



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE RICKETTSIOSIS EN PERROS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

SOLIS REDDING GABRIELA

ASESOR: M. en C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES CUAUTITLÁN.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

"Revisión bibliográfica de rickettsiosis en perros."

Que presenta la pasante: GABRIELA SOLIS REDDING

Con número de cuenta: 09057253-9 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuatitlán Izcalli, Méx. a 24 de abril de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Juan Pablo Martínez Labat	
VOCAL	M.V.Z. Fabiola Pineda Ramírez	
SECRETARIO	M.V.Z. Alfonso Gabriel Ruíz	
1er. SUPLENTE	M. en C. Salvador Carlos Flores Peinado	
2do. SUPLENTE	M. en C. Manuel Andrés González Toimil	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/javg

It was the best of times, it was the worst of times, it was the age of wisdom, it was the age of foolishness, it was the epoch of belief, it was the epoch of incredulity, it was the season of light, it was the season of darkness, it was the spring of hope, it was the winter of despair, we had everything before us, we had nothing before us...

Dickens

Agradecimientos

A Dios, por que siempre has estado presente.

A usted querido profesor Juan Pablo Martínez Labat, gracias por confiar en mí una vez más.

M. en C. Alan Olazábal Fenocho, gracias por entender y por disponer de cuanto pudo para ayudarme a lograr mi objetivo.

De vez en cuando, una persona sin agenda, sin motivos ocultos ni intereses personales se complace en ayudar a los demás a tener éxito, crecer y vivir su propósito. Esta persona opera en el amor, no busca ningún elogio y no desea nada a cambio. Esta persona es un regalo de Dios.

M. en C. Manuel Andrés González Toimil, ¡Gracias!

Dedicatorias

A mis padres,

por que desde siempre he tenido su apoyo incondicional. A ti mamá por que siempre has creído en mí, incluso cuando yo no creía que fuera posible.

A Margarita y Henet,

por que a travez de los años me apoyaste siempre y ahora tu fruto más preciado sigue tus pasos y me continúa animando.

A Mary Forzán,

*desde el principio de esta tesis y hasta el final se nota tu presencia, así también en mi vida,
¡Gracias mil!*

A Robbie e Iax,

mi motivo más fuerte, mi amor más grande, mi fuerza, mi inspiración, gracias por entender.

A Robbie

no hay palabras que logren expresar tanto, solo preguntas ; Cuánto me debía el destino que contigo me pago?... ¡Gracias a Dios por ti!

Índice

Lista de figuras	1
Lista de cuadros	1
Lista de abreviaturas.....	2
Introducción.....	4
Metodología.....	4
Objetivo.....	5
Acontecimientos históricos de las enfermedades rickettsiales.....	5
Enfermedades producidas por las rickettsias y su etiología.....	7
Sinonimias de las enfermedades	7
Especies susceptibles	8
Distribución geográfica	9
Etiología	11
Descripción del género	12
Clasificación	16
Epidemiología	21
Morbilidad.....	32
Mortalidad	34
Impacto de las enfermedades rickettsiales	36
Patogenia	37
Característica clínicas.....	48
Signos oftálmicos	49
Características clínicas en humanos	56
Diagnóstico de laboratorio	58
Diagnóstico serológico.....	59
Diagnóstico diferencial	65
Patologías clínicas	66
Lesiones macroscópicas.....	70
Lesiones microscópicas.....	71
Tratamiento	72
Control	76
Control químico.....	77

Control no químico	85
Prevención	88
Salud Pública	90
Conclusiones	91
Bibliografías.....	94

Lista de figuras

Figura	Título	Página
1	Desarrollo de <i>Ehrlichia spp</i> en una célula infectada.	13
2	Adhesión, invasión y replicación de <i>A. phagocytophilum</i> .	14
3	Algunas de las garrapatas transmisoras de rickettsiosis.	23
4	Piezas bucales de las garrapatas.	24
5	Cíclos de transmision que mantienen a los patógenos rickettsiales en las garrapatas transmitiendo la infección a perros y humanos.	26
6	Estructura de los órganos internos de las garrapatas.	29
7	Microfotografía <i>Rickettsia conori</i> seguida de la cola de actina.	38
8	Secuencia de invasión en las infecciones por rickettsias.	43
9	Patogenia de la infección por <i>Rickettsia rickettsii</i> .	47
10	Método correcto para quitar las garrapatas.	90

Lista de cuadros

Cuadro	Título	Página
1	Células blanco, distribución geográfica, vectores, hospederos y nombre de las enfermedades causadas por algunas <i>Rickettsias</i> .	15
2	Clasificación taxonómica del orden <i>Rickettsiales</i> .	16
3	Árbol filogenético del género de las familias <i>Rickettsiaceae</i> .	18
4	Niveles taxonómicos de algunas garrapatas.	20
5	Algunas isoxazolinas autorizadas para uso veterinario.	81
6	Antiparasitarios para perros con espectro contra garrapatas.	82
7	Porcentajes de mortalidad obtenidos en larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en el municipio de Hermosillo, Sonora y en 5 diferentes municipios del estado de Morelos.	84

Lista de abreviaturas

(PLC) – γ 2	Fosfolipasa C
μ L	Micro litros
16S rRNA	Gen 16s ribosomal RNA
AAP	Anticuerpo anti plaqueta
AAT	Antitripsina – alfa – 1
DNA	Ácido desoxirribonucleico
AGH	Anaplasmosis Granulocítica Humana
AGP	Glicoproteína ácida alfa – 1
APA	Anticuerpos Antiplaquetas
aPTT	Tiempo de Protrombina
ATP	Trifosfato de Adenosina
BChE	Butirilcolinesterasa
Ca ²⁺	Calcio
CD	Centro Denso
CID	Coagulación Intravascular Diseminada
CR	Cuerpo Reticular
CTn1	Troponina Cardíaca
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECV	<i>E. canis</i> Humana Venezuela
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EMC	Ehrlichiosis Monocítica Canina
EMH	Ehrlichiosis Monocítica Humana
FMMR	Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas
GMP	Monofosfato de Guanosina Dimérico cíclico
groESL	Complejo proteico (Chaperón molecular)
Hp	Hepatoglobina

