

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“EHRLIQUIOSIS CANINA: UN PROBLEMA DE SALUD”

POR

VICENTE HOMERO GONZÁLEZ ÁLVAREZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA, MÉXICO.

ABRIL DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“EHRLIQUIOSIS CANINA: UN PROBLEMA DE SALUD”

POR:

VICENTE HOMERO GONZÁLEZ ÁLVAREZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR: M. C. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

ABRIL DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

“EHRLIQUIOSIS CANINA: UN PROBLEMA DE SALUD”

MONOGRAFÍA

APROBADA POR EL COMITÉ

**M. C. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA
PRESIDENTE**

**M. C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

ABRIL DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

“EHRLIQUIOSIS CANINA: UN PROBLEMA DE SALUD”

M. C. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA
PRESIDENTE

M. C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
VOCAL

M. C. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA
VOCAL

M. C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS
VOCAL SUPLENTE

Índice.

Resumen	iii
1. Introducción.....	¡Error! Marcador no definido.
2. Rickettsias.....	¡Error! Marcador no definido.
3. Orden Rickettsiales.....	¡Error! Marcador no definido.
4. Familia Ehrlichiae.....	¡Error! Marcador no definido.
4.1. Género Ehrlichia.....	¡Error! Marcador no definido.
4.2. Ehrlichia canis.....	¡Error! Marcador no definido.
5. Características bacteriológicas.....	¡Error! Marcador no definido.
6. Replicación.....	¡Error! Marcador no definido.
7. Definición y etiología.....	¡Error! Marcador no definido.
7.1. Distribución geográfica.....	¡Error! Marcador no definido.
8. Sinonimia.....	¡Error! Marcador no definido.
9. Patogenia.....	¡Error! Marcador no definido.
9.1. Hospedero invertebrado (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>).....	¡Error! Marcador no definido.
9.2. Hospedero vertebrado (<i>Canis familiaris</i>).....	¡Error! Marcador no definido.
9.3. Fase aguda.....	¡Error! Marcador no definido.
9.4. Fase crónica.....	¡Error! Marcador no definido.
9.5. Inmunidad celular y humoral.....	¡Error! Marcador no definido.
10. Lesiones o anormalidades en el sistema hematopoyético.....	¡Error! Marcador no definido.
11. Alteraciones séricas y/o bioquímicas.....	¡Error! Marcador no definido.
12. Lesiones oculares.....	¡Error! Marcador no definido.
13. Lesiones musculares.....	¡Error! Marcador no definido.
14. Alteraciones en el sistema nervioso central.....	¡Error! Marcador no definido.
15. Lesiones dermatológicas.....	¡Error! Marcador no definido.
16. Alteraciones en el sistema urinario.....	¡Error! Marcador no definido.
17. Alteraciones en el sistema reproductor.....	¡Error! Marcador no definido.
18. Reportes de casos clínicos.....	¡Error! Marcador no definido.
18.1. Hallazgos macroscópicos postmortem.....	¡Error! Marcador no definido.
18.2. Hallazgos microscópicos postmortem.....	¡Error! Marcador no definido.
19. Coinfecciones.....	¡Error! Marcador no definido.
20. Otras Ehrliquisis en perros.....	¡Error! Marcador no definido.
20.1. <i>Anaplasma (Ehrlichia) platys</i>	¡Error! Marcador no definido.
20.2. <i>Ehrlichia chaffeensis</i>	¡Error! Marcador no definido.

- 20.3. *Ehrlichia ewingii*..... ¡Error! Marcador no definido.
- 20.4. *Ehrlichia muris*..... ¡Error! Marcador no definido.
- 20.5. *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila*. ¡Error! Marcador no definido.
- 20.6. *Ehrlichia ruminantium*..... ¡Error! Marcador no definido.
- 21. Ehrliquiosis felina. ¡Error! Marcador no definido.
- 22. Ehrliquiosis en otras especies animales. ¡Error! Marcador no definido.
 - 22.1. *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum*. ¡Error! Marcador no definido.
 - 22.2. *Ehrlichia (Anaplasma) platys*..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 22.3. *Ehrlichia chaffeensis*. ¡Error! Marcador no definido.
 - 22.4. *Ehrlichia ewingii*..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 22.5. *Ehrlichia (Cowdria) ruminantium*. ¡Error! Marcador no definido.
- 23. Ehrliquiosis en el hombre..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 23.1. *Ehrlichia canis*. ¡Error! Marcador no definido.
 - 23.2. *Ehrlichia chaffeensis*. ¡Error! Marcador no definido.
 - 23.3. *Ehrlichia ewingii*..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 23.4. *Ehrlichia muris*..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 23.5. *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum*. ¡Error! Marcador no definido.
- 24. Diagnóstico. ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.1. Hematología..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.2. Cultivo. ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.3. Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA). .. ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.4. Kit Combo Dirofilaria, Ehrliquia y Lyme 3Dx.¡Error! Marcador no definido.
 - 24.5. Inmunofluorescencia indirecta (IFA)..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.6. Microscopía..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 24.7. Reacción en Cadena Polimerasa (RCP). ¡Error! Marcador no definido.
- 25. Sensibilidad a antibióticos..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 25.1. Tetraciclinas. ¡Error! Marcador no definido.
 - 25.1.1. *Doxiciclina*:..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 25.1.2. *Minociclina*: ¡Error! Marcador no definido.
 - 25.1.3. *Oxitetraciclina*: ¡Error! Marcador no definido.
 - 25.1.4. *Tetraciclina*:..... ¡Error! Marcador no definido.
- 26. Otros antibióticos. ¡Error! Marcador no definido.
 - 26.1. Cloramfenicol. ¡Error! Marcador no definido.
 - 26.2. Fluoroquinolonas..... ¡Error! Marcador no definido.
 - 26.3. Rifampicina..... ¡Error! Marcador no definido.

27. Otros tratamientos.	¡Error! Marcador no definido.
27.1. Azatioprina.	¡Error! Marcador no definido.
27.2. Ciclofosfamida.....	¡Error! Marcador no definido.
27.3. Ciclosporina.....	¡Error! Marcador no definido.
27.4. Sulfato de vincristina.	¡Error! Marcador no definido.
27.5. Dipropionato de imidocarb.	¡Error! Marcador no definido.
27.6. Estimulantes del factor de crecimiento hematopoyético y eritropoyetina.	¡Error! Marcador no definido.
27.7. Glucocorticoides.....	¡Error! Marcador no definido.
27.8. Tratamientos oftálmicos.	¡Error! Marcador no definido.
28. Fallas en la respuesta al tratamiento.	¡Error! Marcador no definido.
29. Profilaxis.	¡Error! Marcador no definido.
29.1. Control de portadores.....	¡Error! Marcador no definido.
29.2. Vacunación.....	¡Error! Marcador no definido.
29.3. Medidas de protección contra vectores.	¡Error! Marcador no definido.
29.3.1. <i>Fipronil</i>	¡Error! Marcador no definido.
29.3.2. <i>Amitraz y piretrinas</i>	¡Error! Marcador no definido.
29.3.3. <i>Selamectina</i>	¡Error! Marcador no definido.
29.3.4. <i>Fumigación y desinfección</i>	¡Error! Marcador no definido.
30. Prevención de zoonosis.....	¡Error! Marcador no definido.
31. Conclusión.....	¡Error! Marcador no definido.
LITERATURA CITADA	¡Error! Marcador no definido.

1. Introducción.....	1
2. Rickettsias.	3
3. Orden Rickettsiales.....	4
4. Familia Ehrlichiaeae.....	4
4.1. Género Ehrlichia.....	4
4.2. Ehrlichia canis.....	6
5. Características bacteriológicas.	6
6. Replicación.	7
7. Definición y etiología.	9
7.1. Distribución geográfica.....	9
8. Sinonimia.	10
9. Patogenia.	10
9.1. Hospedero invertebrado (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>).....	10
9.2. Hospedero vertebrado (<i>Canis familiaris</i>).....	13
9.3. Fase aguda.	14
9.4. Fase crónica.....	17
9.5. Inmunidad celular y humoral.	18
10. Lesiones o anomalías en el sistema hematopoyético.....	20
11. Alteraciones séricas y/o bioquímicas.....	26
12. Lesiones oculares.....	27
13. Lesiones musculares.....	30
14. Alteraciones en el sistema nervioso central.....	32
15. Lesiones dermatológicas.	33
16. Alteraciones en el sistema urinario.	34
17. Alteraciones en el sistema reproductor.	34
18. Reportes de casos clínicos.	35
18.1. Hallazgos macroscópicos postmortem.....	35
18.2. Hallazgos microscópicos postmortem.....	36
19. Coinfecciones.....	41
20. Otras Ehrliquiosis en perros.	43
20.1. <i>Anaplasma (Ehrlichia) platys</i>	43
20.2. <i>Ehrlichia chaffeensis</i>	46
20.3. <i>Ehrlichia ewingii</i>	48
20.4. <i>Ehrlichia muris</i>	50
20.5. <i>Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila</i>	51
20.6. <i>Ehrlichia ruminantium</i>	52

21. Ehrliquiosis felina.	53
22. Ehrliquiosis en otras especies animales.	57
22.1. <i>Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum.</i>	57
22.2. <i>Ehrlichia (Anaplasma) platys.</i>	58
22.3. <i>Ehrlichia chaffeensis.</i>	58
22.4. <i>Ehrlichia ewingii.</i>	59
22.5. <i>Ehrlichia (Cowdria) ruminantium.</i>	60
23. Ehrliquiosis en el hombre.	61
23.1. <i>Ehrlichia canis.</i>	61
23.2. <i>Ehrlichia chaffeensis.</i>	62
23.3. <i>Ehrlichia ewingii.</i>	65
23.4. <i>Ehrlichia muris.</i>	65
23.5. <i>Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum.</i>	66
24. Diagnóstico.	68
24.1. Hematología.	68
24.2. Cultivo.	69
24.3. Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA).....	69
24.4. Kit Combo Dirofilaria, Ehrliquia y Lyme 3Dx.	70
24.5. Inmunofluorescencia indirecta (IFA).	75
24.6. Microscopía.	75
24.7. Reacción en Cadena Polimerasa (RCP).	77
25. Sensibilidad a antibióticos.	79
25.1. Tetraciclinas.	79
25.1.1. Doxiciclina:	80
25.1.2. Minociclina:.....	81
25.1.3. Oxitetraciclina:	82
25.1.4. Tetraciclina:	82
26. Otros antibióticos.	83
26.1. Cloramfenicol.	83
26.2. Fluoroquinolonas.....	83
26.3. Rifampicina.....	84
27. Otros tratamientos.	84
27.1. Azatioprina.	84
27.2. Ciclofosfamida.....	84
27.3. Ciclosporina.....	84
27.4. Sulfato de vincristina.	85
27.5. Dipropionato de imidocarb.....	85
27.6. Estimulantes del factor de crecimiento hematopoyético y eritropoyetina. .	86
27.7. Glucocorticoides.....	87
27.8. Tratamientos oftálmicos.	87
28. Fallas en la respuesta al tratamiento.	88

29. Profilaxis	89
29.1. Control de portadores.....	89
29.2. Vacunación.....	89
29.3. Medidas de protección contra vectores.....	91
29.3.1. Fipronil.....	91
29.3.2. Amitraz y piretrinas.....	91
29.3.3. Selamectina.....	92
29.3.4. Fumigación y desinfección.....	92
30. Prevención de zoonosis	93
31. Conclusión	94
LITERATURA CITADA	96

1. Introducción.

Históricamente, la infección por *Ehrlichia canis* ha sido asociada con la ehrliquiosis monocítica canina (EMC), una enfermedad de distribución mundial (Mylonakis *et al.*, 2004b); muchas enfermedades tienen como reservorio un animal salvaje que transmite la infección a especies domésticas y al ser humano por conducto de un vector, tal es el caso de las ehrliquiosis (Chomel, 2002); no solamente los cánidos son afectados con ehrliquis y riquetsias específicas, estas pueden también establecerse como hospederos reservorios de organismos que causan enfermedad en los humanos (Pusterla *et al.*, 2000; Varela, 2003); las enfermedades transmitidas por garrapatas representan un problema creciente de importancia para la salud pública, así pues los múltiples brotes de nuevas dolencias transmitidas por garrapatas y el incremento en el seguimiento de su identidad han acaparado la consciencia pública (Skotarczak, 2003) ya que en el siglo XX se vio el recrudecimiento de algunas zoonosis bacterianas transmitidas por vectores, tales como las ehrliquiosis humanas, la enfermedad de Lyme y la fiebre botonosa del Mediterráneo (Chomel, 2002).

Cada año se pierden millones de dólares en el tratamiento de perros tanto de trabajo como de compañía infectados con *E. canis* alrededor del mundo (Yu *et al.*, 2000) y se ha invertido mucho recientemente en conocer la distribución geográfica, el potencial zoonótico y las consecuencias patológicas de las infecciones por las *Ehrlichia spp.* en años recientes (Suksawat *et al.*, 2001).

En febrero de 1997, se evaluó a una paciente de 41 años en Mérida; la paciente tenía un historial de exposición a garrapatas una semana antes de la aparición de los síntomas que incluyeron: hipertermia, comezón, cefalea, anorexia, fatiga y tos. Una muestra sérica evaluada por inmunofluorescencia indirecta mostró una reacción positiva frente a *Ehrlichia chaffeensis*; por lo que este caso indica la presencia de ehrliquiosis humana en Yucatán, México (Gongora-Biachi *et al.*, 1999).

En el estudio de la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en México, realizado por Núñez en el año 2003, se reporta que la región norte del país es la que se encuentra más afectada, por lo que se le considera como una zona enzootica de alta importancia, Coahuila y Durango son dos estados que pertenecen a la región antes mencionada, así pues, considerando que las condiciones climáticas, la permanencia predominante a la intemperie, la presencia de garrapatas y considerando que la Comarca Lagunera (Figura 1) abarca entidades que pertenecen a estos dos estados, ubican a esta área como una zona importante de riesgo para la infección por *E. canis*, entonces, el hecho de que en esta región se presentan las condiciones adecuadas para la presencia de esta enfermedad y dado que los casos de erliquiosis canina han tenido un incremento considerable durante los últimos años (Moreira *et al.*, 2005) es motivo para la realización de este estudio.

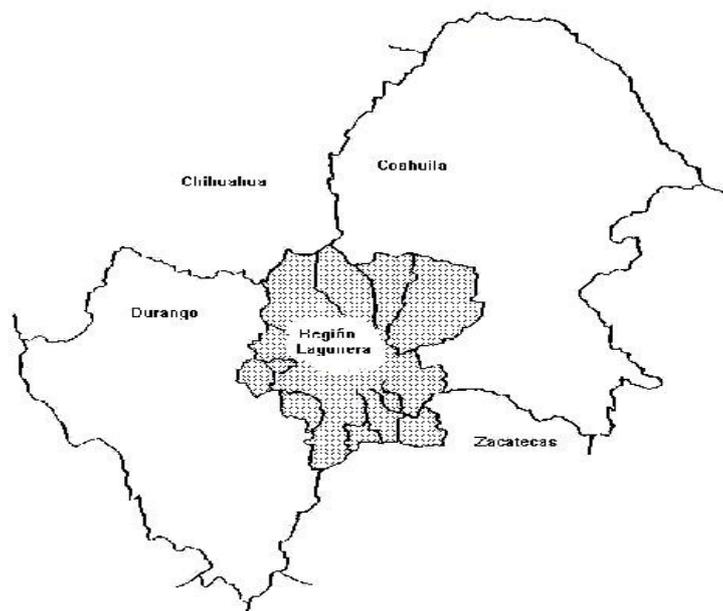


Figura 1. Ubicación geográfica de la Comarca o Región Lagunera, donde se aprecia su localización entre los estados de Durango y Coahuila, así como su colindancia con Chihuahua y Zacatecas.

2. Rickettsias.

Con este nombre, se describen no solo las riquetsias (Euzéby, 2001b; Rey *et al.*, 2002; Vadillo, 2002), encuadradas taxonómicamente en el orden riquetsiales, sino también otras bacterias que tradicionalmente han estado clasificadas bajo esta denominación y cuya situación taxonómica se basa en el estudio del ARN 16S (Euzéby, 2001b; Kelly *et al.*, 2002; Vadillo, 2002) y es la que se expone en el siguiente esquema desarrollado en el Cuadro 1 (Vadillo, 2002).

Cuadro 1 (Vadillo, 2002).

Situación taxonómica de las *Rickettsias* según la 2ª. Edición del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

Phylum Proteobacteria

Clase Alphaproteobacteria

Orden Rickettsiales

Familia *Rickettsiaceae*

Género *Rickettsia*
Género *Orientia*
Género *Wolbachia*

Familia *Ehrlichieae*

Género *Ehrlichia*
Género *Aegyptianella*
Género *Anaplasma*
Género *Cowdria*
Género *Noerickettsia*

Orden Rhizobiales

Familia *Bartonellaceae*

Género *Bartonella*

Clase Gammaproteobacteria

Orden Thiotricales

Familia *Piscirickettsiaceae*

Género *Piscirickettsia*

Orden Legionellales

Familia *Coxiellaeae*

Género *Coxiella*
Género *Rickettsiella*

Phylum Firmicutes

Clase Mollicutes

Orden Mycoplasmacetales

Familia *Mycoplasmataceae*

Género *Eperitrozon*
Género *Haemobartonella*

3. Orden Rickettsiales.

Son bacterias parásitas obligadas de células eucarióticas (Euzéby, 2001h; Kelly *et al.*, 2002; Rey *et al.*, 2002; Vadillo, 2002), lo que significa que no pueden sobrevivir fuera de una célula (Rey *et al.*, 2002), siendo sus hospedadores vertebrados o invertebrados (Euzéby, 2001h; Vadillo, 2002), tienen forma de bacilos cortos o más frecuentemente cocácea, de 0.3-0.6 μm de longitud, se caracterizan por ser inmóviles y aerobias; son Gram negativas (Kelly *et al.*, 2002; Rey *et al.*, 2002; Vadillo, 2002), aunque se utilizan más frecuentemente las tinciones de Giemsa o Stamp (son Stamp positivas); se cultivan en embrión de pollo (inoculación en saco vitelino) o en sustratos celulares; la infección se produce por la picadura de un artrópodo infectado o por la infección de tremátodos infectados (Rey *et al.*, 2002; Vadillo, 2002); poseen características significativas en lo que se refiere a hospedador, vector, enfermedad y células afectadas (Kelly *et al.*, 2002; Vadillo, 2002) y se resumen en el Cuadro 2 (Vadillo, 2002).

4. Familia Ehrlichiaaceae.

4.1. Género Ehrlichia.

Las ehrliquias son bacterias parásitas intracelulares obligadas (Sumner *et al.*, 2000; Rey *et al.*, 2002; Vadillo, 2002; Manna *et al.*, 2004), Gram negativas (Dumler y Bakken, 1998) que infectan células hematopoyéticas específicas de varias especies animales (Dumler y Bakken, 1998; Manna *et al.*, 2004), incluyendo al hombre (Manna *et al.*, 2004) entre las células afectadas encontramos granulocitos, monocitos, macrófagos y plaquetas (Vadillo, 2002; Manna *et al.*, 2004) y son la causa de un proceso febril sistémico (ehrliquiosis) tanto en los seres humanos como en varias especies animales domésticas y silvestres (Vadillo, 2002).

Cuadro 2 (Vadillo, 2002).

Orden <i>Rickettsiales</i> . Especies significativas en medicina veterinaria			
Especie	Hospedador	Vector	Enfermedad/ Células afectadas
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Hombre, Perros, Roedores	Garrapatas (especies de Dermacentor)	Fiebre moteada de las montañas rocosas (Hombre) Fiebre por garrapatas (perro)/ Céls. endoteliales vasculares
<i>R. conorii</i>	Hombre, Perros, Roedores	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre botonosa/ Células endoteliales
<i>Ehrlichia canis</i>	Perros	Garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Panitopenia tropical canina/ Monocitos, Linfocitos, Neutrófilos (raro)
<i>E. phagocytophila</i>	Bovinos, Ovinos Rumiantes silvestres	Garrapatas <i>Ixodes ricinus</i>	Fiebre por picadura de garrapatas, abortos/ Granulocitos, Monocitos
<i>E. equi</i>	Caballos	Garrapatas (especies de <i>Ixodes</i>)	Ehrlichiosis equina/ Granulocitos, Células endoteliales vasculares
<i>E. platys</i>	Perros	Garrapatas (especies de <i>Ixodes</i>)	Trombocitopenia cíclica canina / Plaquetas
<i>Aegyptianella pollorum</i>	Aves	Garrapatas (<i>Argas persicus</i>)	Aegyptianelosis / Eritrocitos
<i>Anaplasma centrale</i>	Rumiantes	Garrapatas y otros artrópodos, instrumental	Infección subclínica benigna1 / Eritrocitos
<i>A. marginale</i>	Rumiantes	Garrapatas y otros artrópodos, instrumental	Anaplasmosis / Eritrocitos
<i>A. ovis</i>	Oveja, Cabra, Ciervo	Garrapatas y otros artrópodos, instrumental	Infección benigna poco frecuente / Eritrocitos
<i>Cowdria ruminantium</i>	Rumiantes domésticos y silvestres	Garrapatas (especies de <i>Amblyomma</i>)	Corazón acuoso / Células reticulares, Neutrófilos, Células endoteliales vasculares
<i>Neorickettsia helmintoheca</i>	Perros, Coyotes Zorros, Osos, Hurones	Salmón contaminado por metacercaria del tremátodo <i>Nanophyetus salminicola</i>	Envenenamiento por Salmón / Células reticuloendoteliales

1: La infección producida por *A. centrale* protege contra la infección contra *A. marginale* (con mayor poder patógeno).

4.2. Ehrlichia canis.

En 1935, *E. canis* fue observada por primera vez por Donatien y Lestoquard en perros, en los que los monocitos alojaban unos los microorganismos parecidos a las riquetsias y que estos autores llamaron "*Rickettsia canis*"; en 1937, Moshkovski propuso la creación del subgénero *Ehrlichia* para clasificar a todas las riquetsias infectantes para los monocitos y él designó como la especie tipo de este género al microorganismo descubierto por Donatien y Lestoquard, de manera errónea, este autor propuso entonces la nomenclatura de "*Ehrlichia (Rickettsia) canis*" y en 1954, Moshkovski elevó el subgénero *Ehrlichia* al rango de género y "*Ehrlichia (Rickettsia) canis*" pasó a ser *Ehrlichia canis*; en 1957, Philip reagrupó los géneros *Ehrlichia* (especie tipo *Ehrlichia canis*), *Cowdria* y *Neorickettsia* dentro de la tribu de las *Ehrlichieae* (familia de las *Rickettsiaceae*), del orden de los *Rickettsiales*; en 1980, las nomenclaturas de *Ehrlichieae*, *Ehrlichia* y de *Ehrlichia canis* fueron adoptadas en las Listas Aprobadas de Nombres Bacteriales y aquí se les confiere el estatus de nomenclaturas válidas publicadas; el estudio del ARN 16S demostró que *Ehrlichia canis* pertenece al grupo genómico I de la tribu de las *Ehrlichieae*, dentro de este grupo, *Ehrlichia canis* está más cercana a *Ehrlichia muris* y a *Ehrlichia chaffeensis* que a *Ehrlichia ewingii* o a *Ehrlichia (Cowdria) ruminantium* (Euzéby, 2001d).

5. Características bacteriológicas.

El cultivo puede ser obtenido en cultivos primarios de monocitos (Euzéby, 2001d) y en líneas celulares de macrófagos de perros (células DH82) (Euzéby, 2001d; Mahan *et al.*, 2005) o en líneas de células endoteliales de origen humano (células EU.HMEC-1) (Euzéby, 2001b); el cultivo de las *Ehrlichia spp.* requiere de pasos que consumen demasiado tiempo y son complejos, así como grandes volúmenes de sangre y de atenciones con detalles muy meticulosos (Suksawat *et al.*, 2001); el cultivo se obtiene en medio mínimo esencial de Eagles (EMEM, por sus siglas en inglés) que contiene 10% de suero vacuno fetal, 0.292 g/l glutamina (GIBCO), 25 mM de bicarbonato de sodio y 25 mM de HEPES, la incubación se da

en una temperatura que comprende entre los 34 y 37°C (Euzéby, 2001b; Mahan *et al.*, 2005).

6. Replicación.

Para su replicación (Figura 2), las *Ehrlichia spp.* preferencialmente infectan leucocitos (Hunt, 2006), monocitos y macrófagos (Dumler y Bakken, 1998; Euzéby, 2001d; Stich *et al.*, 2002); ellas entran a la célula por fagocitosis y una vez en la célula hospedera inhiben la fusión del fagolisosoma, donde los organismos crecen dentro de la membrana del fagosoma y después se libera de la célula por lisis (Hunt, 2006), el cuerpo de inclusión contiene el organismo llamado mórula (Greig, 2006; Hunt, 2006); las mórulas (Figura 3) son de talla variable, pudiendo tener de 2-4 μm de diámetro y contener un gran número de bacterias (30-60) (Dumler y Bakken, 1998; Euzéby, 2001d); las mórulas pueden ser observadas por medio de las tinciones de Giemsa, Romanowsky y Wright (Dumler y Bakken, 1998); los cuerpos reticulares tienen un diámetro de 0,3-0,6 μm y los cuerpos elementales un diámetro de 0,3 - 0,4 μm (Euzéby, 2001b).

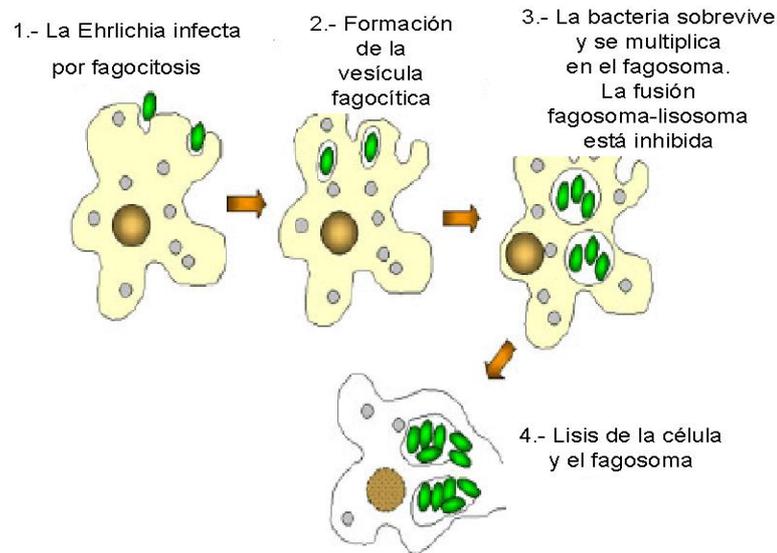


Figura 2. Replicación de las *Ehrlichia spp.* (Mayer, 2003).



Figura 3. Mórula de *Ehrlichia canis* (Sainz *et al.*, 2003).

E. canis representa la primer descripción de como una bacteria intracelular obligada hace uso de una proteína funcional ligada al hierro, aún y cuando estas proteínas han sido ya identificadas en numerosas bacterias extracelulares; la identificación de estas proteínas en las *Ehrlichiae* representa el primer paso para el entendimiento de los mecanismos de adquisición de hierro así como también en otras bacterias intracelulares obligadas; probablemente las *Ehrlichiae* no obtengan el hierro del medio extracelular, sino después de que entran en la célula hospedera; las *Ehrlichiae* regulan el receptor de transferrina y lo recluta hacia la vacuola intracitoplásmica (mórula); lo más probable es que la adquisición de hierro por las *Ehrlichia spp.* ocurra dentro de la mórula; el hierro es necesario para la supervivencia de casi todos los procariontes y eucariotes y aunque poco se sabe acerca de los mecanismos de adquisición del hierro para su supervivencia se ha demostrado que la adquisición de hierro incrementa la virulencia de una gran diversidad de bacterias patógenas y se piensa que si se limita la disponibilidad de hierro libre, se suprime el crecimiento de la bacteria; sin embargo, bajo una limitada disponibilidad de hierro en el hospedero, la bacteria ha evolucionado mecanismos específicos para la adquisición de hierro incluyendo moléculas ligadas al hierro y otras proteínas (Doyle *et al.*, 2005b).

