros infectados con presentación sub-clínica de *Ehrlichia canis* y se observó que después de 6 semanas de tratamiento aún sigue el perro infectado. (Harrus, S. *et al.*, 1998).

Experimentalmente se inocularon perros con *Ehrlichia canis* en Florida y probaron la eficacia de doxyciclina para el tratamiento agudo de Ehrlichiosis, concluyendo que la doxyciclina es un efectivo tratamiento para las infecciones agudas de *Ehrlichia canis*, sin embargo, estos resultados no pueden ser aplicables para infecciones naturales crónicas. (Breitschwedt, E. *et al.*, 1998).

La respuesta al tratamiento con tetraciclinas o doxyciclina para ehrlichiosis canina es muy variable y no se nota en los perros con infección. (Goldman, E. *et al.*, 1998).

Los cambios encontrados en el laboratorio de anemia no regenerativa normocítica normocrómica, hiperproteinemia, leucocitosis con neutrofilia, trombocitopenia y 3 % de mórulas de *Ehrlichia canis* en el citoplasma de monocitos son similares a los reportados por varios investigadores, los que señalan:

En perros con *Ehrlichia canis* fue diagnosticada con historia de anemia no regenerativa, altos títulos de anticuerpos, concentración alta de proteína y leucocitosis mononuclear con mórulas de *Ehrlichia canis*. (Meinkoth, J. *et al.*, 1989).

De 37 perros con diagnóstico de Ehrlichiosis canina granulocítica encontraron mórula en 0.1 a 26.2 % en neutrófilos y eosinófilos sanguíneos respectivamente, y la anormalidad hematológica más común fue trombocitopenia. (Stockhman, S. *et al.*, 1992).

Estudiaron 17 perros con Ehrlichiosis granulocítica de Minnesota y Wisconsin y el más frecuente cambio de laboratorio fue trombocitopenia con linfopenia. (Greig, B *et al.*, 1996).

Utilizaron 6 perros y experimentalmente se inocularon con *Ehrlichia canis* y determinaron la disfunción de la plaquetas y sugieren que la disfunción de las plaquetas trombocitopenia ocurre en el estado agudo de la *Ehrlichiosis canina*. (Harrus, S. *et al.*, 1996).

Se examinaron perros Beagle durante la fase sub-clínica de *Ehrlichiosis canina* bajo condiciones controladas, lo más relevante al laboratorio fue la trombocitopenia con incremento de tamaño de las plaquetas, el 78 % presentaron leucopenia y el 71 % con neutropenia. (Waner, T. *et al.*, 1997).

Las anormalidades de laboratorio en perros con ehrlichiosis granulocítica de Carolina del Norte y Virginia son anemia no regenerativa normocítica

normocrómica, moderada trombocitopenia, linfopenia y eosinopenia. (Goldman, E *et al.*, 1998).

Comparando la sensibilidad diagnóstica entre la sangre periférica, nódulo linfoide y médula ósea para encontrar *Ehrlichia canis*, el mejor método fue el nódulo linfoide 60.9 % y la mórula se detectó más en linfocitos que en monocitos. (Mylonakis, M. *et al.*, 2003).

En la Ehrlichiosis canina se presenta en el 90% de los casos trombocitopenia y anemia normocítica normocrómica no regenerativa 70% presencia de mórula *Ehrlichia canis* aproximado de 4 a 6 de los linfocitos, con recuento leucocitario variable de leucocitosis a leucopenia. (López, G. 2004).

Evaluaron el conteo de plaquetas en perros con *Ehrlichia canis*, encontrando que 30.9 % con >200 000 /ml, 63.1 % con 100 000 – 200 000/ml y 21 % con <100 000/ml. El conteo de plaquetas es buen indicador para diagnosticar *Ehrlichia canis*. (Bulla, C. *et al.*, 2004).

Ehrlichiosis en perros de Yucatán encontraron trombocitopenia y el 5 % presentaron la típica mórula de *Ehrlichia canis* observada en el citoplasma de los monocitos. (Rodríguez, V. *et al.*, 2005).

Por los resultados obtenidos se puede señalar que el Estado de Colima, es una zona enzoótica de alta importancia para la ehrlichiosis canina ya que existen factores de riesgo como el clima y los vectores esenciales para la transmisión de la Ehrlichiosis. Las condiciones climatológicas juegan un importante papel en el desarrollo y presencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.