IFI	Inmunofluorescencia Indirecta
IM1	Forma intermedia 1
IM2	Forma intermedia 2
INF- γ	Interferón gamma
IP ₃	Inositol trifosfato
kDa	Kilo Dalton
MIF	Microinmunofluorescencia
mmol/L	Mili mol por litro
Msp-2	Gene multifamiliar
NO	Óxido Nítrico
NOS2	Sintasa de Óxido Nítrico Inducible
Omcis-2	Om cistatina 2
OmpA	Proteína de membrana externa A
OmpB	Proteína de membrana externa B
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PO	<i>Per os</i> (Por vía oral)
PTT	Tiempo parcial de tromboplastina
qPCR	PCR cuantitativo
RBP – 4	Proteína de unión al retinol 4
s.l	<i>sensu lato</i>
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
TPR	Proteína de Repetición en Tándem
VDBP	Proteína de unión a la vitamina B
WGA	Amplificación del genoma completo
WGS	Secuencia del genoma completo

Introducción

Las rickettsiosis son un desafío para la salud pública a nivel mundial, siendo un problema emergente, complejo y con dificultad para su diagnóstico, son enfermedades de relevancia en el área de medicina humana y veterinaria, debido a su potencial letalidad; son padecimientos prevenibles y tratables mediante intervenciones de diversa complejidad, posiblemente todas accesibles, en la mayoría de los países que cuenten con recursos para invertir en esto.

Los perros que están expuestos a las garrapatas, son susceptibles a las mismas infecciones transmitidas por garrapatas que afectan a los humanos, esto incluye a *Rickettsia rickettsii*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum*. Debido a la estrecha relación que existe históricamente entre los humanos y los perros, evidenciar la presencia de infecciones rickettsiales en perros en una zona determinada puede ser de gran utilidad para determinar su presencia en humanos.

Debido a la interacción de múltiples factores, su abordaje requiere de un enfoque integrado, requiriendo de capacitación en este ámbito tanto del veterinario como del médico cirujano, del mejoramiento en la capacidad diagnóstica, inversión en la vigilancia epidemiológica con la participación de ambos tipos de profesionistas junto con la instancia de salud pública en el sector veterinario y humano.

La recopilación de esta información, se ha desarrollado con la finalidad de tener en un solo documento, acceso a información necesaria, actualizada y resumida de manera accesible, en referencia a las rickettsiosis en perros, para todos los profesionales en el área médica; la educación es la base del control de las enfermedades. La presente revisión ayudará a entender mejor las enfermedades rickettsiales en perros y su potencial zoonótico.

Metodología

Se realizó la recopilación de información recabada a partir de artículos, libros, revistas de divulgación científica, medios electrónicos, tesis y memorias de congresos; de los cuales se obtuvieron los aspectos más relevantes, inferencias y conceptos clave en referencia al tema de las rickettsiosis en perros integrándolas en este documento.

Esta documentación se analizó y posteriormente se organizó metódicamente para desarrollar cada uno de los aspectos de interés para el entendimiento de las rickettsiosis.

Objetivo

Recopilar información sobre rickettsiosis en perros, para integrar un documento que funcione como material de referencia para poder diagnosticar y entender los efectos de estas enfermedades. La revisión incluye historia natural de la enfermedad, epidemiología, diagnóstico, patología, zoonosis, prevención y control.

Acontecimientos históricos de las enfermedades rickettsiales

Las rickettsias son organismos intracelulares obligados que requieren de la participación de un artrópodo para completar su ciclo de vida. Las rickettsiosis tienen un importante papel dentro de las antropozoonosis en la historia de la humanidad, abarcando las diferentes variantes de las fiebres manchadas y tifo, mismas que han mermado la vida de más seres humanos que las guerras. En América, estas enfermedades pudieron haber existido antes de la conquista, pues se han encontrado en Perú artrópodos transmisores de estas enfermedades en momias. Las epidemias, conocidas como matlazahuatl, en 1575, 1576 y 1577 afectaron en un principio a la población mexicana indígena, pero conforme avanzaron, hicieron víctimas a las poblaciones mestizas, criollas y de clase acomodada. Hasta la primera mitad del siglo pasado se le relacionaba con las variaciones de los vientos, la suciedad y la infestación de piojos entre los indígenas. En total, provocaron alrededor de nueve millones de muertes (Mercado, 2010; Hernández, 2012).

En 1906, Howard Taylor Ricketts, demostró la transmisión de la fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR), a través de la picadura de la garrapata *Dermacentor occidentalis*. Ricketts desarrolla esta enfermedad y fallece en México en 1910 (Groß y Schäfer, 2011). La identificación y clasificación de las *rickettsias*, así como el descubrimiento de sus formas clínicas ocurrió en el siglo XX. Iniciada la década de los cuarentas, en varios estados de la República Mexicana se publican diversos casos de FMMR. En el período de 1930 a 1950, se informaron brotes de rickettsiosis en los estados de Coahuila, Durango, San Luis Potosí, Sinaloa y Sonora (SSA, 2014). En México en 1940 en el estado de Sinaloa, se refieren a un padecimiento febril que causaba muchas muertes y se caracterizaba por la presencia de hemorragias petequiales que a corto plazo se convertían en hemorragias extensas primero en manos y pies y después se extendían por todo el cuerpo. En 1940 se publican 19 casos y se producen 13 defunciones, en 1941 son ya 32 casos y 30 defunciones y para 1942 se publican 79 casos con 50 defunciones, después de realizar diversas sero-aglutinaciones para diagnóstico diferencial con resultados negativos, realizaron xeno-diagnóstico, inoculando sangre del enfermo a dos cobayos usando la vía peritoneal y después de 9 y 10 días de incubación estos desarrollaron signos de la enfermedad. Demostrando que la causa probable fue FMMR, que en años recientes se adaptó a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata café del perro), misma que se encuentra

ampliamente distribuida en Centro, Sudamérica, México y el mundo (Bustamante y Varela, 1944; Castillo, 2017).