7. Definición y etiología.

La ehrliquiosis canina es una enfermedad infecciosa, no contagiosa (Mahan *et al.*, 2005) que causa un síndrome hemorrágico (Moreira *et al.*, 2005) potencialmente fatal en los canidos domésticos o salvajes (McBride *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2000; McBride *et al.*, 2001); el agente etiológico de la enfermedad es *Ehrlichia canis* (McBride *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2005; Doyle *et al.*, 2006) una bacteria pequeña, Gram negativa, intracelular obligada la cual exhibe tropismo por los fagocitos mononucleares (monocitos y macrófagos) (McBride *et al.*, 2001; Moreira *et al.*, 2005) y establece una infección persistente en el hospedero vertebrado (McBride *et al.*, 2001).

7.1. Distribución geográfica.

La ehrliquiosis canina fue descrita por primera vez en África en 1935 (Irwin, 2001; Unver *et al.*, 2001; Bavaro *et al.*, 2005) y posteriormente en los Estados Unidos de Norteamérica en 1963, la enfermedad recibió mas atención y reconocimiento después del brote epizootico ocurrido en los perros militares de los Estados Unidos durante la guerra de Vietnam (McBride *et al.*, 1999; Irwin, 2001); en México se observó por primera vez en 1996 en animales provenientes de zonas tropicales y subtropicales con un porcentaje elevado de casos positivos (Nuñez, 2003); se ha detectado en Chile (Lopez *et al.*, 1999), Brasil (Moreira *et al.*, 2003) y en Europa: Alemania (Trotz-Williams y Trees, 2002), Bulgaria (Tsachev, 2006), España (Aguirre *et al.*, 2004a), Francia (Trotz-Williams y Trees, 2002), Grecia (Mylonakis *et al.*, 2004a), Italia (Manna *et al.*, 2004) y Portugal (Trotz-Williams y Trees, 2002); también en Egipto (Tsachev, 2006), Israel (Waner y Harrus., 2000) y Japón (Kawahara *et al.*, 1999; Inokuma *et al.*, 2004), mientras que Australia (Irwin, 2001; Mason *et al.*, 2001; Mahan *et al.*, 2005) y Nueva Zelanda se encuentran exentas de la enfermedad (Mahan *et al.*, 2005).

8. Sinonimia.

La “ehrliquiosis monocítica canina” (Varela, 2003; CFSPH, 2005) es igualmente nombrada “riquetsiosis canina” (CFSPH, 2005), “pancitopenia tropical canina” (Irwin, 2001; Unver *et al.*, 2001; Stich *et al.*, 2002; Varela, 2003; CFSPH, 2005; Moreira *et al.*, 2005), “tifus canino o del perro”, “fiebre hemorrágica canina o del perro” (Unver *et al.*, 2001; CFSPH, 2005) “síndrome hemorrágico idiopático” (Unver *et al.*, 2001), “enfermedad del perro rastreador” o “síndrome hemorrágico de Nairobi” (CFSPH, 2005).

9. Patogenia.

9.1. Hospedero invertebrado (*Rhipicephalus sanguineus*).

Ehrlichia canis es transmitida por la garrapata café *Rhipicephalus sanguineus* (Figura 4) (McBride *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2000; Unver *et al.*, 2001; Rey *et al.*, 2002; Zurek, 2004; Tsachev, 2006) con una repartición mundial (Irwin, 2001; Unver *et al.*, 2001; Rey *et al.*, 2002) pero mas frecuentemente en los países tropicales o subtropicales (Irwin, 2001; Unver *et al.*, 2001). *R. sanguineus* (la garrapata café del perro) pertenece a la familia *Ixodidae* (garrapatas duras), son ácaros succionadores de sangre con un *capitulum* terminal en todos sus estadios y un escudo dorsal (*scutum*) en el cual se muestra el pequeño dimorfismo sexual en la hembra y que recubre casi toda la superficie dorsal en el macho. Esta especie de garrapata parasitiza principalmente perros y otros caninos, pero puede también alimentarse en una variedad amplia de mamíferos, incluyendo al hombre y también algunas aves (Pipano, 2003).



Figura 4. Macho y Hembra de *Rhipicephalus sanguineus* (Lord, 2001).

El ciclo vital de la garrapata dura, consta de cuatro estadíos: huevo, larva, ninfa y adulto (Figura 5). La hembra una vez alojada en su hospedero vertebrado busca un lugar protegido para depositar una única serie de 2 mil a 4 mil huevesillos globulares de color café (Figura 6), después de lo cual muere. Dependiendo de las condiciones medioambientales los huevesillos eclosionan dejando salir una larva hexápoda. Cada uno de estos estados parasíticos se alimenta sobre su hospedero y después se deja caer al suelo; la larva y la ninfa para mudar y la hembra adulta para la ovoposición (Figura 7). Las larvas o ninfas pueden sobrevivir sin alimentarse hasta por seis meses y los adultos por más de un año, aunque en áreas subtropicales esto puede ocurrir hasta en dos o tres generaciones. De acuerdo con las condiciones medioambientales, la longitud del ciclo vital de esta garrapata puede ser de dos meses como mínimo o poco más de un año como máximo. Conforme se alimentan, las garrapatas alternan entre absorber los componentes sanguíneos presentes en el sitio de alimentación, retornando el exceso de fluidos al hospedero por vía saliva, concentrándose así en los nutrientes sanguíneos y regulando el volumen hemolinfático y la composición iónica (Pipano, 2003).



Figura 5. Estadíos de *R. Sanguineus*: Larva, ninfa, hembra y macho adultos. (Lord, 2001).



Figura 6. Hembra y huevesillos de *Rhipicephalus sanguineus*. (Lord, 2001).

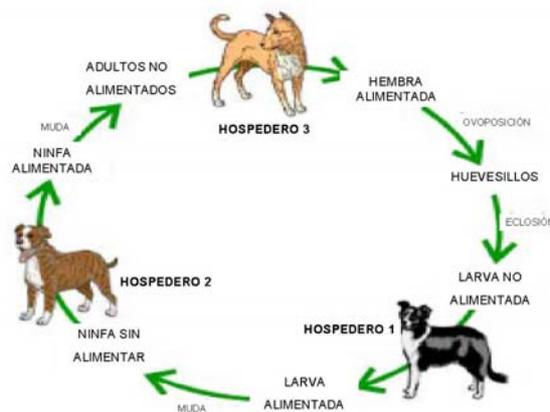


Figura 7. Ciclo vital de *R. Sanguineus*. (Lord, 2001).

Poco se sabe acerca de la localización y desarrollo de *E. canis* en la garrapata vector (Unver *et al.*, 2001), existe el reporte de que las larvas y las ninfas llegan a infectarse mientras se alimentan solo en perros con enfermedad aguda (Harrus *et al.*, 1998b), existe transmisión transestadial (Euzéby, 2001d; Irwin, 2001; Mason *et al.*, 2001) mas no transovárica (Euzéby, 2001d; Mason *et al.*, 2001) por lo cual las garrapatas no pueden ser, *sensu stricto*, un verdadero reservorio (Euzéby, 2001d).

Las garrapatas adultas pueden sobrevivir hasta 568 horas y ellas pueden transmitir la infección durante las primeras 155 horas (o pueden ser mas) siguientes a su contaminación, así, las garrapatas adultas pueden asegurar la conservación del germen durante los meses de invierno y transmitir la infección en la primavera siguiente (Euzéby, 2001d); la actividad estacional de la garrapata café del perro ayuda a que la incidencia de ehrliquiosis sea más alta durante las temporadas cálidas (Lakkawar *et al.*, 2003).

Experimentalmente, se ha demostrado que *E. canis* puede ser transmisible por la fase adulta de la garrapata Americana del perro (*Dermacentor variabilis*) (Euzéby, 2001d; Unver *et al.*, 2001), en la que además la transmisión transestadial ha sido demostrada (Euzéby, 2001d); también *E. canis* posiblemente sea transmitida por *Amblyomma americanum* (Lord, 2001)

9.2. Hospedero vertebrado (*Canis familiaris*).

De perro a perro (Mason *et al.*, 2001) el germen *E. canis* es transmitido por la forma larvaria (Euzéby, 2001d), la ninfa y el estado adulto de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Euzéby, 2001d; Felek *et al.*, 2003a) aunque la riquetsia puede ser igualmente transmitida por transfusiones (Harrus *et al.*, 1998b; Euzéby, 2001d) y este problema es de importancia en las regiones donde *E. canis* es endémica ya que además un alto porcentaje de la población canina es seropositiva (Harrus *et al.*, 1998b), la inoculación subcutánea experimental del

microorganismo emula a la transmisión natural ocasionada por la garrapata vector (Wardrop *et al.*, 2005).

La progresión de la ehrliquiosis canina ocurre en tres fases: aguda, subclínica y crónica (McBride *et al.*, 1999; McBride *et al.*, 2001); el estado agudo: tarda de 2-4 semanas (Mason *et al.*, 2001; McBride *et al.*, 2001); el estado subclínico: en el que los perros pueden estar persistentemente infectados por años y sin exhibir ningún signo clínico (McBride *et al.*, 2001), esta fase puede durar tanto como 5 años (Mylonakis *et al.*, 2004b) y por último la fase crónica: en la cual la mayoría de los perros pueden ir empeorando progresivamente debido a la hipoplasia de la médula ósea y el pronóstico es desfavorable (McBride *et al.*, 2001), dentro del último caso, la infección puede persistir por más de 5 años sin ningún signo clínico (Euzéby, 2001d).

9.3. Fase aguda.

Entre los signos clínicos o anormalidades que ocurren con la enfermedad natural después de una incubación de 8-20 horas en la fase aguda se incluyen fiebre de aparición brutal (McBride *et al.*, 1999) e intermitente (Stich *et al.*, 2002; Goodfellow y Shaw, 2005), anorexia (McBride *et al.*, 1999; Mason *et al.*, 2001; Stich *et al.*, 2002; Mylonakis *et al.*, 2004a; Goodfellow y Shaw, 2005), diarrea (Goodfellow y Shaw, 2005), vómito (Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005), pérdida de peso (McBride *et al.*, 1999; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005), letargia (McBride *et al.*, 1999; Irwin, 2001) y/o depresión (Stich *et al.*, 2002; Mylonakis *et al.*, 2004b), adenopatía generalizada (McBride *et al.*, 1999; Irwin, 2001), tendencias hemorrágicas como epistaxis (McBride *et al.*, 1999; Mylonakis *et al.*, 2004b), pero además, petequias, equimosis, melena, hematuria, hemartrosis, hemorragias retinianas, hemorragias cerebrales... (McBride *et al.*, 1999), uveítis anterior, poliuria/polidipsia, edema de las extremidades posteriores (Mylonakis *et al.*, 2004b), dolor muscular (Goodfellow y Shaw, 2005) y signos de enfermedad de vías respiratorias altas (Goodfellow y Shaw, 2005) con descarga naso-ocular (McBride *et al.*, 1999; Mason *et al.*, 2001) y disnea (McBride *et al.*,

1999) además de leucopenia (particularmente neutropenia); para lo cual los perros típicamente se recuperan de esta fase espontáneamente, pero pueden convertirse en portadores infectados por el microorganismo (McBride *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 2005) y puede seguir una fase subclínica donde la duración puede ser incluso de varios años (McBride *et al.*, 1999; Euzéby, 2001d); posteriormente signos poco específicos pueden reaparecer, entre ellos letargia (Euzéby, 2001d) y/o ligera anorexia (Euzéby, 2001d; Stich *et al.*, 2002).

En algunos perros, a los cuales se les inyectó por vía intravenosa con células DH82 infectadas con la cepa Israel de *E. canis* desarrollaron signos típicos consistentes de ehrliquiosis aguda, estos incluyeron pirexia (con una media de $40.4 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$) la cual se detectó en el día 10 postinfección (PI), acompañado por anorexia y linfadenomegalia generalizada (Waner *et al.*, 2000).

En la fase aguda el *estatus* inmunológico en los perros infectados por *E. canis* está más comprometido por lo que se espera ocurran infecciones secundarias (Lakkawar *et al.*, 2003); raramente, alrededor de 60-80 horas después de la contaminación es posible observar un síndrome hemorrágico severo acompañado de pancitopenia, de ahí el nombre de “pancitopenia tropical canina” (Yu *et al.*, 2000), mortal en menos de 36 horas; este síndrome es frecuentemente observado cuando hay enfermedades preexistentes (Euzéby, 2001d).

Parecen ser particularmente más susceptibles los cachorros o animales jóvenes (Euzéby, 2001d; Sainz *et al.*, 2003; Carter, 2005) y/o el Pastor Alemán (Euzéby, 2001d; Irwin, 2001; Mason *et al.*, 2001; Sainz *et al.*, 2003; Carter, 2005; Mahan *et al.*, 2005), así como los Springer Spaniel, los cuales pueden presentar cuadros clínicos más graves (Sainz *et al.*, 2003); se ha documentado que la respuesta inmune contra *E. canis* es más débil en perros Pastor Alemán (Lakkawar *et al.*, 2003; Mahan *et al.*, 2005) que en los Beagles (Lakkawar *et al.*, 2003) esto, probablemente asociado a una inmunosupresión inducida por la infección con *E. canis* (Mahan *et al.*, 2005), así también, se sugiere que la anemia,

la leucopenia, la pancitopenia, las tendencias hemorrágicas y el hecho de ser Pastor Alemán son indicadores importantes de una pobre probabilidad de supervivencia en los casos de ehrlichiosis monocítica canina (Lakkawar *et al.*, 2003) y aún más en la presentación crónica severa de la enfermedad (Mahan *et al.*, 2005); la pancitopenia en la raza Pastor Alemán puede ser irreversible y fatal (Lakkawar *et al.*, 2003; Goodfellow y Shaw, 2005).

Para confirmar si los perros en la fase subclínica de la enfermedad son portadores de *Ehrlichia canis* y para determinar el significado de la persistencia de títulos de anticuerpos contra *E. canis* por inmunofluorescencia indirecta durante esta fase, se llevó a cabo un muestreo por PCR con sangre, médula ósea y aspirados esplénicos, recolectados 34 meses postinoculación en 6 perros de raza Beagle con infección experimental; los títulos de anticuerpos incrementaron progresivamente durante los primeros 5 meses post-infección, permanecieron altos por un periodo adicional de más de 11 meses y declinaron después, lo que sugiere que los perros se estaban recuperando de la enfermedad. Cinco de estos perros permanecieron seropositivos 34 meses postinfección; los datos obtenidos en este estudio demuestran por primera vez que los perros supuestamente sanos son portadores de la rickettsia en la fase subclínica; esto demuestra que los perros pueden albergar a *E. canis* por años sin desarrollar la enfermedad clínica y que además pueden eliminar el parásito así como recuperarse de la enfermedad sin tratamiento médico (Harrus *et al.*, 1998b).

La fase aguda de la enfermedad ha sido estudiada extensivamente, mientras que la fase subclínica y la fase crónica no; aún quedan muchas preguntas con respecto a esta fase y las siguientes parecen ser las más pertinentes: ¿Son portadores de la rickettsia los animales durante la fase subclínica?, siendo así, ¿Dónde está alojado el parásito y por cuánto tiempo puede permanecer en esta fase sin desarrollar la enfermedad crónica?, ¿Son los perros inmunocompetentes capaces de eliminar el parásito sin terapia médica?,

¿Cuál es el significado de la persistencia de títulos de anticuerpos IgG contra *E. canis* durante la fase subclínica? (Harrus *et al.*, 1998b).

9.4. Fase crónica.

Las manifestaciones clínicas crónicas incluyen anorexia y emaciación (McBride *et al.*, 1999; Mason *et al.*, 2001) o pérdida de peso, ulceración bucal, lesiones dermatológicas, queratoconjuntivitis, linfadenopatía (Guillén Llera *et al.*, 2002), uveítis anterior, eritema multiforme, vómito, perforación gástrica y demodicosis crónica (CFSPH, 2005), pancitopenia, síndrome de hiperviscosidad o glomerulonefritis y síndrome nefrótico; sin embargo, algunos animales pueden presentar un hemograma normal (Junk, 2004), también se puede observar hiperglobulinemia, trombocitopenia y hemorragias, particularmente epistaxis, seguida de muerte en algunos casos (McBride *et al.*, 1999), se ha reportado que la muerte en la ehrliquiosis monocítica canina podría ocurrir como consecuencia de hemorragias (Lakkawar *et al.*, 2003) y/o infecciones secundarias (Mason *et al.*, 2001; Lakkawar *et al.*, 2003).

Las condiciones que llevan o conducen al desarrollo de la etapa crónica no están comprendidas por completo; sin embargo, esto puede tener relación con la raza, el estatus inmunológico del animal hospedero (Harrus *et al.*, 1998b; Mylonakis *et al.*, 2004b) condiciones de estrés, la localización geográfica (Harrus *et al.*, 1998b) y/o la patogenicidad de la cepa parasitaria (Harrus *et al.*, 1998b; Mylonakis *et al.*, 2004b), así como coinfecciones con otros parásitos (Harrus *et al.*, 1998b) o infecciones concurrentes y otros factores aún no determinados, los cuales pueden afectar el espectro y la severidad de las características clínicas y patológicas de la infección por *E. canis* (Mylonakis *et al.*, 2004b), el curso de la fase crónica puede a menudo ser complicado por súper infecciones con otros microorganismos (Skotarczak, 2003); en la fase crónica severa de la enfermedad, la disminución en la producción de plaquetas debida a hipoplasia de la médula ósea es considerada como la causante de la trombocitopenia, complicando de esta manera el *estatus* clínico (Harrus *et al.*, 1999).

9.5. Inmunidad celular y humoral.

Se sospecha que la respuesta del hospedero hacia la infección por *E. canis* juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad y se piensa que un estado de premunición (inmunidad protectora) ocurre en los perros subclínicamente infectados con *E. canis* y también en los perros infectados después de un corto periodo de tratamiento con oxitetraciclina, esto indica que la inmunidad protectora se mantiene primeramente por la vía de la respuesta inmune celular más que por la respuesta inmune humoral, una creciente evidencia sostiene que hay mecanismos inmunológicos envueltos en la patogénesis en la forma aguda y varios hallazgos sugieren que la respuesta inmune celular es el componente más importante del sistema inmune que provee protección contra *E. canis* (Harrus *et al.*, 1999).

La inmunidad protectora contra *E. canis* involucra por igual a los componentes celulares y humorales, pero se ha documentado que en los perros que se han recuperado de la fase aguda y crónica, no están dotados de inmunidad contra la reinfección ni logran aminorizar los signos clínicos; se ha probado *In Vitro* que los anticuerpos suprimen el crecimiento de *E. canis* y las evidencias sostienen que los anticuerpos tienen mayor importancia en la inmunidad hacia las infecciones por la erliquia, aunque la cinética de los anticuerpos hacia proteínas inmunorreactivas de *E. canis* no ha sido correctamente establecida, la respuesta sérica hacia antígenos completos en perros con infección experimental y natural involucra primeramente a la IgG2 (McBride *et al.*, 2003).

La respuesta inmune humoral parece no tener un papel importante en la protección contra *E. canis*; inversamente, ha sido propuesto que esto contribuye a la patogénesis de la enfermedad (Harrus *et al.*, 1999; Lakkawar *et al.*, 2003); la recuperación y la protección de infecciones por bacterias intracelulares obligadas recaen a menudo sobre las respuestas celulares inmunomediadas teniendo como resultado la producción de interferón gama (IFN- γ) (Dumler *et al.*, 2000), la respuesta inmune celular se considera el sello característico de inmunidad hacia

los patógenos bacterianos intracelulares y aunque las respuestas inmunes celular y humoral están involucradas en la respuesta del hospedero, los anticuerpos, en ausencia de linfocitos, pueden contribuir a la eliminación de los patógenos intracelulares durante la infección activa (Winslow *et al.*, 2000).

Una fuerte evidencia de que el IFN- γ protege contra las infecciones por bacterias intracelulares obligadas se ha propuesto en modelos *In Vitro* e *In Vivo*, así como protege en la infección por ehrliquiosis granulocítica humana (EGH), sin embargo, la protección pudiera ser una consecuencia como lo es potencialmente el IFN- γ en las células dañadas del hospedador (Dumler *et al.*, 2000).

La variación antigénica en las proteínas de superficie de los patógenos bacteriales transmitidos por garrapatas es un mecanismo primario de evasión hacia la respuesta inmune del hospedero lo que resulta en una infección persistente (Brayton *et al.*, 2001); probablemente, las infecciones persistentes por *E. canis* escapan de la respuesta inmune del hospedero sobreviviendo por medio de la modulación de la expresión de genes (McBride *et al.*, 1999; Unver *et al.*, 2001) debido a la expresión variable en los genes homólogos de la P28 (proteína 28), así se capacita *E. canis* para evadir la respuesta inmune; se requieren estudios para examinar si la expresión del gen P28 de *E. canis* en perros aguda o crónicamente infectados puede ser una revelación dentro de la modulación del gen familiar P28 en las infecciones persistentes por *E. canis* (McBride *et al.*, 1999); en efecto, existe una evidencia en la que los cambios en los genes de transcripción son los responsables de la variación de las *Ehrlichia spp*, por lo que a menudo *E. canis* causa infección persistente en los perros, los cuales pueden desarrollar lesiones crónicas severas o morir (Unver *et al.*, 2001).

Un mayor entendimiento de los mecanismos envueltos en la patogénesis de la enfermedad puede ayudar a los clínicos a conocer de mejor manera el proceso del desarrollo la enfermedad para proveer un tratamiento adecuado y así proporcionar un mejor pronóstico para los pacientes (Harrus *et al.*, 1999), los

títulos séricos de anticuerpos contra *E. canis* permanecieron incrementados en algunos perros por cerca de dos años después de la resolución de los signos clínicos después del tratamiento con tetraciclina, también, en algunos perros, los cultivos sanguíneos y tisulares resultaron positivos a *E. canis* dos meses después del tratamiento con doxiciclina (Thompson, 2003).

10. Lesiones o anormalidades en el sistema hematopoyético.

Las anormalidades hematológicas incluyen anemia (Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005) normocítica normocrómica (Pereira, 2005); pancitopenia: (Mylonakis *et al.*, 2004b; Moreira *et al.*, 2005) leucopenia (Guillén Llera *et al.*, 2002; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005), neutropenia, linfopenia, eosinopenia y monocitopenia (Mylonakis *et al.*, 2004b).

La pancitopenia asociada a la hipoplasia de la médula ósea (Pantanowitz, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004a) contribuye al estado terminal de la fase crónica en las infecciones por *E. canis*, los perros pueden morir por infecciones secundarias (Pantanowitz, 2003) y/o septicemia bacterial (Mylonakis *et al.*, 2004b), así como por hemorragias fatales (Pantanowitz, 2003) y/o sangrado severo o ambas (Mylonakis *et al.*, 2004a).

La diátesis hemorrágica está caracterizada por petequias/equimosis cutáneas y de las mucosas (Figura 8), epistaxis (Figuras 9-a y 9-b) bilateral moderada a severa, melena, hematomas subcutáneos y sublinguales, sangrado gingival, hematoquecia, hematuria y sangrado prolongado en los sitios de venopunción (Mylonakis *et al.*, 2004b); el daño al endotelio vascular puede ocasionar pérdida de plasma, shock y muerte, esto debido a toxinas y hemolisinas (Vadillo, 2002).



Figura 8. Hemorragia en belfo y peridental en un Caniche.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 9-a. Epistaxis en un Pastor Alemán con Ehrlichiosis crónica.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 9-b. Epistaxis en un Rottweiler, signo clínico común en la Ehrlichiosis canina.
(Guitton y Power, 2004).

La anomalía hematológica más prevalente o común de laboratorio en todos los estados de la enfermedad es la trombocitopenia (Euzéby, 2001d; Guillén Llera *et al.*, 2002; Vadillo, 2002; Bulla *et al.*, 2004; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005; Moreira *et al.*, 2005) y es el cambio más consistente y prominente (Waner, 2000) en aproximadamente 75% de las infecciones (Pereira, 2005) o en el 84% de los casos (Bulla *et al.*, 2004); aunque es visto más a menudo en las infecciones con *E. canis*, aunque algunas de las *Ehrlichia spp.* que infectan a los perros pueden ser asociadas con trombocitopenia; la sola presencia de trombocitopenia puede hacer un diagnóstico presuntivo de infección por *E. canis* en perros, aunque varios estudios sugieren que puede haber perros ehrliquiosos no trombocitopénicos (Pereira, 2005).

La patogénesis de la trombocitopenia en la enfermedad es compleja y no está claramente establecida (Waner, 2000; Euzéby, 2001d), pero se especula que la exposición a agentes exógenos tales como virus o bacterias pueden provocar casos de trombocitopenia inmunomediada (Waner, 2000), aunque la trombocitopenia inmunomediada puede ser también secundaria a la infección por *E. canis* y *E. platys* (Pedersen, 1999).

La exposición a agentes infecciosos, en este caso la riquetsia *E. canis* puede ser el disparador de las reacciones hacia las plaquetas, además, utilizando un ensayo inmunológico, un estudio suma una evidencia conclusiva que muestra que la reacción inmunológica hacia las plaquetas ocurre en todos los estadios tempranos de la enfermedad, debido a la respuesta de los anticuerpos antiplaquetas, esto concluye también que otros mecanismos no inmunes pudieran estar envueltos en la destrucción de las plaquetas durante el curso primario del padecimiento (Waner, 2000).

Una explicación de la diversidad clínicopatológica observada podría ser la presencia de trombocitopatía concurrente inducida por *E. canis* (Mylonakis *et al.*, 2004b), entre los mecanismos que se piensa están envueltos en la patogénesis de

la trombocitopenia en la fase aguda de la enfermedad se incluye el incremento en el consumo de plaquetas debido a los cambios inflamatorios en el endotelio vascular (Harrus *et al.*, 1999) o vasculitis secundaria inmunomediada (Mylonakis *et al.*, 2004b), incremento en el secuestro plaquetario por el bazo y el daño o destrucción inmunológica resultando en disminución del periodo de vida de las plaquetas (Harrus *et al.*, 1999); en la fase subclínica, la trombocitopenia puede ser ligera o no existir mientras que en los estados agudo y crónico, puede ser invariablemente profunda, y en efecto, típicamente en la fase crónica, existe una pancitopenia concurrente, los mecanismos trombocitopénicos pueden involucrar a la destrucción inmune (principalmente en la fase aguda), disminución en la producción (fase crónica), aumento en el consumo de plaquetas (Lakkawar *et al.*, 2003; Bulla *et al.*, 2004), disminución en la vida media plaquetaria, secuestro esplénico (Lakkawar *et al.*, 2003; Bulla *et al.*, 2004) o pudiera ser también secundaria al incremento en las concentraciones circulatorias del factor de inhibición de migración plaquetaria (Bulla *et al.*, 2004) o alguna combinación de esos mecanismos (Lakkawar *et al.*, 2003).

Una evidencia para la patogénesis inmunomediada en la destrucción de las plaquetas de los perros infectados por *E. canis* se basa en la presencia de anticuerpos capaces de destruir las plaquetas, con esto se emprendió a elucidar la naturaleza y el curso de la destrucción de las plaquetas durante la incubación y la fase aguda o temprana de la enfermedad artificial, estudiando la emergencia de anticuerpos IgG dirigidos hacia las plaquetas en perros con infección experimental por *E. canis* (Waner, 2000), en efecto, esto conduce a la aparición de autoanticuerpos de la clase IgG dirigidos contra las plaquetas ó trombocitos con una duración de vida media que no pasa de 4 horas (Euzéby, 2001d).

