



**UNIVERSIDAD
MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en
perros de la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz”**

TESIS QUE PRESENTAN

**ERANDI YUNUEN PINEDA RAMOS
MARÍA ELENA MORALES MORÍN**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

MAESTRO EN CIENCIAS. IGNACIO NETZAHUALCOYOTL BARAJAS LÓPEZ

Morelia, Michoacán. Mayo de 2014



**UNIVERSIDAD
MICHOCANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en
perros de la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz”**

TESIS QUE PRESENTAN

ERANDI YUNUEN PINEDA RAMOS

MARÍA ELENA MORALES MORÍN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Mayo de 2014

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR DE TESIS:

El M. C. Ignacio Netzahualcoyotl Barajas López por su disposición a orientarnos para realizar este proyecto y por su amistad.

A MIS MAESTROS:

A cada uno de los profesores de la facultad que con su experiencia nos ayudaron en varios aspectos que se requieren para el desarrollo de nuestra formación académica, tanto cívica como ética.

A LA UNIVERSIDAD:

A nuestra máxima casa de estudios por habernos dado la oportunidad de ingresar al sistema de Educación Superior y cumplir este gran sueño. A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia puesto que nos brindó conocimientos que nos ayudó para el desarrollo de nuestro proyecto y a elaboración final de este.

Dedicatoria por Erandi Yunuen Pineda Ramos

A mis padres, Jaime y Norma por ser mi ejemplo a seguir, ser el pilar fundamental en todo lo que soy, confiar siempre en mí y por su incondicional apoyo en los caminos que he decidido tomar. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ustedes.

A mi familia, mis abuelitos Carlos y Martha por hacerme saber siempre lo mucho que me quieren, en especial a mi abuelita Josefa y a mi tía Paty por procurarme durante esta etapa de mi vida.

A mi novio, Giovanni gracias por estar siempre a mi lado, por tu paciencia y comprender lo importante que ha sido para mí cumplir este sueño, por apoyarme siempre a pesar de que eso implicaría una gran distancia y en definitiva esta tesis lleva mucho de ti.

A mis amigos, Matiz, Adre, Gaby, Alo, Carlita, Cuik y Elena, quienes de una u otra forma me han ayudado con un granito de arena para lograr este proyecto, por compartir alegrías, tristezas y sobre todo muchas emociones en el transcurso de nuestras carreras, les agradezco de forma sincera su valiosa amistad.

A quienes más que ser mis mascotas son parte de mi familia, Layla, Downey, Muñeca, Jack, Luba y Ojana por dejarme practicar de vez en cuando con ellos y aun así seguirme queriendo igual o más cada día. A Mikami, Dito y Kiwi que en su momento fueron mi motivación para decidirme a tomar esta carrera.

Dedicatoria por María Elena Morales Morín

A mi hermano (Daniel Gerardo☩) que en sus últimas palabras antes de partir me dieron aliento a seguir luchando por mis sueños y metas; sin olvidar que desde el cielo me seguirás protegiendo y guiando en este camino.

A mi madre Alejandra que siempre has sido mi luz, mi fortaleza, mi apoyo y cariño.

A mi padre Gerardogracias por tu apoyo.

A mi tío Raúl, Yaheli y sobrinos, por darme su cariño y apoyo en este trabajo, ya que sin su ayuda no hubiera podido terminarlo.

A mi familia que siempre cree en mí y nunca dejan que me rinda.

A Efren Roberto que siempre has estado conmigo en las buenas y en las malas, mi saco de golpes por los tropiezos que eh dabo y que en todo momento me dabas fuerza para seguir luchando, gracias por darme tu apoyo y cariño.

A mis amigos que siempre están a mi lado en todo momentoJarintzy, Luis Manuel, Cinthya, Cuik, Karla, Norma, Mimi, Noelia yYeyo

A Daniel que has sido importante en este transcurso, gracias por tu apoyo y comprensión; sin olvidar a Ramón, Miguel Iván, Leonel, Nayeli e Iván.

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 DEFINICIÓN DE <i>Ehrlichia canis</i>	3
3.2 SINONIMIAS	3
3.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Ehrlichia canis</i>	3
3.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE <i>E. canis</i>	5
3.5 CICLO BIOLÓGICO DE <i>E. canis</i>	8
3.6 VECTOR	9
3.7 CICLO BIOLÓGICO DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	10
3.8 HOSPEDADORES	11
3.9 LOCALIZACIÓN EN EL HOSPEDADOR	12
3.10 DISTRIBUCIÓN	12
3.11 PATOGENIA	14
3.12 SIGNOS CLÍNICOS	15
3.12.1 FASE AGUDA	15
3.12.2 FASE SUBCLÍNICA	16
3.12.3 FASE CRÓNICA	16

3.13 TRATAMIENTO	17
3.14 PRONÓSTICO	19
IV. HIPÓTESIS	20
V. OBJETIVO	20
5.1. OBJETIVO GENERAL	20
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
VI. MATERIAL Y MÉTODO	21
6.1 CARACTERÍSTICAS FISIOGRÁFICAS DEL MUNICIPIO	21
6.2 POBLACIÓN OBJETIVO	23
6.3 MATERIAL	23
6.4 MÉTODO	24
6.5 PROCEDIMIENTO	25
6.6 DISEÑO ESTADÍSTICO	27
6.7 DEFINICIÓN DE VARIABLES	28
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
7.1 GRUPO UNO	29
7.1.1 TALLA DE LA RAZA	29
7.1.2 SEXO	31
7.1.3 EDAD	32
7.1.4 HÁBITAT	34
7.2 GRUPO DOS	35

7.2.1 TALLA DE LA RAZA	35
7.2.2 SEXO	36
7.2.3 EDAD	37
7.2.4 HÁBITAT	39
7.3 POBLACIÓN TOTAL (SANOS Y ENFERMOS)	40
VIII. CONCLUSIONES	43
IX. LITERATURA CITADA	44
X. ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Especies de Ehrlichiosis más relevantes, grupo en el que se incluyen, especie animal afectada, células diana y vector de transmisión.	6
TABLA 2. Terapéutica antimicrobiana para Ehrlichiosis.	18
TABLA 3. Criterios de inclusión y exclusión.	25
TABLA 4. Casos positivos por talla de las razas a <i>E. canis</i> , en el grupo uno (animales enfermos).	29
TABLA 5. Casos positivos a <i>E. canis</i> , por sexo en el grupo uno.	31
TABLA 6. Casos positivos a <i>E. canis</i> de acuerdo a la etapa de edad.	32
TABLA 7. Casos positivos a <i>E. canis</i> de acuerdo al hábitat en el grupo uno.	34
TABLA 8. Casos positivos a <i>E. canis</i> por talla de la raza en el grupo dos.	35
TABLA 9. Casos positivos a <i>E. canis</i> , por sexo, en el grupo dos.	36
TABLA 10. Casos positivos a <i>E. canis</i> , por etapa de edad, en el grupo dos.	38
TABLA 11. Casos positivos a <i>E. canis</i> , por hábitat, en el grupo dos.	39
TABLA 12. Frecuencia total y por grupo de casos detectados a <i>E. canis</i> .	40
TABLA 13. Pauta de valores comparativos de frecuencias de casos positivos a <i>E. canis</i> , obtenidos en los últimos 20 años, a través de todo el mundo.	42
TABLA 14. Signos relacionados con <i>Ehrlichia canis</i> que se pueden encontrar en el examen físico.	54

TABLA 15. Características del grupo uno muestreados **57**

TABLA 16. Características del grupo dos. **58**

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Desarrollo de la Ehrlichia en una célula infectada. **9**

FIGURA 2. Garrapata *Rhipicephalussanguineus*. **10**

FIGURA 3. Ciclo biológico de la *E. Canis* **11**

FIGURA 4. Distribución de *Rhipicephalussanguineus* en los Estados Unidos de América. **13**

FIGURA 5. Distribución nacional en la república mexicana de la garrapata *Rhipicephalussanguineus*. **13**

FIGURA 6. Mapa de localización del municipio de Acayucan, Veracruz. **22**

Figura 7. División en cuadrantes de la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz. **24**

FIGURA 8. Porcentajes de acuerdo a la raza en el grupo uno. **30**

FIGURA 9. Distribución por sexo de los perros en el grupo uno. **31**

FIGURA 10. Porcentajes por rangos de edades en el grupo. **33**

FIGURA 11. Porcentaje de hábitat en grupo uno. **34**

FIGURA 12. Porcentajes por talla de la raza del grupo dos. **36**

FIGURA 13. Distribución por sexos, en del grupo dos.	37
FIGURA 14. Porcentaje de los rangos por edades en el grupo dos.	38
FIGURA 15. Porcentaje de perros en hábitat.	39
FIGURA 16. Distribución por razas en la población objetivo.	52
FIGURA 17. Porcentajes por sexo, en la población total.	52
FIGURA 18. Porcentaje de los rangos de edades para la población objetivo.	53
FIGURA 19. Porcentaje del total de perros de acuerdo al hábitat.	53
FIGURA 20. Signología encontrada en el grupo uno.	54

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN 1. Obtención de muestra de sangre	25
IMAGEN 2. Tubo con la muestra de sangre	26
IMAGEN 3. Placa para la prueba de inmuno-migración rápida Witness® <i>Ehrlichia</i>	26
IMAGEN 4. Depósito de sangre y gotas de solución tapón en la placa para la prueba de inmuno-migración rápida Witness® <i>Ehrlichia</i>	26
IMAGEN 5. Placa para la prueba de inmuno-migración negativa Witness® <i>Ehrlichia</i> , Laboratorios Symbiotics	27
IMAGEN 6. Placa para la prueba de inmuno-migración positiva Witness® <i>Ehrlichia</i> , Laboratorios Symbiotics.	27

ABSTRACT

Detection of antibodies against *Ehrlichia canis* in dogs of the main town of Acayucan, Veracruz. Thesis presented by Erandi Yunuen Pineda Ramos and María Elena Morales Morín, to obtain the title of Zootechnician veterinary Doctor; developed under the management and consultancy of: MC. Ignacio Netzahualcóyotl Barajas López.

Antibodies against *Ehrlichia canis* were detected, through a descriptive study, of cross and observational type, in 35 canine specimens of different breeds, with a history of infestation by *Rhipicephalussanguineus*, in the main town of Acayucan, Veracruz; situated in 17°56'55"N and the 94°54'54"W at 301 ft. above sea level. Complete blood samples were obtained for the detection of antibodies using the quick immuno-migration test (Witness® Erlichis, Laboratory Symbiotic). 10 diseased animals were tested (Group 1), with at least one clinical sign associated to *E. canis*, cared for in two clinics of the same town and at simple random 25 healthy animals (Group 2). In the group of the diseased specimens 30% were detected positive and in the group of healthy animals an 8% was observed. In the total population, 14% was found positive to *E. canis*. The statistical analysis executed by the means of a software Epi-Info™, with data of Odds ratio, and of X^2 , demonstrated as a relative risk factor associated to *E. canis*, the size of the breeds in group one (OR 1.5, $X^2 < 1$) and to the phase by their age, in both groups (Group one OR 1.667, $X^2 < 1$ and Group two OR 1.36, $X^2 < 1$). There were no significant differences ($P \geq 0.05$), regarding the breed, age, gender, habitat, or previous clinical condition, diseased or healthy specimens.

Key words: *Ehrlichia canis*, immuno-migration test, detection of antibodies, *Rhipicephalussanguineus*

I. RESUMEN

Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros de la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz. Tesis Presentada por Erandi Yunuen Pineda Ramos y María Elena Morales Morín, para obtener el título de Médica Veterinaria Zootecnista; desarrollada bajo la Dirección y Asesoría de: MC. Ignacio Netzahualcóyotl Barajas López.

Se detectaron anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, mediante un estudio descriptivo, de tipo transversal y observacional, en 35 ejemplares caninos de diferentes razas, con antecedentes de infestación por *Rhipicephalus sanguineus*, en la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz; situada entre los 17°56'55"N y los 94°54'54"O a 92 msnm. Se obtuvieron muestras de sangre completa para la detección de anticuerpos por la prueba de inmuno-migración rápida (Witness® Erlichis, Laboratorio Synbiotics). Se muestrearon 10 animales enfermos (Grupo 1), con al menos un signo clínico asociado a la *E. canis*, atendidos en dos clínicas veterinarias de la misma localidad y en forma aleatoria simple 25 animales sanos (Grupo 2). En el grupo de enfermos se detectó el 30% de positivos y en el de animales sanos se observó un 8%. En la población total, el 14% se encontraron positivos a *E. canis*. El análisis estadístico efectuado mediante el programa Epi-Info™, con las pruebas de Odds ratio, y de X^2 , demostró como factores de riesgo relativo asociado a *E. canis*, a la talla de la raza en el grupo uno (OR 1.5, $X^2 < 1$) y a la etapa por edad, en ambos grupos (Grupo uno OR 1.667, $X^2 < 1$ y Grupo dos OR 1.36, $X^2 < 1$). No hubo diferencias significativas ($P \geq 0.05$), respecto a raza, edad, sexo, hábitat o condición clínica previa, enfermos o sanos.

Palabras claves: *Ehrlichia canis*, prueba de inmuno-migración, detección de Anticuerpos, *Rhipicephalus sanguineus*

II.INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reconocen 174 enfermedades zoonóticas de las cuales el perro (*Canis familiaris*) es capaz de transmitir 53 y dentro de éstas, existen cerca de 10 transmitidas por medio de la garrapata (Otranto *et al.*, 2010; Pan American Health Organization, 2003).

Las infecciones transmitidas por garrapatas constituyen un tema emergente de creciente interés mundial, en particular aquellas relacionadas a mascotas, por su estrecho contacto con las personas, destacando las Ehrlichiosis, que es una enfermedad sistémica causada por la *Rickettsia Ehrlichiaspp.* Desde 1980, el reconocimiento de la Ehrlichiosis como una enfermedad potencialmente fatal de las personas, su amplia distribución mundial, la identificación de varias especies relacionadas, pero distintas de *E. canis*, junto con la disponibilidad de técnicas de diagnóstico incluidas las moleculares sofisticadas, destacan la importancia capital de los estudios epidemiológicos de esta entidad (Cohn, 2003)..

Se denominan enfermedades Rickettsiales a aquellas causadas por organismos de la familia *Rickettsiaceae*; éstos son microorganismos bacterianos cocobacilares, pleomórficos, gram-negativos, aerobios, diminutos (0.3 x 1 a 2 µm) e intracelulares obligados. Se encuentran los géneros *Rickettsia* y *Ehrlichia*, de los cuales existen numerosas especies patógenas para los animales y el ser humano (Ettinger y Feldman, 2002).