Debido a que la evolución de las rickettsiosis guarda semejanza con otras enfermedades exantemáticas como dengue, su diagnóstico no es de primera intención, a pesar de que países como México tienen condiciones ecológicas y socioeconómicas propicias para su transmisión y esto se debe a que tanto en la parte de medicina humana como veterinaria estos agentes infecciosos son ignorados como parte de la preparación académica de los médicos. La FMMR es la de mayor morbilidad en el país al notificarse 2,616 casos en el periodo del 2009 – 2011 con una tasa de incidencia de 0.8 por cada 100 habitantes (Lugo *et al.*, 2017; CoNaVE, 2012), con índices de mortalidad hasta de 30% en pacientes pediátricos, menores de 15 años y con mayor incidencia en niños de 5 y 9 años (Álvarez *et al.*, 2013). Esta elevada mortalidad se asocia a diagnósticos y terapia retrasados, lo que propicia la aparición de formas atípicas y fulminantes de FMMR (Lugo *et al.*, 2017).

La FMMR se caracteriza por evolucionar en tres etapas características: la etapa aguda, etapa sub clínica y etapa crónica. Su diagnóstico está basado en los signos clínicos, anormalidades en los análisis clínicos y serología (Stiles, 2000). La doxiciclina se ha convertido en el antibiótico de elección para el tratamiento de esta rickettsiosis, estas enfermedades son comunes, identificadas en varios países de América y tienden a dispersarse a nuevas áreas o ya existen en ellas (del Campo *et al.*, 2010).

En 2010 en Yucatán, se presentó un reporte donde se sugería una alerta epidemiológica regional (Zavala *et al.*, 2006), se demostró que la FMMR estaba emergiendo en nuevas áreas debido a la dispersión de los vectores, o bien que la infección no era diagnosticada correctamente debido al bajo índice de sospecha y el poco acceso a las pruebas diagnósticas, por lo que ahora está presente en muchas áreas en donde hay sub diagnóstico (del Campo *et al.*, 2010).

En 1935 se describió por primera vez otra rickettsiosis: la ehrlichiosis causada por *Ehrlichia canis* en África (Little, 2010; Ismail *et al.*, 2010). El primer reporte de ehrlichiosis en humanos en México fue en 1997, en un paciente proveniente de Mérida, Yucatán (Biachi *et al.*, 1999).

La ehrlichiosis es una de las enfermedades transmitidas por garrapatas, más importante en América Latina, *Ehrlichia canis* es el agente causal de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC), (Saito, 2008). La anaplasmosis producida por varias especies de este género, también es una enfermedad ampliamente distribuida. Ambos géneros están estrechamente relacionados. *Ehrlichia* y *Anaplasma* afectan a células con origen en médula ósea (Beran, 1994). Debido a que

los dos agentes comparten el mismo vector, no es raro encontrar reservorios infectados por *Anaplasma* y *Ehrlichia* al mismo tiempo o de manera subsecuente (Gaunt *et al.*, 2010).

Enfermedades producidas por las rickettsias y su etiología.

Los nombres de las enfermedades varían dependiendo de su etiología y las células que emplean para multiplicarse, así entonces:

- *Anaplasma phagocytophilum* causa la anaplasmosis granulocítica humana (AGH), conocida también como anaplasmosis canina.
- *Anaplasma platys* causa trombocitopenia cíclica en el perro.
- *Ehrlichia chaffeensis* causa ehrlichiosis monocítica canina (EMC), conocida también como ehrlichiosis monocitotrópica canina o ehrlichiosis canina y en humanos causa ehrlichiosis monocítica humana (EMH).
- *Ehrlichia canis* causa pancitopenia tropical canina y también es conocida como ehrlichiosis monocítica canina (EMC), en humanos es conocida como ehrlichiosis.
- *Rickettsia rickettsii* es el agente causal de la fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR), tanto en animales como en humanos.

(Rar y Golovljova, 2011; Stiles, 2000; Groves *et al.*, 1975)

Sinonimias de las enfermedades

Estas enfermedades también son conocidas comúnmente como: Rickettsiosis Canina, Fiebre Tifoidea, o Desorden Hemorrágico para *Rickettsia rickettsii*. En el caso de la ehrlichiosis: Pancitopenia Tropical Canina, Fiebre Hemorrágica Canina, Enfermedad del Perro Rastreador o Tifus de la Garrapata Canina. Para anaplasmosis: Fiebre Petequial, Trombocitopenia cíclica del perro o Fiebre Maculosa (Rar y Golovljova, 2011; Stiles, 2000; Gutiérrez *et al.*, 2017; Harrus *et al.*, 1999).

Especies susceptibles

Las especies susceptibles varían dependiendo del vector y su función, como reservorios, alojando al agente causal de la enfermedad o como vector, transmitiendo la enfermedad de un organismo a otro.

Para *Anaplasma phagocitophilum* los reservorios son rumiantes, perros, caballos, roedores pequeños, venados, perros, gatos y humanos; sus vectores son las garrapatas del género *Ixodes*: *I. scapularis* (Estados Unidos), *I. pacificus* e *I. spinipalpis* (Estados Unidos), *I. rinicus* (Europa), e *I. persulcatus* (Asia y Rusia) (Dumler *et al.*, 1995; Johansson *et al.*, 1995; Engvall *et al.*, 1996; Parola *et al.*, 1998; Bjöersdorff, 1999), produciendo anaplasmosis granulocítica en la especie infectada (Parola *et al.*, 2005; Lorente, 2005; Bowman, 2003). Se ha encontrado ácido desoxirribonucleico (DNA), de *A. phagocitophilum* en *Dermacentor reticulatus*, *D. variabilis*, *D. occidentalis*, *Haemaphysalis concinna*, *Amblyomma americanum* e *Ixodes ventraloi*, pero su función epidemiológica para el ciclo de *A. phagocitophilum* aún no se ha definido (Murray *et al.*, 2009; Rar y Golovljova, 2011; Battilani *et al.*, 2017).