Las infecciones artificiales por *E. canis* en perros han demostrado inducir a la producción de plaquetas capaces de esconderse de los anticuerpos IgG; existe documentación que reporta la presencia de autoanticuerpos dirigidos hacia las plaquetas asociados a la infección por *E. canis* en perros durante el periodo de

incubación y la fase aguda de la enfermedad y se observa que los anticuerpos dirigidos hacia las plaquetas pueden presentarse en un periodo que va de 7 días en adelante; se ha propuesto que la aparición de anticuerpos antiplaquetas durante la fase aguda de la incubación de la enfermedad pueda ser debida a una posible alteración del sistema inmune debido a la infección, dando como resultado una sobreproducción natural de anticuerpos antiplaquetas con afinidad incrementada; una mayor evidencia para la destrucción prematura de las plaquetas después de la infección se demostró en estudios de supervivencia plaquetaria donde el tiempo de vida de estas decreció de 9-4 días, 2-4 días después de la infección, se reportó una heterogeneidad en el desarrollo de los anticuerpos antiplaquetas durante los estados tempranos de la infección, esto puede indicar que otro mecanismo pudiera ser el responsable para el desarrollo de la trombocitopenia; los mecanismos propuestos incluyen incremento en el tiempo de consumo o secuestro de las plaquetas; secuestro aumentado de plaquetas y éstasis debida al factor de migración plaquetaria; estancamiento esplénico con esplenomegalia e incremento de destrucción plaquetaria en el bazo (Waner, 2000).

La supresión en la producción plaquetaria en la médula ósea nos da la razón del bajo número de plaquetas circulantes en las infecciones causadas por garrapatas, la disminución en la producción, generalmente, puede estar deteriorada por cualquiera de estas causas: disminución en el número de megacariocitos o formación inefectiva de plaquetas (Pantanowitz, 2003).

El bazo juega un papel fundamental en la defensa del hospedero ya que limpia las células que presentan microorganismos y también las que están cubiertas por anticuerpos; este es también importante para la síntesis de anticuerpos; además, el bazo actúa como reservorio de plaquetas, las cuales pueden ser intercambiables; en algunos animales, como los perros o los gatos, el bazo es también un importante reservorio de eritrocitos, la esplenomegalia puede estar asociada con muchas de las enfermedades transmitidas por garrapatas, lo que causa incremento en el secuestro y destrucción por los macrófagos

esplénicos; en perros, se ha descubierto que las plaquetas infectadas por *E. canis* son primeramente destruidas en el bazo (Pantanowitz, 2003).

El bazo es el órgano que más parásitos de *E. canis* aloja durante la fase subclínica (Skotarczak, 2003); en algunos perros con resultados negativos en análisis de reacción en cadena polimerasa (RCP o PCR, por sus siglas en inglés) para *E. canis* en sangre periférica pueden resultar positivos en RCP de tejidos esplénicos (Pereira, 2005) y también es el último órgano en adaptarse tras la eliminación de la bacteria (Skotarczak, 2003), lo que sugiere que el bazo es probablemente el último órgano que alberga parásitos a *E. canis* durante la recuperación (Harrus *et al.*, 1998b; Pereira, 2005), la esplenitis linfoplasmocítica con la resultante liberación de mediadores y otras sustancias parecen jugar un papel clave en la patogénesis de la enfermedad (Lakkawar *et al.*, 2003).

Para determinar el papel del bazo en la patogénesis de la enfermedad, se investigó el efecto de la esplenectomía durante el curso de la fase aguda; los hallazgos clínicos y hematológicos del estudio indicaron que el proceso fue considerablemente más leve en los perros esplenectomizados que en los perros intactos; pareció no haber diferencia alguna en el tiempo de aparición o en los títulos de anticuerpos de las inmunoglobulinas anti-*E. canis* entre los esplenectomizados y los intactos; durante la fase aguda, el consumo de alimento fue significativamente más alto en el grupo esplenectomizado que en el grupo intacto; en este periodo, se midieron temperaturas más altas en el grupo intacto comparado con los esplenectomizados; en el curso completo del estudio, el hematocrito, los conteos eritrocitarios, las concentraciones de hemoglobina y los conteos de plaquetas fueron significativamente más altos en el grupo esplenectomizado que en el grupo intacto (Harrus *et al.*, 1999).

El bazo desempeña un papel importante en la patogénesis de las enfermedades inmunomediadas y en los casos refractarios al tratamiento la esplenectomía está indicada; la remoción del mayor órgano productor de

anticuerpos y la eliminación de uno de los mayores sitios del sistema fagocitario monocítico se consideran como los principales objetivos logrados por la esplenectomía; el bazo es el mayor sitio de síntesis de mediadores y otras sustancias, las cuales sirven como opsoninas y promueven la fagocitosis y es también un sitio importante para la síntesis de componentes del complemento; la fagocitosis postesplenectomía está comprometida por la eliminación de los macrófagos esplénicos, la reducción de los componentes de complemento y opsoninas; así pues se sugiere que el bazo juega un papel esencial y soporta más la noción de que hay mecanismos inmunológicos involucrados en la patogénesis de la enfermedad (Harrus *et al.*, 1999).

11. Alteraciones séricas y/o bioquímicas.

Las anomalías séricas en la ehrlichiosis monocítica canina incluyen actividad hepática incrementada (Guillén Llera *et al.*, 2002) con elevación de alanin amino transferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP), probablemente originada por hipoxia, necrosis intralobular secundaria a hemorragia o por la sepsis bacteriana secundaria; también se observa incremento en la concentración de urea y nitrógeno, así como de creatinina y elevación de la concentración total de bilirrubina (Mylonakis *et al.*, 2004b).

Entre las principales anomalías bioquímicas encontramos hipoalbuminemia (Harrus *et al.*, 1999; Erdeger *et al.*, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004b), hiperglobulinemia (Harrus *et al.*, 1999; Erdeger *et al.*, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005) e hipergammaglobulinemia (Harrus *et al.*, 1999; Vadillo, 2002; Erdeger *et al.*, 2003).

La hipoalbuminemia se atribuye o puede ser como consecuencia de la pérdida periférica de albúmina en los edemas, con fluidos inflamatorios como resultado en el aumento de la permeabilidad vascular, pérdida de sangre (Harrus *et al.*, 1999; Mylonakis *et al.*, 2004b), disminución de la producción de proteína debida a la leve enfermedad o disfunción hepática concurrente (Harrus *et al.*,

1999; Mylonakis *et al.*, 2004b), por el cambio glomerulópata (Harrus *et al.*, 1999) o nefropatía con pérdida de proteína y por la hiperglobulinemia relacionada a la baja regulación de la síntesis de albúmina (Mylonakis *et al.*, 2004b).

Como la síntesis de albúmina se regula mediante presión oncótica, la disminución en la concentración puede actuar como un mecanismo compensatorio para el estado hiperglobulinémico, por medio de eso se mantiene la presión oncótica y se previene el incremento en la viscosidad sanguínea (Harrus *et al.*, 1999); pero también la hiperglobulinemia puede darse como resultado de la disminución en la producción de anticuerpos debido a la pancitopenia profunda (Mylonakis *et al.*, 2004b).

La hipergammaglobulinemia es usualmente policlonal, las concentraciones de globulina *Gamma* incrementan durante la fase febril y persiste durante las fases subclínica y crónica de la enfermedad, es sabido que este fenómeno ocurre en otras enfermedades con estimulación antigénica prolongada y sugiere una respuesta inmune exagerada hacia *E. canis* pero con efectividad inadecuada, así mismo se ha encontrado también un aumento en las concentraciones de globulinas α_2 y β_2 en los perros infectados, el aumento en las concentraciones de globulina α_2 puede ser por consecuencia de la inflamación y del daño tisular estimulado por mediadores leucocitarios endógenos (Harrus *et al.*, 1999).

12. Lesiones oculares.

Los signos oculares pueden estar presentes en todas las fases de la enfermedad e involucrar a casi toda la estructura del ojo, aunque la severidad de estas lesiones puede variar de paciente a paciente, las lesiones oculares en los casos naturales tienen una prevalencia del 10 al 15% y experimentalmente el 50% de los perros inoculados desarrollan lesiones (Pontes *et al.*, 2004).

En un estudio experimental en el cual varios perros fueron infectados con varias *Ehrlichia spp*, en las cuales se incluyeron *E. canis*, *E. ewingii* y *E.*

chaffeensis, indicaron que las lesiones oculares (uveítis) fueron observadas solamente en los perros infectados por *E. canis* (Braund, 2003), aunque Glaze y Gaunt observaron un caso de uveítis bilateral en un perro infectado por *A. platys* y no presentaba signos clínicos que lo hicieran parecer susceptible a algunas de las enfermedades responsables de uveítis en el perro (blastomycosis, histoplasmosis, criptococosis, toxoplasmosis, brucelosis, linfosarcoma...) (Euzéby, 2001d); la uveítis (Figuras 10-a y 10-b) es la inflamación del tracto uveal, la uveítis anterior es la inflamación del iris y del cuerpo ciliar, mientras que la uveítis posterior es la inflamación de la coroides, la panuveítis es el tipo más común de uveítis en pequeños animales (Gilger, 2001).

En la infección por *E. canis* (y menos común en la causada por *E. platys*) (Gilger, 2001) las anomalías oculares son más comunes durante la fase crónica (Gilger, 2001; Braund, 2003; Varela, 2003), los cambios inflamatorios en el ojo involucran típicamente al cuerpo ciliar, iris, coroides y retina (Panciera *et al.*, 2001) y se pueden desarrollar manifestaciones que incluyen conjuntivitis (Figuras 11-a y 11-b) y/o petequias conjuntivales y esclerales, edema corneal, retinitis difusa y/o vasculitis, papiledema, neuritis óptica (Gilger, 2001; Pontes *et al.*, 2004), fotofobia y uveítis anterior (Gilger, 2001; Varela, 2003; CFSPH, 2005) los signos clínicos de uveítis, generalmente, incluyen: miosis, erupción o erosión (por la presencia de células proteínicas en la cámara anterior como resultado del descontrol en la barrera sanguíneo-acuosa), enrojecimiento o hiperemia de los vasos sanguíneos esclerales/episclerales, fotofobia (sensibilidad extrema a la luz), dolor (blefarospasmo, parpadeo exagerado y frotamiento) y precipitados queratínicos (acumulo de proteínas y células mononucleares en el endotelio corneal (Gilger, 2001), se presenta también enfermedad y/o deterioro retinal (Braund, 2003; Varela, 2003; Pontes *et al.*, 2004) con hemorragias retinianas (las hemorragias frecuentes inducen a desprendimiento retinal secundario) y exudado corioretinal (Braund, 2003; Pontes *et al.*, 2004; CFSPH, 2005), una lesión ocular inusual e infrecuente son la fusión subconjuntival y escleral que resultan en perforación y prolapso del tracto uveal, el pronóstico depende de la severidad de

la lesión, en casos de grado medio a moderado, el pronóstico es favorable, en los casos severos se tiene un pronóstico reservado, si se desarrollan condiciones secundarias como resultado de la uveítis (glaucoma, hifema, dolor intenso) el pronóstico es de reservado a pobre (Pontes *et al.*, 2004) todas estas lesiones pueden progresar hasta provocar ceguera (Varela, 2003; CFSPH, 2005).



Figura 10-a. Uveítis asociada a *E. canis* en un Bull Dog Inglés.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 10-b. Uveítis en un Caniche positivo a *E. canis*.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 11-a. Conjuntivitis asociada a *E. canis* en un Schnauzer.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 11-b. Conjuntivitis en un Rottweiler asociada a *E. canis*,
se observa prolapso de la glándula lagrimal.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).

13. Lesiones musculares.

Reportes dispersos documentan la ocurrencia de miopatía inflamatoria (Figura 12) generalizada (IMs, inflammatory myopathies) en perros, asociada a varios agentes infecciosos entre los que se incluyen *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* y *Hepatozoon canis*; las miopatías inflamatorias se refieren a un grupo heterogéneo de desórdenes caracterizados por infiltración de células inflamatorias hacia el músculo incluyendo macrófagos y células CD8⁺T (Pumarola *et al.*, 2004); en dos perros seropositivos a la infección por *E. canis* se

encontraron signos que incluyeron hiporeflexia, tetraparesis y debilidad muscular (Figura 13) asociada a polimiositis linfoplasmocítica (Braund, 2003; Vite, 2005).

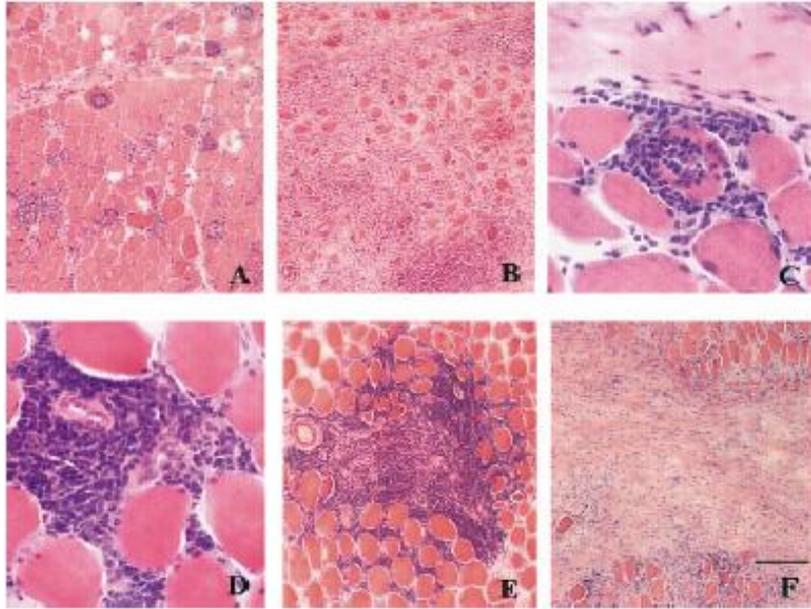


Figura 12. Miopatía inflamatoria generalizada en un perro.
A-C: miositis inflamatoria de los músculos masticatorios con invasión de fibras no necróticas.
D-F: infiltración mononuclear con distribución endo y perimisial.
(Pumarola *et al.*, 2004).



Figura 13. Debilidad muscular en un Caniche positivo a *E. canis*.
(Cortesía de Moreno Boiso, A. Hospital de Pequeñas Especies Alahurín el Grande. Málaga, España).

14. Alteraciones en el sistema nervioso central.

La infección causada por *E. canis* esporádicamente involucra el sistema nervioso central (Braund, 2003; Vite, 2005), los signos neurológicos pueden ser vistos durante el estado agudo y crónico de la enfermedad (CFSPH, 2005), lo clásico es la infiltración de leucocitos hacia el neuroparénquima y sus estructuras, lo que resulta en varios tipos de encefalitis y/o meningitis y algunas veces se asocia a alteración de la integridad vascular lo cual conduce a edema (Vite, 2005); los signos neurológicos se atribuyen a la vasculitis meníngea (Braund, 2003; Burgess, 2005; Vite, 2005) o a la meningoencefalitis linfoplasmocítica que involucra a las meninges, la corteza y el tallo cerebral (Braund, 2003; Vite, 2005).

Las lesiones cerebrales pudieran ocurrir en uno de cada tres perros (Braund, 2003; Vite, 2005), aunque en un estudio realizado en perros infectados con *E. canis*, 14 de 14 tuvieron meningitis, la cual no se observó en los perros infectados con *E. ewingii*, *E. chaffeensis* o *E. phagocytophila* (Pancieria *et al.*, 2001) los signos incluyen ataxia (Burgess, 2005; CFSPH, 2005), letargia (Burgess, 2005), ataques y/o convulsiones (Figura 14), depresión, paraparesis o tetraparesis, disfunción vestibular, hiperestesia localizada o generalizada, déficit de los nervios craneales, temblor de cabeza y coma (Braund, 2003; CFSPH, 2005; Vite, 2005).



Figura 14. Convulsión.

(Disponible en www.canine-epilepsy.net/basics/basics_main.html).

Para todos aquellos animales con signos neurológicos el pronóstico es reservado (Vite, 2005), la recuperación puede ser lenta (CFSPH, 2005) o llevarse un periodo prolongado, así como acarrear déficits o defectos neurológicos residuales debido al daño cerebral irreversible (CFSPH, 2005; Vite, 2005).

15. Lesiones dermatológicas.

La sintomatología cutánea asociada a esta enfermedad es fundamentalmente de tipo hemorrágico (Figura 15); no obstante, también se han descrito cuadros similares a los encontrados en reacciones de hipersensibilidad, del mismo modo, se ha sugerido recientemente la asociación de la ehrliquiosis con el pioderma profundo (Figuras 16-a y 16-b) del Pastor Alemán (Sainz *et al.*, 2003).



Figura 15. Hemorragia cutánea asociada a *E. canis*.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figuras 16-a. Pioderma profundo asociado a *E. canis* en un cachorro Pastor Alemán.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).



Figura 16-b. Pioderma profundo en un Pastor Alemán adulto asociado a *E. canis*.
(Cortesía de Fernández, M. J. Clínica Veterinaria Los Austrias. Comarca Lagunera, México).

16. Alteraciones en el sistema urinario.

En el urinálisis se puede revelar gravidez específica baja, hematuria microscópica debida a diátesis hemorrágica y proteinuria glomerular debida a la glomerulopatía inmunomediada (Mylonakis *et al.*, 2004b).

17. Alteraciones en el sistema reproductor.

Entre los signos reproductivos se incluyen sangrado prolongado durante el estro, muerte neonatal (CFSPH, 2005) e infertilidad o inhabilidad para concebir y abortos (Sainz *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

18. Reportes de casos clínicos.

18.1. Hallazgos macroscópicos postmortem.

En un caso el tejido subcutáneo mostraba hiperemia o hemorragias a través del tejido subcutáneo (CFSPH, 2005), así como hemorragias y gelatinización del tejido adiposo (Lakkawar *et al.*, 2003).

Las meninges y el cerebro revelaron congestión moderada (Lakkawar *et al.*, 2003) y se pudieron observar hemorragias en los ojos (CFSPH, 2005).

La traquea contenía una cantidad moderada de fluido (Lakkawar *et al.*, 2003), ambos pulmones estaban equimóticos, edematosos y enfisematosos, los nódulos linfáticos bronquiales y mediastínicos estaban ligeramente alargados y hemorrágicos (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

La cavidad torácica y el saco pericárdico contenían cantidades moderadas de fluido serosanguinolento (Lakkawar *et al.*, 2003) e hidropericardio (CFSPH, 2005), se observaron hemorragias multifocales (petequiales y equimóticas) en la superficie endo y epicardial (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005), las cámaras cardiacas contenían una cantidad anormal de coágulos sanguíneos (Lakkawar *et al.*, 2003).

El hígado se encontró ligeramente elongado, congestionado, con una coloración amarillenta ligera y endurecido al tacto (Lakkawar *et al.*, 2003).

El bazo estaba ligeramente elongado y congestionado (esplenomegalia) (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

Además de la ascitis (CFSPH, 2005), se pudieron observar hemorragias equimóticas severas a través todo el tracto gastrointestinal, lo que impartía una coloración marrón, los nódulos linfáticos mesentéricos estaban elongados, con

una coloración café/rojizo en la superficie de corte (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

Los riñones se encontraban con coloración normal y consistencia firme, las superficies de corte revelaron unas cuantas hemorragias lineales extendidas desde la corteza hasta la pelvis, la médula del riñón derecho contenía un coágulo sanguíneo con un diámetro de aproximadamente 0.5 cm. (Lakkawar *et al.*, 2003).

La vejiga urinaria reveló distensión (Lakkawar *et al.*, 2003), unas pocas hemorragias equimóticas en la superficie serosa y petequias en la mucosa (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

Además del edema en las patas (CFSPH, 2005), los músculos esqueléticos estaban moderadamente congestionados (Lakkawar *et al.*, 2003).

18.2. Hallazgos microscópicos postmortem.

En el cerebro y meninges los vasos estaban congestionados con predominantes células plasmáticas (Figura 17), en adición, en la materia gris se observó edema perineuronal, gliosis y extensa vacuolisación (Lakkawar *et al.*, 2003).



Figura 17. Edema perineuronal y perivascular con células plasmáticas en cerebro. (Lakkawar *et al.*, 2003).

La meningitis fue generalmente caracterizada por infiltrados monocíticos, linfocíticos y plasmocíticos con lesiones focales y/o generalizadas distribuidas en la piaracnoides; cuando la infiltración fue leve, hubo una orientación clara alrededor de los vasos; los infiltrados celulares más densos tuvieron una población prominente de monocitos; en las lesiones más viejas y con infiltrados más dispersos, contenían grandes números de linfocitos y células plasmáticas, las lesiones neuroparenquimatosas consistieron también en vasculitis y gliosis; en 8 de 14 perros con meningitis se encontró también encefalitis, con perivasculitis y gliosis en el neuroparénquima (Panciera *et al.*, 2001).

Los cambios inflamatorios en el ojo consistieron en infiltración o agregación difusa de la población de células inflamatorias (Gilger, 2001; Panciera *et al.*, 2001), las células encontradas son predominantemente linfocíticas pero incluyen también monocitos y células plasmáticas; en infecciones de larga duración se incrementa la proporción de linfocitos y células plasmáticas, las células granulocíticas suelen ser pocas; en el cuerpo ciliar, los infiltrados están presentes más frecuentemente, son más intensos y generalmente tienen distribución difusa, ocasionalmente hay infiltrados dentro de la esclera y solo en los casos muy severos el proceso ciliar está involucrado, el iris es algo menos severamente infectado, los infiltrados celulares son usualmente agregados de células inflamatorias; se observó coroiditis difusa con algunos agregados o grupos de células inflamatorias; retinitis generalmente ligera pero ocasionalmente puede haber perivasculitis intensa y se considera la lesión menos común observada (Panciera *et al.*, 2001), en el endotelio corneal es posible observar acumulo de proteínas y células mononucleares (precipitados queratínicos) (Gilger, 2001).

En el corazón se observaron hemorragias multifocales (petequiales y equimóticas) en la superficie endo y epicardial (Figura 18) (Lakkawar *et al.*, 2003; CFSPH, 2005).

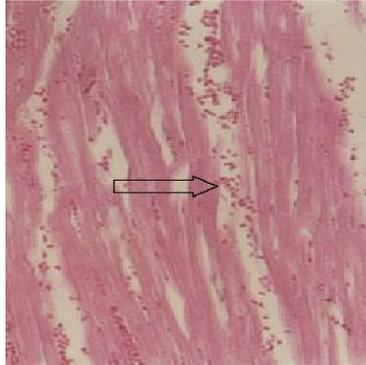


Figura 18. Hemorragias lineales en miocardio.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

En los pulmones había lesiones hemorrágicas, exudación serofibrinosa, enfisema, antracosis e infiltración alveolar moderada de polimorfos junto con células plasmáticas, en los macrófagos alveolares pulmonares se pudieron observar mórulas color naranja-rojizo de *E. canis* teñidas por método de Lendrum (Lakkawar *et al.*, 2003).

En el hígado se observó congestión de sinusoides, áreas focales hemorrágicas, cambios grasos ligeros, necrosis coagulativa multifocal (Figura 19) así como acumulo de hemosiderina y pigmentos biliares, las áreas perivasculares mostraron infiltración mononuclear y de células plasmáticas, específicamente en las células de Kupfer se detectaron mórulas de *E. canis* las cuales se tiñeron de un color naranja-rojizo por el método de Lendrum (Figura 20) (Lakkawar *et al.*, 2003).

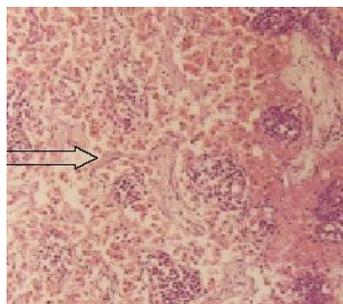


Figura 19. Hemorragias y necrosis en el parénquima hepático.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

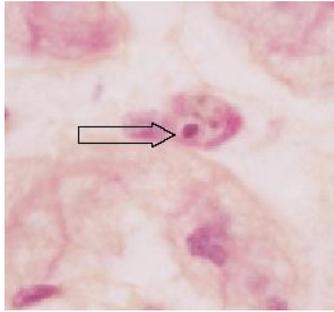


Figura 20. Mócula en el citoplasma de una célula de Kupffer.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

En el bazo se detectó hiperemia, eritrofagocitosis y hemosiderosis (Lakkawar *et al.*, 2003).

En la mucosa gástrica se encontraron grados moderados de hemorragias, degeneración epitelial e infiltración de polimorfos; a nivel intestinal se observó degeneración de enterocitos, atrofia de vellosidades e infiltración serosa de células polimorfonucleares (Lakkawar *et al.*, 2003).

En los riñones se observaron hemorragias, degeneración tubular e infiltración mononuclear (Figura 21), así como inchamiento glomerular con agregados mononucleares y células plasmáticas predominantes (Figura 22) (Lakkawar *et al.*, 2003).

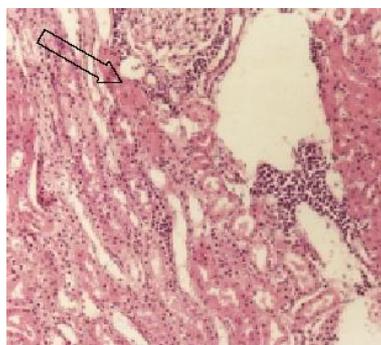


Figura 21. Degeneración tubular e infiltración de células mononucleares en riñón.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

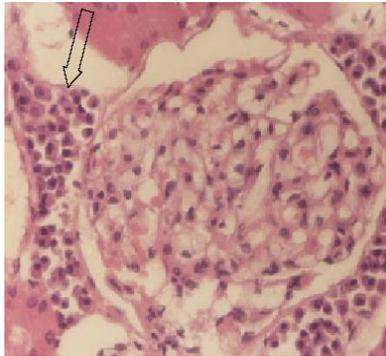


Figura 22. Agregación de células plasmáticas en el glomérulo renal.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

La mucosa de la vejiga urinaria contenía hemorragias e infiltración mononuclear (Lakkawar *et al.*, 2003).

Los nódulos linfáticos periféricos se encontraron hemorrágicos y con depleción de linfocitos (Figura 23), así como histiocitosis y eritrofagocitosis extensa (Lakkawar *et al.*, 2003).

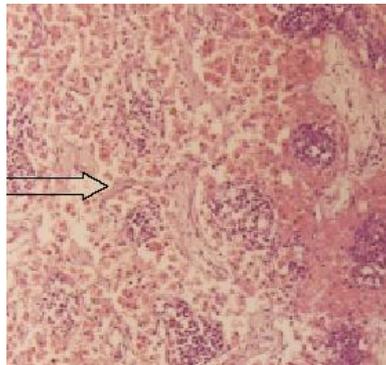


Figura 23. Hemorragias, depleción linfoide e histiocitosis en nódulo linfático.
(Lakkawar *et al.*, 2003).

En los músculos esqueléticos se encontraron ligeros grados hemorrágicos (Lakkawar *et al.*, 2003).

19. Coinfecciones.

Con el incremento en la llegada de las pruebas moleculares y de serología, se ha reconocido un incremento en las coinfecciones (Suksawat *et al.*, 2001) y generalmente pueden llegar a encontrarse dos o más riquetsias u otros patógenos transmitidos por garrapatas en los hospederos vertebrados (Sirigireddy y Ganta, 2005).