Las enfermedades por Rickettsias patógenas se pueden subdividir en seis grupos: Fiebre maculosa, Tifus, Tifus de los matorrales, Fiebre Q, Fiebre de las trincheras y Ehrlichiosis, cada grupo comprende una o más entidades patológicas. Estos agentes se encuentran en todo el mundo; pueden ser transmitidos por vectores como garrapatas, pulgas o niguas e inducir enfermedad que varía en intensidad desde subclínica hasta crónica (Cohn, 2003; Murria, 1997).

El presente trabajo se orientó a la detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, mediante una prueba de inmunodetección, así como a la obtención de estimadores de relativos de riesgo por raza, edad, hábitat y condición clínica previa y sus posibles relaciones en animales sanos y enfermos.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Definición de *Ehrlichia canis*

Denominada así, en honor al médico y bacteriólogo alemán Paul Ehrlich, premio Nobel de Medicina en 1908. Ésta Ehrlichiosis en su forma monocítica, es una enfermedad infecciosa del perro, caracterizada por la reducción de los elementos celulares de la sangre. Es causada por el microorganismo *Ehrlichia canis* cuyo vector y reservorio primario es la garrapata marrón (*Rhipicephalus sanguineus*) del perro (Quiroz, 2000).

3.2 Sinonimias

La enfermedad es también conocida como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina, nombres que representan diferentes designaciones de una misma enfermedad (Waner y Harrus, 2000).

3.3 Clasificación taxonómica de *Ehrlichia canis*

La Ehrlichiosis canina fue descrita por primera vez por Donatein y Lestoquard en perros en Argelia en 1935, fue llamada en un inicio *Rickettsia canis*, pero más tarde fue renombrada en 1945 como *Ehrlichia canis*. El primer informe en las

Antillas fue en 1957 en perros de la isla de Aruba, en EUA y en Sudamérica en 1962 (Donateinet *al.*, 1937), y en 1996 se consignó por primera vez la presencia de la enfermedad en México (Núñez, 2003). En 1957, Philip reagrupa los géneros *Ehrlichia*(especie tipo *Ehrlichia canis*), *Cowdriay Neorickettsia*en la tribu *Ehrlichieae*(familia *Rickettsiaceae*, orden *Rickettsiales*). En 1980, la nomenclatura de *Ehrlichieae*, *Ehrlichia* *Ehrlichia canis* es incorporada a la Lista aprobada de nombres bacterianos, lo que les confiere el estatus de nomenclaturas públicamente válidas (Ristic y Kreier, 1984).

El reconocimiento de la Ehrlichiosis como una enfermedad potencialmente fatal de las personas a finales de 1980, provocó una intensificación de la investigación centrada en estos organismos. El reconocimiento de varias especies relacionadas, pero distinta de *E. canis*, junto con la disponibilidad de técnicas moleculares sofisticadas, ha dado lugar a una serie de descubrimientos recientes en relación con estos organismos, que culminó en una reclasificación extensa con cambios en la nomenclatura (Quiroz, 2000).

La clasificación taxonómica clásica se basaba en las características morfológicas, ecológicas y epidemiológicas de las bacterias y en las manifestaciones clínicas de la enfermedad que producen (Dumleret *al.*, 2001; Brenneret *al.*, 1993).

En un artículo publicado en el International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology proponen una reorganización de estas especies a través de la eliminación de la familia *Rickettsiaceae* y la incorporación de las especies de la anteriormente denominada tribu *Ehrlichieae* a la familia *Anaplasmataceae*. Así los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdriay Neorickettsia* incorporan a la Familia *Anaplasmataceae* dentro del orden *Rickettsiales* y del *Phylum Proteobacteria*(Sumneret *al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997).

Basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, las especies anteriormente incluidas en los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdriay Neorickettsia* reorganizarían en cuatro grupos genéticos (Dumleret *al.*, 2001).

- Grupo 1: Amplía el género *Anaplasma*, incluyendo en él, además de las especies hasta entonces incluidas, *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* y *Anaplasma caudatum*, a las siguientes especies *Ehrlichia phagocytophila* (hoy llamada *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (actualmente *Anaplasma bovis*) y *Ehrlichia platys* (hoy *Anaplasma platys*). La especie tipo es *A. marginale* (Yuet *al.*, 2000; Dumler *et al.*, 2001).
- Grupo 2: El género *Ehrlichia* amplía con la inclusión de *Cowdria ruminantium* (ahora *Ehrlichia ruminantium*). La especie tipo es *E. canis*; otras especies de este género son *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris* (Yuet *al.*, 2000; Dumler *et al.*, 2001).
- Grupo 3: El género *Neorickettsia*, cuya especie tipo es *N. helminthoeca*, quedaría ampliado al incluirse en el mismo las especies *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (que pasan a denominarse *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente) (Yuet *al.*, 2000; Dumler *et al.*, 2001).
- Grupo 4: La especie *Wolbachia pipientis* será el único miembro del género *Wolbachia*. Existe una elevada reacción antigénica cruzada entre las especies del mismo grupo, ya que comparten varios antígenos superficiales homólogos; sin embargo, entre las especies de los diferentes grupos, ésta reacción antigénica cruzada es mucho menor (Yuet *al.*, 2000; Dumler *et al.*, 2001).

3.4 Distribución Geográfica de *E. canis*

En América del Norte, se menciona en un estudio realizado en 2,077 perros del ejército de E.U.A., un 11% (233 casos) de seropositividad a *E. canis* (Skotarczak, 2003). Por su parte, en Missouri, diagnosticaron la Ehrlichiosis granulocítica canina en 37 perros, determinando serológicamente títulos contra dicho agente en el 84% de los casos (Keefe *et al.*, 1982).

TABLA 1. Especies de Ehrlichiosis más relevantes, grupo en el que se incluyen, especie animal afectada, células diana y vector de transmisión.

Especie	Hospedador natural	Células infectadas <i>in vivo</i>	Vector invertebrado
Grupo de <i>E. canis</i>			
<i>E. chaffeensis</i>	Humano, Ciervo	Monocitos/Macrófagos	<i>Amblyommaamericanum</i>
<i>E. canis</i>	Cánidos	Monocitos/Macrófagos	<i>Rhipicephalussanguineus</i>
<i>E. muris</i>	Roedores	Monocitos/Macrófagos	?
<i>E. ewingi</i>	Cánidos	Granulocitos	<i>Amblyommaamericanum</i>
<i>C. ruminantum</i>	Rumiantes	C. endoteliales	<i>Amblyommaspp.</i>
Grupo de <i>E. phagocytophila</i>			
<i>E. equi</i>	Équidos	Granulocitos	<i>Ixodes pacificus</i>
<i>E. phagocytophila</i>	Rumiantes	Granulocitos	<i>Ixodes ricinus</i>
HGE*	Humana	Granulocitos	<i>Ixodes scapularis</i>
<i>E. platys</i>	Canidos	Plaquetas	?
<i>E. bovis, E. ovina</i>	Rumiantes	Monocitos/Macrófagos	<i>Hyalomma, Rhipicephalus</i>
<i>A. marginale</i>	Vacuno	Eritrocitos	Varias especies
Grupo de <i>N. helminthoeca</i>			
<i>E. sennetsu</i>	Humana	Monocitos/Macrófagos	?
<i>E. risticii</i>	Équidos	Monocitos/Macrófagos	?
<i>N. helmintheca</i>	Cánidos	Macrófagos	Trematodo

(*HGE = Ehrlichia granulocítica humana; León y Gómez, 2007).

En los Estados Unidos, la mayoría de los casos registrados han ocurrido en el oeste, nordeste, sudoeste y sudeste del país. Así, en un estudio realizado en 1082 sueros de perros pertenecientes a varios condados del Estado de California, (Cohn, 2003) refiere la presencia de *E. equicon* prevalencias que oscilan desde el 8.68% hasta el 47.3% (Brenes, 2011) y en Connecticut encontraron en 106 perros muestreados, una frecuencia del 9.4% de casos positivos (Dagnone, 2003).

En Zimbawe, en un estudio realizado a 105 perros en el Hospital Veterinario de Harare, demostraron una seropositividad del 52% a *Ehrlichiaspp* mediante inmunofluorescencia indirecta (Matthewman *et al.*, 1993). En Italia un muestreo de 423 perros resultó en el 20% de seroprevalencia a *E. canis*; asimismo, Buonavoglia *et al.* (1995) refieren que de 25 animales con signos clínicos sugestivos a Ehrlichiosis, 23 (92%) tuvieron niveles importantes de anticuerpos contra dicho agente.

En el Hospital Animal de Yamaguchi, Japón, al analizar 430 muestras sanguíneas de perros dentro del período de abril de 1994 y julio de 1998, (Inokuma *et al.*, 1999) obtuvieron 4.7% de seropositividad a *E. canis*. En Turquía, se determinó una frecuencia del 20.7% de Ehrlichiosis en 284 perros de distintas regiones del país. En otro estudio efectuado en clínicas veterinarias privadas en Barcelona y Zaragoza, España, señala que en 288 animales muestreados, una frecuencia por infección mixta de *E. canis* y *Babesia canis* del 12.84% (Breitschwerdt, 2007).

En una investigación desarrollada en Tailandia en 49 perros que presentaban fiebre, anemia o trombocitopenia, identificaron que el 3% de ellos, resultó con elevados títulos de anticuerpos a *E. canis*. Mientras que en Inglaterra, determinaron una seroprevalencia del 31% de *E. canis* en 176 animales muestreados en clínicas y hospitales veterinarios (Inokuma *et al.*, 1999).

En un estudio realizado en Brasil, seleccionaron 129 perros para determinar la frecuencia de *E. canis* asociada con anemia, trombocitopenia y presencia de garrapatas; del total, 68 animales tuvieron fases evolutivas de *R. sanguineus*, 61

padecían trombocitopenia; el 21% de los animales anémicos, tuvo Ehrlichiosis (Dagnone *et al.* 2003).

En Mexicali, Baja California, se demostró en 30 perros muestreados, la presencia de *E. canis* en el 93.3% de los animales estudiados (Morgan, 2002). Por su parte, (Reyes, 2004), en su investigación realizada en la ciudad de Mérida, Yucatán, en una población de 120 perros obtuvo mediante frotis sanguíneos y exámenes serológicos un 5% y un 44.15% de casos positivos a *E. canis*, respectivamente.

En México un estudio en 2,395 perros y observó una seroprevalencia del 33.1 % a *Ehrlichia canis* y con la prueba serológica de ELISA, de 66 perros evaluados en el estado de Veracruz obtuvo un 37.9 % de animales seropositivos (Núñez, 2003), mientras que (Reyes, 2004), al analizar la información derivada de estudios sanguíneos enviados a un laboratorio de diagnóstico veterinario particular, reporta en la ciudad de Veracruz, Ver., la frecuencia de infestaciones simples por *E. canis* en un 2.19% y en forma mixta con *B. canis* en un 6.45%

También en Veracruz, pero en el municipio de Boca del Río, se reveló por identificación de mórulas en 25 frotis sanguíneos, un 2.9% de casos positivos a *E. canis* durante el periodo 1999-2002 (Reyes, 2004). Comparativamente, otro estudio efectuado en 100 perros atendidos en una clínica veterinaria de la ciudad de Cardel, Veracruz, se encontró a través del diagnóstico de frotis sanguíneo un 5% de pacientes afectados con *Ehrlichia* sp (Ortega, 2005).

3.5 Ciclo biológico de *E. canis*

La *Ehrlichia* se introduce en el animal hospedador como cuerpos elementales y una vez en el torrente sanguíneo, dependiendo de la especie que se trate, buscan la célula diana (granulocitos, monocitos, plaquetas, etc.), se introducen en ella por endocitosis mediada por un receptor o por fagocitosis, se multiplican pasando a cuerpos iniciales y posteriormente a mórulas. Las mórulas se disgregan en

cuerpos elementales una vez que la célula infectada se rompe, e invaden nuevas células hasta instaurar la parasitemia (Madigan *et al.*, 2000).

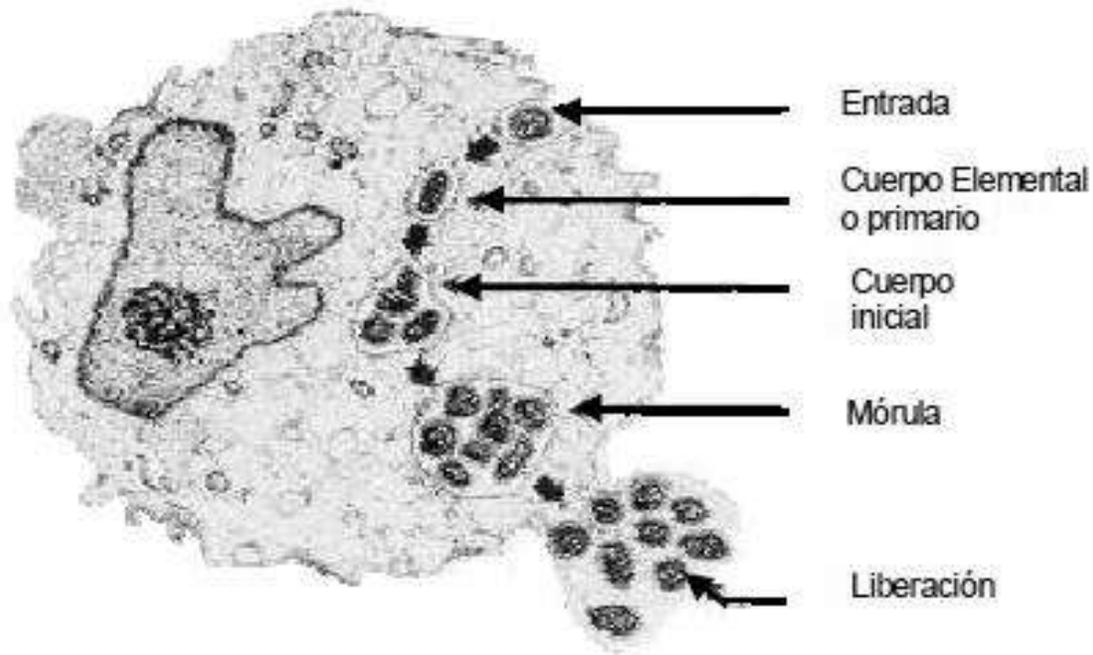


FIGURA 1. Desarrollo de la Ehrlichia en una célula infectada. (Carvajal de la Fuente, 2000).

3.6 Vector

Ehrlichia canis es transmitida por la especie de garrapata *Rhipicephalussanguineus*. El término garrapata se aplica tanto a las blandas (argásidos) como las duras (ixódidos). Las especies que parasitan con mayor frecuencia a los carnívoros domésticos, son principalmente ixódidos o garrapatas duras, ya que se caracterizan por tener un escudo, pequeño en las hembras y grande en los machos. La especie *Rhipicephalussanguineus* pertenece al grupo de las garrapatas duras y es el vector de la Ehrliquisis Monocítica Canina (Merck, 2004).