Para *Anaplasma platys* sus reservorios son los perros y los vectores son las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* s.l en sus linajes tropical y templado, esta garrapata tiene tres hospederos (Cicuttin *et al.*, 2015; Goodman *et al.*, 2005; Simpson *et al.*, 1991), pero también se ha detectado en *Dermacentor auratus*, *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis longicornis*, *Rhipicephalus turanicus* y también el piojo *Heterodoxus spiniger* (Murray *et al.*, 2009; Rar y Golovljova, 2011; Battilani *et al.*, 2017). En 2005 Brown *et al.* confirman la presencia de DNA de *A. platys* en el piojo *Heterodoxus spiniger* encontrado en perros, y lo presentan como posible vector en Australia, ya que aun cuando está clasificado como piojo mordedor comúnmente se alimenta de residuos epidérmicos y también se alimenta de sangre (Brown *et al.*, 2005; Izzard, 2010).

Para *Ehrlichia canis* sus reservorios son los caninos domésticos y salvajes, sus vectores son las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Cicuttin *et al.*, 2015; Almazán *et al.*, 2016; Murphy *et al.*, 1998), y *Dermacentor variabilis* también es capaz de transmitir la enfermedad de manera experimental (Harrus *et al.*, 1999; Nicholson *et al.*, 2010). Costa *et al.* (2007) sugieren se considere la posibilidad de que la garrapata *Amblyomma cajennense*, como vector para *E. canis*. También hay reportes donde el DNA de *E. canis* ha sido detectado en pulgas (Insecta: Siphonaptera), *Xenopsylla cheopis* y *Cediopsylla inaequalis* de zorros (*Vulpes vulpes*), en áreas rurales ubicadas al sur de Italia, estos datos nos indican que es imprescindible investigar la participación de las pulgas en la transmisión de *E. canis* y su importancia médica y veterinaria (Gutiérrez *et al.*, 2017).

Para *Ehrlichia chaffeensis* los reservorios son el venado cola blanca, el perro y otros cánidos, mapaches y humanos, sus principales vectores son las garrapatas *Amblyomma americanum*, también llamada garrapata estrella solitaria (Lone star tick), esta garrapata tiene tres hospederos (Goodman *et al.*, 2005) y es considerada su principal vector (Parola *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 1993; Dawson *et al.*, 1994 Lorente, 2005; Gutiérrez *et al.* 2017). También *Dermacentor variabilis* (Murray *et al.*,2009; Rar y Golovljova, 2011) y se ha demostrado que *Rhipicephalus sanguineus* es capaz de transmitir *E. chaffeensis* (Stoffel *et al.*, 2014). La infección causada por *E. chaffeensis* es serológicamente indistinguible de la causada por *E. canis* o *E. ewingii*.

Para *Rickettsia rickettsii* sus reservorios son mamíferos pequeños y medianos (roedores y perros) y sus vectores son las garrapatas *Dermacentor variabilis*, *D. andersoni*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense* y *Amblyomma aureolatum* (Murray *et al.*,2009; Rar y Golovljova, 2011; Buitrago y Pachón, 2008; Woods, 2013; Chen y Sexton, 2008).

Distribución geográfica

Históricamente estas enfermedades son endémicas en regiones tropicales y subtropicales, pero se publica su presencia cada vez más en regiones de clima templado. Ello puede atribuirse a varios factores, los cuales incluyen: el mejoramiento en las herramientas de diagnóstico, la extensa movilización de animales reservorios de la enfermedad, el aumento en el número de humanos susceptibles, los cambios ambientales y climáticos, (calentamiento global) que influyen directamente en la distribución de las garrapatas y la gran cantidad de viajes con mascotas de un lugar a otro del planeta, estos son los factores que han contribuido al establecimiento de estas enfermedades en áreas no endémicas (Gutiérrez *et al.*, 2017; Doudier *et al.*, 2010; Walker, 2003; Irwin y Jefferies, 2004). Esta situación debe concientizar a los médicos a considerar en su diagnóstico enfermedades exóticas, no nativas del lugar donde están siendo diagnosticadas, aunque en realidad más que etiologías exóticas, se trata de entidades que han sido ignoradas, de las que no se sabe en realidad en la mayoría de los casos, cuanto tiempo tienen de estar presentes y que además, no entran en el horizonte diagnóstico del médico, en razón de que en los cursos básicos, dentro de sus programas académicos, no se incluye esta información (Gutiérrez *et al.*, 2017; Doudier *et al.*, 2010; Walker, 2003). Los cambios ecológicos han venido influyendo en la dispersión, primero de los vectores y después en la diseminación de la presencia de las rickettsias, por lo que la dispersión de vectores y agentes infecciosos es un fenómeno creciente (Stoffel *et al.*, 2014; Dantas, 2010).

El primer diagnóstico e identificación de la ehrlichiosis fue en Estados Unidos en 1962, en perros utilizados en la guerra de Vietnam, que regresaron al continente americano, muy probablemente la ehrlichiosis ingresó por la frontera norte del país a través de la fauna reservoria (Huxsoll *et al.*, 1970).

Las rickettsias tienen distribución mundial, incluyendo Asia, África, Europa y América (Estados Unidos, México, Panamá, Costa Rica, Noreste de Argentina, Brasil y Colombia), (Barba, 2009; Greene, 2013; Dantas, 2007; Parola *et al.*, 2005; Beran, 1994).

Es en México, donde Hoffman realiza la primera descripción de la presencia de fiebre manchada en 1925, también de los años treinta a los cincuenta se presentan brotes de rickettsiosis en algunos estados de la zona noroeste de México (SSA, 2014). México tiene las características ecológicas y socioeconómicas propicias para la transmisión de esta enfermedad (Lugo *et al.*, 2017); Por lo tanto, esta enfermedad pudiera estar emergiendo en nuevas áreas (Zavala *et al.*, 2006).