Las coinfecciones con otros patógenos ehrliquiales son comunes y pueden cambiar las características clínicas y la progresión de la enfermedad, entre los patógenos transmitidos por garrapatas que se han encontrado por serología en pruebas de reacción en cadena polimerasa incluyen a *E. canis*, *A. platys* (McBride *et al.*, 2001; Paddock y Childs, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004b; Sirigireddy y Ganta, 2005), *A. Phagocytophilia* (McBride *et al.*, 2001; Mylonakis *et al.*, 2004a; Sirigireddy y Ganta, 2005), *E. chaffeensis* (Kocan *et al.*, 2000; McBride *et al.*, 2001; Paddock y Childs, 2003; Varela, 2003; Sirigireddy y Ganta, 2005; Doyle *et al.*, 2006), *E. ewingii* (Kocan *et al.*, 2000; McBride *et al.*, 2001; Paddock y Childs, 2003; Varela, 2003; Sirigireddy y Ganta, 2005) y *E. risticii*; esto confirma la hipótesis de que la coinfección con múltiples *Ehrlichia spp.* con tropismos similares o únicos hacia las células hematopoyéticas puede ocurrir, así como el grado al cuál la coinfección puede potenciar las manifestaciones de la enfermedad, complicar el diagnóstico y el manejo de los perros enfermos (Suksawat *et al.*, 2001), incluso, las manifestaciones de enfermedad por *E. chaffeensis* y *E. ewingii* son difíciles de distinguir de aquellas causadas por *E. canis* (McBride *et al.*, 2001).

En años recientes un creciente número de publicaciones han descrito que la ehrliquiosis monocítica canina puede también coexistir con otras enfermedades (Guillén Llera *et al.*, 2002; Roura *et al.*, 2005), ya que *Rhipicephalus sanguineus* transmite varios patógenos, entre ellos: *Ehrlichia platys* (Kordick *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2005), *Babesia canis* (Figura 24) (Alleman *et al.*, 2001; Suksawat *et al.*, 2001; Guillén Llera *et al.*, 2002; Pipano, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004b; Carter,

2005; Goodfellow y Shaw, 2005; Harikrishnan *et al.*, 2005; Pereira, 2005; Roura *et al.*, 2005), *Hepatozoon canis* (Figura 25) (Suksawat *et al.*, 2001; Guillén Llera *et al.*, 2002; Pipano, 2003; Mylonakis *et al.*, 2004a; Pereira, 2005; Roura *et al.*, 2005), *Rickettsia canis*, *R. conorii*, *R. rickettsii* (Kordick *et al.*, 1999; Pipano, 2003; Pereira, 2005), *Pasteurella tularensis*, *Borrelia hispanica*, *Coxiella burnetti* (Pipano, 2003), *Neospora caninum* (Pereira, 2005; Roura *et al.*, 2005), *Mycoplasma haemocanis* (Kordick *et al.*, 1999; Carter, 2005; Pereira, 2005; Roura *et al.*, 2005) y *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* (Euzéby, 2001d); los perros infectados con esos agentes pueden mostrar una gran diversidad de manifestaciones clínicas (Kordick *et al.*, 1999), estas pueden ser atípicas o inusuales ya que la enfermedad secuencial o concurrente con agentes transmitidos por vectores induce al deterioro de la respuesta inmune (Roura *et al.*, 2005), las consecuencias de las coinfecciones no han sido bien establecidas, comparado con las infecciones con un solo organismo (Kordick *et al.*, 1999), aunque se ha comprobado que este tipo de infecciones concomitantes resultan en síndromes, en los que un microorganismo puede potenciar el desarrollo de otro resultando en un ataque fulminante (Harikrishnan *et al.*, 2005).

La ehrliquiosis canina crónica puede también coexistir con otras enfermedades tales como Distemper (Guillén Llera *et al.*, 2002), *Dirofilariosis* (Figura 26) (Roura *et al.*, 2005) y *Leishmaniasis* (Guillén Llera *et al.*, 2002; Goodfellow y Shaw, 2005; Roura *et al.*, 2005).



Figura 24. *Babesia canis*.
(Cortesía de Moreno Boiso, A. Hospital de Pequeñas Especies Alahurín el Grande. Málaga, España).

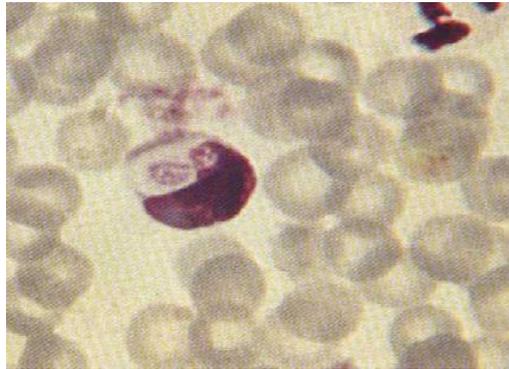


Figura 25. *Hepatozoon canis*.
(Cortesía de Moreno Boiso, A. Hospital de Pequeñas Especies Alahurín el Grande. Málaga, España).



Figura 26. Microfilaria de *Dirofilaria immitis*.
(Cortesía de Moreno Boiso, A. Hospital de Pequeñas Especies Alahurín el Grande. Málaga, España).

20. Otras Ehrliquiosis en perros.

20.1. *Anaplasma (Ehrlichia) platys*.

Ehrlichia platys (Figura 27) fue reportada por primera vez en 1978 (Inokuma *et al.*, 2000; Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003), en Florida, USA (Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003) cuando Harvey *et al* (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002; Moreira *et al.*, 2003), observaron dentro de las plaquetas de un perro con trombopenia un microorganismo en cual presentaba una estructura similar a *E. canis* o *A. marginale* (Euzéby, 2001a; Moreira *et al.*, 2003) y que infecta principalmente trombocitos (Moreira *et al.*, 2003); en noviembre del 2001,

Dumler et al transfirieron a “*E. platys*” dentro del género *Anaplasma* (Euzéby, 2001a; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003) y la nombraron *Anaplasma platys* (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003), esto basado en una reorganización llevada a cabo con estudios genéticos (Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003).

Anaplasma (Ehrlichia) platys es una riquetsia que afecta específicamente a plaquetas (Inokuma *et al.*, 2000; Euzéby, 2001a; Irwin, 2001; Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006) y es causante de la “trombocitopenia cíclica infecciosa canina” (Inokuma *et al.*, 2000; Irwin, 2001; Inokuma *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005) o “infectious canine cyclic thrombocytopenia” (Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006), esta especie no se ha observado dentro de otras células, aunque los megacariocitos no son infectados, la presencia de antígenos de *A. platys* dentro de los macrófagos se observó después de una infección experimental, aunque esto parece resultar por la fagocitosis de las plaquetas infectadas (Euzéby, 2001a).

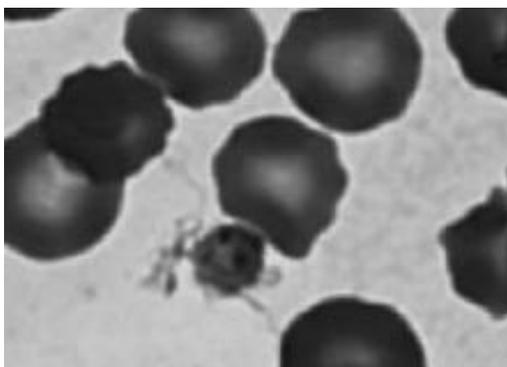


Figura 27. *A. platys* en plaqueta canina.
(Inokuma *et al.*, 2002).

La transmisión se lleva a cabo por una garrapata intermediaria y la garrapata más comúnmente incriminada es *Rhipicephalus sanguineus* (Euzéby, 2001a; Irwin, 2001; Inokuma *et al.*, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003; Huang *et*

al., 2005) y esta hipótesis está soportada por el hecho de que algunos estudios epidemiológicos han demostrado que numerosos perros son coinfectados por *E. canis* y *A. platys* (Euzéby, 2001a; Huang *et al.*, 2005), igualmente, *A. platys* puede ser transmitida por inyección de sangre infectada, así como por otros vectores (Arraga-Alvarado *et al.*, 2003).

Los casos de infección por *A. platys* se han reportado en Alemania (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002), Australia (Euzéby, 2001a; Irwin, 2001; Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006), Estados Unidos, Japón, Taiwán (Inokuma *et al.*, 2000; Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006), China, España, Francia, Grecia, Italia, Tailandia, Venezuela (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005; De la Fuente *et al.*, 2006) e Israel (Beaufils, 2002).

La patogénesis de la infección por *A. platys* generalmente no es severa (Beaufils, 2002; Arraga-Alvarado *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2005) o puede ser asintomática (De la Fuente *et al.*, 2006), sin embargo, se han reportado anormalidades clínicas tales como letargia, dolor generalizado (Beaufils, 2002), anorexia (Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002), fiebre o hipertermia (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002), adenopatía generalizada (Irwin, 2001; Inokuma *et al.*, 2002) o linfadenomegalia, desórdenes hemorrágicos (Beaufils, 2002; Huang *et al.*, 2005): hemorragias petequiales (Irwin, 2001; Inokuma *et al.*, 2002) y uveítis (Beaufils, 2002; Inokuma *et al.*, 2002).

Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia, leucopenia (Euzéby, 2001a; Irwin, 2001; Beaufils, 2002), linfocitosis, monocitosis (Beaufils, 2002) trombocitopenia (Euzéby, 2001a; Irwin, 2001; Beaufils, 2002; Huang *et al.*, 2005), hipoalbuminemia (Euzéby, 2001a; Beaufils, 2002) e hipergammaglobulinemia (Beaufils, 2002).

Las cepas griegas y las israelitas parecen tener una patogenicidad más importante (Euzéby, 2001a; Beaufile, 2002) que las cepas norteamericanas y las taiwanesas (Beaufile, 2002) pues la infección da lugar a fiebre (41.5 °C aproximadamente), anorexia, abatimiento importante, palidez de mucosas y hemorragias (petequias en mucosas y lesiones hemorrágicas cutáneas) (Euzéby, 2001a) mientras que las cepas españolas parecen ser asintomáticas (Beaufile, 2002).

La infección con *A. platys* puede ser inaparente (Inokuma *et al.*, 2000; Euzéby, 2001a; De la Fuente *et al.*, 2006), más después de una incubación de 8-15 horas (Euzéby, 2001a) aparece la trombocitopenia, que persiste por 7-10 días, seguida por un corto periodo de recuperación, durante el cual los recuentos plaquetarios retornan a la normalidad (Inokuma *et al.*, 2002); los episodios de trombopenia, pueden tener una duración de 3-4 horas o pueden llegar a ser hasta de 7-21 horas, de ahí el nombre de “trombocitopenia cíclica infecciosa canina” (canine infectious cyclic thrombocytopenia) (Euzéby, 2001a; Irwin, 2001). La máxima severidad de la trombopenia se muestra después del primer episodio (con un número de plaquetas inferior o igual a 10,000/ μ L) y esto se debe al alto número de plaquetas infectadas (Euzéby, 2001a).

A pesar de la disminución en el número de trombocitos, las hemorragias son raras (Euzéby, 2001a), salvo en aquellos casos de hemorragias fatales descritas cuando existe alguna herida ya sea accidental o quirúrgica (Inokuma *et al.*, 2000; Euzéby, 2001a); con el tiempo los ciclos trombopénicos ceden, quedando una trombopenia crónica de curación lenta y que se caracteriza por un débil número de plaquetas infectadas (Euzéby, 2001a).

20.2. *Ehrlichia chaffeensis*.

Los perros domésticos son susceptibles a las infecciones tanto experimentales (Kocan *et al.*, 2000) como naturales por *E. chaffeensis* (Figura 28)

(Kocan *et al.*, 2000; Chapman *et al.*, 2006) la cual afecta los monocitos (Lord, 2001; Doyle *et al.*, 2006).

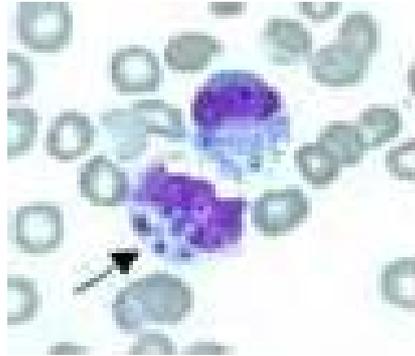


Figura 28. *E. chaffeensis* en monocito canino.
(Varela, 2003).

Los perros (Rey *et al.*, 2002; Paddock y Childs, 2003) (*Canis familiaris* o *Canis lupus*) son el reservorio potencial más importante para este patógeno zoonótico y su estilo de vida libre (vagando) les ofrece acceso a áreas infestadas por garrapatas y así también proximidad a los humanos (Paddock y Childs, 2003).

Los posibles vectores para *E. chaffeensis* son las garrapatas *Amblyomma americanum* (garrapata de la estrella solitaria) (Winslow *et al.*, 2000; Rey *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2006; Gonçalves da Costa *et al.*, 2006), *Dermacentor variabilis* (garrapata americana del perro) (Rey *et al.*, 2002) y probablemente otras especies de garrapatas (Gonçalves da Costa *et al.*, 2006); los perros domésticos sirven como hospederos para todos los ciclos biológicos *A. americanum* y proveen un vehículo de transporte conveniente para acarrear a las garrapatas a varios hábitats, incluyendo la periferia doméstica; en la primera descripción de *E. chaffeensis* en perros del sureste de Virginia 8 de 19 perros mostraron seroreactividad positiva (Paddock y Childs, 2003).

Experimentalmente (inoculación intravenosa), *E. chaffeensis* es apta para infectar perros jóvenes y el germen se puede aislar de la 7^a a la 26^a hora siguiente

a la inoculación (Euzéby, 2001c); en los perros experimentalmente infectados causa solo una ligera reacción febril sin anomalías hematopoyéticas (Unver *et al.*, 2001) y los animales pueden parecer clínicamente sanos o presentar signos clínicos compatibles a los de la infección por *E. canis* (Euzéby, 2001c).

En cachorros, la infección se traduce en signos clínicos moderados e incluso con ausencia de síntomas con una respuesta serológica inicialmente dirigida contra un solo antígeno homólogo (anticuerpos detectables a las 14 hora posteriores a la infección) hacia la 28ª hora frente a *E. canis* (Euzéby, 2001c).

20.3. *Ehrlichia ewingii*.

E. ewingii (Figura 29) es otro agente etiológico de ehrliquiosis en perros (Liddell *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005; Greig, 2006) fue reconocida por primera vez en 1971 (Sumner *et al.*, 2000), Ewing *et al.* describieron una nueva cepa de *Ehrlichia spp.* (Euzéby, 2001e) presente en los granulocitos (Euzéby, 2001e; Irwin, 2001; Rey *et al.*, 2002; Poitout *et al.*, 2005; Greig, 2006) de perros y asociada a un padecimiento clínicamente menos grave que el provocado por *E. canis*; posteriormente, organismos similares calificados como EGC (ehrliquiosis granulocítica canina) (Euzéby, 2001e), se observaron dentro de los granulocitos (Sumner *et al.*, 2000; Euzéby, 2001e; Irwin, 2001; Huang *et al.*, 2005) en el líquido sinovial (Greig, 2006) de varios perros con claudicación (Euzéby, 2001e); *E. ewingii* se reconoció como nueva especie hasta 1992 (Sumner *et al.*, 2000).

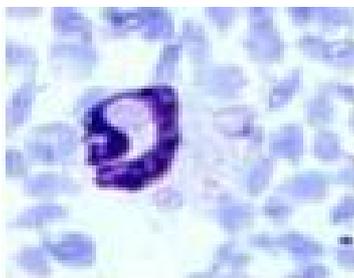


Figura 29. *E. ewingii* en neutrófilo canino. (Varela, 2003).

In vivo, *E. ewingii* presenta tropismo por los granulocitos neutrófilos (Sumner *et al.*, 2000; Euzéby, 2001e; Irwin, 2001; Huang *et al.*, 2005; Greig, 2006), en menor medida por los granulocitos eosinófilos (Euzéby, 2001e; Irwin, 2001; Greig, 2006) y raramente es vista en los monocitos (Greig, 2006).

Los reservorios, los vectores y la distribución geográfica de *E. ewingii* aún no son bien conocidos; pero se dice que esta bacteria se ha identificado solo en los Estados Unidos de Norteamérica (Euzéby, 2001e; Rey *et al.*, 2002; Greig, 2006) en la parte Sureste (Poitout *et al.*, 2005; Greig, 2006): Arkansas, Mississipi, Missouri, New York, North Carolina, Oklahoma, Tennessee y Virginia (Greig, 2006); *E. ewingii* puede ser transmitida por la garrapata *A. americanum* (Euzéby, 2001e; Rey *et al.*, 2002; Chapman *et al.*, 2006), aunque en 1998, Murphy *et al.* descubrieron igualmente *E. ewingii* en las garrapatas *Dermacentor variabilis* (Euzéby, 2001e; Rey *et al.*, 2002) y *Rhipicephalus sanguineus* (Euzéby, 2001e; Rey *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2005), pero la infección experimental con esta última no ha tenido éxito (Huang *et al.*, 2005).

Se cree que la distribución de *E. ewingii* sea primeramente en el área surcentral de los Estados Unidos (Rey *et al.*, 2002), pero se ha determinado la ocurrencia de *E. ewingii* en perros domésticos y en garrapatas de Oklahoma, lo cual amplía el rango de hospederos de *A. americanum* (vector natural) y la ocurrencia documentada de *A. americanum* en ambos, cánidos domésticos y salvajes que sugieren una potencial transmisión entre especies cruzadas de este organismo hacia hospederos salvajes y otros animales (Kocan *et al.*, 2000).

La ehrliquiosis granulocítica canina, es una infección más ligera (Liddell *et al.*, 2003; Carter, 2005; Greig, 2006) y mucho menos común que la ehrliquiosis monocítica canina (Carter, 2005), durante la fase aguda se caracteriza clínicamente por depresión, letargia (Bengis *et al.*, 2004; Greig, 2006), fiebre (Euzéby, 2001e; Bengis *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005; Greig, 2006) transitoria (Euzéby, 2001e), anorexia (Euzéby, 2001e; Carter, 2005; Poitout *et al.*, 2005),

descarga oculo-nasal (Euzéby, 2001e), adenopatía, rigidez muscular, dolor de cuello (Euzéby, 2001e; Carter, 2005), pérdida de peso (Carter, 2005), síndrome poliartrítico (Liddell *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004; Carter, 2005; Poitout *et al.*, 2005; Greig, 2006) además de vómito y diarrea (Euzéby, 2001e), aunque estos últimos signos no son muy comunes, se presenta también afección nerviosa central: ataxia, paresis, disfunción vestibular y déficits propioceptivos (Bengis *et al.*, 2004; Greig, 2006); en las anomalías de laboratorio se presenta anemia (Euzéby, 2001e; Carter, 2005; Poitout *et al.*, 2005) normocítica normocrómica no regenerativa, conteos variables en neutrófilos y linfocitos (Greig, 2006) y trombocitopenia (Euzéby, 2001e; Carter, 2005; Poitout *et al.*, 2005) sin diátesis hemorrágica (Poitout *et al.*, 2005), elevación de fosfatasa alcalina y alaninamino transferasa (Greig, 2006).

Durante la fase crónica, la enfermedad se manifiesta por edemas, adenopatías, poliartritis, rigidez muscular (Euzéby, 2001e), presencia de numerosos granulocitos neutrófilos en el líquido sinovial (Euzéby, 2001e; Greig, 2006) y de manera inconstante, linfopenia y trombopenia (Euzéby, 2001e) y se reportan pocas muertes en comparación con la infección por *E. canis*, los perros pueden mostrar ehrliquiemia subclínica crónica, enfermedades inflamatorias o inmunomediadas y endocrinas concurrentes (Greig, 2006).

20.4. *Ehrlichia muris*.

E. muris es una especie caracterizada recientemente (Sumner *et al.*, 2000), exactamente en 1995 en base a estudios del ARN 16S (Olano *et al.*, 2004) la cual se aisló de un ratón salvaje (Sumner *et al.*, 2000) u hospedero murino (Inokuma *et al.*, 2004) *Eothenomys kageus*, siendo el vector la garrapata *Hemaphysalis flava* (Olano *et al.*, 2004) que se encuentra ampliamente distribuida en Japón (Kawahara *et al.*, 1999; Sumner *et al.*, 2000; Inokuma *et al.*, 2004); en el perro, la inoculación intravenosa de la cepa Asuke (AS145) de *E. muris* no provoca ningún signo clínico, solo se observa una respuesta inmunitaria débil y fugaz (aparición de

anticuerpos a la tercera semana y desaparición a la cuarta semana) (Euzéby, 2001f).

20.5. *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophila*.

E. phagocytophila (Figura 30) es un microorganismo intracelular obligado (Pusterla *et al.*, 1999; Liz *et al.*, 2000; Manna *et al.*, 2004) con afinidad por las células eucarióticas (Pusterla *et al.*, 1999) o granulocitos neutrófilos (Huang *et al.*, 2005; Poitout *et al.*, 2005), es transmisible por las garrapatas *Ixodes ricinus* (Pusterla *et al.*, 1999; Maurin *et al.*, 2003), *Ixodes pacificus* (Liz *et al.*, 2000; Maurin *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005) e *Ixodes scapularis* (Maurin *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005).

El padecimiento se ha detectado en perros de Estados Unidos y Europa (Pusterla *et al.*, 1999; Liz *et al.*, 2000; Poitout *et al.*, 2005), esta enfermedad se conoce como “anaplasmosis granulocítica canina” (Alberti *et al.*, 2005), el periodo de incubación es de 1-2 semanas posteriores a la transmisión donde los hallazgos clínicos han sido reportados exclusivamente durante la fase bacterémica (Poitout *et al.*, 2005).

El diagnóstico de anaplasmosis granulocítica durante la fase aguda se basa en los hallazgos clínicos: anorexia (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005), apatía (Pusterla *et al.*, 1999), letargia (Poitout *et al.*, 2005), fiebre (Pusterla *et al.*, 1999; Poitout *et al.*, 2005), edema de las extremidades (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004), cojera o dolor articular, tos, poliuria-polidipsia (Poitout *et al.*, 2005) y hemorragias petequiales (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004); hallazgos de laboratorio: anemia (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004) no regenerativa (Poitout *et al.*, 2005), leucopenia (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005), linfopenia, neutropenia (Poitout *et al.*, 2005) o neutrofilia (Manna *et al.*, 2004), trombocitopenia (Pusterla *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005), aumento de fosfatasa alcalina (Poitout *et al.*, 2005) y detección de cuerpos de inclusión intracitoplásmicos (Pusterla *et al.*,

1999; Manna *et al.*, 2004) con forma de mórula en los neutrófilos (Poitout *et al.*, 2005), e información complementaria en cuanto a infestación de garrapatas, temporada y localización geográfica (Pusterla *et al.*, 1999).

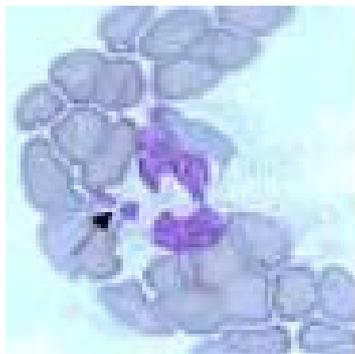


Figura 30. *A. phagocytophilum* en neutrófilo canino.
(Varela, 2003).

20.6. *Ehrlichia ruminantium*.

La “hidropericarditis” o “cowdriosis” es una enfermedad riquetsial de los rumiantes domésticos y salvajes, el agente causal es la bacteria intracelular obligada *E. ruminantium* (anteriormente *Cowdria ruminantium*) (Mahan *et al.*, 2004; van Heerden *et al.*, 2004); en África del sur, los perros presentan signos clínicos que evocan a la infección por *E. canis*, más dan resultados negativos en pruebas de reacción cadena polimerasa específicas para *E. canis*, los perros alojan una bacteria parecida a *E. ruminantium* y más precisamente al genotipo Mara 87/7 (Euzéby, 2001g); los vectores son garrapatas del género *Amblyomma* (Euzéby, 2001g; van Heerden *et al.*, 2004); en el último de los casos, el perro podría constituir un reservorio de gérmenes lo que tendría grandes consecuencias importantes para la epidemiología de la hidropericarditis (Euzéby, 2001g) ya que esta además de ser endémica en el África sub-Sahariana, se encuentra también presente en el Caribe, lo que representa una amenaza para el continente Americano (van Heerden *et al.*, 2004).

21. Ehrliquiosis felina.

Aunque los gatos domésticos son hospederos infrecuentes de la garrapata café del perro (Pipano, 2003), se ha evidenciado que los gatos son susceptibles a ehrliquiosis (CFSPH, 2005) ya que esta enfermedad ha tenido un importante aumento en su reconocimiento a nivel mundial (Tarello, 2002; Tarello, 2005), se presume que la ehrliquiosis felina es transmitida por garrapatas (Goodfellow y Shaw, 2005).

Un microorganismo parecido a *E. canis* (Figura 31) ha sido observado en las células mononucleares de algunos gatos (Euzéby, 2001d; Tarello, 2005) seropositivos por reacción en cadena polimerasa hacia *E. canis* (Euzéby, 2001d; Goodfellow y Shaw, 2005), los casos de ehrliquiosis felina documentados son raros (CFSPH, 2005), existiendo alrededor de 50 reportes (Lappin, 2001; Tarello, 2005) y en un 30% se ha reportado exposición a artrópodos (Lappin, 2001).

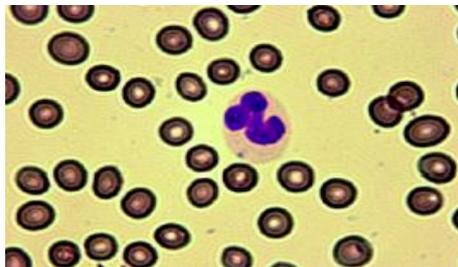


Figura 31. *Ehrlichia granulosica* en un gato, tinción Wright. (Tarello, 2005).

Las especies ehrliquiales que afectan a los gatos aún no se han caracterizado (Guitton y Power, 2004); experimentalmente *E. risticii* produce mórulas en las células mononucleares (Lappin, 2001), se reportó ehrliquiosis granulocítica en un gato sueco infectado con *A. phagocytophilum* (CFSPH, 2005; Tarello, 2005) o *E. equi*, la cual desarrolla mórulas en los neutrófilos y eosinófilos, pero no en las células mononucleares (Lappin, 2001) y a la inoculación por vía intravenosa el gato demostró no ser receptivo para *A. platys* por lo que a esta se le considera estrictamente un parásito del perro (Euzéby, 2001a).

La patogénesis asociada a la ehrliquiosis felina es desconocida (Lappin, 2001) o no se ha logrado comprender debido a que tiene pocos reportes y no se sabe si los gatos son susceptibles a la enfermedad clínica o se infectan al removerse las garrapatas durante el acicalamiento (CFSPH, 2005); los reportes mencionan que los gatos afectados son mayores de dos años, muchos de los cuales fueron domésticos de pelo corto y se presentaron hembras y machos infectados (Lappin, 2001), en la mayoría de los animales en que se describió infección natural, estos eran gatos jóvenes que vivían fuera de casa (Junk, 2004).

Las anormalidades más comunes durante la historia y la exploración física incluyen: anorexia (Euzéby, 2001d; Lappin, 2001; CFSPH, 2005; Tarello, 2005), fiebre (Euzéby, 2001d; Lappin, 2001; Tarello, 2002; Guitton y Power, 2004; Junk, 2004; CFSPH, 2005), inapetencia (Lappin, 2001; Junk, 2004), letargia, pérdida de peso, hiperestesia (Lappin, 2001; Junk, 2004; Tarello, 2005), dolor articular (Lappin, 2001; Guitton y Power, 2004; Tarello, 2005) y/o poliartropatía (Junk, 2004), disnea (Lappin, 2001) o bradipnea (Guitton y Power, 2004; Tarello, 2005), palidez en membranas mucosas, esplenomegalia (Lappin, 2001; Tarello, 2002), linfadenomegalia (Lappin, 2001; Guitton y Power, 2004; Tarello, 2005), gingivitis, periodontitis (Tarello, 2002; Tarello, 2005), conjuntivitis y problemas neurológicos (temblor, incoordinación, timidez) (Tarello, 2005).