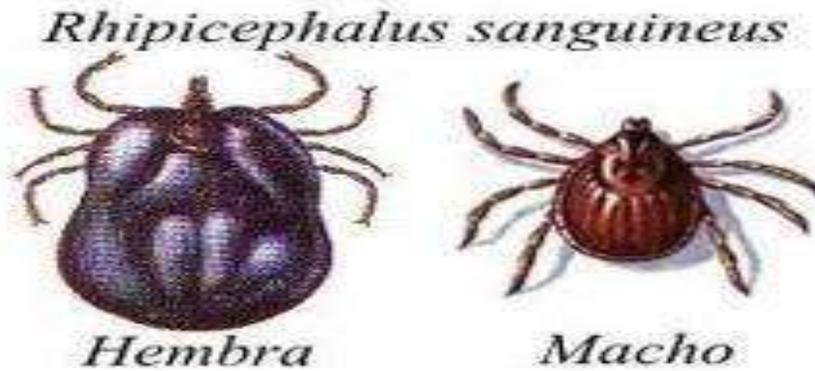


FIGURA 2. Garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Vista dorsal, izquierda hembra, derecha macho (Carvajal de la Fuente, 2000).

3.7 Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus*

El ciclo de *R. sanguineus* de tres hospedadores, las hembras repletas realizan una puesta aproximadamente de unos 4000 huevos, tras un periodo de preoviposición variable de 3-83 días, en lugares protegidos de la luz y de la desecación. Las larvas eclosionan entre los 8-67 días y después de un período de maduración, están capacitadas para fijarse a un primer hospedador; esta fase presenta un período de supervivencia que, en condiciones favorables, puede sobrepasar los 253 días. Entre los 3 y 7 días post fijación, la larva se suelta una vez repleta o alimentada, y busca un lugar resguardado donde realizar su primera muda (Merck, 2004; Montoya, 2008).

Las ninfas aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva repleta y, casi de forma inmediata, están preparadas para subir a un segundo hospedador con el fin de volver a alimentarse. El tiempo que necesita para alcanzar la repleción varía entre 4-9 días, pasados los cuales la ninfa repleta se suelta de su hospedador, cae al suelo y busca un sitio resguardado para realizar la segunda muda a partir de la cual emergerán los adultos entre los 12-129 días después de la caída de la ninfa repleta; pueden sobrevivir más de 568 días en espera de un hospedador (Merck, 2004).

Tanto los machos como las hembras se fijarán a un tercer hospedador para realizar la ingestión de sangre. Las hembras sólo se fijan y succionan sangre una vez, mientras que los machos se alimentan en forma intermitente y persisten más tiempo sobre el hospedador, para que la mayoría de las hembras queden fecundadas. Éstas, una vez alimentadas, caen al suelo y buscan un refugio donde realizar la puesta. En condiciones favorables, el ciclo de *R. Sanguineus* puede completarse en 63 días (Merck, 2004).

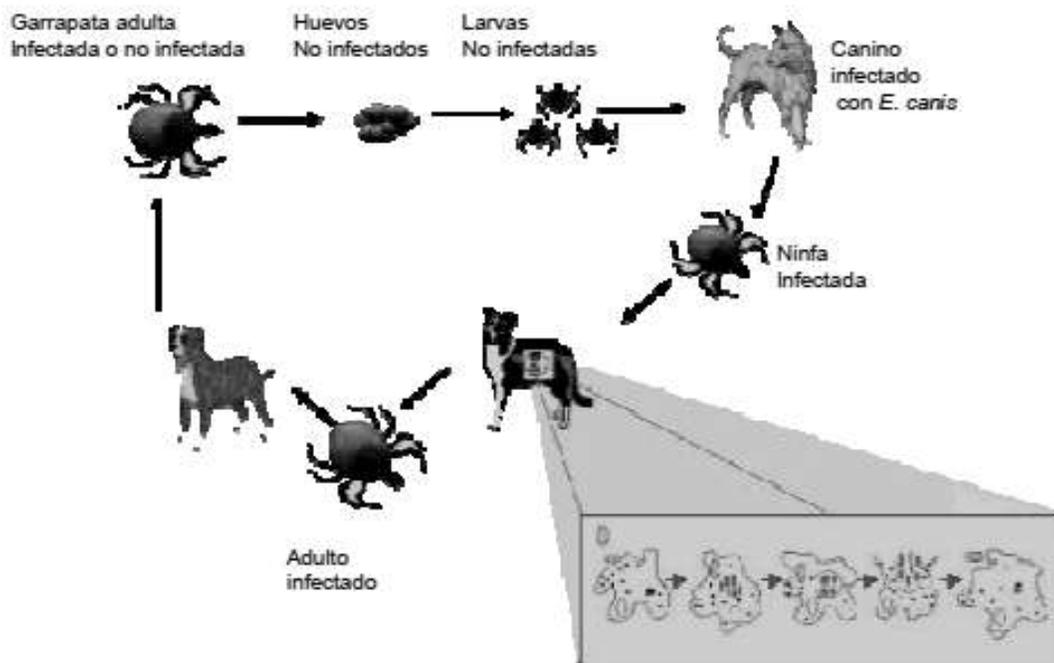


FIGURA 3. Ciclo biológico de la *E. Canis* (Mac Beath, 2013).

3.8 Hospedadores

La existencia de una gran diversidad de especies de garrapatas descritas en los carnívoros domésticos, no significa que todas ellas utilicen de forma habitual a estos hospedadores. La especie *Rhipicephalussanguineus* ataca exclusivamente al perro, cuando se encuentra en otro hospedador como el caballo, ganado o el hombre, es porque está muy asociada a perros. En otras áreas del mundo, ha sido

encontrada en una amplia variedad de mamíferos de tamaño medio y grande, así como en aves terrestres, reptiles y el hombre (Montoya, 2008).

3.9 Localización en el hospedador

En el perro, al estadio adulto se le encuentra comúnmente en las orejas, a lo largo de la nuca, del cuello y en el espacio interdigital. Los estadios inmaduros atacan el cuello. En altas infestaciones, todos los estados activos pueden ser encontrados atacando partes del cuerpo con pelo (Montoya, 2008).

3.10 Distribución

Se cree que es nativa de África, y probablemente fue introducida en las Américas en la época de la colonización. Se ha encontrado a través del trópico y de áreas templadas del mundo, originado por la migración del hombre y sus perros. La distribución geográfica de las garrapatas obedece a varios factores, algunos son: presencia del hospedador, humedad, tipo de suelo y vegetación (Biberstein y Zee, 1994).

La región zoogeográfica Neotropical está constituida por las islas del Caribe, sur de México, América Central y Sudamérica. Debido a su íntima asociación con el perro y la ausencia de restricciones climáticas, *R. sanguineus* debe ser considerada como establecida en todo el Neotrópico y es la predominante en áreas urbanas (Montoya, 2008).

Así, la distribución de la Ehrliquiosis guarda relación con la del vector, *Rhipicephalus sanguineus* y debido a la infección subclínica crónica, un perro puede ser transportado de una región endémica a otra no endémica y luego desarrollar las manifestaciones patológicas de la enfermedad años después de la infección inicial (Biberstein y Zee, 1994).

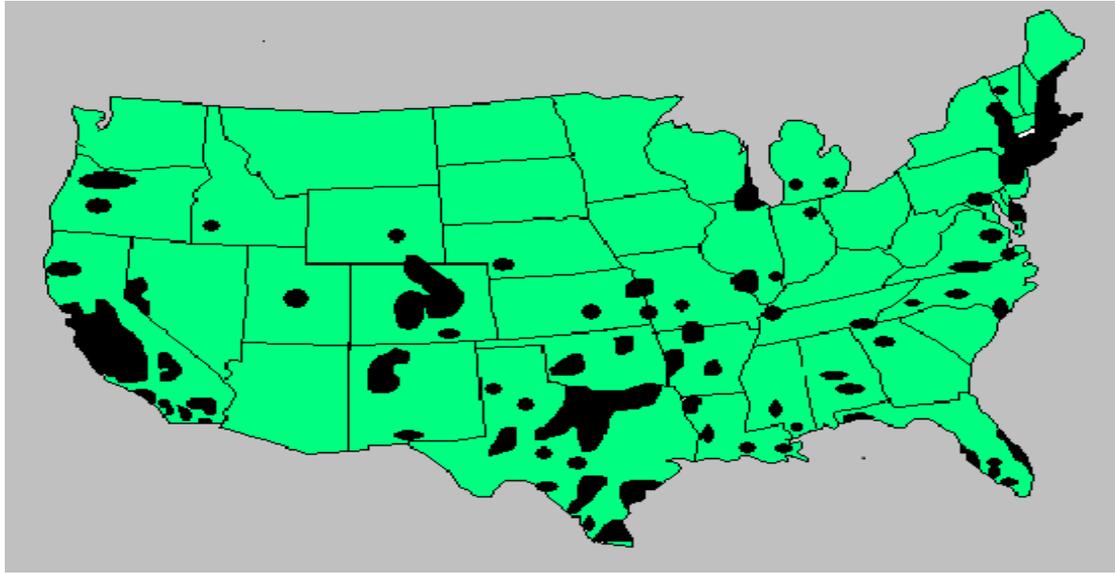


FIGURA 4. Distribución de *Rhipicephalus sanguineus* en los Estados Unidos de América (Carvajal de la Fuente, 2000).



FIGURA 5. Distribución nacional en la república mexicana de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Carvajal de la Fuente, 2000).

3.11 Patogenia

La transmisión en la garrapata ocurre entre estados de desarrollo, las larvas y las ninfas se infectan al alimentarse de perros con enfermedad aguda o en estadio subclínico. En la garrapata, la *Ehrlichia canis* se disemina desde el intestino a las glándulas salivares a través de las células sanguíneas. Al alimentarse, las garrapatas inyectan en el lugar, las secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *Ehrlichia canis* (Pereira, 2012).

Los tres estados (larva, ninfa y adulto), son capaces de transmitir la enfermedad. Se ha demostrado que las garrapatas pueden sobrevivir como adultos 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse y desprenderse del huésped. Este fenómeno permite a las garrapatas sobrevivir durante el invierno e infectar a los huéspedes en la primavera siguiente (Font *et al.*, 1988).

Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos de Ehrlichiosis (EMC) ocurren durante esos periodos. Debido a que la transmisión de *Ehrlichia canis* es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la Rickettsia. La patogénesis de EMC incluye un periodo de incubación de 8 a 20 días, seguido de una fase aguda, subclínica y a veces crónica (Barcal, 2006).

La fase aguda, dura entre 2 a 4 semanas. En ésta, el microorganismo ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los monocitos del sistema retículo-endotelial del bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las Rickettsias vía sanguínea hacia otros órganos del cuerpo, especialmente pulmones, riñones y meninges (Biberstein y Zee, 1994).

Las células infectadas se adhieren al epitelio vascular, produciendo una vasculitis e infección en el tejido subendotelial. El consumo, secuestro y destrucción de las plaquetas contribuyen a la trombocitopenia. Los recuentos leucocitarios son

variables y la anemia, posiblemente relacionada con la supresión de la eritrogénesis y destrucción eritrocítica acelerada, se desarrolla en forma progresiva (Pereira, 2012; Waner y Harrus, 2000; Biberstein y Zee, 1994).

La fase subclínica ocurre entre las 6-9 semanas posinoculación y se caracteriza por la persistencia variable de la trombocitopenia moderada (cuenta de plaquetas generalmente mayor a 50,000), la cual es un hallazgo común en esta fase; leucopenia y un descenso en el número de los neutrófilos. Los parámetros eritrocíticos no son afectados normalmente en esta etapa de la enfermedad y no se manifiestan signos clínicos (Waner y Harrus, 2000).

A nivel experimental, los perros con inmunocompetencia adecuada erradican al parásito y no ingresan a la fase crónica. En la fase aguda es común encontrar garrapatas en el perro. En esta fase los signos pueden ser leves y no específicos, aunque en algunos casos pueden ser severos. Los signos aparecen después del período de incubación y pueden durar de 1 a 2 semanas (Kakoma, 1996).

3.12 Signos clínicos

Se han descrito una gran variación de signos clínicos, lo cual puede ser debido a muchos factores, incluyendo diferencias en la patogenicidad entre las cepas de *Ehrlichia*, infecciones concomitantes con otras enfermedades transmitidas por garrapatas y el estado inmunitario del perro (Mayors Laboratorio, 2012).

3.12.1 Fase aguda. Se desarrolla de 1-3 semanas después de la picadura de la garrapata infectada, los síntomas duran generalmente de 2-4 semanas debido a que la *Rickettsia* ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los macrófagos del sistema retículo-endotelial del bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replica por fisión binaria (Mayors Laboratorio, 2012).

Desde allí, las células mononucleares infectadas diseminan las Rickettsias hacia otros órganos del cuerpo. Los signos clínicos varían en severidad, pero usualmente se resuelven espontáneamente aunque algunos perros pueden permanecer con infección subclínica (Rivaset *al.*, 2010).

Los signos pueden incluir: depresión, letargia, anorexia, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia y pérdida moderada de peso; también pueden presentar sangrado, petequias y equimosis en la piel y membranas mucosas, y ocasionalmente epistaxis (Vargas, 2012; Mayors laboratorio, 2012).

Los signos oculares son frecuentes e incluyen uveítis, hipema, tortuosidad de vasos retinales y lesiones corio-retinales focales. Puede haber desprendimiento de retina y ceguera debido a hemorragias subretinales (Bayón *et al.*, 1999; Horst-Joachim, 1981).

3.12.2 Fase subclínica. El animal puede parecer normal o mostrar sólo anemia leve, esta fase puede durar hasta cinco años y el perro, o bien elimina la *E. canis* del cuerpo, o la infección puede progresar a la fase crónica (S/AVetCentric, 2000).

Debido a la inmunosupresión, pueden documentarse infecciones bacterianas secundarias y por protozoarios, neumonía intersticial, falla renal y pancitopenia. Combinaciones de tendencias hemorrágicas y algunos desórdenes reproductivos, como sangrado prolongado durante el estro, infertilidad, aborto y muerte neonatal. También la polimiositis y artritis se relacionan con infecciones por *E. canis*, en los exámenes radiográficos se observan derrames articulares e inflamación de los tejidos blandos. Se sugiere que el bazo es el órgano donde permanece la Rickettsia en los casos subclínicos. Se cree que los perros inmunocompetentes son capaces de eliminar al agente durante la fase subclínica (Harrus y Waner, 1999; López *et al.*, 2012).