En México hay evidencia de garrapatas infectadas con *R. rickettsii* en los estados de Sonora, Sinaloa, Durango, San Luis Potosí, Nuevo León y Veracruz, formando una banda que se extiende desde el Golfo de California en la costa noroeste hacia la costa del Golfo de México y desciende hacia el sureste (McDade *et al.*, 1986; Hernández, 2010; Vargas *et al.*, 2014). En el estado de Coahuila se realizó un muestreo, donde se colectaron al azar 217 garrapatas en 72 perros domésticos, la garrapata más abundante fue *Rh. sanguineus*, por medio de pruebas de PCR se detectaron las garrapatas positivas al género *Rickettsia spp*, solo del 1 al 5% estaban infectadas por rickettsias (Castillo *et al.*, 2015). En el estado de Sonora la FMMR es una reemergencia sanitaria y un problema creciente en salud pública, en el año 2002 se confirmaron más de 600 casos en humanos (Hernández, 2010).

La FMMR causada por *Rickettsia rickettsii* es una enfermedad publicada en Costa Rica desde 1977 con casos en humanos, originalmente provenientes de zonas endémicas del bosque tropical húmedo; sin embargo, recientemente se han confirmado casos en habitantes de la meseta central, de zonas urbanas como San José (Hun, 2013).

Ehrlichia canis tiene una distribución cosmopolita, incluyendo Asia, África, Europa y América (Rar y Golovljova 2011; Almazán *et al.*, 2016; Ramírez *et al.*, 2016). En México, ya se encuentra en todo el país, siendo más frecuente en las zonas tropicales y subtropicales como Veracruz, Sonora, Yucatán (Mil, 2005). En su estudio Rodríguez *et al.* (2004), en Yucatán, publicaron la presencia de *E. canis* en el 44% de los perros en su estudio (53 / 120), donde su principal vector es la garrapata *Rh. sanguineus* s.l (Cicuttin *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2004); al parecer Australia y Nueva Zelanda están libres de la infección por *E. canis* (Gutiérrez *et al.*, 2017; Fourie *et al.*, 2013; Sykes, 2013).

Ehrlichia chaffeensis se ha logrado identificar por PCR en perros de Estados Unidos, Asia (Corea del sur, Corea de norte, India y Japón), en América del norte y América del sur (Argentina,

Venezuela, México, Brasil, Chile y Perú), y África (Camerún), (Gutiérrez *et al.*, 2017; Yabsley, 2010; Taira *et al.*, 2018; Dumler, 2013).

Existe evidencia molecular de *Anaplasma platys* en perros, en América del sur hay reportes en Argentina, Brasil, Chile y Venezuela (Carvalho *et al.*, 2017). También está ampliamente distribuida en Europa, Estados Unidos y Asia (Battilani *et al.*, 2017).

La distribución de *Anaplasma phagocytophilum* es mundial, con reportes en Europa, Rusia, Estados Unidos y África (Vlahakis *et al.*, 2018).

Etiología

Las enfermedades rickettsiales son causadas por microorganismos que podrían considerarse como intermedios entre bacterias y virus, ya que comparten características de ambos; son similares a las bacterias por que utilizan oxígeno, emplean enzimas en su metabolismo, son susceptibles a algunos antibióticos y tiene pared celular (Greene, 2013). Sin embargo, son organismos intracelulares obligados y se multiplican dentro de las mismas células, como los virus (Murray *et al.*, 2009).

Actualmente hay tres grupos comúnmente clasificados como enfermedades rickettsiales. sus agentes etiológicos son:

- ***Rickettsia spp*** bacteria causal de los diferentes tipos de rickettsiosis, incluyendo a todas las etiologías de las fiebres manchadas y el grupo tífus.
- ***A. phagocytophilum*, *A. platys*, *E. chaffeensis* y *E. canis*** bacterias de la familia *Anaplasmataceae*, (la cual ha sido reorganizada), ocasionan ehrlichiosis y anaplasmosis.
- ***Orientia tsutsugamushi*** bacteria causal de la fiebre tsutsugamuchi, la cual, no será incluida en esta revisión (Parola *et al.*, 2005).

La familia *Rickettsiaceae* abarca dos géneros de bacterias intracelulares obligadas que viven dentro del citosol, llamadas *Rickettsia* y *Orientia*. En la 2da edición del Manual de Bacteriología Sistémica de Bergey la clasificación es similar a la propuesta por Dumler *et al.* (2001), si bien incluye los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* dentro de la familia *Ehrlichieae*, en lugar de en la familia *Anaplasmataceae* (Lorente, 2005; Murray *et al.*, 2009; Valbuena, 2010).

Las especies incluidas en esta revisión bibliográfica para el género *Ehrlichia* son: *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* y para el género *Anaplasma* son: *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys* y para *Rickettsia*: *Rickettsia rickettsii*.

Descripción del género

Las rickettsias son bacterias pequeñas que miden de 0.3 a 0.5 μm por 0.8 a 2 μm , son intracelulares obligadas, pueden presentarse con la forma de cocos, bacilos o cocobacilo (Ryan y Ray, 2004; Barba, 2009), su afinidad tintorial es de gram negativos, con una pared celular que contiene lipopolisacáridos, similar a la observada en bacterias gram negativas (Barba, 2009), tienen también ribosomas y peptidoglicanos (Walker, 1996). Presentan dos proteínas de superficie de membrana inmunodominantes denominadas proteínas de membrana externa o proteína transmembranal A (OmpA) (192 – kDa) y proteína transmembranal B (OmpB) (135 – kDa) (Ryan y Ray, 2004; Barba, 2009; Chen y Sexton, 2008). En el caso de *Rickettsia rickettsii*, recientemente se ha demostrado que no solamente la proteína OmpA sino también la proteína OmpB, están relacionadas con la adherencia (Yu y Walker, 2006; Opfer, 2009). Las proteínas OmpA y OmpB son importantes porque contienen epítopes específicos de especie, los cuáles proveen las bases para la serotipificación de las rickettsias mediante la utilización de pruebas de microinmunofluorescencia indirecta (Magnarelli y Anderson, 1993; Barba, 2009), se utilizan también como antígeno de referencia para la técnica de fijación de complemento, aglutinación, hemoaglutinación indirecta, la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), y la prueba de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), logrando así identificarlas (Li y Walker 1998; Ryan y Ray, 2004; Murray et al., 2009; Barba, 2009; Chen y Sexton, 2008; Suárez et al., 2008).