A. phagocytophilum desarrolla signos tales como: anorexia, fiebre, letargia, pérdida de peso, hiperestesia, dolor articular, bradipnea, palidez en membranas mucosas, esplenomegalia, linfadenomegalia, gingivitis, periodontitis, conjuntivitis y problemas neurológicos (temblor, incoordinación, timidez) (Tarello, 2002; Tarello, 2005).

E. risticii ocasionalmente desarrolla signos clínicos de enfermedad incluyendo fiebre, depresión, linfadenopatía, anorexia y diarrea (Lappin, 2001).

La anomalía de laboratorio más común es la anemia (Euzéby, 2001d; Lappin, 2001; Guitton y Power, 2004; Junk, 2004; Carter, 2005; CFSPH, 2005; Tarello, 2005) y usualmente es no regenerativa (Lappin, 2001; Tarello, 2002); en algunos gatos se reportó leucopenia (Lappin, 2001; Junk, 2004; Carter, 2005), en otros leucocitosis caracterizada por neutrofilia, linfocitosis, monocitosis (Lappin, 2001; Tarello, 2002) y además trombocitopenia (Lappin, 2001; Tarello, 2002; Junk, 2004; Carter, 2005) intermitente (Lappin, 2001).

En un estudio con 11 gatos (Lappin, 2001; Junk, 2004) se reportó hiperglobulinemia (Lappin, 2001; Tarello, 2002; Junk, 2004; Tarello, 2005), así como gammapatía policlonal por electroforesis protéica en un gato, epidemiológicamente se ha ligado la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia spp.* en suero y la presencia de gammapatía monoclonal (Lappin, 2001).

La posibilidad de que la infección ehrliquia pueda ser incluida en el diagnóstico diferencial está representada por los signos antes mencionados, especialmente si la presentación clínica asemeja a una enfermedad inmunomediada (Junk, 2004).

Las enfermedades concurrentes son raras, pero estas incluyen: leucemia viral felina (LVF), inmunodeficiencia viral felina (IVF), dermatofitosis (Tarello, 2002), infección con *Haemobartorella felis* y linfosarcomas (Lappin, 2001; Tarello, 2002).

Las evidencias para la ehrliquiosis felina se basan en lo siguiente: hallazgo de estructuras similares a las mórulas de *Ehrlichia spp.* (Carter, 2005; Goodfellow y Shaw, 2005; Tarello, 2005), por reacción en cadena polimerasa en muestras de sangre periférica (Goodfellow y Shaw, 2005; Tarello, 2005) y/o signos clínicos que asemejan a las infecciones por ehrliquia (Carter, 2005; Tarello, 2005); en algunos gatos con sospecha de ehrliquiosis clínica se han encontrado anticuerpos contra *E. canis* y *E. risticii* (Lappin, 2001; Carter, 2005) y en algunos otros solo

anticuerpos contra *E. canis* o solo contra *E. risticii*; para confirmar algunos resultados positivos a *E. risticii* se ha utilizado inmunoensayo de Western blot; la prueba serológica puede dar resultado positivo en gatos saludables, así como en aquellos enfermos, pero el diagnóstico puede no estar basado solamente en los resultados serológicos; el diagnóstico tentativo de ehrliquiosis clínica felina se puede llevar a cabo combinando el resultado positivo de la prueba serológica, los signos clínicos consistentes de infección ehrliquial, con la exclusión de otras causas del síndrome de la enfermedad y cuando los animales respondan a las drogas antiriquetsiales; las *Ehrlichia spp.* se han cultivado en los monocitos de algunos gatos, en los que se ha utilizado la reacción de cadena polimerasa y la secuenciación genética para confirmar la infección (Lappin, 2001).

En una inspección sobre la infección de *E. canis* en gatos; Boni *et al* muestrearon 48 gatos callejeros que vivían en la vecindad de las perreras militares de Francia y encontraron un 8.3% de positividad por medio de inmunofluorescencia (Trotz-Williams y Trees, 2002); en España se han detectado anticuerpos y se han observado cuerpos de inclusión compatibles con *Ehrlichia spp.* en células sanguíneas felinas, adicionalmente, se realizaron pruebas de reacción en cadena polimerasa en las muestras sanguíneas y de estos gatos, el 10.6% mostraron positividad hacia *E. canis*, estos resultados demuestran que existen agentes ehrliquiales implicados en la ehrliquiosis felina en España (Aguirre *et al.*, 2004b); en Suecia el ADN de *E. canis* y el ADN genéticamente idéntico a la ehrliquia granulocítica de caballos, perros y humanos, ha sido identificada en gatos naturalmente expuestos (Lappin, 2001), mórulas ligadas a *Ehrlichia spp.* se han detectado en las células mononucleares o neutrófilos de gatos con exposición natural Brasil, Tailandia (Lappin, 2001), Italia (Tarello, 2002; Tarello, 2005), Estados Unidos, Francia, Kenia y Suecia (Lappin, 2001; Tarello, 2005).

En algunos gatos ha sido reportada la mejoría después de la terapia con drogas antiriquetsiales (Tarello, 2005) como la tetraciclina (Lappin, 2001), doxiciclina (Lappin, 2001; Tarello, 2002; Carter, 2005) o el dipropionato de

imidocarb; sin embargo, el diagnóstico de ehrliquiosis se deja a criterio (Lappin, 2001).

Se desconocen los riesgos directos de salud pública (Lappin, 2001) o de implicación zoonótica (Tarello, 2005) asociados a las *Ehrlichia spp.* que infecta los gatos; sin embargo, como algunas especies de ehrliquias provocan infección cruzada, es posible que el gato pueda servir como reservorio para especies que afecten a las personas; la cepa granulocítica documentada en los gatos es exactamente igual a la cepa granulocítica que afecta a las personas, así pues, se recomienda el control de artrópodos en los gatos (Lappin, 2001).

22. Ehrliquiosis en otras especies animales.

Aunque se ha demostrado que las *Ehrlichia spp.* tienen una preferencia limitada sobre ciertos mamíferos, experimentalmente se ha comprobado que estas pueden ser transmitidas entre diferentes especies animales (Manna *et al.*, 2004); los animales salvajes constituyen una gran masa susceptible de ser infectada y de dar origen a nuevas afecciones; de 1973-1986, se produjeron en Norteamérica, Canadá, Australia y Nueva Zelanda alrededor de 700 traslados de animales de un territorio a otro y en 24% de los casos estos se efectuaron sin tomar medidas para la detección de agentes infecciosos (Chomel, 2002).

22.1. Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum.

A. phagocytophilum (Bengis *et al.*, 2004; Alberti *et al.*, 2005), es el agente causal de la anaplasmosis granulocítica humana (Bengis *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005), fue detectada por primera vez como patógeno humano en 1994 en Norteamérica (Maurin *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004); el ratón de patas blancas (*Peromyscus leucopus*) es un competente hospedero mamífero, mientras que las garrapatas *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus* son los vectores primarios; la evidencia molecular de infección se ha demostrado en una amplia variedad de roedores (Maurin *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004), así también en mamíferos

(rumiantes) de talla mediana y grande (Maurin *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004; Poitout *et al.*, 2005), tales como el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Kawahara *et al.*, 2006) y en caballos (Maurin *et al.*, 2003; Alberti *et al.*, 2005; Poitout *et al.*, 2005); la emergencia de *A. phagocytophilum* como un patógeno humano puede estar relacionada a un complejo de factores ecológicos (Bengis *et al.*, 2004); este agente, causa la infección del ganado (grandes y pequeños rumiantes) conocida como fiebre de la pastura o fiebre de las garrapatas, causando leucopenia severa como consecuencia de linfocitopenia, neutropenia y trombocitopenia prolongadas (Gokce y Woldehiwet, 1999).

22.2. *Ehrlichia (Anaplasma) platys*.

Du Plessis *et al.*, observaron por microscopía electrónica mórulas idénticas a las de *A. platys* dentro de las plaquetas de impalas (*Aepyceros malampus*) aparentemente sanos los cuales viven dentro del parque nacional de Kruger en África del sur, esta observación sugiere que *A. platys* (u otra bacteria similar) es apta para infectar otras especies animales además del perro (Euzéby, 2001a).

22.3. *Ehrlichia chaffeensis*.

Ehrlichia chaffeensis, fue reconocida en 1987 como el agente causal de la ehrliquiosis monocítica humana (Bengis *et al.*, 2004), la infección es mantenida en la naturaleza por el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Kocan *et al.*, 2000; Unver *et al.*, 2001; Bengis *et al.*, 2004; Chapman *et al.*, 2006; Kawahara *et al.*, 2006) y por la garrapata de la estrella solitaria *Amblyomma americanum* (Euzéby, 2001c; Bengis *et al.*, 2004; Chapman *et al.*, 2006) como hospedero y vector respectivamente (Bengis *et al.*, 2004); existe el reporte de infección natural de un coyote por *E. chaffeensis* (Kocan *et al.*, 2000; Chapman *et al.*, 2006) y la primera evidencia basada en reacción en cadena polimerasa en un mamífero en estado libre tal como el venado cola blanca, aunque estos hallazgos no cuestionan la importancia del venado en el mantenimiento de la endemia, ello ayuda a que los coyotes sean un potencial hospedero reservorio, los resultados de los estudios,

aunque se basan en un número limitado de coyotes en estado salvaje, sugieren que en el rango geográfico del estudio (Kocan *et al.*, 2000), los coyotes juegan un pequeño papel en el mantenimiento endémico o en la extensión de otras ehrliquias que comúnmente parasitizan perros domésticos y humanos (Kocan *et al.*, 2000; Pusterla *et al.*, 2000); después del hombre y del venado (Euzéby, 2001c), la cabra (Euzéby, 2001c; Chapman *et al.*, 2006) es la tercera especie de vertebrado en la cual se aisló una cepa de *E. chaffeensis*; el papel de la cabra (y pueden ser otros herbívoros domésticos) como reservorio, está siendo objeto de investigaciones (Euzéby, 2001c), en un estudio efectuado en 38 cabras se demostró que el 73.7% de los animales tenían una serología positiva, que el 15.8% de los donantes resultaron positivos por RCP y una cepa de *E. chaffeensis* se aisló de una de las cabras (Dugan *et al.*, 2000; Euzéby, 2001c) pero se requiere de más estudios para determinar y caracterizar la dinámica de la infección así como la transmisión (Dugan *et al.*, 2000).

22.4. *Ehrlichia ewingii*.

E. ewingii es el agente causal de la ehrliquiosis granulocítica canina y humana; fue reconocido muy recientemente como patógeno humano y es transmitida por *A. americanum* (Euzéby, 2001e; Rey *et al.*, 2002; Bengis *et al.*, 2004; Chapman *et al.*, 2006; Greig, 2006), pero otras especies de garrapatas pueden jugar un papel importante (Bengis *et al.*, 2004); la evidencia molecular de la bacteria ha sido demostrada en el venado cola blanca (Bengis *et al.*, 2004; Kawahara *et al.*, 2006) y la ocurrencia de *E. ewingii* en perros domésticos y en garrapatas de Oklahoma, amplían el rango de hospederos de *A. americanum* (vector natural) y la ocurrencia documentada de *A. americanum* en ambos, cánidos domésticos y salvajes sugieren una potencial transmisión entre especies cruzadas de este organismo hacia hospederos salvajes y animales domésticos (Kocan *et al.*, 2000).

22.5. *Ehrlichia (Cowdria) ruminantium*.

La “hidropericarditis” o “cowdriosis” (Mahan *et al.*, 2004; Pfitzer *et al.*, 2004; van Heerden *et al.*, 2004; Faburay *et al.*, 2005) es una enfermedad riquetsial de los rumiantes domésticos (Mahan *et al.*, 2004; van Heerden *et al.*, 2004; Faburay *et al.*, 2005) y diversas especies de rumiantes salvajes (Euzéby, 2001g; Pfitzer *et al.*, 2004; van Heerden *et al.*, 2004), el agente causal es la bacteria intracelular obligada *E. ruminantium* (anteriormente llamada *Cowdria ruminantium*) (Pfitzer *et al.*, 2004; van Heerden *et al.*, 2004); en África, la mayoría de las especies de herbívoros pueden ser natural o experimentalmente infectados por este patógeno y ello va de la misma manera para otros herbívoros no africanos (Euzéby, 2001g); esta bacteria causa infección y muerte súbita en pequeños rumiantes (cabras y borregos) en algunas regiones de África donde se encuentra una incidencia de infección alta (van Heerden *et al.*, 2004; Faburay *et al.*, 2005).

En el continente africano, la enfermedad es de importancia considerable ya que origina grandes pérdidas económicas (mortalidad, bajas en los resultados, costo de tratamientos, costo de profilaxis) y constituye el mayor obstáculo para el reemplazo de razas locales y extranjeras (Euzéby, 2001g; Pfitzer *et al.*, 2004).

La tortuga leopardo (*Geochelone pardalis*) y la gallina pinta de Numidia (*Numidia meleagris*), dos especies frecuentemente presentes dentro de las regiones donde la ehrliquiosis de los rumiantes es endémica (Euzéby, 2001g) y que suelen ser parasitadas por *A. hebraeum*, *A. sparsum* y *A. marmoreum* parecen ser sensibles a la infección (Euzéby, 2001g; Mahan *et al.*, 2004; Pfitzer *et al.*, 2004); otras especies no salvajes también han sido incriminadas dentro de la epidemiología de esta enfermedad, se ha detectado la enfermedad en una gama de animales libres como mapaches (*Procyon lotor*) y zarigüeyas (*Didelphis virginianus*) en Georgia, EE.UU y en ratones de patas blancas (*Peromyscus leucopus*) de Connecticut, EE.UU (Kocan *et al.*, 2000).

23. Ehrliquiosis en el hombre.

Muchas enfermedades nuevas y reemergentes tienen como reservorio un animal salvaje que transmite la infección a especies domésticas y al ser humano, bien sea por contacto directo o por conducto de un vector y tal es el caso de las ehrliquiosis (Chomel, 2002); las cuales suelen manifestarse como una fiebre de origen no específico, emulando a la fiebre manchada, pero sin las “típicas manchas” (Bavaro *et al.*, 2005).

23.1. *Ehrlichia canis*.

La ehrliquiosis monocítica humana se reconoció primeramente en los Estados Unidos de Norteamérica en 1987 y *E. canis* fue asumida como la causante de esta enfermedad por que se comprobó la reacción positiva en el suero de pacientes frente al antígeno de *E. canis* (Unver *et al.*, 2001), así pues, esta especie ha sido relacionada con al menos un caso de infección en humanos (Stich *et al.*, 2002).

Maeda *et al* describieron el primer caso de ehrliquiosis humana en un paciente que presentó piquetes de garrapatas y signos como fiebre, cefalea, mialgia, además de trombopenia e inclusiones celulares características (Figura 32) de las *Ehrlichia spp.* presentes dentro del citoplasma en monocitos y macrófagos, así como títulos elevados de anticuerpos hacia *E. canis*; por estas razones durante algunos años esta bacteria que asimila a *E. canis* y que se consideraba como el agente responsable de la ehrliquiosis monocítica humana (EMH) se le confiere por último el estatus de agente responsable de zoonosis, posteriormente, los informes serológicos han confirmado la presencia de anticuerpos dirigidos contra *E. canis* en sujetos víctimas de piquetes de garrapatas y que presentan una tabla clínica comparable (Euzéby, 2001d).

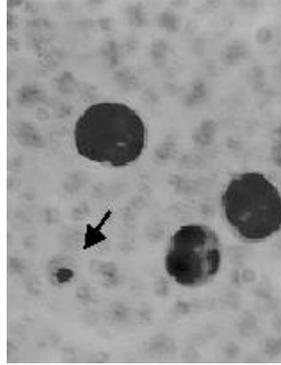


Figura 32. Mórula de ehrliquia en plaqueta humana, tinción Wri Roth.
(De Tamí y Tamí-Maury, 2004).

E. canis u otro organismo antigénicamente indistinguible se aisló de un humano y puede ser una amenaza para la salud pública (Yu *et al.*, 2000), esta cepa de *Ehrlichia spp*, descrita en Venezuela (Huang *et al.*, 2005; Sirigireddy y Ganta, 2005) y llamada agente de la ehrliquiosis humana de Venezuela (Euzéby, 2001d), podría ser una cepa auténtica (Euzéby, 2001d; Huang *et al.*, 2005), una sub-especie, un agente ligado a *E. canis* o una nueva cepa de *E. canis* (Euzéby, 2001d; Unver *et al.*, 2001), la cual causa infecciones asintomáticas crónicas en humanos (Unver *et al.*, 2001).

23.2. *Ehrlichia chaffeensis*.

Otra variante de la ehrliquiosis monocítica humana (Lin y Rikihisa, 2004; Nochimson, 2006) fue descrita en 1986 (Olano *et al.*, 2004; Nochimson, 2006), es una enfermedad transmitida por garrapatas (Kocan *et al.*, 2000; Unver *et al.*, 2001) de la familia *Ixodidae* (Wagner *et al.*, 2004), más precisamente *Amblyomma americanum* y posiblemente por otras garrapatas (Kocan *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2000; Unver *et al.*, 2001; Varela, 2003; Wagner *et al.*, 2004; Gonçalves da Costa *et al.*, 2006; Nochimson, 2006), la cual es causada por el patógeno riquetsial *E. chaffeensis* (Kocan *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2000; Unver *et al.*, 2001; Varela, 2003; Wagner *et al.*, 2004; Nochimson, 2006); *In vivo*, *E. chaffeensis* presenta tropismo preferencial por los monocitos (Euzéby, 2001c; Lin y Rikihisa, 2004; Wagner *et al.*,

2004; Chapman *et al.*, 2006) y los macrófagos (Euzéby, 2001c; Lin y Rikihisa, 2004; Doyle *et al.*, 2006).

En 1990, se aisló un organismo de un paciente con ehrliquiosis y se clasificó como una nueva especie, *E. chaffeensis*, el cual, según un estudio de la secuencia del gen rRNA 16s tuvo una divergencia del 1.8% en comparación con el de *E. canis*, desde este primer reporte se ha reconocido incrementadamente en los Estados Unidos (Unver *et al.*, 2001), principalmente en el área sureste (Kocan *et al.*, 2000; Winslow *et al.*, 2000), surcentral (Kocan *et al.*, 2000) y regiones del Atlántico medio (Kocan *et al.*, 2000; Winslow *et al.*, 2000); así pues, la distribución geográfica de *E. chaffeensis* se extiende dentro de los estados Unidos de América y el espectro de los hospederos y de los vectores es amplio (Euzéby, 2001c); en Florida, se reportan de 1-5 casos de ehrliquiosis humana cada año, probablemente ocurren más casos, pero estos al no ser tan severos no reciben atención médica adecuada o no son confirmados con pruebas de laboratorio (Rey *et al.*, 2002); en el 2001, un total de 142 casos fueron reportados en Missouri (27 casos), Oklahoma (24 casos), Tennessee y New York (22 casos) y en el 2002, se reportaron 216 casos también en Missouri (50 casos), Tennessee (26 casos) y New York (19 casos) (Nochimson, 2006), se ha reportado una incidencia anual de 0.7 casos por millón de población, pero varía de estado a estado (Chapman *et al.*, 2006); la evidencia serológica sugiere que esta enfermedad también puede ocurrir en Europa, África, México (Unver *et al.*, 2001), Argentina, Brasil y Chile (Gonçalves da Costa *et al.*, 2006), lo que indica que posiblemente tenga distribución mundial (Wagner *et al.*, 2004).

En diciembre de 1991, Dawson *et al* publicaron un artículo en el que descubrieron y aislaron una cepa de *Ehrlichia sp.* (la cepa Arkansas = ATCC CRL 10679) en un reservista de la armada americana hospitalizado en una clínica del Fuerte Chaffee (Arkansas, U.S.A.) esta bacteria fue aislada por Anderson *et al* y demostraron que ella constituye una nueva especie del género *Ehrlichia*, *Ehrlichia chaffeensis* (Euzéby, 2001c).

Anderson *et al*, propusieron la denominación de *E. chaffeensis* para la bacteria responsable de la ehrlichiosis monocítica humana y esta nomenclatura se publicó en 1992 para su inscripción en la lista de validación # 41 (Euzéby, 2001c).

En febrero de 1997, se evaluó a una paciente de 41 años en Mérida, Yucatán, Méx., la paciente tenía un historial de exposición a garrapatas una semana antes de la aparición de los síntomas los cuales incluyeron: hipertermia, comezón, cefalea, anorexia, fatiga y tos; una muestra sérica evaluada por inmunofluorescencia indirecta mostró una reacción positiva frente a *E. chaffeensis*.; este caso indica la presencia de ehrlichiosis humana en Yucatán, México (Gongora-Biachi *et al.*, 1999).

Las infecciones por *E. chaffeensis* en el hombre son a menudo graves y conducen a hospitalización en el 40-80% de los casos (Euzéby, 2001c), estos se traducen más frecuentemente en fiebre, anorexia, cefalea (Euzéby, 2001c; Chapman *et al.*, 2006), mialgia (Winslow *et al.*, 2000; Euzéby, 2001c), artralgia, náusea, vómito, dolor abdominal, además de erupción maculopapulosa (rara en el adulto, más frecuente en el infante), adenopatías, esplenomegalia y hepatomegalia, con aumento de transaminasas hepáticas (Euzéby, 2001c; Chapman *et al.*, 2006), trombopenia y leucopenia (Winslow *et al.*, 2000; Euzéby, 2001c; Chapman *et al.*, 2006).

Esta enfermedad regularmente se confunde con fiebre manchada de las montañas rocosas (Wagner *et al.*, 2004) o con un síndrome parecido al de la influenza (Gonçalves da Costa *et al.*, 2006), lo cual se traduce en un tratamiento inefectivo de los pacientes afectados, por lo que se requiere de una prueba confiable para el diagnóstico de la infección por *E. chaffeensis* (Wagner *et al.*, 2004).

23.3. *Ehrlichia ewingii*.

Amblyomma americanum es el principal vector de *E. ewingii* (Chapman *et al.*, 2006), que ejerce patogenicidad sobre el hombre (Sumner *et al.*, 2000; Euzéby, 2001e; Greig, 2006) y que afecta a los granulocitos, sin embargo, su naturaleza no está del todo comprendida (Chapman *et al.*, 2006; Greig, 2006); se ha diagnosticado solo en la parte Sur de los Estados Unidos (Sumner *et al.*, 2000; Greig, 2006) y los primeros casos en que *E. ewingii* fue descrita como agente de ehrliquiosis humana fueron publicados en 1999 (Euzéby, 2001e; Nochimson, 2006) estos se presentaron en pacientes que recibieron tratamiento inmunosupresor (Euzéby, 2001e; Chapman *et al.*, 2006), lo cual pudo predisponer a la infección y estos casos se observaron en cuatro pacientes mordidos por garrapatas en Missouri (un estado donde las infecciones por *E. chaffeensis* son endémicas) (Euzéby, 2001e), con lo que se extiende el rango de hospederos para este organismo, haciendo emerger nuevamente una zoonosis que concierne a la salud pública (Kocan *et al.*, 2000), los afectados presentan fiebre, dolor de cabeza, además de rigidez de la nuca, mialgias, trombopenia y leucopenia (Euzéby, 2001e; Chapman *et al.*, 2006).

23.4. *Ehrlichia muris*.

E. muris fue aislada en 1983 (Kawahara *et al.*, 1999) y caracterizada recientemente (Sumner *et al.*, 2000), exactamente en 1995 en base a estudios del ARN 16S (Olano *et al.*, 2004) este agente se aisló de un ratón salvaje (Sumner *et al.*, 2000) u hospedero murino (Inokuma *et al.*, 2004) *Eothenomys kageus*, tiene como vector la garrapata *Hemaphysalis flava* (Olano *et al.*, 2004) y se encuentra ampliamente distribuida en Japón (Kawahara *et al.*, 1999; Sumner *et al.*, 2000; Inokuma *et al.*, 2004); las manifestaciones de la enfermedad tienen un curso muy corto e incluyen anorexia, letargia, esplenomegalia y linfadenomegalia, aún quedan dudas respecto a la exposición en humanos, distribución geográfica, reservorio y vector (Olano *et al.*, 2004).

23.5. *Ehrlichia (Anaplasma) phagocytophilum*.

La ehrliquiosis granulocítica humana (Chae *et al.*, 2000) o anaplasmosis granulocítica humana (Alberti *et al.*, 2005) es una infección riquetsial severa (Chae *et al.*, 2000) o potencialmente fatal (Chae *et al.*, 2000; Kawahara *et al.*, 2006) que se distribuye principalmente en las partes altas del oeste medio y Noreste de los Estados Unidos (Walls *et al.*, 1999; Chae *et al.*, 2000; Maurin *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005; Kawahara *et al.*, 2006), así como en Europa (Walls *et al.*, 1999; Maurin *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005; Kawahara *et al.*, 2006), Asia, Japón, Mali (Kawahara *et al.*, 2006) y Canadá (Poitout *et al.*, 2005); el riesgo mayor lo presentan los ancianos (Chae *et al.*, 2000) y los pacientes inmunocomprometidos (Akkoyunlu y Fikrig, 2000) y el rango de fatalidades se estima en un 5% (Chae *et al.*, 2000).

Este agente se reconoce ya como un agente infeccioso emergente (Walls *et al.*, 1999); la primera descripción de la enfermedad fué hecha en 1993 (Nochimson, 2006) y se considera una zoonosis (Dumler *et al.*, 2000) transmitida por la garrapata de patas negras *Ixodes scapularis* (Chae *et al.*, 2000; Levin y Fish, 2000; Brouqui *et al.*, 2001) en su estado larvario, ninfal y adulto (Levin y Fish, 2000), se ha implicado también a *Ixodes ricinus* (Pusterla *et al.*, 1999; Maurin *et al.*, 2003) e *Ixodes pacificus* (Liz *et al.*, 2000; Maurin *et al.*, 2003; Poitout *et al.*, 2005; Chapman *et al.*, 2006).

La enfermedad es causada por una ehrliquia similar o idéntica a *Ehrlichia phagocytophila* (Dumler *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2000; Brouqui *et al.*, 2001; Nochimson, 2006) un organismo intracelular obligado Gram negativo que persiste en los granulocitos (Chapman *et al.*, 2006; Nochimson, 2006), el padecimiento se ha descrito recientemente en los Estados Unidos y Europa, encontrándose en áreas donde *Borrelia burgdorferi* y *Babesia microti* (Akkoyunlu y Fikrig, 2000; Chapman *et al.*, 2006), patógenos transmitidos por *Ixodes scapularis* o *Ixodes ricinus* son prevalentes (Akkoyunlu y Fikrig, 2000).

La mayoría de las infecciones son leves (Dumler *et al.*, 2000) y presentan fiebre, cefalea, mialgia (Akkoyunlu y Fikrig, 2000; Chae *et al.*, 2000; Chapman *et al.*, 2006), malestar (Akkoyunlu y Fikrig, 2000) la leucopenia es común durante la infección (Akkoyunlu y Fikrig, 2000), en ocasiones hay complicaciones severas, en conjunto con infecciones oportunistas y/o fatalidades (Akkoyunlu y Fikrig, 2000; Chae *et al.*, 2000; Dumler *et al.*, 2000) tales como carditis, polineuropatía desmielinizante (Akkoyunlu y Fikrig, 2000), compromiso respiratorio, disturbios gastrointestinales, fallo orgánico y susceptibilidad a contraer infecciones oportunistas como candidiasis (Chae *et al.*, 2000).

En el 2001, se reportaron 261 casos que se repartieron de la siguiente manera: 93 casos en Minnesota, 79 en New York y 42 en Connecticut y en el 2002, se reportaron 511 casos: New York (159 casos), Minnesota (149 casos) y Rhode Island (65 casos); la incidencia de esta enfermedad es más alta que la ehrliquiosis monocítica humana, reportándose más frecuentemente con un promedio anual de 16 casos por millón (Nochimson, 2006).