3.12.3 Fase crónica. Los signos clínicos más comunes en la enfermedad crónica son debilidad, depresión, anorexia, pérdida crónica de peso, palidez de mucosas,

fiebre y edema periférico, especialmente en miembros pélvicos y escroto. Al igual que en la fase aguda puede presentarse petequias, equimosis dérmicas y de membranas mucosas y sangrado por la nariz y algunos signos neurológicos (León y Gómez, 2007).

Algunos perros, persistentemente infectados, pueden desarrollar la fase severa crónica de la enfermedad. No todos los perros desarrollan la fase crónica y las condiciones que llevan al desarrollo de la misma, permanecen poco claras (Rodríguez *et al.*, 2010).

También pueden presentarse signos neurológicos; estos debido a hemorragias, infiltración celular extensa y compresión perivascular de las meninges. Pueden aparecer signos neuromusculares generalizados como polimiositis con tetraparesia progresiva de aparición aguda, hiporeflexia y consunción muscular (Mayors Laboratorio, 2012; Horst-Joachim, 1981; Bayón *et al.*, 1999).

3.13 Tratamiento

El tratamiento de la Ehrlichiosis canina incluye medicamentos antirickettsiales y cuidado de apoyo. Los fármacos que han tenido éxito son tetraciclinas, cloranfenicol, dipropionato de imidocarb y amicarbalina (Tabla 2). Con anterioridad la tetraciclina y la oxitetraciclina se consideran los medicamentos iniciales, se absorben con facilidad y proporcionan concentraciones sanguíneas, tisulares e intracelulares altas.

A fin de evitar la coloración amarillenta de los dientes en erupción, se recomienda cloranfenicol para cachorros menos de cinco meses. Debe utilizarse en perros con infecciones persistentes a pesar del tratamiento con tetraciclinas. Sin embargo, debido a los riesgos de salud pública relacionados con el cloranfenicol y a que interfiere de manera directa con la síntesis de hem y la médula osea, siempre que sea posible hay que evitar administrarlo en perros anémicos o pancitopénicos.

Tabla 2.Terapéutica antimicrobiana para Ehrlichiosis.

FÁRMACO	ESPECIE	DOSIS (mg/kg)	VÍA	INTERVALO/HORAS	DURACIÓN/DÍAS
TETRACICLINA	PERRO	22	PO	8	14-21
OXITETRACILINA	PERRO	25	PO/IV	8	14-21
DOXICICLINA	PERRO	5-10	PO/IV	12-24	10-21
	GATO	10	PO	12	21
CLORANFENICOL	PERRO	15-25	PO/SC /IV	8	14
D. IMIDOCARB	AMBOS	5	IM	UNA VEZ	REPETIR EN DOS O TRES SEMANAS

Se usan antibióticos como la doxiciclina (por su superior penetración intracelular y propiedades bacteriostáticas contra Rickettsias), durante un período de al menos 6 a 8 semanas en dosis de 10 mg/kg/día, por 6 semanas en casos agudos y en casos crónicos por 8 o más semanas y por lo general se produce una mejoría dentro de las 24-48 horas de instaurado el tratamiento (López *et al.*, 1999).

Se recomienda el uso de corticoides como prednisolona por 2 a 7 días, en dosis inmunosupresoras (2 mg/kg) ya que la respuesta inmune desencadenada por la enfermedad, en cierta forma es la responsable de la trombocitopenia y los demás signos de la enfermedad, por lo cual disminuir o suprimir esta respuesta inmune resulta beneficioso para el enfermo. En pacientes que no muestran mejoría clínica después del tratamiento debe considerarse otra enfermedad que la agrava (Font *et al.*, 1988).

Se administra tratamiento de sostén como fluidoterapia para la deshidratación y/o transfusiones sanguíneas si el animal presenta un grave estado anémico o a menudo es necesario administrar un plasma rico en plaquetas. El tratamiento es

prolongado y se puede utilizar filgastrim o eritropoyetina para estimular la producción de eritrocitos (McLeod, 2012).

Después del tratamiento, los anticuerpos declinan gradualmente y se tornan negativos entre los 6 y los 9 meses, aunque algunos perros mantienen los niveles de anticuerpos altos de por vida, sin saberse si el microorganismo persiste en el organismo, por lo que se supone que el paciente se ha recuperado de la infección cuando resuelve la trombocitopenia, la hiperglobulinemia y otras anormalidades clínicas y de laboratorio de forma progresiva (Mayors Laboratorio, 2013).

3.14 Pronóstico.

La importancia del diagnóstico temprano radica en el pronóstico relativamente bueno antes de que algunos de los perros entren en la fase crónica, misma en la que el pronóstico es grave. La enfermedad crónica es el estadio final del proceso de enfermedad, este estado es generalmente más fácil de diagnosticar pero para los perros que han llegado a esta fase el pronóstico es reservado. Cuando se produce supresión de la médula ósea y hay niveles bajos de células sanguíneas, el animal no responde al tratamiento y podría morir por las infecciones bacterianas secundarias o hemorragias incontrolables (Singlaet *al.*, 2013; Harruset *al.*, 1999).

Algunos animales con buena respuesta celular pueden superar la infección sin necesidad de ser tratados; sin embargo, en la mayoría de los casos la enfermedad progresa a una fase crónica cuya severidad es variable. Esta severidad depende fundamentalmente del grado de afección de algunos órganos vitales. Los casos con insuficiencia renal no suelen responder demasiado bien al tratamiento, igualmente en ocasiones la médula ósea se puede afectar hasta el extremo de presentarse una aplasia medular que produce un cuadro de pancitopenia que suele desembocar en la muerte del animal (S/A VetCentric, 2000).

IV. HIPÓTESIS

En la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz existen las condiciones climáticas tropicales para que se desarrollen los vectores que transmiten el agente causal de la Ehrlichiosis, aumentando la posibilidad de que la población canina desarrolle inmunidad humoral.

V. OBJETIVO

5.1 Objetivo general.

Identificar la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros de la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz.

5.2 Objetivos específicos.

- Identificar la proporción de perros positivos y estimar el riesgo asociado con las características de raza, sexo, edad y hábitat.
- Comparar los casos detectados en dos grupos de individuos, enfermos y sanos.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio es de tipo descriptivo observacional y transversal (Méndez, *et. al.*, 2000), se realizó en la cabecera municipal de Acayucan, Estado de Veracruz, México. El muestreo, se efectuó en el mes de septiembre del 2013, en el que se obtuvieron 35 muestras de sangre de perros que cumplieron los criterios de inclusión descritos en la Tabla 2, y a los cuales se les realizó la prueba basada en la técnica de inmuno-migración rápida para la detección de anticuerpos anti-*Ehrlichia*. Se contó con el consentimiento informado de los propietarios de los animales muestreados y con su ayuda, se elaboraron los expedientes clínicos de cada animal (Formatos 1.1 y 1.2).

6.1 Características fisiográficas del municipio

La localidad de estudio se ubica al suroeste del Estado, en la zona centro costera sobre las llanuras del Sotavento, siendo sus coordenadas Geográficas: 17°56'54"N y 94°54'54"O a 92 msnm, en la región Olmeca (INEGI, 2010). La distancia aproximada por carretera a la capital del Estado es de 355 kilómetros (Gobierno del Estado de Veracruz, 2012).

Su suelo es regular y del tipo luvisol y vertisol; el primero se caracteriza por la acumulación de arcilla y el segundo es duro y presenta grietas. Se destina principalmente para la agricultura y la ganadería; el uso del suelo para labor es de 20, 314 hectáreas, de agostadero 37,683 hectáreas, de selva o acahual 850 hectáreas y 606 de zona urbana (Gobierno del Estado de Veracruz, 2012). En el municipio se ha estimado una densidad de población de 128 habitantes/km² (50 934 habitantes en la cabecera municipal), con una superficie de 655.1 Km², cifra que representa el 0.9 % del total del Estado. Esta es una zona principalmente dedicada a la ganadería (bovinos de carne) y agricultura (INEGI, 2010).

Su clima es tropical, con régimen térmico cálido-regular con una temperatura promedio de 26 °C; lluvias abundantes en verano y principios de otoño, siendo la precipitación pluvial media anual de 1,107 mm. Los ecosistemas que coexisten en el municipio son el de selva alta perennifolia con especies de palmares, manglares y pastizales. La fauna está compuesta por poblaciones de armadillos, ardillas, tejones y conejos (Gobierno del Estado de Veracruz, 2012). Esta caracterización, es propicia para la presencia del vector.

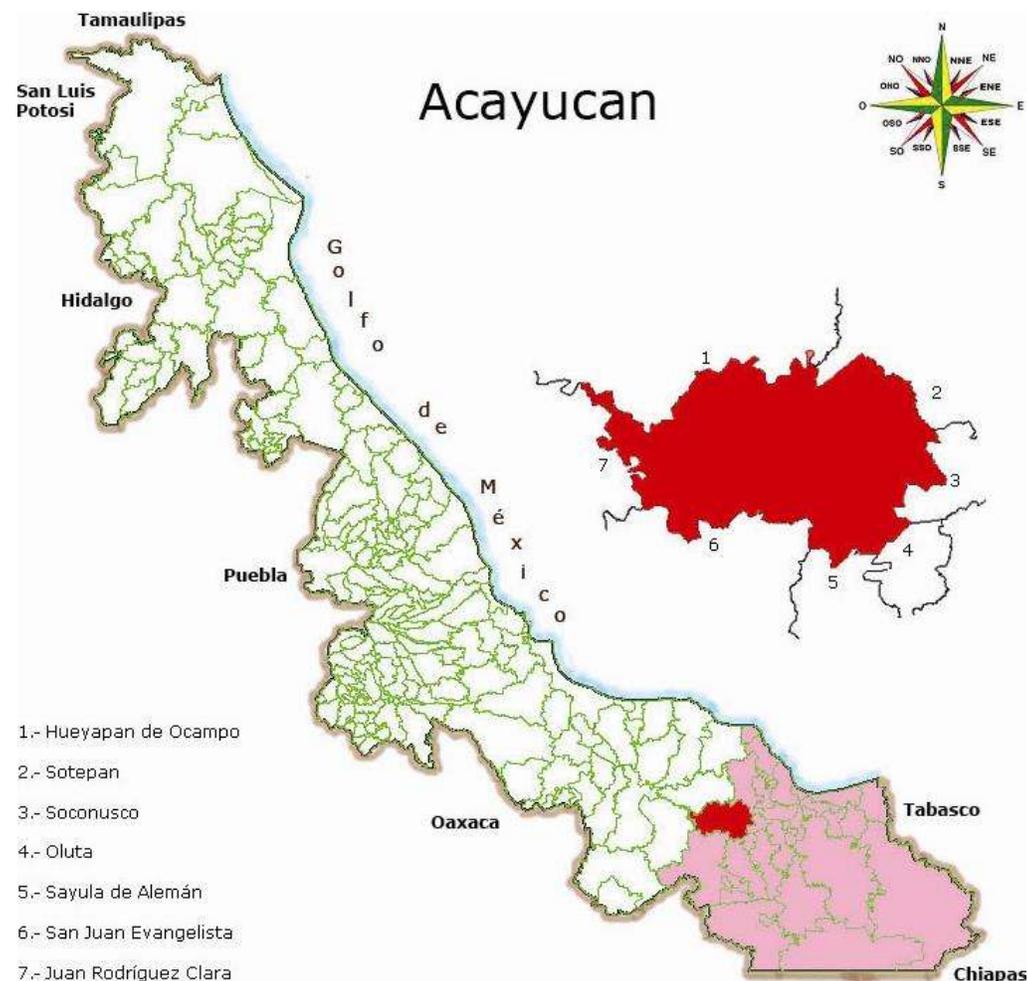


FIGURA 6. Mapa de localización del municipio de Acayucan, Veracruz (Gobierno del Estado de Veracruz, 2012).

6.2 Población objetivo

Se ha estimado que a nivel nacional existe un perro por cada seis habitantes (Lacroix, 2010), por lo que se estimó una población de 8,486 perros en la cabecera municipal de Acayucan, Veracruz de acuerdo al censo de habitantes en esta localidad (Gobierno del Estado de Veracruz, 2012).

6.3 Material

Para la obtención de muestras de sangre se utilizaron jeringas de 3 ml, tubos de ensayo con anticoagulante EDTA, guantes de látex, termómetro, estetoscopio, torundas con alcohol, expedientes para el registro individual de los animales muestreados y 35 Kits de pruebas de inmunomigración de la marca Witness®*Ehrlichia* (Laboratorios Symbiotics) consistentes en 1 placa-test individual, frasco de solución tampón y pipetas.

El kit WITNESS® EHRLICHIA emplea un antígeno de *E. canis* que permite identificar los anticuerpos específicos en los perros infectados con Ehrlichiosis; la muestra conteniendo anticuerpos (sangre entera con anticoagulante, suero o plasma), se pone en contacto con partículas de oro coloidal. El complejo así formado migra en una membrana antes de su captura por una razón reactiva en el cual su concentración genera la formación una banda de color rosa, claramente visible. Una banda de control, situada al final de la membrana, permite asegurarse de la correcta realización de la prueba. Se ha establecido una sensibilidad de 94.3% y una especificidad de 100% en esta prueba (Waner y Harrus, 2000; Mayors Laboratorio, 2012).

TABLA 3. Criterios de inclusión y exclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Mayores de un año de edad	Muestra de sangre en mal estado
Con propietario	Perros sin propietarios
Expediente completo	Datos incompletos del animal
Historial de garrapatas	Sin autorización de los propietarios

6.5 Procedimiento

Se tomaron muestras de sangre periférica venosa por venopunción (vena cefálica o safena) de perros (*Canis familiaris*) conforme a la NOM-062-ZOO-1999 y cuyos propietarios refirieron haber estado expuestos al vector de la enfermedad en estudio, en este caso la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.



IMAGEN 1. Obtención de muestra de sangre.

La sangre obtenida de cada perro fue inmediatamente depositada en un tubo con EDTA mezclándose cuidadosa y uniformemente.



IMAGEN 2. Tubo con la muestra de sangre

Con la pipeta se tomó una gota de sangre del tubo y se depositó en la placa de del kit; una vez que la sangre migró en la membrana, se agregaron 3 gotas de solución tampón.



IMAGEN 3. Placa para la prueba de inmuno-migración rápida Witness® *Ehrlichia*(Laboratorios Symbiotics).



IMAGEN 4. Depósito de sangre y gotas de solución tapón en la placa para la prueba de inmuno-migración rápida Witness® *Ehrlichia*.