Los agentes causales de las enfermedades rickettsiales requieren de una serie de adaptaciones especializadas que incluyen una proteína de transferencia de trifosfato de adenosina (ATP), para poder adquirir ATP del hospedero (Beran, 1994). Son varias las adaptaciones que presentan, algunas de las cuáles proporcionan información sobre el mecanismo por el cual las células del hospedero son dañadas por el crecimiento y proliferación normal de dichas bacterias (Beran, 1994).

Los miembros de la familia *Anaplasmataceae* que incluyen a *Ehrlichia* y *Anaplasma* presenta tres estadios diferentes: cuerpos elementales (unidad bacteriana), cuerpos iniciales y mórulas dentro de la célula infectada (Llop et al., 2001). Los cuerpos elementales o células de centro denso (CD), son las formas maduras infectantes extracelulares, las cuales miden de 0.4 a 0.6 μm de diámetro (Ismail y Mc Bride, 2017). Estos elementos se adhieren a la superficie de la célula diana y entran por endocitosis mediada por caveolas, (bolsas celulares lipídicas). Dentro de la célula hospedera, las bacterias se desarrollan dentro de la vacuola rodeada de membrana plasmática celular, donde crean un nicho para la supervivencia y la reproducción. Las formas CD

se transforman en una forma intermedia 1 (IM1) y subsecuentemente pasan al cuerpo reticular (CR), (0.4 a 0.6 μm de ancho por 0.7 a 1.9 μm de largo), (Ismail y Mc Bride, 2017). La forma CR se multiplica por fisión binaria, incrementando en número y forman inclusiones citoplasmáticas inmaduras de 1.0 a 2.5 μm de diámetro, denominadas cuerpos iniciales. Después se transforman en la forma intermedia 2 (IM2), hasta formar las mórulas (vacuola con 20 a 40 cuerpos elementales), las cuales pueden observarse en el microscopio de luz óptica como inclusiones intracitoplasmáticas que se colorean de azul con las coloraciones tipo Romanowski (generalmente la coloración rápida de Diff-Quik o Hemacolor). Las mórulas pueden ser redondas y miden aproximadamente de 4 a 6 μm de diámetro o también pueden ser ovaladas y son las formas características utilizadas para el diagnóstico microscópico. Después de unos pocos días, los cuerpos elementales se liberan de la vacuola y quedan libres fuera de la célula para iniciar un nuevo ciclo infeccioso (Gutiérrez *et al.*, 2017). Este proceso se completa en 72 horas (Ismail y Mc Bride, 2017).

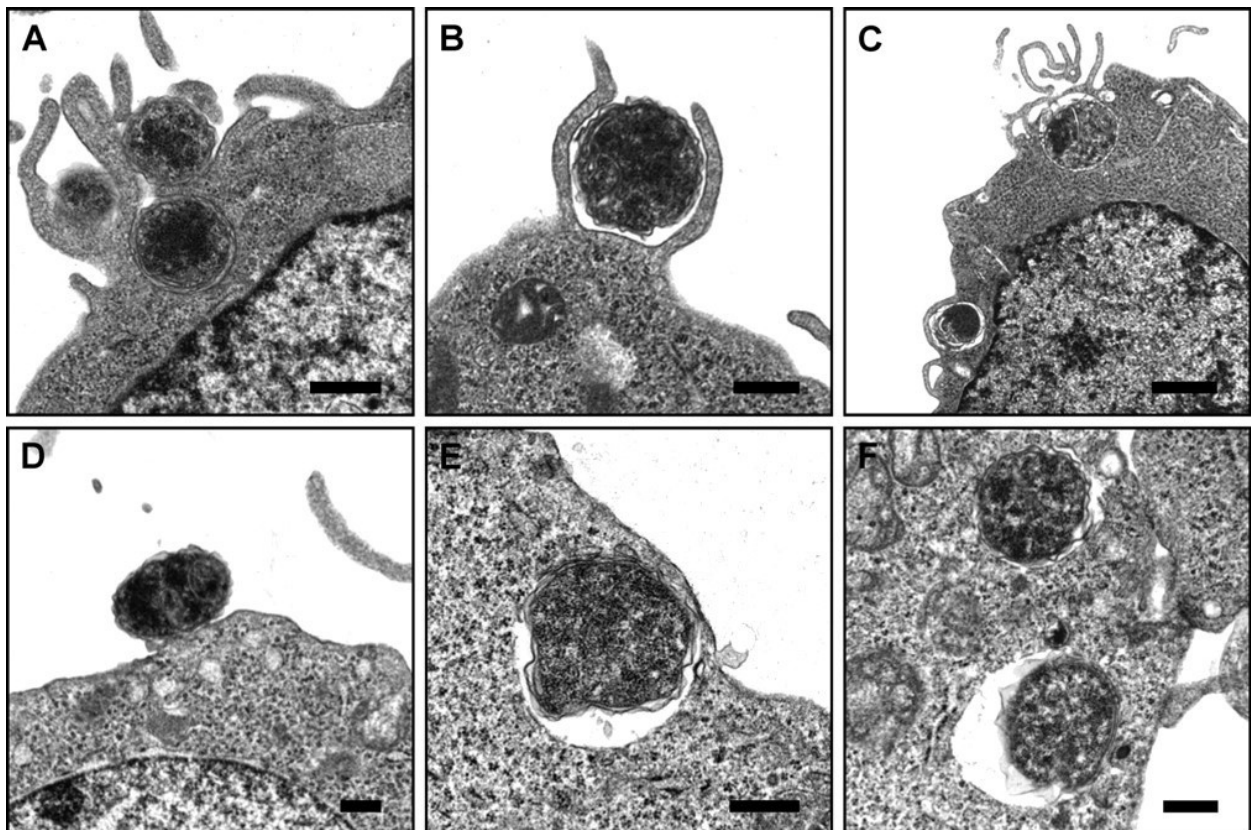


Figura 1. Desarrollo de *Ehrlichia* spp en una célula infectada.