24. Diagnóstico.

El diagnóstico temprano de la enfermedad por *E. canis* es importante, ya que puede causar enfermedad fatal, (Alleman *et al.*, 2001).

24.1. Hematología.

Las anomalías hematopoyéticas a menudo proveen una muy útil evidencia de ehrliquiosis monocítica canina y son factores importantes para el diagnóstico inicial (McBride *et al.*, 2001), las anomalías incluyen anemia (Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005) normocítica normocrómica (Pereira, 2005), pancitopenia: (Mylonakis *et al.*, 2004b; Moreira *et al.*, 2005) leucopenia (McBride *et al.*, 2001; Guillén Llera *et al.*, 2002; Stich *et al.*, 2002; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005), neutropenia, linfopenia, eosinopenia, monocitopenia (Mylonakis *et al.*, 2004b).

La anomalía hematológica más prevalente o común de laboratorio en la ehrliquiosis monocítica canina y/o en todos los estados de la enfermedad es la trombocitopenia (Euzéby, 2001d; McBride *et al.*, 2001; Guillén Llera *et al.*, 2002; Stich *et al.*, 2002; Bulla *et al.*, 2004; Mylonakis *et al.*, 2004b; Goodfellow y Shaw, 2005; Moreira *et al.*, 2005) y es el cambio más consistente y prominente que ocurre en la enfermedad (Waner y Harrus., 2000) en aproximadamente 75% de las infecciones (Pereira, 2005) o en el 84% de los casos (Bulla *et al.*, 2004), aunque es vista más a menudo en la infecciones con *E. canis*, algunas de las *Ehrlichia spp.* que infectan a los perros pueden ser asociadas con trombocitopenia; se considera que la sola presencia de trombocitopenia puede hacer un diagnóstico presuntivo de infección por *E. canis* en perros (Pereira, 2005); por lo que se debe considerar a *E. canis* en el diagnóstico diferencial de rutina en perros trombocitopénicos en áreas endémicas y se sugiere que los perros con trombocitopenia severa, especialmente en un área endémica sean buenos candidatos a la infección (Bulla *et al.*, 2004).

24.2. Cultivo.

El aislamiento del germen en cultivos celulares está reservado para trabajos de investigación y no es una técnica que se utilice dentro del cuadro diagnóstico de rutina (Euzéby, 2001d), el cultivo de las *Ehrlichia spp.* requiere de pasos que consumen demasiado tiempo (McBride *et al.*, 2001; Suksawat *et al.*, 2001; Chapman *et al.*, 2006) y son complejos (Suksawat *et al.*, 2001; Chapman *et al.*, 2006) debido a que se necesitan grandes volúmenes de sangre y atenciones con detalles muy meticulosos (Suksawat *et al.*, 2001); el cultivo puede ser obtenido en cultivos primarios de monocitos (Euzéby, 2001d) y en líneas celulares de macrófagos de perros (células DH82) (Euzéby, 2001d; Mahan *et al.*, 2005) o en líneas de células endoteliales de origen humano (células EU.HMEC-1) (Euzéby, 2001b); el cultivo se obtiene en medio mínimo esencial de Eagles (MMEE, Eagles base), que contiene 10% de suero vacuno fetal, 0.292 g/l glutamina (GIBCO), 25 mM de bicarbonato de sodio y 25 mM Hepes, la incubación se da en una temperatura que comprende entre los 34 y 37°C (Euzéby, 2001b; Mahan *et al.*, 2005); el cultivo requiere además de pruebas adicionales para caracterizar el cultivo con el fin de definir la etiología específica utilizada en este método (McBride *et al.*, 2001; Chapman *et al.*, 2006).

24.3. Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA).

Los métodos serológicos pueden ser de utilidad para la detección de anticuerpos hacia las *Ehrlichia spp.* en los hospederos vertebrados, pero la seroconversión es solo un indicativo de exposición mas no de infección (Stich *et al.*, 2002); las técnicas de diagnóstico tales como la ELISA, utilizando la proteína MAP2 (proteína antigénica mayor 2) permite diferenciar la infección de *E. canis* sobre una de *E. chaffeensis* o de *E. ewingii* (Euzéby, 2001d).

24.4. Kit Combo Dirofilaria, Ehrliquia y Lyme 3Dx.

El ensayo con el Snap 3Dx de laboratorios IDEXX combina especificidad y rapidéz y pede ser utilizado en cualquier clínica (Belanger *et al.*, 2002); el Snap 3Dx, detecta anticuerpos contra *Ehrlichia canis* (Belanger *et al.*, 2002; Birmingham, 2005), enfermedad de Lyme y antígeno de gusano del corazón simultáneamente, la información está disponible en el sitio www.idexx.com/animalhealth/education (Birmingham, 2005).

Procedimiento de la prueba:

1. Utilizando la pipeta provista, depositar 3 gotas de la muestra (sangre completa, suero o plasma) dentro del tubo para muestras (tapa azul) (Figura 33) (IDEXX, 2005).

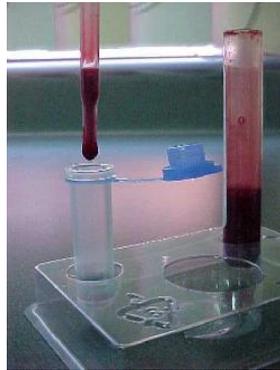


Figura 33. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.

2. Sujetando el envase en forma vertical, añadir 4 gotas de conjugado al tubo para muestra (tapa azul) (Figura 34) (IDEXX, 2005).



Figura 34. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.

3. Tapar el tubo de muestra y mezclar completamente invirtiendo el tubo de 3-5 veces (IDEXX, 2005).

4. Colocar el dispositivo en una superficie plana, agregar el contenido en su totalidad en el dispositivo (Figura 35) siendo cautelosos para no derramar el contenido fuera del dispositivo; la muestra correrá a través de la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en aproximadamente 30-60 segundos (Figura 36), parte de la muestra puede permanecer en el dispositivo, observar cuidadosamente si aparece muestra o un color azul en el círculo de activación, cuando el color aparezca en el círculo de activación, presionar con firmeza el activador para que la muestra fluya por el cuerpo del dispositivo (Figura 37) (IDEXX, 2005).

Nota: algunas muestras pueden no fluir hacia el círculo de activación dentro de los 60 segundos y además, el círculo puede no colorearse; en este caso, se debe presionar el activador después de que la muestra haya fluído a través de la ventana de resultados, se debe mantener el dispositivo en posición horizontal para asegurar resultados precisos (IDEXX, 2005).



Figura 35. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.



Figura 36. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.



Figura 37. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.

5. Leer el resultado de la prueba en 8 minutos (Figura 38) (IDEXX, 2005).



Figura 38. Cortesía de Laboratorio de Análisis Clínicos y Patología Veterinaria de la Laguna. Comarca Lagunera, México.

Nota: el control positivo puede desarrollarse más rápido, pero el resultado no estará completo sino hasta los 8 minutos (IDEXX, 2005).

Interpretación de resultados.

Para determinar el resultado de la prueba, leer los puntos de activación en la ventana de resultados (Figura 39); el desarrollo de color en los puntos de activación es proporcional a la concentración de anticuerpos de *E. canis* y *B. burgdorferi* y de antígeno de gusano del corazón, si el control positivo no desarrolla color se debe repetir la prueba (IDEXX, 2005).

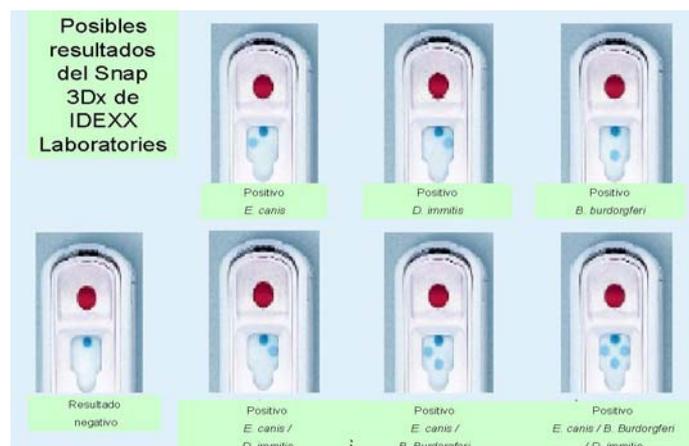


Figura 39. Posibles resultados del Snap 3Dx.
(Disponible en www.idexx.com/animalhealth/education).

Resultado negativo.

Solo el punto de activación positivo se colorea (Figura 39) (IDEXX, 2005).

Resultado positivo.

Anticuerpos *E. canis*: el control positivo y el punto de activación *E. canis* desarrolla coloración (Figura 40) (IDEXX, 2005).



Figura 40. *E. canis* positivo.
(Disponible en www.idexx.com/animalhealth/education).

Resultados inválidos.

1. Fondo: si la muestra fluye hasta el círculo de activación, puede haber coloración en el fondo, algo de coloración en el fondo es normal, sin embargo, si la coloración de la prueba obscurece el resultado es necesario repetir la prueba (IDEXX, 2005).

2. Ausencia en el desarrollo de color: si el control positivo no desarrolla color, repetir la prueba (IDEXX, 2005).

24.5. Inmunofluorescencia indirecta (IFA).

El diagnóstico laboratorial de infección por *E. canis* depende de detección de anticuerpos específicos contra el agente infectante (Pereira, 2005); la búsqueda de anticuerpos contra *E. canis* puede realizarse mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (McBride *et al.*, 2001; Doyle *et al.*, 2005a; Tsachev, 2006), utilizando como antígeno las células DH82, los anticuerpos aparecen hacia la 7ª hora (a veces hacia la 28ª hora) después de la infección, esto llega a tener un pico entre la 80ª hora y se mantienen tanto como las bacterias permanecen dentro del organismo (Euzéby, 2001d), esta prueba se ha convertido en el método estándar debido a su simplicidad, fiabilidad y costos bajos (McBride *et al.*, 2001).

Los defectos de la inmunofluorescencia recaen sobre la inhabilidad de hacer un diagnóstico específico de especies debido a la reactividad antigénica cruzada con otras especies ehrlichiales estrechamente relacionadas que infectan a los perros por ejemplo: *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. phagocytophila* (Euzéby, 2001d; McBride *et al.*, 2001) y por las interpretaciones subjetivas finales, las cuales pueden resultar en falsos negativos o falsos positivos causados por la reacción cruzada de los antígenos (McBride *et al.*, 2001), los perros infectados por *E. canis* dan resultado positivo frente a *A. platys* pero los animales infectados con *A. platys* no pasan anticuerpos contra *E. canis* (Euzéby, 2001d).

24.6. Microscopía.

Durante la fase aguda (Euzéby, 2001d; Mylonakis *et al.*, 2004b; Moreira *et al.*, 2005) el diagnóstico laboratorial de infección por *E. canis* puede realizarse por examinación microscópica directa e identificación de la mórulas de *Ehrlichia spp.* en los monocitos en sangre periférica (Euzéby, 2001d; Moreira *et al.*, 2005; Pereira, 2005) o bien en aspirados de médula ósea (Mylonakis *et al.*, 2004b; Moreira *et al.*, 2005), cuando las mórulas no puedan ser detectadas en sangre periférica (Macieira *et al.*, 2005).

Después de leucoconcentración (Euzéby, 2001d) y coloración con May-Grünwald-Giemsa (Euzéby, 2001d; Chapman *et al.*, 2006) es posible realizar examen microscópico de la capa blanca o “buffy coat” (Figura 41) (Euzéby, 2001d; Mylonakis *et al.*, 2004a); se puede recurrir a la tinción de Romanowsky (Dumler y Bakken, 1998; Greig, 2006), Wright (Dumler y Bakken, 1998; Chapman *et al.*, 2006) Leishman (Figura 42) (Lakkawar *et al.*, 2003) o Giemsa (Mylonakis *et al.*, 2004a), para visualizar el agente patógeno en biopsias o calcas de órganos como pulmón, bazo (Euzéby, 2001d) y nódulos linfáticos (Euzéby, 2001d; Mylonakis *et al.*, 2004a); esta investigación es de gran utilidad en el establecimiento de un diagnóstico inicial e instituir una terapia específica, mucho antes de la obtención de otros resultados (serología o reacción en cadena polimerasa) sin embargo, puede dar resultados falsos negativos porque la presencia de las mórulas es temporal o su número puede ser bajo (Euzéby, 2001d), lo cual reduce la fiabilidad de la observación microscópica, considerándose esta como una herramienta no muy eficaz para el diagnóstico (Chapman *et al.*, 2006).

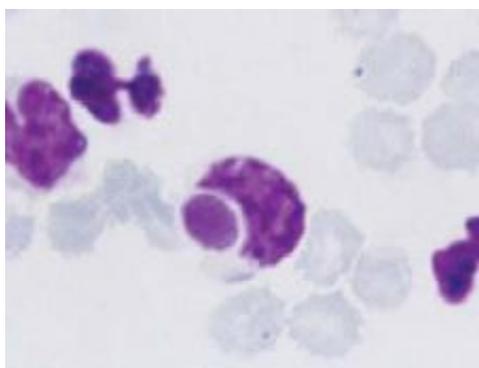


Figura 41. *E. canis* en leucocito mononuclear canino (frotis de capa blanca), tinción Giemsa. (Mylonakis *et al.*, 2004a).

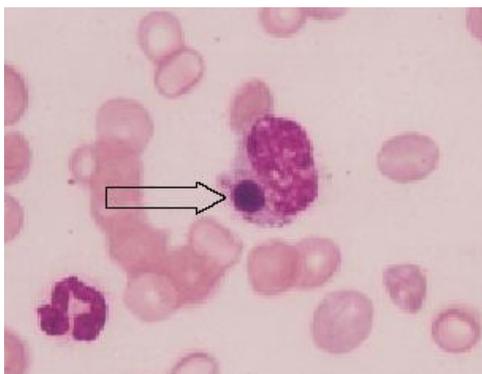


Figura 42. Mórula de *Ehrlichia canis* en un monocito teñido con Leishman. (Lakkawar *et al.*, 2003).

24.7. Reacción en Cadena Polimerasa (RCP).

El diagnóstico laboratorial de infección por *E. canis* puede llevarse a cabo mediante detección de el ADN ehrliquial (Macieira *et al.*, 2005) utilizando técnicas de amplificación en cadena polimerasa (Euzéby, 2001d; Doyle *et al.*, 2005a; Pereira, 2005); este constituye un medio de diagnóstico fiable (Euzéby, 2001d; Doyle *et al.*, 2005a; Chapman *et al.*, 2006) ya que el uso de las proteínas recombinantes para el diagnóstico de la enfermedad por *E. canis* puede ser ventajoso, logrando una mejor consistencia en la calidad de los antígenos y en la eliminación de pruebas subjetivas, este método ha sido desarrollado para la detección específica de *E. canis* y se ha reportado que es una de las herramientas más sensibles, aún más que el aislamiento en cultivo, pero este método requiere de instrucciones especializadas y equipo caro (McBride *et al.*, 2001), ya que se necesita de un laboratorio especializado y puede realizarse en dos tiempos: utilización de cebos que permitan amplificar una secuencia de ADN presente en todas las ehrliquias y luego la utilización de cebos específicos de *E. canis*; la RCP permite diferenciar la infección de *E. canis* de una infección por *E. chaffeensis*, *E. ewingii* o *A. phagocytophila*, los perros infectados por *E. canis* son seronegativos frente a *A. platys* y los animales inoculados con *A. platys* no tienen paso de anticuerpos frente a *E. canis* (Euzéby, 2001d).

Las proteínas de 21, 24 y 30-kDa (kiloDaltons) desarrollaron una rápida respuesta hacia *E. canis* en un estudio, sugiriendo que esas proteínas pueden ser especialmente importantes en la respuesta inmune durante la fase aguda de la enfermedad y así ser particularmente útil para serodiagnóstico (McBride *et al.*, 1999).

Varios reportes han demostrado que un antígeno de 30 kDa de *E. canis* exhibe fuerte inmunoreactividad, los anticuerpos en el suero durante la fase convaleciente en humanos y perros han reaccionado consistentemente con proteínas en este rango para *E. chaffeensis* y *E. canis*, sugiriendo que esto puede ser un importante serodiagnóstico (McBride *et al.*, 1999).

La proteína rP120s de *E. canis* o *E. chaffeensis* pudiera ser útil para el serodiagnóstico de la ehrliquiosis canina y humana respectivamente, para lo cual ambas son sensibles y específicas (Yu *et al.*, 2000).

El análisis filogenético del gen rRNA 16S (Suksawat *et al.*, 2001; Doyle *et al.*, 2005a) ha probado ser la herramienta más poderosa para la identificación y la clasificación del microorganismo y pudiera no depender del cultivo de los organismos (Suksawat *et al.*, 2001); los análisis de taxonomía molecular basados en el gen RNAr 16S ha determinado que *E. canis* y *E. chaffeensis*, están cerradamente relacionados (McBride *et al.*, 1999); el análisis de la secuencia del gen ARN 16s tiene una divergencia del 7.5-7.8% entre los agentes de la ehrliquiosis granulocítica humana y el de la ehrlichiosis monocítica humana, lo que sugiere que ellas tienen un antecesor común desde hace aproximadamente 390 millones de años, mientras que en *E. canis* y *E. chaffeensis* se estimó una divergencia 1.8% de aproximadamente 90 millones de años (Unver *et al.*, 2001).

Actualmente se cuenta con un examen molecular múltiple de RCP (RT-PCR o reacción de cadena polimerasa-transcriptasa reversa) que puede detectar la presencia de infección natural ya sea con uno o varios patógenos del género

Ehrlichia y *Anaplasma*, en esta prueba se incluye a *E. canis*, *E. ewingii*, *E. chaffeensis*, *A. Platys* y *A. phagocytophilum*; este test sirve como una nueva herramienta para monitorear infección en el perro y puede ser adaptada para detectar infección en personas, caballos, ganado y garrapatas (Sirigireddy y Ganta, 2005).

25. Sensibilidad a antibióticos.

25.1. Tetraciclinas.

Las tetraciclinas son los antibióticos de mayor soporte para el tratamiento de las ehrliquiosis (Rolain *et al.*, 2000; Irwin, 2001; Maurin *et al.*, 2003; Chapman *et al.*, 2006); es sabido que el mecanismo por el cual las ehrliquias sobreviven y se multiplican en las células infectadas se debe a su habilidad para evadir el sistema de fusión fagosoma-lisosoma (Waner y Harrus., 2000; Hunt, 2006) y en estudios la doxiciclina ha mostrado restaurar el sistema de fusión fagolisosoma (Waner y Harrus., 2000).

El tratamiento de la enfermedad durante la fase aguda es importante para un mejor pronóstico, pero la presentación clínica de la ehrliquiosis canina es inespecífica, lo que hace difícil su diagnóstico (McBride *et al.*, 2001); el tratamiento con tetraciclina o sus derivados usualmente resultan en una recuperación completa, particularmente cuando las infecciones son tratadas durante la fase aguda de la enfermedad (Alleman *et al.*, 2001); aunque su eficacia no ha sido establecida, las tetraciclinas se han utilizado en el tratamiento para ehrliquiosis, esto se basa en un ensayo clínico, sin embargo, de 5 perros, solo 2 evidenciaron haberse despojado de *Ehrlichia canis* 24 horas después del tratamiento, esto demostrado mediante cultivos sanguíneos y tisulares (Thompson, 2003).

El tratamiento recomendado para la ehrliquiosis puede durar de 21-28 días (Goodfellow y Shaw, 2005) o 3-4 semanas (Euzéby, 2001d; Junk, 2004), tanto en la fase aguda, como en las infecciones crónicas (Euzéby, 2001d), aunque algunos

animales pueden requerir periodos de tratamiento más largos (Junk, 2004); si los animales están en la fase aguda o están siendo seriamente afectados, pueden requerir o ser auxiliados con cuidados de soporte (Junk, 2004); los perros que no presentan trastornos neurológicos suelen presentar una respuesta dramática al tratamiento, generalmente dentro de las 24-48 horas, pero el pronóstico se reserva en aquellos animales con signos neurológicos (Braund, 2003).

Las tetraciclinas se deben diluir en fluidos e infundirse lentamente si van a administrarse por vía intravenosa, si esto no es posible, la inyección intravenosa se realizará muy lentamente, tratando de administrar la dosis en un tiempo de 1-2 minutos; las tetraciclinas atraviesan la barrera placentaria afectando la formación ósea fetal y se distribuyen en la leche, así también, el uso de tetraciclinas durante la evolución dental (de las últimas 2-3 semanas de la gestación hasta el 1er mes de edad) puede causar pigmentación de los dientes y los huesos; en neonatos, los cuales aún no han desarrollado en su totalidad su función renal, la excreción de clortetraciclina, oxtetraciclina y tetraciclina ocurre más lentamente que en un animal maduro (Thompson, 2003).

25.1.1. Doxiciclina:

La doxiciclina (Euzéby, 2001d; Irwin, 2001; Beaufils, 2002; Mylonakis *et al.*, 2004b; Chapman *et al.*, 2006) es el antibiótico más eficaz y más utilizado para obtener una curación clínica, sin embargo, los animales pueden permanecer como portadores de *E. canis* (Euzéby, 2001d); la doxiciclina se puede administrar en una dosis oral de 5 mg/kg/día (Thompson, 2003; Junk, 2004; Poitout *et al.*, 2005) cada doce horas (Thompson, 2003; Poitout *et al.*, 2005) durante 10-21 días (Poitout *et al.*, 2005) o por catorce días, sin embargo, la eficacia de este régimen no ha sido confirmado (Thompson, 2003); el protocolo terapéutico actualmente utilizado para la ehrliquiosis monocítica canina (Harrus *et al.*, 2004) es doxiciclina a 10 mg/kg (Harrus *et al.*, 2004; Junk, 2004; Poitout *et al.*, 2005) de peso corporal diariamente durante 28 días, esto fue recomendado por el Consejo Informativo de Ehrliquiosis del Grupo de Estudio de Enfermedades infecciosas del Colegio Americano de

Medicina Interna Veterinaria (Harrus *et al.*, 2004); el resultado de un estudio indicó que 6 semanas de tratamiento doxiciclina a dosis de 10 mg/kg/24h parece no eliminar los parásitos de *E. canis* en todos los perros con infección subclínica (Harrus *et al.*, 1998a), existen evidencias de que los perros se recuperan de la enfermedad aguda con el tratamiento adecuado a base de doxiciclina y que no permanecen como portadores, este resultado sugiere que la duración del tratamiento con doxiciclina durante la fase aguda puede ser reducido a 16 días en lugar de los 28 días recomendados (Harrus *et al.*, 2004); la doxiciclina inyectable puede ser utilizada por vía intravenosa en dosis de 3-5 mg/kg/12 horas, pero su eficacia está en duda (Thompson, 2003).

No existen datos suficientes para establecer la eficacia de la doxiciclina en el tratamiento de la ehrliquiosis en perros, los signos clínicos son a menudo resueltos administrando doxiciclina pero es incierto si el organismo es desechado de los perros tratados (Thompson, 2003); en un estudio previo concluyó que con un tratamiento a base de doxiciclina durante 14 días se elimina la infección experimental aguda por *E. canis*, esto se comprobó porque los perros resultaron negativos al probarlos mediante cultivos, este resultado sugiere que el ADN ehrliquial (detectado por RCP) no persiste en los perros después de la eliminación de los organismos intactos (Harrus *et al.*, 1998a).

Aunque los ensayos terapéuticos controlados son deficientes, para la ehrliquiosis felina el tratamiento de elección es la administración de doxiciclina y se ha reportado que la respuesta clínica es excelente (Goodfellow y Shaw, 2005).

25.1.2. Minociclina:

Otra droga eficaz es la minociclina (Waner y Harrus., 2000; Beaufils, 2002) y puede utilizarse a dosis de 20 mg/Kg cada 12 horas (Waner y Harrus., 2000).

25.1.3. Oxitetraciclina:

La oxitetraciclina (Waner y Harrus., 2000; Beaufils, 2002; Carter, 2005) a una dosis de 25 mg/Kg cada 8 horas (Waner y Harrus., 2000) es efectiva si la enfermedad es diagnosticada tempranamente, el tratamiento deberá ser dado por al menos dos semanas (Carter, 2005).

25.1.4. Tetraciclina:

No existen datos suficientes para establecer la eficacia de la tetraciclina en el tratamiento de la ehrliquiosis en perros, los signos clínicos son a menudo resueltos administrando tetraciclina pero no se sabe si el organismo es desechado de los perros tratados (Thompson, 2003); la tetraciclina es efectiva si la enfermedad es diagnosticada tempranamente; el tratamiento deberá ser dado por al menos dos semanas (Carter, 2005), la tetraciclina inyectable puede ser utilizada a una dosis de 5-10 mg/kg/día (Junk, 2004); las cápsulas de hidrocloreto de tetraciclina se pueden administrar por vía oral a dosis de 22 mg por kg de peso corporal cada ocho horas durante 14 (Waner y Harrus., 2000; Thompson, 2003; Poitout *et al.*, 2005) a 21 días (Poitout *et al.*, 2005), pero la eficacia de este tratamiento no ha sido confirmada, la tetraciclina en suspensión oral puede utilizarse en perros en dosis de 14-22 mg/Kg de peso corporal cada seis a ocho horas (Thompson, 2003).

Aunque los ensayos terapéuticos controlados son deficientes, para la ehrliquiosis felina el tratamiento de elección es la administración de tetraciclina y se ha reportado que la respuesta clínica es excelente (Goodfellow y Shaw, 2005) la tetraciclina en suspensión oral puede utilizarse en gatos a dosis de 14-22 mg/Kg de peso corporal cada seis a ocho horas (Thompson, 2003).

26. Otros antibióticos.

26.1. Cloramfenicol.

El Cloramfenicol (Kelly *et al.*, 2002; Vite, 2005; Chapman *et al.*, 2006) está recomendado para el tratamiento de ehrliquiosis (Vite, 2005), particularmente en cachorros menores de 6 meses de edad para evitar la pigmentación de la dentadura permanente (Junk, 2004; Vite, 2005) inducida por las tetraciclinas (Vite, 2005); el cloramfenicol puede administrarse a una dosis de 50 mg/Kg cada 8 horas (Waner y Harrus., 2000), aunque existen estudios en los que se reportan fallas con este tratamiento (Maurin *et al.*, 2003).

26.2. Fluoroquinolonas.

Un artículo publicado en 1998, mostró que la enrofloxacin pareció tan eficaz como la doxiciclina en el tratamiento de las infecciones por *E. canis*, más los resultados de este estudio merecen ser confirmados (Euzéby, 2001d); la dosis de enrofloxacin es de 5-10 mg/Kg cada 12 horas por 21 días (Waner y Harrus., 2000); las fluoroquinolonas han mostrado ser de utilidad en el tratamiento de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, pero estas no son efectivas en el tratamiento de la enfermedad ehrliquial (Junk, 2004), al menos en lo que respecta a *E. canis* y *E. chaffeensis*, ya que demostraron ser resistentes a las fluoroquinolonas (ciprofloxacina, ofloxacina y pefloxacina) (Maurin *et al.*, 2001), aún y cuando en otro estudio *E. phagocytophila* fue inhibida con ofloxacina, levofloxacina y trovofloxacina (Horowitz *et al.*, 2001); con las fluoroquinolonas se tienen alternativas para las ehrliquiosis, sin embargo, ambos agentes están contraindicados durante la gestación y la maduración ósea (Rolain *et al.*, 2000; Maurin *et al.*, 2003).

26.3. Rifampicina.

La rifampicina demostró tener éxito en el tratamiento contra las erliquiosis (Kelly *et al.*, 2002; Maurin *et al.*, 2003) y es una alternativa más para estos padecimientos, incluso durante la gestación, sin embargo, existe la posibilidad de adquirir una rápida resistencia por parte de las *Erhlichia spp.* (Maurin *et al.*, 2003).