Enseguida se dejó reposar la muestra en un lugar plano por 10 minutos para después proceder a la lectura del resultado, siendo negativa la prueba solo si la segunda marca se tornaba rosa ya que ésta es sólo de control y, positiva si también la primera marca se tornaba rosa.



IMAGEN 5. Placa para la prueba de inmuno-migración negativa Witness® Ehrlichia, Laboratorios Symbiotics.



IMAGEN 6. Placa para la prueba de inmuno-migración positiva Witness® Ehrlichia, Laboratorios Symbiotics.

6.6 Diseño estadístico

Toda la información del estudio fue consignada en una bitácora de registro manual y posteriormente se verificó individualmente, codificándose en una hoja electrónica de cálculo, para su procesamiento estadístico, mediante la utilización del *software* especializado: “Epi-Info™, 2013, del CDC (Center for Diseases Control and Prevention, por sus siglas en inglés). Se calcularon los valores “Odds Ratio” como estimadores del riesgo relativo (Rada, 2007), para las variables independientes: raza, sexo, edad y hábitat dentro de cada uno de los grupos evaluados; construyendo tablas de contingencia. Para establecer la comparación entre grupos y entre variables independientes, dentro de cada grupo de estudio, se empleó la prueba estadística de X^2 (Ji o Chi Cuadrada) con la corrección de Yates. La significancia estadística se estableció a una Probabilidad ≤ 0.05 .

6.7 Definición de variables

Todas las variables independientes se consideraron como cualitativas y discretas, debido a la distribución de observaciones (Tabla 14 del anexo) y se definieron de la siguiente manera:

-Raza. Se agruparon en tres categorías, considerando la talla, en pequeñas, medianas y grandes. Las razas evaluadas se indican en la tabla 15 del anexo.

-Sexo. Se consideraron machos y hembras.

-Edad. Se agruparon en tres categorías, considerando de 1 a 3 años como jóvenes, de 4 a 9 años adultos y de 10 o más como geriátricos.

-Hábitat. En este caso las categorías fueron dentro de la casa, patio o libres (calle) para el grupo dos. Para el grupo uno se consideró casa y patio.

La evaluación estadística (OR y X^2) se realizó con todas las comparaciones posibles dentro de cada grupo de estudio (uno y dos) y entre ellos.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Grupo uno

Se muestrearon 10 perros que presentaban al menos un signo clínico compatible con Ehrlichiosis. Siendo la presencia de petequias y linfadenomegalia los signos clínicos más frecuentes (Tabla 15 del anexo).

TABLA 4. Casos positivos por talla de las razas a *E. canis*, en el grupo uno (animales enfermos).

RAZA (talla)	PEQUEÑAS (P)		MEDIANAS (M)		GRANDES (G)	
	n	%	n	%	N	%
POSITIVOS	1	50	1	20	1	33
NEGATIVOS	1	50	4	80	2	66
TOTAL	2	100	5	100	3	100
OR	P*G=1.5		P*M=2.5		M*G=0.75	
X ²	P*G=0.3125		P*M=0.0175		M*G=0.1778	

7.1.1 Talla de la Raza. Como se observa en la tabla 4, se detectó un 30% de animales positivos para el conjunto de todas las razas y dentro de cada subclase o categorías (tallas pequeñas, medianas y grandes) la frecuencia absoluta fue igual, aunque no la relativa (%), dado que el número total de observaciones fue diferente dentro de cada una de ellas.

Así, la talla de la raza fue un factor de riesgo significativo ($P \leq 0.05$), al comparar las de talla pequeña (P) y grande (G), así como pequeña y mediana (M), pero no cuando se compararon las medianas con las grandes, con valores de OR= 1.5, 2.5 y 0.75, respectivamente (Tabla 4). Entre subclases o categorías de las razas no hubo diferencias significativas ($X^2 < 1$; $P \geq 0.05$).

Los hallazgos, mostraron evidencia de la presencia de anticuerpos en las tallas de las razas de perros (pequeñas, 50%; medianas, 20% y grandes, 33%). Siendo la tendencia de casos positivos en el orden mencionado.

Al contrastar estos resultados, se constató que son consistentes con lo indicado por (Nyindoet *al.*1991), quienes señalaron que existe una susceptibilidad a *E. canis* en la raza Pastor Alemán, pero no con su afirmación de que los perros de razas grandes muestran mayor riesgo de presentar la enfermedad con respecto a las razas pequeñas; en el presente estudio, la tendencia fue contraria.

En la revisión efectuada, no se encontraron estudios a este respecto. Desde luego, y como se mencionó previamente, existen muchos factores asociados a la presencia de la enfermedad, pero aquí se destaca que todos los animales, con independencia del tipo racial, comparten el mismo entorno. La distribución racial para este grupo se muestra en la siguiente gráfica.

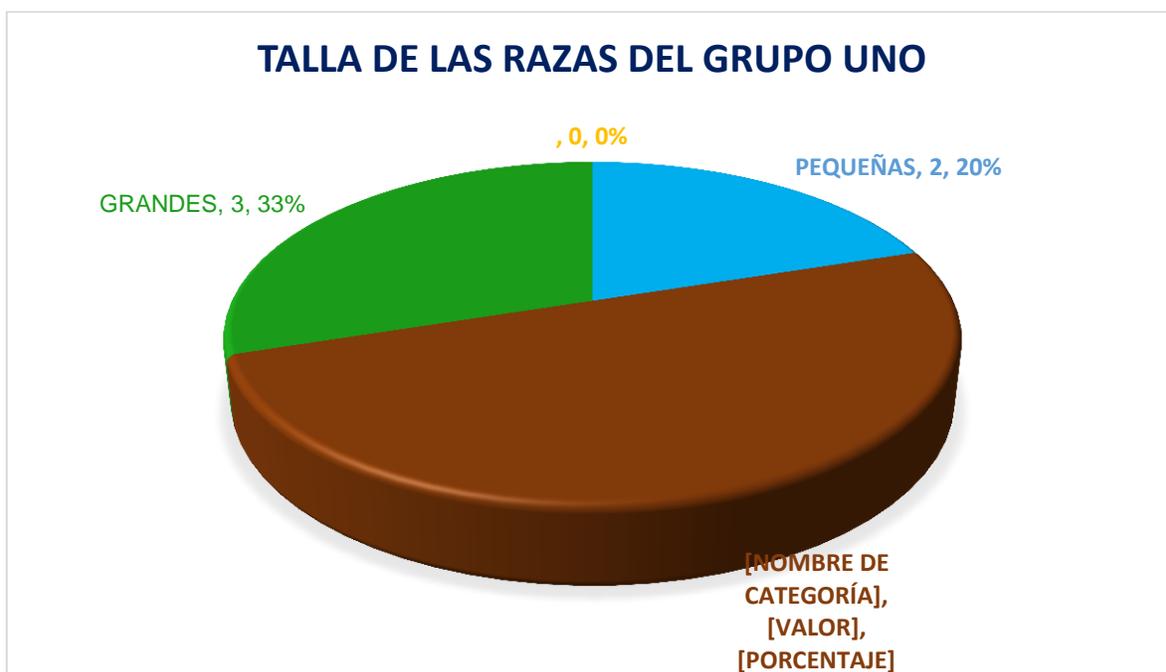


FIGURA 8. Porcentajes de acuerdo a la raza en el grupo uno.

7.1.2 Sexo. No representó un factor de riesgo para la presencia de anticuerpos contra *E. canis*, ni tampoco se observaron diferencias ($P \geq 0.05$) entre machos y hembras (Tabla 5).

Tabla 5. Casos positivos a *E. canis*, por sexo en el grupo uno.

SEXO	HEMBRAS		MACHOS		OR= 0.7778
	n	%	n	%	
POSITIVOS	2	25	1	50	
NEGATIVOS	6	75	1	50	$X^2=0.02976$
TOTAL	8	100	2	100	

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, concuerdan con estudios previos, (Nyindoet *al.*, 1991) respecto al sexo, como factor irrelevante para la presencia y susceptibilidad a la afección (Sainz *et al.*, 2000). Así, tanto machos como hembras, son afectados por igual por *E. canis*. La grafica siguiente muestra la distribución por sexo, de los animales de este grupo incluidos en la detección de anticuerpos.



FIGURA 9. Distribución por sexo de los perros en el grupo uno.

7.1.3 Edad. Como se indica en la Tabla 6, se encontró que esta variable se estimó como un factor de riesgo asociado a la presencia de anticuerpo para *E. canis* ($P \leq 0.05$), sólo al comparar los animales jóvenes contra los adultos ($OR=1.667$); pero las diferencias entre animales jóvenes, adultos o geriátricos no fueron estadísticamente significativas ($X^2 < 1; p \geq 0.05$).

Tabla 6. Casos positivos a *E. canis* de acuerdo a la etapa de edad.

EDAD	JOVENES (J)		ADULTOS (A)		GERIÁTRICOS (G)	
	n	%	n	%	n	%
POSITIVOS	2	50	1	25	0	0
NEGATIVOS	2	50	3	75	2	100
TOTAL	4	100	4	100	2	100
OR	J*G=0		J*A=1.667		A*G=0	
X ²	J*G=0		J*A=0		A*G=0	

En estos resultados, llama la atención el hecho de que en los animales de mayor edad (Geriátricos) no se detectaran casos positivos, lo cual pudo deberse tanto al tamaño de muestra, como a la posible resistencia adquirida por estos individuos. Por el contrario, y como cabría esperar, se observaron mayores frecuencias de casos positivos en animales jóvenes (50%) que en adultos (25%); hecho que se explicaría por una mayor madurez y eficiencia de su aparato inmunocompetente.

Se ha referido que los animales con buena respuesta celular, pueden superar la enfermedad sin necesidad de tratamiento (S/A VetCentric, 2000), y que en otros, los títulos de anticuerpos tienden a desaparecer con el tiempo (Mayors Laboratorio, 2012).

Asimismo, varios autores refieren que los animales, adecuadamente inmuno competentes, son más resistentes al vector y a la enfermedad, y en caso de ser infectados se recuperan mejor (Harrus y Waner, 1999; López *et al.*, 2012).

Al respecto, (Rodríguez-V.*et al.* 2004), reseñan que los perros de mediana edad tienen mayores oportunidades de estar expuestos al vector que los cachorros. Esto puede explicarse por la costumbre de los dueños de sacar a la calle a los animales cuando completan sus vacunas y consideran que tienen menos riesgo de contraer enfermedades infecciosas.

En la gráfica de abajo se expone la distribución de los animales por edades.

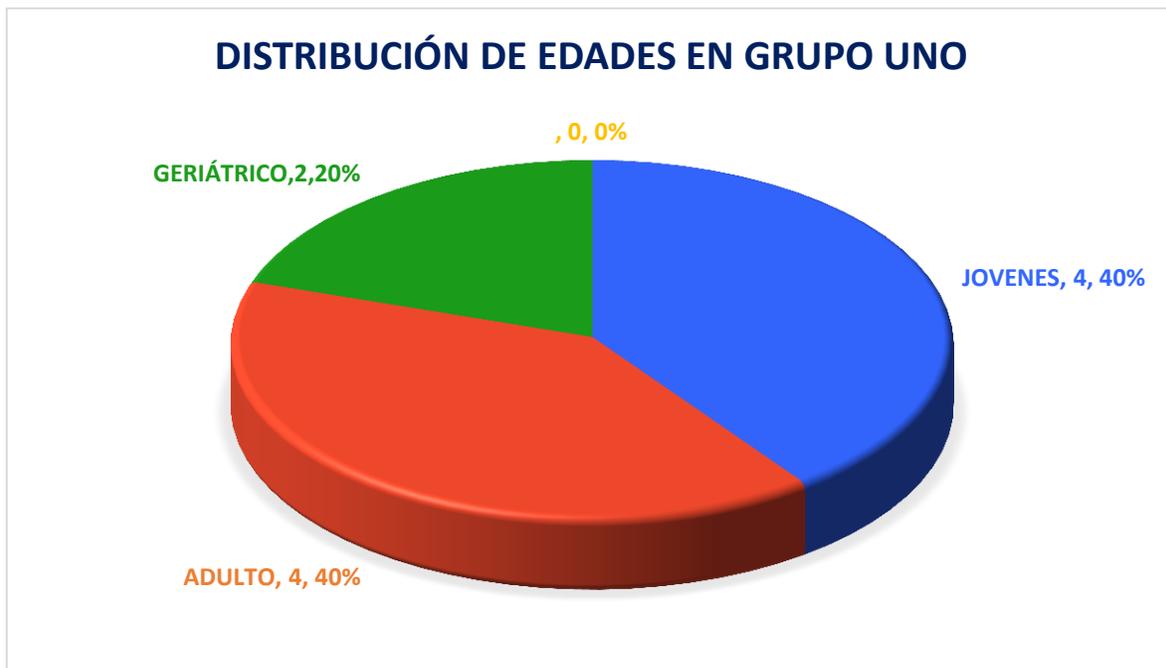


FIGURA 10. Porcentajes por rangos de edades en el grupo.

7.1.4 Hábitat. Este factor no contribuyó significativamente ($p \geq 0.05$) para la presencia de animales positivos. No obstante la Tabla 7 muestra una tendencia muy lógica dado que la frecuencia de positivos fue mayor en los animales que viven en el patio (40%) que aquellos que permanecen más en el hogar (20%).

Tabla 7. Casos positivos a *E. canis* de acuerdo al hábitat en el grupo uno.

HABITAT	CASA		PATIO		OR=0.5833
	n	%	n	%	
POSITIVOS	1	20	2	40	$X^2=0$
NEGATIVOS	4	80	3	60	
TOTAL	5	100	5	100	

A este respecto, (Moreira *et al.*2002), observaron que los canes que vivían en casas (y no en departamentos) y aquellos que pasaban más horas fuera de sus viviendas tenían mayor exposición al vector.