Ehrlichia y *Anaplasma* sobreviven y se multiplican dentro de vacuolas, rodeadas de una membrana derivada del citoplasma de la célula eucariótica (Izzard, 2010), mientras que las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas, realizan su crecimiento dentro del núcleo de las células eucarióticas del hospedero, donde se multiplican por fisión binaria (Barba, 2009; Llop *et al.*, 2001; Weiss, 1973; Izzard, 2010; Gutiérrez *et al.*, 2017).

Los anaplasmas contienen un gran número de secuencias repetidas de DNA en las proteínas de membrana externa, estas repeticiones son consideradas un gen multifamiliar: el gen *msp-2* que ha sido encontrado en todas las especies de *Anaplasma* excepto *A. platys* (Yu y Walker, 2006). 16S de los ribosomas rRNA es un gen bien definido inmunoreactivo y se mantiene en los organismos rickettsiales, lo cual sugiere que tienen un ancestro en común. La proteína de membrana externa presenta el gen 28-kDa (p28), presente en todas las especies de *Ehrlichia* incluyendo *E. chaffeensis* y *E. canis*. En el caso de *E. chaffeensis* consiste de 22 genes, cada uno tiene tres regiones hipervariables mayores y se organizan dentro de un mismo locus cromosomal. Evidencia proteómica en los genes, indica que hay dos proteínas que se expresan predominantemente en las células de mamíferos por *E. chaffeensis*, p28 -19 y p28 - 20 y en las células de las garrapatas expresa la proteína p28 - 14. La glicoproteína gp120 de *E. chaffeensis* es una proteína inmunoreactiva de superficie expuesta y se encuentra en la superficie de la matriz fibrilar de la mórula (Yu *et al.*, 2007).

Figura 2. Adhesión, invasión y replicación de *A. phagocytophilum*.



Adhesión, invasión y replicación de *A. phagocytophilum*. **A a C.** A los 40 min, se observó que los organismos de Cuerpo Denso se unían y desencadenaban su propia captación por las células. **D a F.** A las 4 h, algunos organismos de Cuerpo Denso permanecieron unidos a la superficie de la célula, mientras que otros se habían internalizado en vacuolas que estaban muy cerca de la superficie de la célula huésped. Incubación en células HL-60 (promielocitos neutrofilicos), (Troese y Carlyon, 2009).

El gene 16S rRNA de *E. canis* presenta del 99.9 % al 100 % de similitud entre las cepas de América del Norte y América del sur, Asia, Japón y del Medio Oriente. La proteína p28 en *E. canis* consiste en 25 genes y también es conocida como p30. La diversidad en las especies de *Ehrlichia* podría ser causada por las diferencias entre sus hospederos y vectores, hay mayor variación entre *E. chaffeensis*, que se ha adaptado a un mayor número de hospederos y está más diversificada que en el caso de *E. canis*, que es transmitida principalmente por *R. sanguineus* y está más restringida a hospederos caninos, con menor variación y plasticidad. Indicando, tal vez, que las *Ehrlichias* que hayan aparecido antes tengan mayor diversidad y un mayor número de hospederos y vectores que las *Ehrlichias* con menor diversidad que hayan evolucionado más recientemente (Yu *et al.*, 2007).

Cuadro 1. Células blanco, distribución geográfica, vectores, hospederos y nombre de las enfermedades causadas por algunas Rickettsias.

Especie	Células infectadas en vivo	Distribución	Vectores primarios	Hospederos principales	Enfermedades
Anaplasma phagocytophilum	Granulocitos	Mundial	<i>Ixodes spp</i> (<i>scapularis</i> , <i>pacificus</i>)	Rumiantes, perros, caballos y roedores	Anaplasmosis Granulocítica Humana (HGA), fiebre por garrapatas en rumiantes, Anaplasmosis equina, Anaplasmosis en perros y gatos
Anaplasma platys	Plaquetas	EE UU, Europa y Asia	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perros	Trombocitopenia cíclica den perros
Ehrlichia chaffeensis	Monocitos / macrófagos	EE UU, África, América y Asia	<i>Amblyomma americanum</i>	Venado cola blanca, perros, cabras, coyotes, mapaches, humanos	Ehrlichiosis monocítica humana (HME), Ehrlichiosis canina
Ehrlichia canis	Monocitos / macrófagos	Mundial	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor variabilis</i>	Perros, canidos salvajes y caninos	Ehrlichiosis monocítica canina, Ehrlichiosis en humanos*
Rickettsia rickettsii	Citoplasma de células endoteliales	América del norte y América del sur	<i>Dermacentor andersoni</i> , <i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Amblyomma</i>	Pequeños mamíferos, perros, conejos, aves	Fiebre manchada de las montañas rocosas (FMRR)