27. Otros tratamientos.

27.1. Azatioprina.

La azatioprina puede ser de utilidad ya que influye en la respuesta inmune tanto celular como humoral, teniendo como resultado una reducción en la activación de los macrófagos y en la producción de anticuerpos, sin embargo, no se encuentra exenta de efectos colaterales entre los que podemos incluir: mielosupresión, problemas gastrointestinales (anorexia, diarrea, vómito), pancreatitis aguda y necrosis hepática aguda (Good, 2002).

27.2. Ciclofosfamida.

Experimentalmente se ha alterado la respuesta inmune del hospedero utilizando ciclofosfamida, esto, probando que modifica las manifestaciones clínicas y patológicas en la infección (Harrus *et al.*, 1999), debido a sus propiedades inmunosupresoras, pero sin dejar de lado los efectos colaterales entre los que se incluyen: supresión de la médula ósea, manifestaciones gastrointestinales (anorexia, vómito) y cistitis hemorrágica (Good, 2002).

27.3. Ciclosporina.

La ciclosporina es un importante agente inmunosupresor de utilidad en las anemias hemolíticas inmunes ya que influye negativamente en la liberación de agentes como la interleucina 2 (IL-2), el factor de necrosis tumoral (FNT) y los

interferones alfa y gamma (INF- α , INF- γ), aunque no está libre de efectos colaterales gastrointestinales: anorexia, diarrea y vómito (Good, 2002).

27.4. Sulfato de vincristina.

En un reporte se describe el tratamiento exitoso de un perro con ehrliquiosis monocítica crónica severa (CFSPH, 2005), utilizando vincristina en bajas dosis (Waner y Harrus., 2000; CFSPH, 2005), en otro estudio el sulfato de vincristina se utilizó a dosis de 0.5mg/m² IV en el día 191 de tratamiento en un perro que mostró trombocitopenia severa y petequias y se repitió 5 días después, el número de plaquetas aumentó 6 días después, la inducción de la liberación de plaquetas debida al tratamiento con sulfato de vincristina ya ha sido documentado previamente y su efecto depende de un número satisfactorio de megacariocitos en la médula ósea (Aroch y Harrus, 2001).

27.5. Dipropionato de imidocarb.

Se trata de una diamidina aromática (Junk, 2004), con la que empíricamente hablando, el tratamiento puede ser inicialmente administrado (Aguirre *et al.*, 2004a) incluso en cachorros (Beaufils, 2002) hasta que el diagnóstico de ehrliquiosis sea confirmado (Aguirre *et al.*, 2004a), se puede aplicar a dosis de 5 mg/Kg con una o dos inyecciones intramusculares o subcutáneas con intervalos de 14 días cada una (Waner y Harrus., 2000; Aroch y Harrus, 2001; Junk, 2004; Mylonakis *et al.*, 2004b), así mismo puede ser de utilidad en el tratamiento de infecciones persistentes (Junk, 2004) o resistentes, aunque su eficacia es debatible (Goodfellow y Shaw, 2005) ya que recientes estudios han demostrado que no se aumenta la eficacia en el tratamiento utilizando este fármaco (Junk, 2004); estudios previos han mostrado la eficacia *In Vivo* en el tratamiento, pero un estudio *In Vitro* indicó que este no es efectivo (Waner y Harrus., 2000), se sugiere que este fármaco parece ser menos efectivo en la eliminación de la infección por *E. canis* o que tal vez los perros fueron rápidamente re infectados (Kordick *et al.*, 1999); una ventaja adicional del fármaco incluye la

eliminación de otras enfermedades transmitidas por garrapatas, tales como la babesiosis (Waner y Harrus., 2000); con relativa frecuencia se presentan efectos secundarios como disnea, sialorrea, diarrea, exudado nasal y taquicardia, que parecen ser debidos a al efecto anticolinesterasa del fármaco (Sainz *et al.*, 2003), para evitar los efectos colaterales, se puede administrar atropina (Sainz *et al.*, 2003; Aguirre *et al.*, 2004a) y dar terapia de soporte (Aguirre *et al.*, 2004a).

27.6. Estimulantes del factor de crecimiento hematopoyético y eritropoyetina.

En un reporte se describe el tratamiento exitoso de un perro con ehrliquiosis monocítica crónica (CFSPH, 2005), el cual presentaba pancitopenia severa (Aroch y Harrus, 2001), se utilizaron estimulantes del factor de crecimiento hematopoyético (Waner y Harrus., 2000; Aroch y Harrus, 2001; CFSPH, 2005) y eritropoyetina recombinante humana (Waner y Harrus., 2000; Aroch y Harrus, 2001), sin embargo los factores de crecimiento utilizados en la ehrliquiosis crónica no han demostrado ser efectivos y requieren de más investigación (Waner y Harrus., 2000).

En un estudio realizado con perros en condición saludable y que fueron inyectados con factor estimulante de la colonia granulocítica (rcG-CSF, por sus siglas en inglés), la elevación en el conteo de neutrófilos en respuesta al tratamiento ocurrió dentro de las primeras 24 horas, con un pico en el día 19 de tratamiento, sin embargo, el efecto farmacológico de la mega-dosificación puede preservar bajos los conteos celulares de la serie mieloide en la médula ósea y promover su proliferación, esto demuestra que en los perros la utilización por largos periodos de rhG-CSF acarrea una subsecuente disminución en los números de los neutrófilos, presumiblemente como resultado de la formación de anticuerpos hacia esta droga, así pues, se recomienda que el tratamiento con esta fármaco sea de un periodo corto (Aroch y Harrus, 2001).

En un caso clínico la terapia con eritropoyetina recombinante humana (rhEPO, por sus siglas en inglés) se inició inyectandose por vía sub-cutánea cada

3er día por un periodo de 36 días, seguido de 5 tratamientos consecutivos cada 14 días, además se administraron hierro (20 mg/kg IM cada 7 días) y vitaminas continuamente, la utilización de rhEPO en medicina veterinaria va en aumento, principalmente en condiciones de deficiencia de eritropoyetina (tal como en la etapa final de la insuficiencia renal), pero su utilización no ha sido reportada en la forma crónica severa de la ehrliqiosis monolítica canina (Aroch y Harrus, 2001).

27.7. Glucocorticoides.

Al sospechar que los cambios hematológicos tienen una patogénesis inmunomediada (Good, 2002; Junk, 2004), los corticosteroides están también indicados (Aroch y Harrus, 2001; Good, 2002; Junk, 2004) en las primeras semanas del tratamiento (Junk, 2004), en un perro se utilizó dexametasona (Beaufils, 2002; Good, 2002) y en otro prednisona, la cual fue inicialmente administrada via oral a dosis de 40mg/kg/24h y después se redujo a 0.5mg/kg/24h (Aroch y Harrus, 2001).

27.8. Tratamientos oftálmicos.

En casos de uveítis los corticosteroides (sistémicos y locales) son el grupo de drogas más comúnmente utilizados, especialmente la prednisona (Pontes *et al.*, 2004).

Si el glaucoma se hace presente, un inhibidor de la anhidrasa carbónica, tal como el hidrocloreto de dorzolamida en solución oftálmica al 2% o brinzolamida al 1% pueden utilizarse para reducir la producción de humor acuoso; también pueden ser aplicados en este protocolo el maleato de timolol al 0.5% o 4%, el hidrocloreto metipranolol o betaxolol para obtener efectos aditivos en la disminución de la presión intraocular, cuando se esté utilizando un inhibidor de la anhidrasa carbónica (Pontes *et al.*, 2004).

28. Fallas en la respuesta al tratamiento.

La dificultad en la identificación de los portadores durante la fase aguda de la enfermedad, así como su progresión a la fase crónica puede resultar en una respuesta menos favorable a la terapia (Alleman *et al.*, 2001).

Existe poca información complementaria post-tratamiento y algunos autores sugieren que las infecciones persistentes son comunes (Felek *et al.*, 2003a; CFSPH, 2005), particularmente en los perros infectados por *E. canis* o *E. chaffeensis* (CFSPH, 2005) ya que se han detectado varios perros infectados aún después del tratamiento (Felek *et al.*, 2003b; Skotarczak, 2003; Harrus *et al.*, 2004).

Existen reportes que sugieren que algunos perros infectados con *E. canis* (Skotarczak, 2003) pueden permanecer persistentemente infectados por largos periodos de tiempo (Harrus *et al.*, 2004) y muy posiblemente durante su vida entera (Skotarczak, 2003; Harrus *et al.*, 2004); así como también aquellos infectados por *E. chaffeensis*, que permanecen infectados o son reinfectados después del tratamiento (Paddock y Childs, 2003).

En un caso clínico se reportó que ni la aplicación de doxiciclina, dipropionato de imidocarb así como la terapia de soporte fue beneficiosa ya que el paciente murió a las tres semanas posteriores (Mylonakis *et al.*, 2004b).

En algunos perros el tratamiento parece ser menos efectivo (CFSPH, 2005) y la recuperación puede prolongarse especialmente cuando existen deficiencias neurológicas (Braund, 2003; CFSPH, 2005), aún y cuando los animales sean tratados adecuadamente con tetraciclinas (Braund, 2003); se puede recurrir la utilización de aspirados esplénicos para determinar el éxito en el tratamiento y eliminación de la ehrliquia (Harrus *et al.*, 2004).

29. Profilaxis.

29.1. Control de portadores.

La lucha colectiva contra la ehrliquiosis necesita la revisión clínica de los portadores asintomáticos, seguida de un tratamiento y esto es necesario dentro de las zonas fuertemente enzooticas, también puede instaurarse quimioprevención (utilización regular de ciclinas) (Euzéby, 2001d).

Dentro de las regiones en las que la infección es endémica (Euzéby, 2001d) y dada la gran distribución geográfica de la enfermedad así como su forma subclínica (Wardrop *et al.*, 2005), los perros utilizados como donadores de sangre deben ser probados (Euzéby, 2001d; Wardrop *et al.*, 2005) por serología, RCP (Euzéby, 2001d), IFA o cualquier otra prueba que detecte *E. canis* (Wardrop *et al.*, 2005) con intervalos de 2-4 semanas durante toda su vida (Euzéby, 2001d) y los animales que den una respuesta positiva a alguna de las pruebas deben ser descartados como donadores (Euzéby, 2001d; Wardrop *et al.*, 2005).

29.2. Vacunación.

Los patógenos transmitidos por artrópodos utilizan una variación antigénica para su transmisión efectiva y así persistir en los reservorios mamíferos, por lo que la variación antigénica representa un reto en el desarrollo de vacunas efectivas contra los patógenos transmitidos por vectores (Felek *et al.*, 2003a); es esencial determinar la composición genética o antigénica de *E. canis* para poder desarrollar una vacuna efectiva (Yu *et al.*, 2000); estudios sobre la estructura de la proteína 28 de *E. canis* sugieren que estas cepas establecidas en Norteamérica puede ser genéticamente idénticas y por eso es un atractivo candidato para vacunación para la ehrliquiosis canina dentro de ese territorio; algunos ratones inmunizados con la proteína 28 fueron protegidos contra la infección de la cepa homóloga, esto basado en el análisis de RCP de sangre periférica cinco días después del desafío (McBride *et al.*, 1999); esto indica que se ha progresado hacia el desarrollo de una

vacuna efectiva contra *E. canis* por medio de la identificación y caracterización molecular de las proteínas de superficie (McBride *et al.*, 2003).

Se han reportado genes inmunoreactivos (p28 y gp140) en aislamientos de *E. canis* en Norteamérica, lo que sugiere que la identificación de antígenos inmunoprotectores puede ser regionalmente eficaz, los perfiles antigénicos de Norteamérica y Sudamérica son idénticos genética y antigénicamente, lo que sugiere que las vacunas desarrolladas para el norte de América pueden ser de utilidad para la región sur de dicha entidad (McBride *et al.*, 2003).

En un estudio preliminar se demostró, que en perros inmunizados con una cepa inactivada de *E. canis* (cepa Oklahoma) se induce una fuerte respuesta inmunomediada tanto humoral como celular, esta inmunización parece inhibir la ricketsemia como resultado del reto con la cepa viva de *E. canis*, esto puede ser benéfico tanto para controlar la ehrliquiosis monocítica canina como para evitar que la garrapata vector sea infectada durante la fase aguda de la enfermedad cuando la ricketsemia es relativamente alta, pero aún se requiere de más estudios con un mayor número de perros para optimizar el régimen de inmunización y determinar el nivel y el tipo de protección inmune inducida contra la acción virulenta provocada por otras cepas de *E. canis* (Mahan *et al.*, 2005).

El desarrollo exitoso de una vacuna contra *E. canis*, contribuiría a su utilización en el programa profiláctico tanto en perros como en otros cánidos salvajes, tendría implicaciones socioeconómicas además de que serviría como modelo para el desarrollo de otras vacunas antiehrliquiales (Harrus *et al.*, 1999).

29.3. Medidas de protección contra vectores.

29.3.1. Fipronil.

Las principales medidas profilácticas conciernen a la lucha contra las garrapatas (Euzéby, 2001d; Chapman *et al.*, 2006), para poder proteger a los perros que transitan por áreas endémicas está recomendada la utilización de un acaricida (Davoust *et al.*, 2003), inspección frecuente de la piel y el pelo, y la aplicación de acaricidas tópicos como el fipronil (Lord, 2001; Braund, 2003; Zurek, 2004), algunos resultados indican la eficacia preventiva de un tratamiento mensual con fipronil ayuda a evitar la ehrliquiosis monolítica canina en áreas endémicas (Davoust *et al.*, 2003; Pontes *et al.*, 2004), también es apropiado el uso de collares antigarrapatas (Braund, 2003).

Con el rompimiento de el ciclo vital de la garrapata vector se pudiera disminuir el número de agentes patogénicos, incluyendo agentes ehrliquiales y riquetsiales, que infectan a los perros y esto pudiera disminuir el riesgo de transmisión a humanos, sobre todo con aquellas garrapatas vectores que presentan un amplio rango de hospederos; en el año 2000, en un estudio llevado a cabo en áreas endémicas con EMC en el Este y Oeste de África, el uso de fipronil en perreras se contribuyó a una reducción significativa en la seroprevalencia en los perros tratados comparado con los perros no tratados debido a la eliminación de la garrapata vector (Varela, 2003).

29.3.2. Amitraz y piretrinas.

Los tratamientos con amitraz (Lord, 2001; Varela, 2003; Zurek, 2004) (a menudo en collares) y las piretrinas: (Varela, 2003; Zurek, 2004) permetrina (spray y shampoo) y deltametrina (shampoo) han sido reportados como efectivos (Lord, 2001; Varela, 2003), el tratamiento regular minimiza las posibilidades de que la garrapata suba y se alimente, pero una vez que la infestación ha comenzado, el tratamiento de los perros es crítico y puede necesitar ser repetido varias veces (Lord, 2001).

29.3.3. Selamectina.

En una serie de estudios controlados para investigar semanalmente la eficacia de la selamectina contra la infestación por *R. sanguineus*, se encontró que con un régimen de aplicación de cada dos semanas se logró un control eficaz contra esta garrapata, el tratamiento mensual con selamectina fue igualmente efectivo y la implementación de un tratamiento a los catorce días después del primer tratamiento aumentó su eficacia (Pipano, 2003); la selamectina posee un amplio perfil de seguridad en cachorros (perros y gatos) de seis semanas de edad, en gatos y perros de crianza, en razas sensibles a ivermectina (Collies y sus cruza), en animales fuertemente parasitados con ecto y endoparásitos incluyendo gusano del corazón, así como en aquellos animales tratados que tuvieron ingestión accidental (Krautmann *et al.*, 2000; Novotny *et al.*, 2000; Pipano, 2003), la selamectina, administrada mensualmente en aplicaciones tópicas con una dosis mínima de 6 mg/Kg es efectiva en el control de las infestaciones experimentales de *Rhipicephalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis* (Jernigan *et al.*, 2000; Novotny *et al.*, 2000); la selamectina tiene entre un 98.6% y 100% de control terapéutico en las poblaciones establecidas de adultos de garrapata café del perro *R. sanguineus* y en la garrapata americana *D. variabilis*, a los tres días postaplicación, la eficacia de la selamectina fue más pronunciada para *R. sanguineus* que para *D. variabilis* (Bishop *et al.*, 2000).

29.3.4. Fumigación y desinfección.

Los controles biológicos en los hábitats de las garrapatas pueden disminuir las poblaciones de garrapatas vectores (CFSPH, 2005), esto puede realizarse tanto fuera como dentro de las casas (Zurek, 2004) y para esto deberán ser consultados fumigadores expertos (Lord, 2001; Zurek, 2004) con el fin de evitar o minimizar problemas de toxicidad para los animales y los humanos (Zurek, 2004). Parece no haber las suficientes investigaciones en cuanto a la susceptibilidad a los desinfectantes sobre este patógeno intracelular obligado (CFSPH, 2005).

30. Prevención de zoonosis.

En la mayor parte de los casos, las zoonosis bacterianas podrían prevenirse fácilmente mediante medidas básicas de higiene y la aplicación del sentido común (Chomel, 2002).

En este caso la industria y los oficiales de gobierno, así como los propietarios de las mascotas, pediatras, etc, están buscando en la profesión veterinaria más ayuda en la batalla contra las zoonosis; la presión hacia los veterinarios está incrementando de tal modo que ellos necesitan hacer más para proteger la salud de la familia y no solo la de la mascota y es aquí donde los expertos deciden como ayudar en el campo de batalla ante las zoonosis y a quedarse en el lado ganador de esta importante guerra (Birmingham, 2005).

Los veterinarios tienen la responsabilidad de proveer a los propietarios de sus pacientes la información precisa acerca de las enfermedades zoonóticas ocasionadas por las mascotas, especialmente en las personas más vulnerables, tales como niños, mujeres gestantes, adultos mayores y personas inmunocomprometidas; la educación efectiva en los propietarios de las mascotas es vital para aminorar lo concerniente a salud pública y promover la responsabilidad del propietario (Skerget *et al.*, 2003).

A los individuos infectados por VIH o SIDA que mantengan contacto estrecho con animales, el médico les debe advertir de la necesidad de tomar las precauciones necesarias para reducir el riesgo de adquirir infecciones transmitidas por vectores artrópodos, lo cual se logra por medio de un conocimiento preciso de las medidas preventivas pertinentes (De Tamí y Tamí-Maury, 2004).

31. Conclusión.

Al paso de varias décadas, las enfermedades transmitidas por artrópodos que son causadas por bacterias intracelulares obligadas han emergido como una amenaza importante para los mamíferos del mundo y han ganado notoriedad (Varela, 2003); en su crecimiento influye el cambio en las condiciones climáticas, ambientales (Chomel, 2002; Varela, 2003; Doyle *et al.*, 2005a; Chapman *et al.*, 2006) y factores demográficos (Chomel, 2002; Doyle *et al.*, 2005a; Chapman *et al.*, 2006) tales como el desplazamiento de seres humanos de un lugar a otro, la adaptación de los agentes causales a nuevas condiciones ecológicas y la deficiencia de las medidas de control (Chomel, 2002; Chapman *et al.*, 2006), lo cual favorece tanto al vector como a su transmisión (Varela, 2003), así pues, las actividades humanas son el origen de la importación de garrapatas infectadas dentro de las zonas previamente indemnes, las importaciones de animales africanos (zoológicos, parques animales, reservas africanas...) dentro de países previamente indemnes, fomenta mayores riesgos de diseminación (Euzéby, 2001d); como puede verse, los factores que propician la transmisión varían según el agente causal y cabe tener presente que la población del mundo ha sufrido un aumento vertiginoso a lo largo del siglo XX, sobre todo en los países en desarrollo, y este fenómeno se ha acompañado de la desaparición de grandes zonas forestales, del cultivo de zonas agrícolas previamente baldías, de un aumento de los viajes sobre todo de tipo turístico y de la formación de vastas metrópolis donde el hacinamiento y las condiciones de vida precarias dan origen a focos de transmisión; otro factor que contribuye a la aparición de nuevas infecciones, especialmente en países desarrollados, es el envejecimiento de la población (Chomel, 2002), puesto que las personas de edad avanzada son por lo general más susceptibles a las enfermedades (Chomel, 2002; Chapman *et al.*, 2006).

Es un hecho prácticamente seguro que nuevas zoonosis serán descubiertas en el futuro próximo, especialmente mediante el uso de las nuevas técnicas de

biología molecular y la secuenciación del ADN (Chomel, 2002); las ehrliquias son las responsables de las enfermedades más importantes transmitidas por garrapatas, así como de la infección transmitida por garrapatas más prevalente de los animales con distribución mundial y de una emergente enfermedad como la ehrliquiosis monocítica y la ehrliquiosis granulocítica (Brayton *et al.*, 2001); aunque las ehrliquias fueron descritas desde inicios de esta centuria (Yu *et al.*, 2000), ellas se consideraron primeramente patógenos de importancia veterinaria hasta esta década (Yu *et al.*, 2000; Chapman *et al.*, 2006) y han sido reconocidas 3 enfermedades emergentes transmitidas por garrapatas y causadas por bacterias intracelulares obligadas del género *Ehrlichia* (Nochimson, 2006).

Se han reportado un número considerable de infecciones en el humano y no se ha pensado que la infección se adquiriera directamente de el perro, sino que el vector sea la garrapata (Carter, 2005); desde 1999, la ehrliquiosis es una enfermedad reportable para el CDC (centro de control de enfermedades) (Nochimson, 2006) y está siendo considerada como una enfermedad de importancia zoonótica por la Organización Panamericana de la Salud (Moreira *et al.*, 2003), lo cual es relevante debido a que los perros se encuentran expuestos a un gran número de especies de garrapatas y por el lazo tan estrecho que existe entre estos y los humanos (Inokuma *et al.*, 2004). Las enfermedades rickettsiales transmitidas por garrapatas (TBRD, por sus siglas en inglés) continuarán siendo la causa de infecciones severas y de muertes en los seres humanos a pesar de que se disponga de terapias antimicrobiales baratas y efectivas, el gran dilema está posado sobre la dificultad en el diagnóstico preciso de estas infecciones en su etapa inicial, esto aunado a la variedad de la presentación clínica, logrando solo ayudarnos de una detallada historia clínica en la que se incluya la exposición a garrapatas, aún y cuando esta no sea reciente, así como también reportar a las autoridades locales los casos sospechosos o confirmados, para contribuir en los esfuerzos sobre el control en lo concerniente a la educación en la salud pública (Chapman *et al.*, 2006).

LITERATURA CITADA

- Aguirre, E., A. Sainz, S. Dunner, I. Amusatogui, L. Lopez, F. Rodriguez-Franco, I. Luaces, O. Cortes y M. A. Tesouro (2004a). "First isolation and molecular characterization of *Ehrlichia canis* in Spain." *Vet Parasitol* **125**(3-4): 365-72.
- Aguirre, E., M. A. Tesouro, I. Amusatogui, F. Rodriguez-Franco y A. Sainz (2004b). "Assessment of feline ehrlichiosis in central Spain using serology and a polymerase chain reaction technique." *Ann N Y Acad Sci* **1026**: 103-5.
- Akkoyunlu, M. y E. Fikrig (2000). "Gamma interferon dominates the murine cytokine response to the agent of human granulocytic ehrlichiosis and helps to control the degree of early rickettsemia." *Infect Immun* **68**(4): 1827-33.
- Alberti, A., R. Zobba, B. Chessa, M. F. Addis, O. Sparagano, M. L. Pinna Parpaglia, T. Cubeddu, G. Pintori y M. Pittau (2005). "Equine and canine *Anaplasma phagocytophilum* strains isolated on the island of Sardinia (Italy) are phylogenetically related to pathogenic strains from the United States." *Appl Environ Microbiol* **71**(10): 6418-22.
- Alleman, A. R., L. J. McSherry, A. F. Barbet, E. B. Breitschwerdt, H. L. Sorenson, M. V. Bowie y M. Belanger (2001). "Recombinant major antigenic protein 2 of *Ehrlichia canis*: a potential diagnostic tool." *J Clin Microbiol* **39**(7): 2494-9.
- Aroch, I. y S. Harrus. (2001, Sin fecha). "The use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in the treatment of severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.isrvma.org/article/56_2_7.htm.
- Arraga-Alvarado, C., M. Palmar, O. Parra y P. Salas (2003). "*Ehrlichia platys* (*Anaplasma platys*) in dogs from Maracaibo, Venezuela: an ultrastructural study of experimental and natural infections." *Vet Pathol* **40**(2): 149-56.
- Bavaro, M. F., D. J. Kelly, G. A. Dasch, B. R. Hale y P. Olson (2005). "History of U.S. military contributions to the study of rickettsial diseases." *Mil Med* **170**(4 Suppl): 49-60.
- Beaufils, J. P. (2002, 2002). "*Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) infection in a dog in France : description of the case, and characterization of the agent." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://revmedvet.envt.fr/RevMedVet/2002/RMV153_85_90.pdf.
- Belanger, M., H. L. Sorenson, M. K. France, M. V. Bowie, A. F. Barbet, E. B. Breitschwerdt y A. R. Alleman (2002). "Comparison of serological detection methods for diagnosis of *Ehrlichia canis* infections in dogs." *J Clin Microbiol* **40**(9): 3506-8.
- Bengis, R. G., F. A. Leighton, J. R. Fischer, M. Artois, T. Morner y C. M. Tate (2004). "The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses." *Rev Sci Tech* **23**(2): 497-511.
- Birmingham, J. (2005, junio del 2005). "Battling zoonotic disease: when pets and people collide." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.forumvet.com/pdf/Zoonoses.pdf
- Bishop, B. F., C. I. Bruce, N. A. Evans, A. C. Goudie, K. A. Gration, S. P. Gibson, M. S. Pacey, D. A. Perry, N. D. Walshe y M. J. Witty (2000). "Selamectin: a

- novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats." *Vet Parasitol* **91**(3-4): 163-76.
- Braund, K. G. (2003, 06 de febrero del 2003). "Inflammatory Diseases of the Central Nervous System." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://www.ivis.org/special_books/Braund/braund27/ivis.pdf.
- Brayton, K. A., D. P. Knowles, T. C. McGuire y G. H. Palmer (2001). "Efficient use of a small genome to generate antigenic diversity in tick-borne ehrlichial pathogens." *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**(7): 4130-5.
- Brouqui, P., E. Salvo, J. S. Dumler y D. Raoult (2001). "Diagnosis of granulocytic ehrlichiosis in humans by immunofluorescence assay." *Clin Diagn Lab Immunol* **8**(1): 199-202.
- Bulla, C., R. Kiomi Takahira, J. Pessoa Araujo, Jr., L. Aparecida Trinca, R. Souza Lopes y C. E. Wiedmeyer (2004). "The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area." *Vet Res* **35**(1): 141-6.
- Burgess, H. (2005, 01 de mayo del 2005). "*Ehrlichia canis* identified in a canine neurology case." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.uoguelph.ca/ahl/NewsletterLink/Newsletters/ANws19-2.pdf.
- Carter, G. R. (2005, 25 de enero del 2005). "A Concise Guide to Infectious and Parasitic Diseases of Dogs and Cats, Major Infectious Diseases of Dogs and Cats (Listed Alphabetically) - Part 2 (E through L)." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://www.ivis.org/special_books/carter/carter5b/chapter_frm.asp?LA=1.
- CFSPH. (2005, 01 de mayo del 2005). "Ehrlichiosis." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.htm>.
- Chae, J. S., J. E. Foley, J. S. Dumler y J. E. Madigan (2000). "Comparison of the nucleotide sequences of 16S rRNA, 444 Ep-ank, and groESL heat shock operon genes in naturally occurring Ehrlichia equi and human granulocytic ehrlichiosis agent isolates from Northern California." *J Clin Microbiol* **38**(4): 1364-9.
- Chapman, A. S., J. S. Bakken, S. M. Folk, C. D. Paddock, K. C. Bloch, A. Krusell, D. J. Sexton, S. C. Buckingham, G. S. Marshall, G. A. Storch, G. A. Dasch, J. H. McQuiston, D. L. Swerdlow, S. J. Dumler, W. L. Nicholson, D. H. Walker, M. E. Ereemeeva y C. A. Ohl (2006). "Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals." *MMWR Recomm Rep* **55**(RR-4): 1-27.
- Chomel, B. B. (2002, 2002). "Zoonosis bacterianas de aparición reciente." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v11n1/7898.pdf>.
- Davoust, B., J. L. Marie, S. Mercier, M. Boni, A. Vandeweghe, D. Parzy y F. Beugnet (2003). "Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas." *Vet Parasitol* **112**(1-2): 91-100.
- De la Fuente, J., A. Torina, V. Naranjo, S. Nicosia, A. Alongi, F. La Mantia y K. M. Kocan. (2006, 26 de julio del 2006). "Molecular characterization of *Anaplasma platys* strains from dogs in Sicily, Italy." Recuperado 28 de

- enero del 2007, from
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1550391>.
- De Tamí, I. d. C. y I. M. Tamí-Maury. (2004, noviembre del 2004). "Identificación morfológica de *Ehrlichia* sp. en las plaquetas de pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana, en Venezuela." Recuperado 28 de enero del 2007, from
<http://www.ingentaconnect.com/content/paho/pajph/2004/00000016/00000005/art00008?token=004712e3b0757e6f4f2858592f3f3b576a573d257025252e232b5f7a312576312b46337>.
- Doyle, C. K., M. B. Labruna, E. B. Breitschwerdt, Y. W. Tang, R. E. Corstvet, B. C. Hegarty, K. C. Bloch, P. Li, D. H. Walker y J. W. McBride (2005a). "Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene." *J Mol Diagn* **7**(4): 504-10.
- Doyle, C. K., K. A. Nethery, V. L. Popov y J. W. McBride (2006). "Differentially expressed and secreted major immunoreactive protein orthologs of *Ehrlichia canis* and *E. chaffeensis* elicit early antibody responses to epitopes on glycosylated tandem repeats." *Infect Immun* **74**(1): 711-20.
- Doyle, C. K., X. Zhang, V. L. Popov y J. W. McBride (2005b). "An immunoreactive 38-kilodalton protein of *Ehrlichia canis* shares structural homology and iron-binding capacity with the ferric ion-binding protein family." *Infect Immun* **73**(1): 62-9.
- Dugan, V. G., S. E. Little, D. E. Stallknecht y A. D. Beall (2000). "Natural infection of domestic goats with *Ehrlichia chaffeensis*." *J Clin Microbiol* **38**(1): 448-9.
- Dumler, J. S. y J. S. Bakken (1998). "Human ehrlichioses: newly recognized infections transmitted by ticks." *Annu Rev Med* **49**: 201-13.
- Dumler, J. S., E. R. Trigiani, J. S. Bakken, M. E. Aguero-Rosenfeld y G. P. Wormser (2000). "Serum cytokine responses during acute human granulocytic ehrlichiosis." *Clin Diagn Lab Immunol* **7**(1): 6-8.
- Erdeger, J., A. Sancak y L. Ataseven. (2003, 2003). "Kopleklerde *Ehrlichia canis*'in indirekt Fluoresan Antokor (IFA) Testi ve Dot-ELISA ile Saptanmasi." Recuperado 28 de enero del 2007, from
<http://direct.bl.uk/bld/PlaceOrder.do?UIN=134641049&ETOC=RN&from=searchengine>.
- Euzéby, J. P. (2001a, 07 de diciembre del 2001). "*Anaplasma platys*." Recuperado 28 de enero del 2007, from
www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/platys.html.
- Euzéby, J. P. (2001b, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia*." Recuperado 28 de enero del 2007, from
www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/ehrlichia.html.
- Euzéby, J. P. (2001c, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia chaffeensis*." Recuperado 28 de enero del 2007, from
www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/chaffeensis.html.
- Euzéby, J. P. (2001d, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia canis*." Recuperado 28 de enero del 2007, from
www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/canis.html.
- Euzéby, J. P. (2001e, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia ewingii*." Recuperado 28 de enero del 2007, from
www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/ewingii.html.