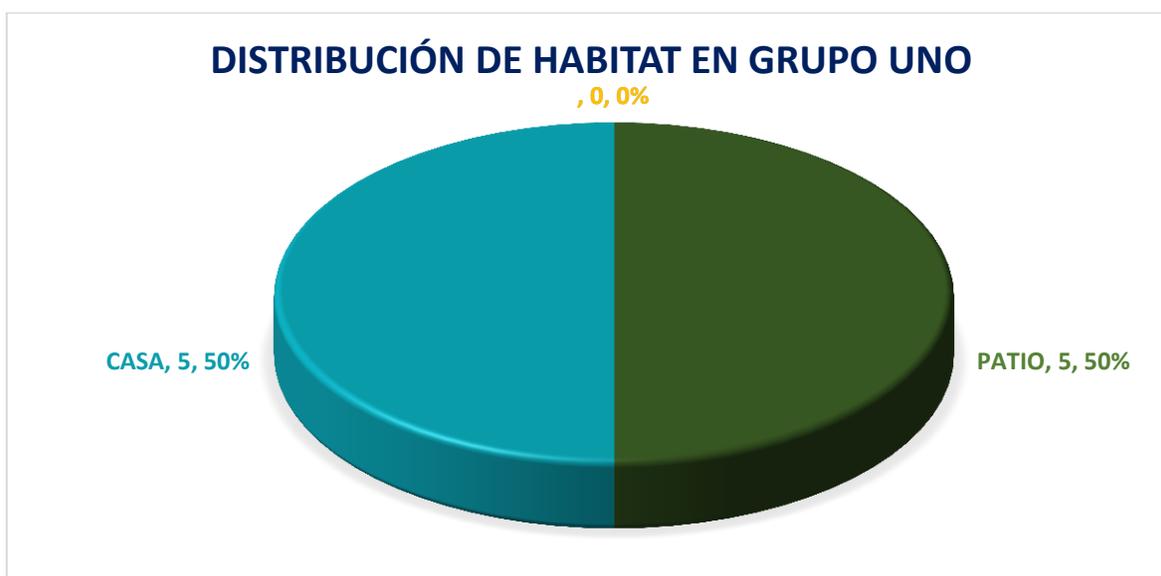


FIGURA 11. Porcentaje de hábitat en grupo uno.

7.2 Grupo dos

En este grupo se muestrearon en forma aleatoria a veinticinco perros sanos de la cabecera municipal, para lo cual se dividió en cinco cuadrantes. Los animales se evaluaron clínicamente sanos al momento de la toma de muestra. Se obtuvieron dos muestras positivas (8%) en este grupo de perros a la prueba de inmunomigración rápida en la placa con el antígeno de *Ehrlichia canis*.

7.2.1 Talla de la raza. Dentro de ese grupo de animales sanos, esta variable no fue un factor de riesgo asociado a la presencia de *E. canis* y las diferencias entre tallas no fueron significativas ($P \geq 0.05$); muy posiblemente esto se relacione con su condición de animales clínicamente sanos. Los casos positivos fueron del 7 y 16% en las tallas medianas y grandes, pero iguales numéricamente (tabla 8).

Tabla 8. Casos positivos a *E. canis* por talla de la raza en el grupo dos.

RAZA	PEQUEÑAS		MEDIANAS		GRANDES	
	n	%	n	%	n	%
POSITIVOS	0	0	1	7	1	16
NEGATIVOS	5	100	13	92	5	84
TOTAL	5	100	14	100	6	100
OR	P*G= 0		P*M= 0		M*G= 0.02	
X ²	P*G= 0.00		P*M= 0.30		M*G= 0.69	

De los individuos de los dos grupos, tres de los cinco perros que resultaron positivos fueron machos, siendo el Border Terrier, el Bóxer Americano, el Chihuahua, el Poodle y el Dogo de Burdeos las razas que resultaron positivas, tres de estos perros tenían entre 1 a 3 años.

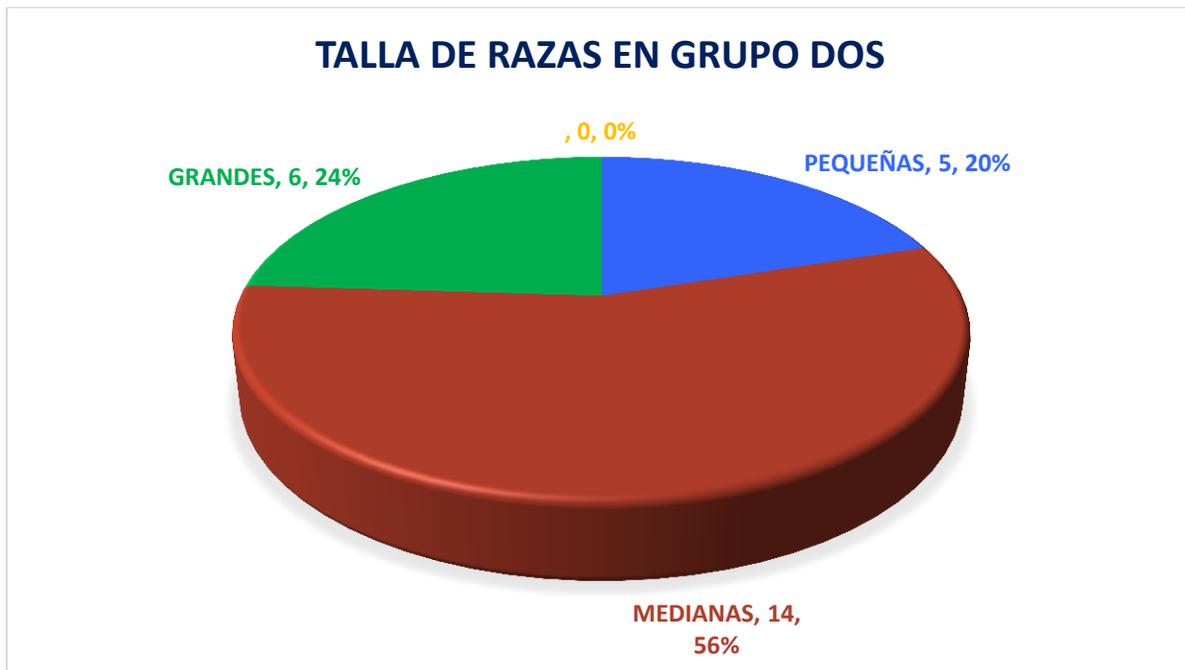


FIGURA 12. Porcentajes por talla de la raza del grupo dos.

7.2.2 Sexo. Se observó una baja frecuencia de casos positivos en machos (15%), pero esta variable no se asoció como factor de riesgo a la presencia de anticuerpos contra *E. canis*, ni tampoco registró diferencias entre hembras y machos (Tabla 9).

Tabla 9. Casos positivos a *E. canis*, por sexo, en el grupo dos.

SEXO	HEMBRAS		MACHOS		OR= 0
	n	%	n	%	
POSITIVOS	0	0	2	15	
NEGATIVOS	12	100	11	84	$\chi^2 = 0.46$
TOTAL	12	100	13	100	



FIGURA 13. Distribución por sexos, en del grupo dos.

7.2.3 Edad. En este caso los valores de OR fueron los de mayor magnitud observada en el estudio y mostraron que los animales jóvenes tendieron a ser más susceptibles y con mayor frecuencia que los adultos. Sin embargo, las diferencias entre etapas, no fueron significativas (Tabla 10). Como en el grupo de animales enfermos, tampoco se detectaron casos positivos en los animales de mayor edad; y la tendencia de mayor frecuencia de positivos en los jóvenes (11%) que en los adultos (8%), puede explicarse por la maduración del sistema inmunocompetente y la calidad de la respuesta celular, así como una mayor resistencia al vector.

Tabla 10. Casos positivos a *E. canis*, por etapa de edad, en el grupo dos.

EDAD	JOVENES (J)		ADULTOS (A)		GERIÁTRICOS (G)	
	n	%	n	%	n	%
POSITIVOS	1	11	1	8	0	0
NEGATIVOS	8	89	11	92	4	100
TOTAL	9	100	12	100	4	100
OR	J*G= 1.5		J*A= 1.18		A*G= 1.36	
X ²	J*G= 0.18		J*A= 0.28		A*G= 0.35	

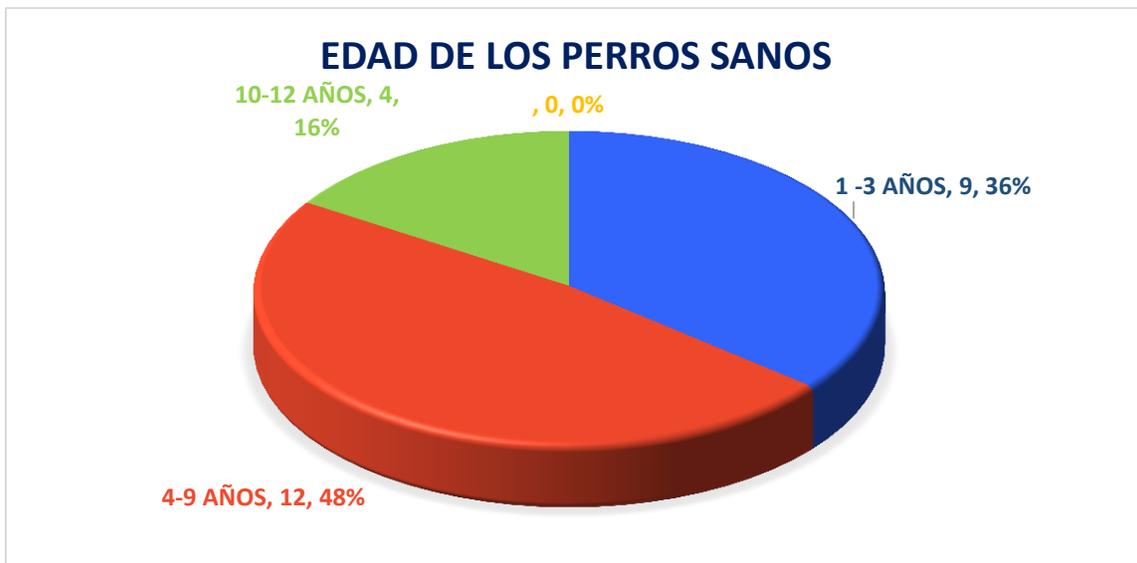


FIGURA 14. Porcentaje de los rangos por edades en el grupo dos.

7.2.4 Hábitat. Como se observa en los resultados (tabla 11), sólo dos casos positivos se detectaron en animales cuya permanencia habitual es el patio (20%), en comparación con los que permanecen en casa o viven libres. Esta variable ni representó un factor de riesgo asociado para la presencia de *E. canis*, ni la diferencia de casos positivos entre los distintos hábitats fue estadísticamente significativa ($p \geq 0.05$).

Tabla 11. Casos positivos a *E. canis*, por hábitat, en el grupo dos.

HABITAT	CASA		PATIO		CALLE	
	n	%	N	%	n	%
POSITIVOS	0	0	2	20	0	0
NEGATIVOS	12	100	8	80	3	100
TOTAL	12	100	10	100	3	100
OR	C*P= 0.0		P*C= 0.0		C*C= 0	
X ²	C*P= 0.77		P*C= 1.37		C*C= 0	



FIGURA 15. Porcentaje de perros en hábitat.

Los resultados en este grupo, destacan la importancia de la exposición al vector, por un lado, así como también de su status sanitario previo al estudio, y por otro, tanto de los mecanismos de defensa inmunitaria de los animales, como de los factores que predisponen a la presencia del vector.

7.3 Población total (sanos y enfermos)

Tabla 12. Frecuencia total y por grupo de casos detectados a *E. canis*.

STATUS:	SANOS		ENFERMOS		TOTAL		OR=0.20
RESULTADO:	n	%	N	%	n	%	
POSITIVOS:	2	8	3	30	5	14	
NEGATIVOS	23	92	7	70	30	86	$X^2 = 3.31$
TOTAL	25	100	10	100	35	100	

Como se puede observar, el valor de OR (0.20), como estimador del riesgo, indica que la condición o status clínico previo (sanos o enfermos), no fue un factor de relevancia para la presencia de Anticuerpos contra *E. canis* en la población total evaluada.

Así mismo, el valor de X^2 (3.31 Vs 3.84) indica que no hubo diferencias ($P \geq 0.05$), entre ambos grupos, respecto a la frecuencia de animales positivos a *E. canis*. No obstante, en ambos, se detectaron anticuerpos, si bien en baja frecuencia en los animales sanos (8%) y un poco mayor, (30%) en los enfermos, la frecuencia de positivos en la población total (14%), mostró que la presencia de *E. canis* está presente en la región de estudio.

Lo anterior reveló, primero, que hay una tendencia de mayor probabilidad de susceptibilidad a la enfermedad en pacientes afectados que en sanos y, segundo, que existe la presencia de la entidad nosológica en la región, posiblemente

asociada a los factores y características fisiográficas de la región, que condicionan la presencia del vector (Garrapata) responsable de la transmisión de la afección.

Estos resultados contrastan con estudios previos indicados en la revisión de literatura que mencionan frecuencias de positividad y prevalencia de la enfermedad con valores que van en rango mínimo de 0 hasta 92% (Buonavoglia *et al.*, 1995; Tabla 12).

Recientemente, en el Estado de Michoacán., México, se estimó una frecuencia de casos positivos del 64%, en la zona costera, mediante titulación de anticuerpos por la prueba de ELISA, así como los cambios en los valores hematológicos.

En los anexos se presentan las distribuciones totales por raza, sexo, edad y otras características de la población total evaluada.

Como se aprecia, los valores encontrados en el presente estudio, son de los más bajos comparados con los indicados en la tabla 13; mismos que muestran, tanto la distribución como la magnitud e importancia tanto de la frecuencia de casos positivos de la enfermedad, como del vector.

Tabla 13. Pauta de valores comparativos de frecuencias de casos positivos a *E. canis*, obtenidos en los últimos 20 años, a través de todo el mundo.

LUGAR	CASOS POSITIVOS %	REFERENCIAS
África	52	Matthewman, 1993
EUA	94	Dagnonet <i>al.</i> , 2003
EUA	8.68 – 47.3	Barlough, <i>et al.</i> , 2011
Italia	20-92	Buonavoglia <i>et al.</i> , 1995
Japón	4.7	Inukumaet <i>al.</i> , 1999.
Tailandia	20.7	Inukumaet <i>al.</i> , 1999.
Reino Unido	31.7	Inukumaet <i>al.</i> , 1999.
Turquía	20.7	Inukumaet <i>al.</i> , 1999.
España	12.84	Breitschwerdt, 2007
Brasil	21	Dagnonet <i>al.</i> , 2003
México: Norte, Centro y Veracruz.	93.3a; 44.2b; 33c;	Morgan (2002)a; Reyes (2004)b; Núñez (2003)c

Nota: a, b, c, d: Cada literal, asociada al valor, se corresponde con la referencia

VIII. CONCLUSIONES

- Se detectaron animales positivos a la presencia de *E. canis* con una frecuencia general del 14%, siendo mayor en animales enfermos (30%) que en sanos (8%), pero sin diferencias significativas entre ambos grupos.
- Se identificaron como factores de riesgo asociado a la presencia de casos positivos, la talla de la raza y la etapa por edad, en el grupo de animales enfermos, y la etapa por edad, en el grupo de animales sanos.
- Dentro de cada grupo, las variables: sexo, y hábitat no se asociaron a los casos positivos, ni tampoco se encontraron diferencias significativas, por estos factores.
- Por lo anterior, se puede inferir que tanto *E. canis*, como el vector específico, están presentes en la región de estudio, cuyas características fisiográficas y climáticas, resultaron ser de gran relevancia en los resultados encontrados.
- En las regiones donde las condiciones ambientales faciliten la presencia de la garrapata que actúa como vector de la *E. canis*, se deben tomar medidas preventivas de diagnóstico y tratamiento contra esta enfermedad en perros y un riesgo potencial para la salud pública.