Conclusiones

1. Los casos positivos fueron 37 que indican una seroprevalencia de 57.82 %.
2. La ehrlichiosis canina puede presentarse en perros de cualquier raza, sexo y edad.
3. La ehrlichiosis canina puede manifestarse con o sin signología.
4. La ciudad de Colima tiene las condiciones climatológicas adecuadas para el desarrollo de garrapatas y este juega un factor de riesgo importante para la infección con *Ehrlichia canis*.
5. El tratamiento para la ehrlichiosis canina con dipropionato de imidocarb es recomendable con 86.50% de efectividad.
6. Los cambios hemáticos de la ehrlichiosis canina son: anemia normocítica normocrómica con trombocitopenia y leucocitosis con baja presencia de mórulas de *Ehrlichia canis* en monocitos.
7. Se debe fomentar medidas preventivas y de control de vectores de la Ehrlichiosis canina ya que es importante para la salud animal y la salud pública.

Literatura

1. Atria I. E. 2003. Erlichiosis canina, Clínica Menor Universidad de Chile. Arc. Med. Vet. Educación Veterinaria
2. Baneth, G., Waner, T., copla, A., Weinstein, S S., Keysary, A. 1996. Suervey of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Israel. Vet. Rec 1996, 16;138 (11): 257 – 259.
3. Bartsch RC, Greene RT. Post-therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. J Vet Intern Med. 1996 Jul-Aug;10(4):271-4.
4. Beauvils, J.P. 1997. Ehrlichiosis: Clinical aspect in dogs and cats. International forum on ticks and tick-borne disease, Compendium on Continuing Education for the practicing veterinarian. 19: 57-61.
5. Birchard S J. y Sherding R G .1994 Enfermedades rickettsias . Manual clínico de pequeñas especies. . Vol. I (146-149).
6. Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI. Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two *Ehrlichia canis* strains. Antimicrob Agents Chemother. 1998 Feb;42(2):362-8.

7. Brouqui P, Davoust B, Haddad S, Vidor E, Raoult D. Serological evaluation of *Ehrlichia canis* infections in military dogs in Africa and Reunion Island. Vet Microbiol. 1991 Jan;26(1-2):103-5.

8. Bulla C, Kiomi Takahira R, Pessoa Araujo J Jr, Aparecida Trinca L, Souza Lopes R, Wiedmeyer CE. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. Vet Res. 2004 Jan-Feb;35(1):141-6.

9. Buonavoglia D, Sagazio P, Gravino EA, De Caprariis D, Cerundolo R, Buonavoglia C. Serological evidence of *Ehrlichia canis* in dogs in southern Italy. New Microbiol. 1995 Jan;18(1):83-6.

10. Codner, E.C., L.L. Farris-Smith. 1989. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dog, Am. J. Vet. Rec. 50:1544.

11. Davidson DE Jr, Dill GS Jr, Tingpalapong M, Premabuttra S, Nguen PL, Stephenson EH, Ristic M. Prophylactic and therapeutic use of tetracycline during an epizootic of ehrlichiosis among military dogs. J Am Vet Med Assoc. 1978 Mar 15;172(6):697-700.

12. Donatien A. Lestoquard F. 1935: Existence in Algeria of a Rickettsia of dogs. Bull. Soc. Pathol. Exot. ; 28: 418-419.

13. Ettiger; S. 1997. Tratado de medicina interna veterinaria. 4° Ed. Vol. I Ed. Intermedica, Buenos Aires Argentina, 1997.

14. García AC, Núñez OL: 1996 Pancitopenia tropical en un perro. Rev AMMVEPE. ; 7 (6): 235–236.

15. Ghorbel, A., Clero, B., Djarem, A. 1994. Canine Ehrlichiosis in Tunisia seroepidemiological survey. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 1994; 47 (3): 271 – 275.
16. Goldman EE, Breitschwerdt EB, Grindem CB, Hegarty BC, Walls JJ, Dumler JS. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. *J Vet Intern Med.* 1998 Mar-Apr; 12(2):61-70.
17. Greene CE, Harvey JW.:1984; Canine Ehrlichiosis. In: Greene CE (ed.) *Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat.* Philadelphia: WB Saunders Co. ; 545–561.
18. Greig B, Asanovich KM, Armstrong PJ, Dumler JS. Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. *J Clin Microbiol.* 1996 Jan; 34(1):44-8.
19. Harrus S, Waner T, Aizenberg I, Bark H. Therapeutic effect of doxycycline in experimental sub clinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course. *J Clin Microbiol.* 1998 Jul; 36(7):2140-2.
20. Harrus, S. Waner, T. Eldor, A. Zwang, E. Bark, H. Platelet dysfunction associated with experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet. Rec.* 1996 Sep 21; 139(12):290-3.
21. Inokuma H, Ohno K, Onishi T, Raoult D, Brouqui P. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures, Japan. *J Vet Med Sci.* 2001 Jul; 63(7):815-7.

22. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México 2003. Cartografía del estado de Colima. Censo extraordinario.
23. Iqbal Z, Rikihisa Y. Reisolation of *Ehrlichia canis* from blood and tissues of dogs after doxycycline treatment. J Clin Microbiol. 1994 Jul;32(7):1644-9.
24. Kakoma I, Sainz A, Tesouro M, Amusategui I, Kim CH, Biggerstaff J, McPeak J, Levy MG. Standardization of the diagnostic criteria for canine ehrlichiosis. Towards a universal case definition. Ann N Y Acad Sci. 2000;916:396-403.
25. Kuen, N.F., S.D. Gaunt. 1985. clinical and hematologic findings in canine Ehrlichiosis, JAVMA 186: 355-358.
26. López, G. S. Ehrlichiosis canina. COMVEPEJ. 2004. 4 (42): 17 – 20.
27. Magnarelli LA, Anderson JF. Serologic evidence of canine and equine ehrlichiosis in northeastern United States. J Clin Microbiol. 1993 Nov;31(11):2857-60.
28. Matthewman LA, Kelly PJ, Brouqui P, Raoult D. Further evidence for the efficacy of imidocarb dipropionate in the treatment of *Ehrlichia canis* infection. J S Afr Vet Assoc. 1994 Sep;65(3):104-7.
29. Meinkoth JH, Hoover JP, Cowell RL, Tyler RD, Link J. Ehrlichiosis in a dog with seizures and nonregenerative anemia. J Am Vet Med Assoc. 1989 Dec 15;195(12):1754-5.
30. Murphy GL, Erwin SA, Whitworth LC, Fox JC, Kocan AA. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and

- E. ewingii in dog and ticks from Oklahoma. Vet parasitol 1998 nov 27;79(4):325-39.
31. Mylonakis ME, Koutinas AF, Billinis C, Leontides LS, Kontos V, Papadopoulos O, Rallis T, Fytianou A. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis. Vet Microbiol. 2003 Feb 2;91(2-3):197-204.
32. Núñez O. L. 2005 Métodos y técnicas de diagnóstico. Módulo I , Colección, manejo y envío de muestras. 97-100 . diplomado medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos. 6° edición, UNAM-FMVZ. México
33. Núñez, O. L. 2001. Estudio de la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en México. En Estudio nacional canino rev amvepe, N°3 luisno@servidor.unam.mx : 1 – 7. 2001.
34. Ortigón S.E. Molina G. J.A. Álvarez P.D, Estudio retrospectivo de la prevalencia de hemoparásitos en caninos. Universidad de Córdoba, Cartagena Colombia, 2005, Vet. Pp. (11).
35. Phillips T:1991 Tick-borne zoonoses. Four potential problems for pets and people. Pet Vet. ;3 (2): 18-28.
36. Pusterla, N. Pusterla, J. B. Deplazes, P. Wolfensberger, C. Muller, W. Horauf, A. Reusch, C. Lutz, H. Seroprevalence of Ehrlichia canis and of canine granulocytic Ehrlichia infection in dogs in Switzerland. J Clin Microbiol. 1998 Dec;36(12):3460-2.

37. Ristic, M., C. Holland. 1992. Ehrlichiosis canina. Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales 1° ed. Editorial med. Panamericana, Buenos Aires. Arg.
38. Rodríguez-Vivas RI, Albornoz RE, Bolio GM. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. Vet Parasitol. 2005 Jan 4;127(1):81-5.
39. Seaman, R. L. Kania, S. A. Hegarty, B. C. Legendre, A. M. Breitschwerdt, E. B Comparison of results for serologic testing and a polymerase chain assay to determine the prevalence of stray dogs in eastern Tennessee seropositive to *Ehrlichia canis*. Vet. Res 2004 Sep; 65 (9): 1200-3.
40. Smith BE, Tompkins MB, Breitschwerdt EB. Antinuclear antibodies can be detected in dog sera reactive to Bartonella Vinsonii subsp. Berkhofii, Ehrlichia canis, or Leishmania infantum antigen: J Vet Intern Med. 2004. Jan –Feb;18 (1):47-51.
41. Stephenson EH, Ristic M. Retrospective study of an *Ehrlichia canis* epizootic around Phoenix, Arizona. J Am Vet Med Assoc. 1978 Jan 1;172(1):63-5.
42. Stockham SL, Schmidt DA, Curtis KS, Schaaf BG, Tyler JW, Simpson ST. Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri, including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi*. Am J Vet Res. 1992 Jan;53(1):63-8.
43. Waite, W. D. 1979. "Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud", análisis de varianza, en, bioestadística. Ed. Limusa, México pp. 193-237, 359-396.

44. Walker JS, Rundquist JD, Taylor R, 1970 et al.: Clinical and clinicopathologic findings in canine pancytopenia. J. Am. Vet. Med. Assoc. 157: 43–5. Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. Vet Parasitol. 1997 May; 69(3-4): 307-17.
45. Watanabe M, Okuda M, Tsuji M, Inokuma H. Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan. Vet Parasitol. 2004 Sep 20; 124(1-2): 101-7.