- Euzéby, J. P. (2001f, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia muris*." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/muris.html.
- Euzéby, J. P. (2001g, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia ruminantium*." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/ruminantium.html.
- Euzéby, J. P. (2001h, 07 de diciembre del 2001). "*Ehrlichia* family, *ehrlichieae*." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.bacterio.cict.fr/bacdico/ee/ehrlichiafamily.html.
- Faburay, B., S. Munstermann, D. Geysen, L. Bell-Sakyi, A. Ceesay, C. Bodaan y F. Jongejan (2005). "Point seroprevalence survey of *Ehrlichia ruminantium* infection in small ruminants in The Gambia." *Clin Diagn Lab Immunol* **12**(4): 508-12.
- Felek, S., R. Greene y Y. Rikihisa (2003a). "Transcriptional analysis of p30 major outer membrane protein genes of *Ehrlichia canis* in naturally infected ticks and sequence analysis of p30-10 of *E canis* from diverse geographic regions." *J Clin Microbiol* **41**(2): 886-8.
- Felek, S., H. Huang y Y. Rikihisa (2003b). "Sequence and expression analysis of virB9 of the type IV secretion system of *Ehrlichia canis* strains in ticks, dogs, and cultured cells." *Infect Immun* **71**(10): 6063-7.
- Gilger, B. C. (2001, 28 de octubre del 2001). "Clinical Syndromes In Canine And Feline Uveitis." Recuperado 11 de enero del 2006, from www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00526.htm.
- Gokce, H. I. y Z. Woldehiwet (1999). "Lymphocyte responses to mitogens and rickettsial antigens in sheep experimentally infected with *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila*." *Vet Parasitol* **83**(1): 55-64.
- Gonçalves da Costa, P. S., L. M. de Carvalho, M. E. Brigattell y D. B. Grecol. (2006, 26 de enero del 2006). "More About Human Monocytotropic Ehrlichiosis in Brazil: Serological Evidence of Nine New Cases." Recuperado 28 de enero del 2006, from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702006000100002.
- Gongora-Biachi, R. A., J. Zavala-Velazquez, C. J. Castro-Sansores y P. Gonzalez-Martinez (1999). "First case of human ehrlichiosis in Mexico." *Emerg Infect Dis* **5**(3): 481.
- Good, J. (2002, 04 de septiembre del 2002). "Canine Immune Mediated Hemolytic Anemia: Presentation and Treatment." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://dSPACE.library.cornell.edu/bitstream/1813/2746/1/2003+Good.pdf>.
- Goodfellow, M. y S. Shaw. (2005, mayo del 2005). "Exotic diseases of dogs and cats at risk of importation to Ireland." Recuperado 28 de enero del 2005, from <http://www.veterinaryireland.ie/ivj/may05/peer%20%20may%2005.pdf>.
- Greig, B. (2006, 2006). "Canine Granulocytic Ehrlichiosis, *E. ewingii*." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://my.marshfieldclinic.org/veterinary/page/Proxy.aspx?Content=RefPointWinter06.1.pdf>.
- Guillén Llera, J. L., M. L. López García, E. Martín Reinoso y G. R. De Vivar. (2002, 30 de julio del 2002). "Differential serological testing by simultaneous

- indirect immunofluorescent antibody test in canine leishmaniosis and ehrlichiosis." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TD7-46WVPFB-1&_user=10&_coverDate=11%2F11%2F2002&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=355cc3cd72b614883abbb3fa4767b3e8.
- Guillon, A. y M. Power. (2004, noviembre del 2004). "Exotic Diseases in Dogs and Cats." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.defra.gov.uk/animalh/svj/vol1501/chap3.pdf
- Harikrishnan, T. J., N. Pazhanivel y J. Chellappa. (2005, 03 de noviembre del 2005). "Concomitant *Babesia gibsoni* and *Ehrlichia canis* infection in a dog." Recuperado 28 de enero del 2005, from www.vef.hr/vetarhiv/papers/2005-75-6-8.pdf.
- Harrus, S., M. Kenny, L. Miara, I. Aizenberg, T. Waner y S. Shaw (2004). "Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection." *Antimicrob Agents Chemother* **48**(11): 4488-90.
- Harrus, S., T. Waner, I. Aizenberg y H. Bark (1998a). "Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course." *J Clin Microbiol* **36**(7): 2140-2.
- Harrus, S., T. Waner, I. Aizenberg, J. E. Foley, A. M. Poland y H. Bark (1998b). "Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*." *J Clin Microbiol* **36**(1): 73-6.
- Harrus, S., T. Waner, H. Bark, F. Jongejan y A. W. Cornelissen (1999). "Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis." *J Clin Microbiol* **37**(9): 2745-9.
- Horowitz, H. W., T. C. Hsieh, M. E. Aguero-Rosenfeld, F. Kalantarpour, I. Chowdhury, G. P. Wormser y J. M. Wu (2001). "Antimicrobial susceptibility of *Ehrlichia phagocytophila*." *Antimicrob Agents Chemother* **45**(3): 786-8.
- Huang, H., A. Unver, N. J. Perez, N. G. Orellana y Y. Rikihisa. (2005, 09 de septiembre del 2005). "Prevalence and Molecular Analysis of *Anaplasma platys* in dogs in Lara, Venezuela." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v36n3/arg02.pdf>.
- Hunt, R. (2006, 26 de enero del 2006). "*Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Coxiella* and *Bartonella*." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://pathmicro.med.sc.edu/mayer/rickettsia.htm>.
- IDEXX. (2005, 2005). "Canine Heartworm Antigen/*Borrelia burgdorferi*/*Ehrlichia canis* Antibody Test Kit." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.idexx.com/animalhealth/testkits/3dx/3dxinsert.pdf>.
- Inokuma, H., T. Beppu, M. Okuda, Y. Shimada y Y. Sakata (2004). "Detection of ehrlichial DNA in *Haemaphysalis* ticks recovered from dogs in Japan that is closely related to a novel *Ehrlichia* sp. found in cattle ticks from Tibet, Thailand, and Africa." *J Clin Microbiol* **42**(3): 1353-5.
- Inokuma, H., K. Fujii, K. Matsumoto, M. Okuda, K. Nakagome, R. Kosugi, M. Hirakawa y T. Onishi (2002). "Demonstration of *Anaplasma (Ehrlichia)*

- platys* inclusions in peripheral blood platelets of a dog in Japan." Vet Parasitol **110**(1-2): 145-52.
- Inokuma, H., D. Raoult y P. Brouqui (2000). "Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan." J Clin Microbiol **38**(11): 4219-21.
- Irwin, P. J. (2001). "The first report of canine ehrlichiosis in Australia." Aust Vet J **79**(8): 552-3.
- Jernigan, A. D., T. L. McTier, C. Chieffo, C. A. Thomas, M. J. Krautmann, J. A. Hair, D. R. Young, C. Wang y T. G. Rowan (2000). "Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestations on dogs." Vet Parasitol **91**(3-4): 359-75.
- Junk, J. (2004, febrero del 2004). "Update on Ehrlichiosis." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.osvs.net/>.
- Kawahara, M., T. Ito, C. Suto, S. Shibata, Y. Rikihisa, K. Hata y K. Hirai (1999). "Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic survey of humans and animals with *E. muris* as antigen." J Clin Microbiol **37**(4): 1123-9.
- Kawahara, M., Y. Rikihisa, Q. Lin, E. Isogai, K. Tahara, A. Itagaki, Y. Hiramitsu y T. Tajima (2006). "Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan." Appl Environ Microbiol **72**(2): 1102-9.
- Kelly, D. J., A. L. Richards, J. Temenak, D. Strickman y G. A. Dasch (2002). "The past and present threat of rickettsial diseases to military medicine and international public health." Clin Infect Dis **34**(Suppl 4): S145-69.
- Kocan, A. A., G. C. Levesque, L. C. Whitworth, G. L. Murphy, S. A. Ewing y R. W. Barker (2000). "Naturally occurring *Ehrlichia chaffeensis* infection in coyotes from Oklahoma." Emerg Infect Dis **6**(5): 477-80.
- Kordick, S. K., E. B. Breitschwerdt, B. C. Hegarty, K. L. Southwick, C. M. Colitz, S. I. Hancock, J. M. Bradley, R. Rumbough, J. T. McPherson y J. N. MacCormack (1999). "Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina." J Clin Microbiol **37**(8): 2631-8.
- Krautmann, M. J., M. J. Novotny, K. De Keulenaer, C. S. Godin, E. I. Evans, J. W. McCall, C. Wang, T. G. Rowan y A. D. Jernigan (2000). "Safety of selamectin in cats." Vet Parasitol **91**(3-4): 393-403.
- Lakkawar, A. W., M. G. Nair, K. C. Varshney, R. Sreekrishnan y V. N. Rao. (2003, 24 de abril del 2003). "Pathology of Canine Monocytic Ehrlichiosis in a German Shepherd Dog." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://www.vf.uni-lj.si/veterina/zbornik/40e_119_lakkawar.pdf.
- Lappin, M. (2001). "Feline Ehrlichiosis and Hemobartonellosis." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00111.htm.
- Levin, M. L. y D. Fish (2000). "Acquisition of coinfection and simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* ticks." Infect Immun **68**(4): 2183-6.

- Liddell, A. M., S. L. Stockham, M. A. Scott, J. W. Sumner, C. D. Paddock, M. Gaudreault-Keener, M. Q. Arens y G. A. Storch (2003). "Predominance of *Ehrlichia ewingii* in Missouri dogs." J Clin Microbiol **41**(10): 4617-22.
- Lin, M. y Y. Rikihisa (2004). "*Ehrlichia chaffeensis* downregulates surface Toll-like receptors 2/4, CD14 and transcription factors PU.1 and inhibits lipopolysaccharide activation of NF-kappa B, ERK 1/2 and p38 MAPK in host monocytes." Cell Microbiol **6**(2): 175-86.
- Liz, J. S., L. Anderes, J. W. Sumner, R. F. Massung, L. Gern, B. Rutti y M. Brossard (2000). "PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland." J Clin Microbiol **38**(3): 1002-7.
- Lopez, J., A. Castillo y M. Munoz. (1999, 03 de agosto de 1999). "*Ehrlichia canis* in Chile; preliminary report." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.scielo.cl/scielo.php.
- Lord, C. C. (2001, julio del 2001). "Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* Latreille (Arachnida:Acari:Ixididae)." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://creatures.ifas.ufl.edu/urban/medical/brown_dog_tick.htm.
- Macieira, D. d. B., J. B. Messick, F. A. d. M. Cerqueira, I. M. A. Freire, G. F. C. Linhares, N. K. d. O. Almeida y N. R. P. Almosny. (2005, 2005). "Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil." Recuperado No. 28 de enero del 2007, from <http://www.vetclinpathjournal.org/archive/canine.html>.
- Mahan, S., P. J. Kelly y S. M. Mahan (2005). "A preliminary study to evaluate the immune responses induced by immunization of dogs with inactivated *Ehrlichia canis* organisms." Onderstepoort J Vet Res **72**(2): 119-28.
- Mahan, S. M., B. H. Simbi y M. J. BurrIDGE (2004). "The pCS20 PCR assay for *Ehrlichia ruminantium* does not cross-react with the novel deer ehrlichial agent found in white-tailed deer in the United States of America." Onderstepoort J Vet Res **71**(2): 99-105.
- Manna, L., A. Alberti, L. M. Pavone, A. Scibelli, N. Staiano y A. E. Gravino (2004). "First molecular characterization of a granulocytic *Ehrlichia* strain isolated from a dog in South Italy." Vet J **167**(3): 224-7.
- Mason, R. J., J. M. Lee, J. M. Curran, A. Moss, B. Van Der Heide y P. W. Daniels (2001). "Serological survey for *Ehrlichia canis* in urban dogs from the major population centres of northern Australia." Aust Vet J **79**(8): 559-62.
- Maurin, M., C. Abergel y D. Raoult (2001). "DNA gyrase-mediated natural resistance to fluoroquinolones in *Ehrlichia spp.*" Antimicrob Agents Chemother **45**(7): 2098-105.
- Maurin, M., J. S. Bakken y J. S. Dumler (2003). "Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States." Antimicrob Agents Chemother **47**(1): 413-5.
- Mayer. (2003, 2003). "Topic: *Rickettsia*, *Orientia*, *Ehrlichia*, *Coxiella* and *Bartonella*." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://macfast.org/harish/rickettsia.pdf>.
- McBride, J. W., R. E. Corstvet, E. B. Breitschwerdt y D. H. Walker (2001). "Immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* infection with recombinant proteins." J Clin Microbiol **39**(1): 315-22.

- McBride, J. W., R. E. Corstvet, S. D. Gaunt, C. Boudreaux, T. Guedry y D. H. Walker (2003). "Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* immunoreactive proteins." *Infect Immun* **71**(5): 2516-24.
- McBride, J. W., X. Yu y D. H. Walker (1999). "Molecular cloning of the gene for a conserved major immunoreactive 28-kilodalton protein of *Ehrlichia canis*: a potential serodiagnostic antigen." *Clin Diagn Lab Immunol* **6**(3): 392-9.
- Moreira, S. M., C. V. Bastos, R. B. Araújo, M. Santos y L. M. F. Passos. (2003, 26 de agosto del 2002). "Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, Brazil." Recuperado 28 de enero del 2003, from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000200003.
- Moreira, S. M., R. Machado y L. F. Passos. (2005, 16 de marzo del 2005). "Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of experimentally infected dogs." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a38v35n4.pdf
- Mylonakis, M. E., A. F. Koutinas, G. Baneth, Z. Polizopoulou y A. Fytianou (2004a). "Mixed *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, and presumptive *Anaplasma phagocytophilum* infection in a dog." *Vet Clin Pathol* **33**(4): 249-51.
- Mylonakis, M. E., A. F. Koutinas, E. B. Breitschwerdt, B. C. Hegarty, C. D. Billinis, L. S. Leontides y V. S. Kontos (2004b). "Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases." *J Am Anim Hosp Assoc* **40**(3): 174-84.
- Nochimson, G. (2006, 13 de junio del 2006). "Tick-Borne Diseases, Ehrlichiosis." *eMedicine World Medical Library* Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.emedicine.com/EMERG/topic159.htm>.
- Novotny, M. J., M. J. Krautmann, J. C. Ehrhart, C. S. Godin, E. I. Evans, J. W. McCall, F. Sun, T. G. Rowan y A. D. Jernigan (2000). "Safety of selamectin in dogs." *Vet Parasitol* **91**(3-4): 377-91.
- Núñez, O. L. (2003, junio del 2003). "Seroprevalence study of *Ehrlichia canis* in Mexico." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.imbiomed.com.mx/Ammvepe/Inicio.html>.
- Olano, J. P., G. Wen, H. M. Feng, J. W. McBride y D. H. Walker (2004). "Histologic, serologic, and molecular analysis of persistent ehrlichiosis in a murine model." *Am J Pathol* **165**(3): 997-1006.
- Paddock, C. D. y J. E. Childs (2003). "Ehrlichia chaffeensis: a prototypical emerging pathogen." *Clin Microbiol Rev* **16**(1): 37-64.
- Pancier, R. J., S. A. Ewing y A. W. Confer (2001). "Ocular histopathology of Ehrlichial infections in the dog." *Vet Pathol* **38**(1): 43-6.
- Pantanowitz, L. (2003, 2003). "Mechanisms of Thrombocytopenia in Tick-Borne Diseases." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijid/vol2n2/tick.xml>.
- Pedersen, N. C. (1999). "A review of immunologic diseases of the dog." *Vet Immunol Immunopathol* **69**(2-4): 251-342.

- Pereira, A. N. R. (2005). "Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil." Veterinary Clinical Pathology **Vol. 34**(No. 1): p. 44-48.
- Pfitzer, S., R. Last y D. T. De Waal (2004). "Possible death of a buffalo calf (*Syncercus caffer*) due to suspected heartwater (*Ehrlichia ruminantium*)." J S Afr Vet Assoc **75**(1): 54-7.
- Pipano, E. (2003, 2003). "Recent developments in the control of ectoparasites and endoparasites of dogs and cats with Selamectin." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.isrvma.org/article/58_2_1.htm.
- Poitout, F. M., J. K. Shinozaki, P. J. Stockwell, C. J. Holland y S. K. Shukla (2005). "Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in Western Washington State." J Clin Microbiol **43**(2): 796-801.
- Pontes, O. A., P. M. Pereiral y J. L. Laus. (2004, 29 de octubre del 2003). "Uveitis in dogs infected with *Ehrlichia canis*." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782004000400055.
- Pumarola, M., P. F. Moore y G. D. Shelton (2004). "Canine inflammatory myopathy: analysis of cellular infiltrates." Muscle Nerve **29**(6): 782-9.
- Pusterla, N., C. C. Chang, B. B. Chomel, J. S. Chae, J. E. Foley, E. DeRock, V. L. Kramer, H. Lutz y J. E. Madigan (2000). "Serologic and molecular evidence of *Ehrlichia spp.* in coyotes in California." J Wildl Dis **36**(3): 494-9.
- Pusterla, N., J. B. Huder, C. M. Leutenegger, U. Braun, J. E. Madigan y H. Lutz (1999). "Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks." J Clin Microbiol **37**(5): 1329-31.
- Rey, J. R., C. C. Lord y C. R. Rutledge. (2002, enero del 2006). "*Ehrlichia* in Florida." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Rolain, J. M., M. Maurin, A. Bryskier y D. Raoult (2000). "In vitro activities of telithromycin (HMR 3647) against *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia africae*, *Rickettsia typhi*, *Rickettsia prowazekii*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, *Bartonella bacilliformis*, and *Ehrlichia chaffeensis*." Antimicrob Agents Chemother **44**(5): 1391-3.
- Roura, X., E. Breitschwerdt, A. Lloret, L. Ferrer y B. Hegarty. (2005, 2005). "Serological Evidence of Exposure to *Rickettsia*, *Bartonella* and *Ehrlichia* Species or *Leishmania infantum* in Healthy Infected Dogs from Barcelona, Spain." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.jarvm.com/articles/Vol3Iss2/ROURA.pdf>.
- Sainz, A., I. Amusatogui, F. Rodríguez y M. A. Tesouro. (2003, 01 de julio del 2003). "Las ehrlichiosis en el perro: presente y futuro." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070703.html>.
- Sirigireddy, K. R. y R. R. Ganta (2005). "Multiplex detection of *Ehrlichia* and *Anaplasma* species pathogens in peripheral blood by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction." J Mol Diagn **7**(2): 308-16.
- Skerget, M., C. Wenisch, F. Daxboeck, R. Krause, R. Haberl y D. Stuenzner (2003). "Cat or dog ownership and seroprevalence of ehrlichiosis, Q fever, and cat-scratch disease." Emerg Infect Dis **9**(10): 1337-40.

- Skotarczak, B. (2003). "Canine ehrlichiosis." *Ann Agric Environ Med* **10**(2): 137-41.
- Stich, R. W., Y. Rikihisa, S. A. Ewing, G. R. Needham, D. L. Grover y S. Jittapalapong (2002). "Detection of *Ehrlichia canis* in canine carrier blood and in individual experimentally infected ticks with a p30-based PCR assay." *J Clin Microbiol* **40**(2): 540-6.
- Suksawat, J., C. Pitulle, C. Arraga-Alvarado, K. Madrigal, S. I. Hancock y E. B. Breitschwerdt (2001). "Coinfection with three *Ehrlichia* species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure." *J Clin Microbiol* **39**(1): 90-3.
- Sumner, J. W., G. A. Storch, R. S. Buller, A. M. Liddell, S. L. Stockham, Y. Rikihisa, S. Messenger y C. D. Paddock (2000). "PCR amplification and phylogenetic analysis of groESL operon sequences from *Ehrlichia ewingii* and *Ehrlichia muris*." *J Clin Microbiol* **38**(7): 2746-9.
- Tarello, W. (2002, 2002). "Granulocytic *Ehrlichia*-like bodies in a cat with chronic oral disease : case report." Recuperado 28 de enero del 2007, from http://revmedvet.envt.fr/RevMedVet/2002/RMV153_401_406.pdf.
- Tarello, W. (2005). "Microscopic and clinical evidence for *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* infection in Italian cats." *Vet Rec* **156**(24): 772-4.
- Thompson. (2003, 2003). "Tetracyclines Veterinary—Systemic." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.usp.org/pdf/EN/veterinary/tetracyclines.pdf>.
- Trotz-Williams, L. y A. J. Trees. (2002, 2002). "Distribution, Prevalence and Incidence of Vector-borne Parasitic Infections in Europe." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.liv.ac.uk/Istm/download/Pet_Plan_Report.pdf.
- Tsachev, I. (2006, 05 de enero del 2006). "Detection of Antibodies Reactive with *Ehrlichia canis* in a Kennel in Bulgaria." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-06-30-4/vet-30-4-12-0601-8.pdf>.
- Unver, A., N. Ohashi, T. Tajima, R. W. Stich, D. Grover y Y. Rikihisa (2001). "Transcriptional analysis of p30 major outer membrane multigene family of *Ehrlichia canis* in dogs, ticks, and cell culture at different temperatures." *Infect Immun* **69**(10): 6172-8.
- Vadillo, M. S. (2002). "*Rickettsias*." *Manual de Microbiología Veterinaria*: p. 397-412.
- van Heerden, H., N. E. Collins, K. A. Brayton, C. Rademeyer y B. A. Allsopp (2004). "Characterization of a major outer membrane protein multigene family in *Ehrlichia ruminantium*." *Gene* **330**: 159-68.
- Varela, A. S. (2003, 02 de mayo del 2003). "Tick-borne *Ehrlichiae* and *Rickettsiae* of Dogs." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.ivis.org/advances/Parasit_Bowman/varela/IVIS.pdf
- Vite, C. H. (2005, 17 de febrero del 2005). "Inflammatory Diseases of the Central Nervous System." Recuperado 28 de enero del 2007, from <http://www.ivis.org/advances/Vite/braund27/ivis.pdf>.
- Wagner, E. R., W. G. Bremer, Y. Rikihisa, S. A. Ewing, G. R. Needham, A. Unver, X. Wang y R. W. Stich (2004). "Development of a p28-based PCR assay for *Ehrlichia chaffeensis*." *Mol Cell Probes* **18**(2): 111-6.

- Walls, J. J., M. Agüero-Rosenfeld, J. S. Bakken, J. L. Goodman, D. Hossain, R. C. Johnson y J. S. Dumler (1999). "Inter- and intralaboratory comparison of *Ehrlichia equi* and human granulocytic ehrlichiosis (HGE) agent strains for serodiagnosis of HGE by the immunofluorescent-antibody test." J Clin Microbiol **37**(9): 2968-73.
- Waner, T. (2000). "Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*." Veterinary Immunology and Immunopathology **Vol. 77**: p. 145-150.
- Waner, T. y S. Harrus. (2000, 13 de abril del 2000). "Canine Monocytic Ehrlichiosis (CME)." Recuperado 28 de enero del 2007, from www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/waner/IVIS.pdf.
- Waner, T., I. Leykin, M. Shinitzky, E. Sharabani, H. Buch, A. Keysary, H. Bark y S. Harrus (2000). "Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*." Vet Immunol Immunopathol **77**(1-2): 145-50.
- Wardrop, K. J., N. Reine, A. Birkenheuer, A. Hale, A. Hohenhaus, C. Crawford y M. R. Lappin (2005). "Canine and feline blood donor screening for infectious disease." J Vet Intern Med **19**(1): 135-42.
- Winslow, G. M., E. Yager, K. Shilo, E. Volk, A. Reilly y F. K. Chu (2000). "Antibody-mediated elimination of the obligate intracellular bacterial pathogen *Ehrlichia chaffeensis* during active infection." Infect Immun **68**(4): 2187-95.
- Yu, X. J., J. W. McBride, C. M. Diaz y D. H. Walker (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 Clin Microbiol **38**(1): 369-74.
- Zurek, L. (2004, 08 de mayo del 2004). "Ticks in Kansas." Recuperado 27 de junio del 2004, from <http://www.oznet.ksu.edu>.