IX.LITERATURA CITADA.

Barcat, J. 2006. El calentamiento global, las garrapatas y la ehrlichiosis. *MEDICINA* (Buenos Aires) 66 (5): 489-491

Barlough, J.E., Reubel, G.H., Madigan, J.E., Vredevoe, L.K., Miller P.E. and Rikihisa Y. 2011. Detection of *Ehrlichia risticii*, the agent of Potomac horse fever, in freshwater stream snails (Pleuroceridae: *Jugaspp.*) from northern California. *Appl Environ Microbiol.* 64:2888-2893.

Bayón, A., Talavera, J., Fernández del Palacio, M. J. and Albert A. 1999. Manifestaciones oculares en un perro con ehrlichiosis. *An. Vet. (Murcia)* 15: 75-84.

Biberstein, E. L., Zee C. Y. 1994. Tratado de microbiología Veterinaria. España, Editorial Acribia. 673.

Buonavoglia, D. 1995. Serological evidence of *Ehrlichia canis* in dogs in southern Italy. *New Microbiol.* 18 (1): 83 – 84.

Breitschwerdt, E.B. 2007. Patógenos bacterianos intracelulares obligados En: Tratado de medicina interna. Enfermedades del perro y del gato. Editores Ettinger y Feldman. Editorial. Sexta edición. Editorial Elsevier Saunders. Madrid, España. 633-634.

Brenes, D., Brenes, S. Quirós I. 2011. Ehrlichiosis: Reporte de 2 casos. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica.* (598): 315-318

Brenner, D.J., O'Connor, S.P., Winkler, H.H. and Steigerwalt, A.G. 1993. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae*

comb. nov., and *Bartonella elizabethae comb. nov.*, and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. *Int J Syst Bacteriol.* 43(4):777-786.

Carvajal de la Fuente, V. 2000. La Ehrlichiosis Canina en México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UAT. Ciudad Victoria, Tamaulipas. [en línea] <<ftp://fmvz.uat.edu.mx/patoclinica/Platica%20Ehrlichia.ppt>> [Consulta: 29 de mayo del 2012]

Cohn, L.A. 2003. Ehrlichiosis and related infections. *Vet Clin Small Anim.* 33: 863-884.

Dagnone, A. S. 2003. Ehrlichiosis in anemia thrombocytopenic or tick-infected dogs from a hospital population in South Brazil. *Vet. Parasitol.* 117 (4): 285 – 290.

Donatein, A., Lestoquard, F. 1937. State of the present knowledge concerning rickettsiosis of animals. *Arch Inst Pasteur Alger* 15:142-187.

Dumler, J.S, Barbet, A.F., Bekker, C.P.J., Dash, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa Y. and Rurangirwa F.R. 2001. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 51:2145-2165.

Ettinger, S. J., Feldman, E. C. 2002. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del perro y gato. 5 ed. Estados Unidos de Norteamérica. Elsevier. 443-447(I).

Font, O., Cairó, J. and Callés A. 1988. Ehrlichiosis canina. 8 (3)
<<http://ddd.uab.cat/pub/clivetpegani/11307064v8n3/11307064v8n3p141.pdf>>
[Consulta: 30 Noviembre, 2012].

Gobierno del estado de Veracruz. Sistema de información municipal Acayucan. Subsecretaría de Planeación. 2012. [en línea]
<http://portal.veracruz.gob.mx/pls/portal/docs/page/GobVerSFP/sfpPortlet/sfpPPortletsDifusion/CuadernillosMunicipales/2011_2013/Acayucan.pdf> [Consulta: 23 Noviembre, 2012].

Harrus, S., Waner, T., Bark, H. 1999. Canine Monocytic Ehrlichiosis - Recent Advances. J Clin Microbiol; 37:2745-2749.

Horst-Joachim, C. 1981. Clínica de las enfermedades del perro. Edit. Acribia. Tomo II. Zaragoza, España. 781-782

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2010. [en línea]
<<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=30>> [Consulta: 23 Noviembre, 2012].

Inokuma, H. 1999. Serosurvey of Ehrlichia canis and Hepatozoon canis infection in Yamaguchi Prefecture, Japan. J. Vet. Med. Sci. 61 (10): 1153 - 1155.

Kakoma, I. 1996. Ehrlichia. [En línea].
<<http://www.swiftwaterfarms.com/swiftwater/p11Ehrlichiosis.htm>> [Consulta: 20 octubre 2012]

Keefe, T. 1982. Distribution of Ehrlichia canis among working dogs in the wolrdande select civilian dogs in the United State. J. Am. Vet. Med. Assoc. 181 (3): 236 – 238.

León, A. y Gómez D. 2007. Ehrlichiosis canina. *REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria*. <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020208.html>> [Consulta: 19 de diciembre del 2012]

López, J., Abarca, K., Mundaca, M. I., Caballero C., y Valiente F. 2012. Identificación molecular de *Ehrlichia canis* en un canino de la ciudad de Arica, Chile. *Revista chilena de infectología*.29 (5): 527-530 <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182012000600008&lng=pt&nrm=iso> [Consulta: 4 Diciembre, 2012].

López, J., Castillo A., Muñoz M., Hildebrandt S. 1999. Hallazgo de *Ehrlichia canis* en Chile, informe preliminar. *Archivos de medicina veterinaria*. 31 (2). <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1999000200008> [Consulta: 3 Noviembre, 2012].

Madigan, J.E., Pusterla, N., Johnson, E., Chae, J.S., Pusterla, J.B., Derock, E. and Lawler, S.P. 2000. Transmission of Ehrlichia risticii, the agent of Potomac horse fever, using naturally infected aquatic insects and helminth vectors: preliminary report. *Equine Vet J*. 32:275-279.

Mac Beath, D. H. 2013. Rickettsiosis. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. Secretaria de salud. <http://www.saludbc.gob.mx/descargas/pandemia/RICKETTSIOSIS_COSTA.pdf> [Consulta: 24 Septiembre, 2012].

Matthenwman, L. A. 1993. Infections with Babesia canis and Ehrlichia canis in dogs in Zimbabwe. *Vet. Rec*. 133 (14): 343 – 346.

Mayors laboratorio. 2012. Ehrlichiosis canina. Ficha técnica. <<http://www.mayorslab.com.ar/enfermedades/ehrlichiosiscanina.pdf>>[Consulta: 20 Septiembre, 2012].

Méndez, I.R., Namihira, C. G., Moreno, L. A. and Sosa, C. M. 2000. El protocolo de investigación. Trillas. Mexico, D. F., 198.

Merck, J. 2004. Eosina-azul de metileno según Wright para microscopia [en línea]. <<http://www.merck.de/servlet/PB/show/1239300/101383109278es.pdf>> [Consultado 20 oct. 2012].

McLeod, L. 2012. Ehrlichiosis in Dogs. Signs, Diagnosis and treatment of Ehrlichiosis in Dogs, About <<http://vetmedicine.about.com/od/glossaryterms/a/CW-Ehrlichiosis.htm>> [consultado el 2 de octubre del 2012]

Montoya, R. 2008. Métodos en Biología celular. Elisa. s.f. (en línea). <<http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>> [Consultado 20 oct. 2012].

Moreira, S. M., Bastos, C. V., Araujo, R. B., Santos, M. and Passos, L. M. F. 2002. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Arq Bras Med Vet Zootec 50: 20-25.

Morgan, R. V. 2002. Clínica de pequeños animales. 4 ed. España. Elsevier. 1122-1124.

Murria, P. R. 1997. Microbiología médica. 2 ed. España. Harcourt Brace. 359-370.

Núñez, O. L. 2003. Estudio de la seroprevalencia de Ehrlichiosis canina en Mexico. AMMVEPE; 14(3): 83-85.

Nyindo, M., Kakoma, I. and Hansen, R. 1991. Antigenic analysis of four species of the genus *Ehrlichia* by use of protein immunoblot. *Am J Vet Res.*; 52(8):1225-1230.

Ortega, P. 2005. Frecuencia y alteraciones Hematológicas asociadas a *Ehrlichia* spp. en perros domésticos de la Ciudad de Cardel, Veracruz. México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana 8 – 19.

Otranto, D., Testini, G., Dantas-Torres, F., Latrofa, M., Vissotto, P., Caprariis, D., Lia, R., Mencke, N., Stanneck, D., Capelli, G. and Breitschwerdt, E. 2010. Diagnosis of Canine Vector-Borne Diseases in Young Dogs: a Longitudinal Study. 48(9): 3316–3324

Pan American Health Organization. 2003. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Scientific and Technical Publication. 580(2).

Pereira, N. 2012. Ehrlichiosis en caninos. Brasil. [En línea]. <http://www.veterinariazen.hpg.ig.com.br/arch_erlichC.htm> [Consultado 20 oct. 2012].

Quiroz, R. H. 2000. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. Edit. Uthea. México, D. F., 203-205; 779-787.

Reyes, V. P. 2004. Determinación de hemoparásitos de caninos en la zona conurbada Veracruz – Boca del Río durante del periodo 1999 – 2002. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. 14 – 25.

Ristic, M. and Kreier, J.P. 1957. Family III. *Anaplasmataceae* Philip. 980AL. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol1, Pp. 719-729. Edited by N.R. Krieg y J.G. Holt. Baltimore: Williams y Wilkins. 1984.

Rivas, V., Morales, D., Saenz, M. and Bonilla, J.L. 2010. Hallazgo de Ehrlichiosis canina causada por *E. canis* en una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 11 (3): 1-10

<<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031002.pdf>>[Consulta: 29 Octubre, 2012].

Rodríguez, C. A., Hernández, A., Beristain, D. M. and Martin, U. 2010. Causa de muerte en perros positivos a ehrlichia canis. *Congreso Nacional de AVEPA*. 68

<<http://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v28n1/11307064v28n1p68.pdf>>[Consulta: 3 Septiembre, 2012].

Rodríguez-Vivas, R. I., Albornoz, R.E.F. and Bolio, G.M.E. 2004. Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *VetParasitol* 127: 75-79.

Sainz, A., Kim, C.H., Tesouro, M.A. 2000. Serological evidence of exposure to *Ehrlichia* species in dogs in Spain. *Ann NY AcadSci* 916:635-642.

Singla, L.D., Harkirat, Singh, Kaur P., Singh N. D., Singh N. k., Juyal P. D. 2013. Serodetection de *Ehrlichia canis* infección en perros de Ludhiana distrito de Punjab, India.

Skotarczak, B. 2003. Canine Ehrlichiosis. *Ann. Agric. EnvironMed*. 10: 137 – 141.

Sumner, J.W., Nicholson, W.L. and Massung, R.F. 1997. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the *groES* heat shock operon of *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol*. 35:2087-2092.

VetCentric. 2000. Canine Ehrlichiosis. Copyright. <<http://workingdogs.com/doc0045.htm>> [consultado el 2 de octubre del 2012].

Waner, T., Harrus S. 2000. Ehrlichiosis monocítica canina. Avances recientes en las enfermedades infecciosas caninas. Internacional veterinaryinformationservece. New york, usa. Pp.44-70.<http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/waner_es/ivis.pdf>[Consulta: 13 Agosto, 2012].

Yu, X., McBride, J.W., Diaz, C.M. and Walker, D.H.2000. Molecular cloning and characterization of the 120- kilodalton protein gene of *Ehrlichia canis* and application of the recombinant 120-kilodalton protein for serodiagnosis of canine ehrlichiosis. J ClinMicrobiol. 38(1):369-374.

Zhang, Y., Ohashi, N., Lee, E.H., Tamura, A. and Rikihisa, Y. 1997. *EhrlichiasennetsugroE* operon and antigenic properties of the GroEL homolog. FEMS Immunol Med Microbiol. 18:39-46.

X. ANEXOS

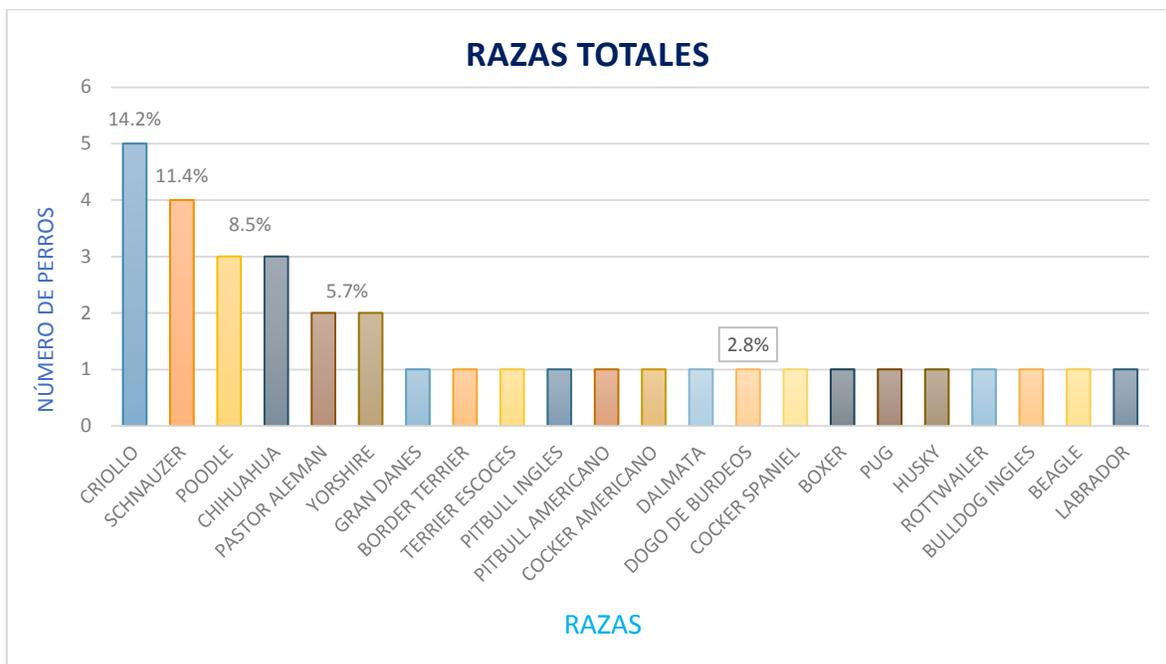


FIGURA 16. Distribución por Razas en la población objetivo.

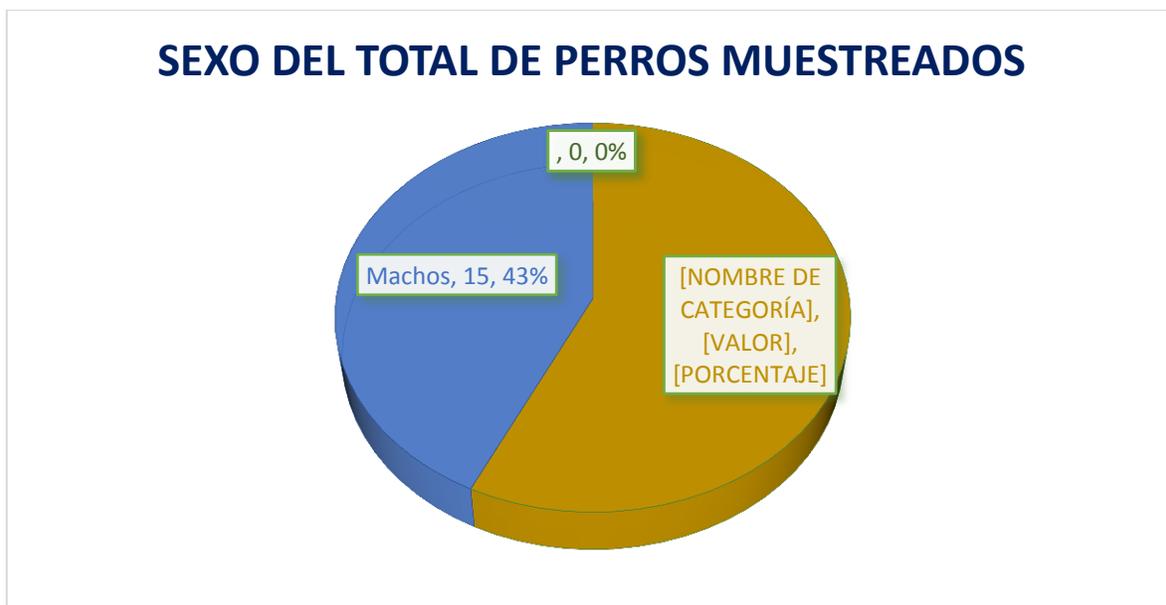


FIGURA 17. Porcentajes por sexo, en la población total.

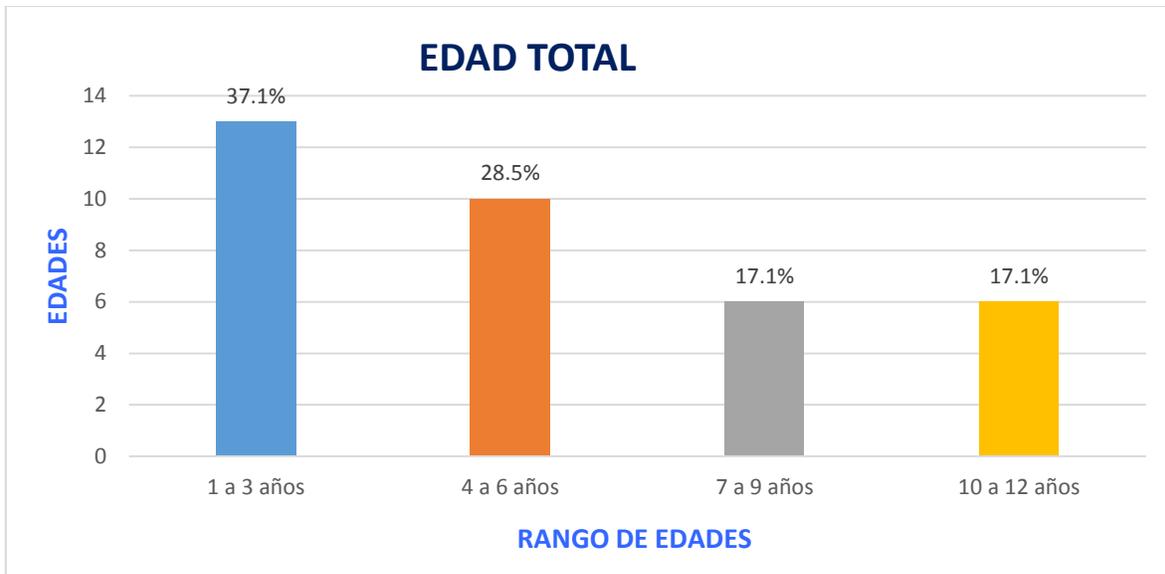


FIGURA 18. Porcentaje de los rangos de edades para la población objetivo.

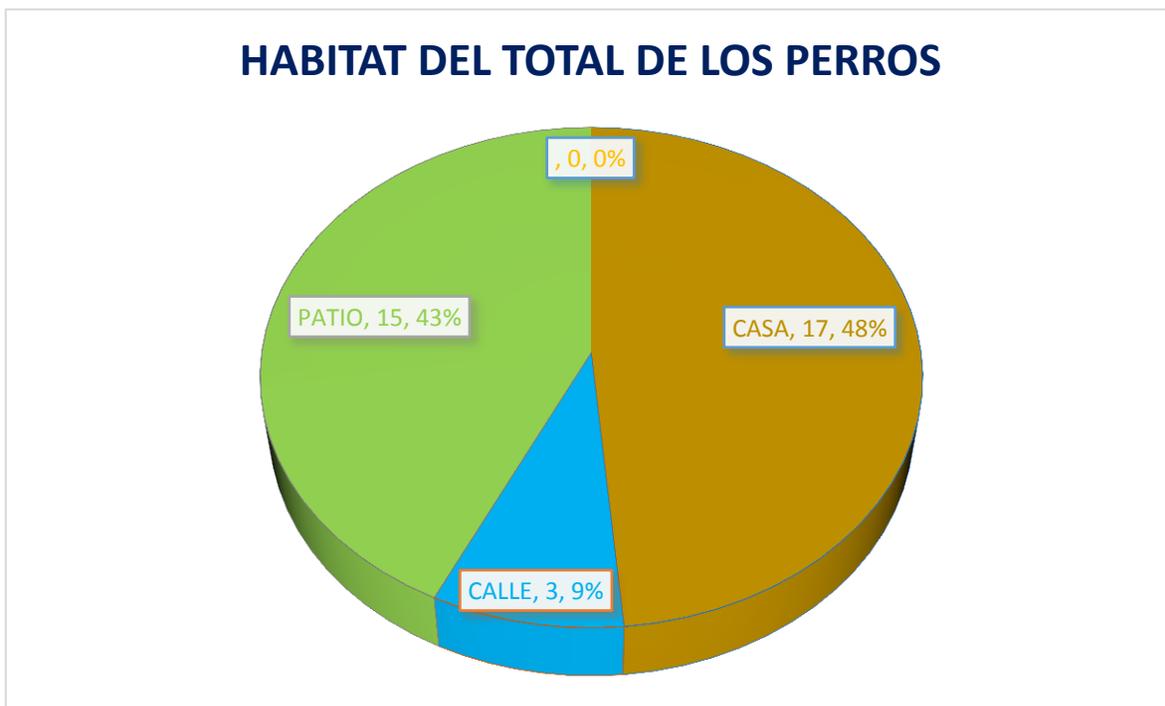


FIGURA 19. Porcentaje del total de perros de acuerdo al hábitat.

TABLA 14. Signos relacionados con *Ehrlichia canis* que se pueden encontrar en el examen físico.

ESPECÍFICOS	INESPECÍFICOS
Epistaxis	Depresión
Petequias	Fiebre
Equimosis	Anorexia
Hematuria	Pérdida de peso
Signos oculares	Letargo
Signos neurológicos	Anemia
Edema periférico	Neumonía intersticial
Trastornos reproductivos	Linfoadenomegalia
Pancitopenia	Palidez de las mucosas

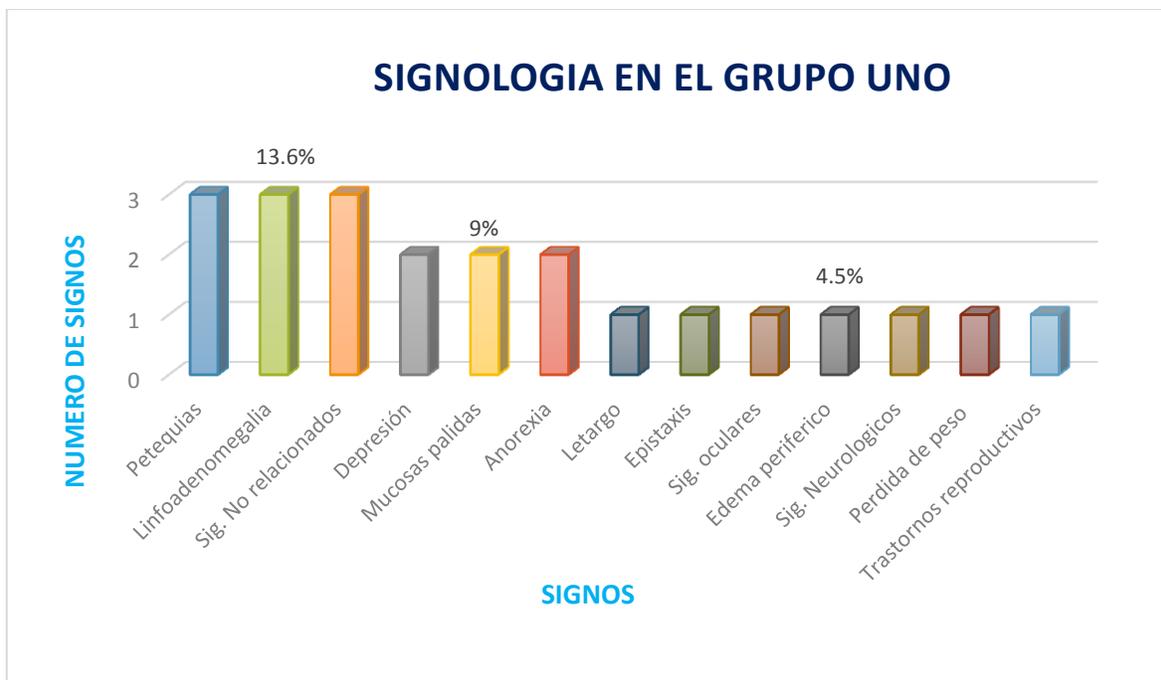


FIGURA 20. Signología encontrada en el grupo uno.

FORMATO 1. Expedientes a llenar por perro muestreado.

FORMATO 1.1. Datos generales del perro muestreado.

Caso No. _____

Nombre del dueño _____

Dirección _____

Teléfono _____ Nombre del perro _____

Edad _____ raza _____ sexo _____

1. ¿Dónde habita el paciente? Casa _____ Patio _____ Jardín _____ Azotea
_____ Calle _____ Otro _____

2. ¿Realiza paseos con el perro? No _____ Sí _____
¿Dónde? _____

3. ¿Después del paseo nota garrapatas en su perro? Sí _____ No _____

4. ¿Ha padecido su perro de alguna enfermedad producida por garrapatas?
No _____ Sí _____ Cual _____

5. Frecuencia de baños. semanal _____ quincenal _____ mensual _____
Otros _____

6. ¿Qué productos usa en el baño?

7. ¿Cómo controla las garrapatas? Jabón _____ Collar _____
Pipetas _____ Otro _____

FORMATO 1.2. Ficha clínica

Caso No. _____

Examen físico:

F.C.	Mucosas	A. C. P.
F.R.	Linfonodos	P. C. P.
T°	R.T.	A. C. A.
Pulso	R.D.	P. C. A.
TLLC	C/C	Peso

¿Se encontraron garrapatas al momento del examen físico? Sí_____ No_____

Enfermedades previas:

Resumen de historia clínica y examen físico:

TABLA 15. Características del grupo uno muestreados

Raza	Sexo	Edad	Hábitat	Resultado	Signos
Chihuahua	H	3 años	Patio	Positivo	Letargo Depresión Inmunodeprimida Mucosas pálidas
Dogo de burdeos	M	3 años	Patio	Positivo	Malassezia Petequias Linfoadenomegalia
Poodle	H	6 años	Casa	Positivo	Epistaxis Sig. Culares Anorexia Edema periférico Mucosas pálidas
Poodle	H	3 años	Casa	Negativo	Ataques epilépticos
Terrier escoces	M	7 años	Casa	Negativo	Petequias
Pitbull ingles	H	5 años	Patio	Negativo	Sarna Demodecica Linfoadenomegalia
Dálmata	H	12 años	Patio	Negativo	Anorexia
Schnauzer	H	6 años	Casa	Negativo	Dermatitis Depresión Petequias
Chihuahua	H	2 años	Casa	Negativo	Pérdida de peso
Husky	H	11 años	Patio	Negativo	Piometra Linfoadenomegalia

TABLA 16. Características del grupo dos.

RAZA	SEXO	EDAD	HÁBITAT	RESULTAD O	ENF. PREVIAS
Yorshire t.	H	5 años	Casa	Negativo	Gastroenteritis
Criollo	M	2 años	Calle	Negativo	Inf. Vías respiratorias
Schnauzer	H	5 años	Casa	Negativo	Intoxicación
Gran danes	M	2 años	Casa	Negativo	Ninguna
Border terrier	M	8 años	Patio	Positivo	Inf. Vías respiratorias
Criollo	M	2 años	Patio	Negativo	Ninguna
Schnauzer	H	10 años	Casa	Negativo	Ninguna
Cocker americano	M	2 años	Patio	Negativo	Ninguna
Pitbull americano	H	10 años	Patio	Negativo	Gastroenteritis
Yorshire T.	H	3 años	Casa	Negativo	Ninguna
Cockerspaniel	H	7 años	Casa	Negativo	Inf. Vías respiratorias
Poodle	M	5 años	Casa	Negativo	Inf. Vías respiratorias
Pastor alemán	H	6 años	Clínica (Casa)	Negativo	Ninguna
Schnauzer	H	3 años	Casa	Negativo	Ninguna
Chihuahua	M	5 años	Casa	Negativo	Ninguna
Pastor alemán	H	7 años	Calle	Negativo	Ninguna
Bóxer americano	M	3 años	Patio	Positivo	Ninguna
Pug	M	9 años	Casa	Negativo	Otitis
Rottweiler	H	8 años	Patio	Negativo	Ninguna
Bulldog ingles	M	4 años	Casa	Negativo	Ninguna
Criollo	M	2 años	Calle	Negativo	Ninguna
Criollo	M	10 años	Patio	Negativo	Ninguna
Beagle	M	3 años	Patio	Negativo	Problemas cardiacos
Criollo	H	5 años	Patio	Negativo	Ninguna
Labrador	H	12 años	Patio	Negativo	Ninguna