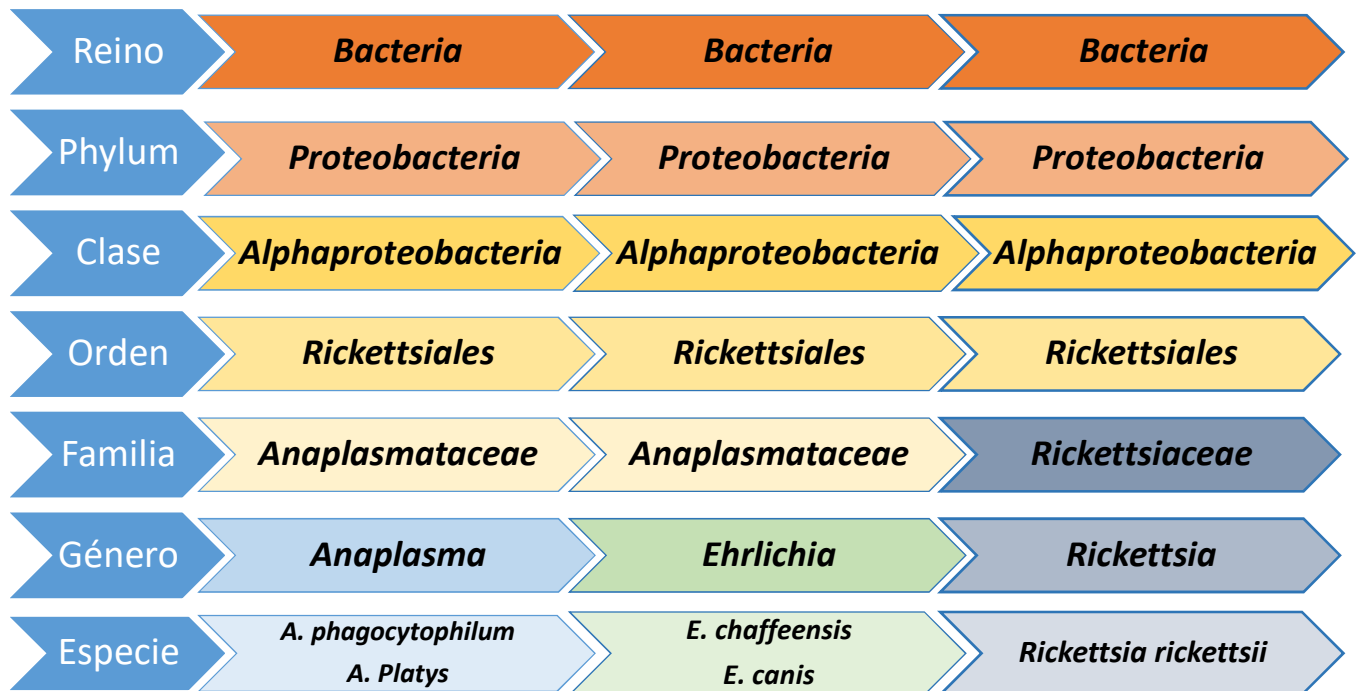
*Casos raros de infección.

Infection, Genetics and Evolution. (Parola *et al.*, 2005; Azad-Beard, 1998; Rar-Golovljova, 2011; Lin y Decker, 2012; Gutiérrez, 2017)

Clasificación

Con el avance de las técnicas científicas de clasificación genética, ahora mucho más objetivas, como lo son el análisis secuencial de nucleótidos, el análisis de aminoácidos de las proteínas de la membrana externa y los análisis antigénicos, se ha llevado a cabo la reorganización taxonómica de estos agentes bacterianos. La clasificación genética de los microorganismos, es la más avanzada, en lo que se refiere a su capacidad de predecir los comportamientos biológicos y la enfermedad producida por los agentes infecciosos incluidos en el mismo grupo (Dumler *et al.*, 2001).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del orden *Rickettsiales*.



Clasificación taxonómica del orden *Rickettsiales* (Adaptado de Dumler *et al.*, 2001; Garrity *et al.*, 2005; Sumner *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997).

Antes de poder obtener información genética con la facilidad que se puede obtener ahora, el género *rickettsia* estaba dividido en dos grupos: tifo y fiebres manchadas, esta clasificación era con base a las características biológicas e inmunológicas. La disponibilidad actual de información genómica de más de 20 especies de rickettsias ha permitido formular una nueva

clasificación basada en la comparación de los genomas completos. Esta nueva clasificación las divide en cuatro grupos como sigue:

- 1) Grupo ancestral
- 2) Grupo tifo
- 3) Grupo de las fiebres manchadas o exantemáticas, consistente de un gran número de rickettsias entre las que se destaca *Rickettsia rickettsii*.
- 4) Grupo transicional.

(Sahni, 2013; Murray *et al.*, 2009)

A partir del hallazgo de la secuencia 16S rDNA y basándose en las secuencias de los análisis antigénicos, se publicó un artículo en el Diario Internacional de Microbiología Sistemática Evolucionaria, en el cual proponen, una reorganización de estas especies a través de la eliminación de las tribus de la familia *Rickettsiaceae* y la incorporación de las especies de la anteriormente denominada tribu *Ehrlichieae* a la familia *Anaplasmataceae* (Sumner *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997; Dumler *et al.*, 2001). El orden de los *Rickettsiales* fue reclasificado de tal manera, que los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* y *Wolbachia* se incorporan a la Familia *Anaplasmataceae* dentro del orden Rickettsiales y del *Phylum* Proteobacteria (Parola *et al.*, 2005; Yu y Walker, 2006; Raoult *et al.*, 2005); reorganizándolas en cuatro grupos genéticos (Dumler *et al.*, 2001):

- Grupo 1: Amplía el género *Anaplasma*, incluyendo en él, además de las especies hasta entonces incluidas: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* y *Anaplasma caudatum* a las siguientes especies: *Ehrlichia phagocytophila* (hoy llamada *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (actualmente *Anaplasma bovis*), y *Ehrlichia platys* (hoy *Anaplasma platys*). La especie tipo es *A. marginale*.
- Grupo 2: El género *Ehrlichia* se amplía con la inclusión de *Cowdria ruminantium* (ahora *Ehrlichia ruminantium*). *Ehrlichia canis*; otras especies de este género son *Ehrlichia chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*.
- Grupo 3: El género *Neorickettsia*, cuya especie es *N. helminthoeca*, quedaría ampliado al incluirse en el mismo las especies *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (que pasan a denominarse *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente).
- Grupo 4: *Wolbachia pipientis* ahora será el único miembro del género *Wolbachia*.

(Dumler *et al.*, 2001)

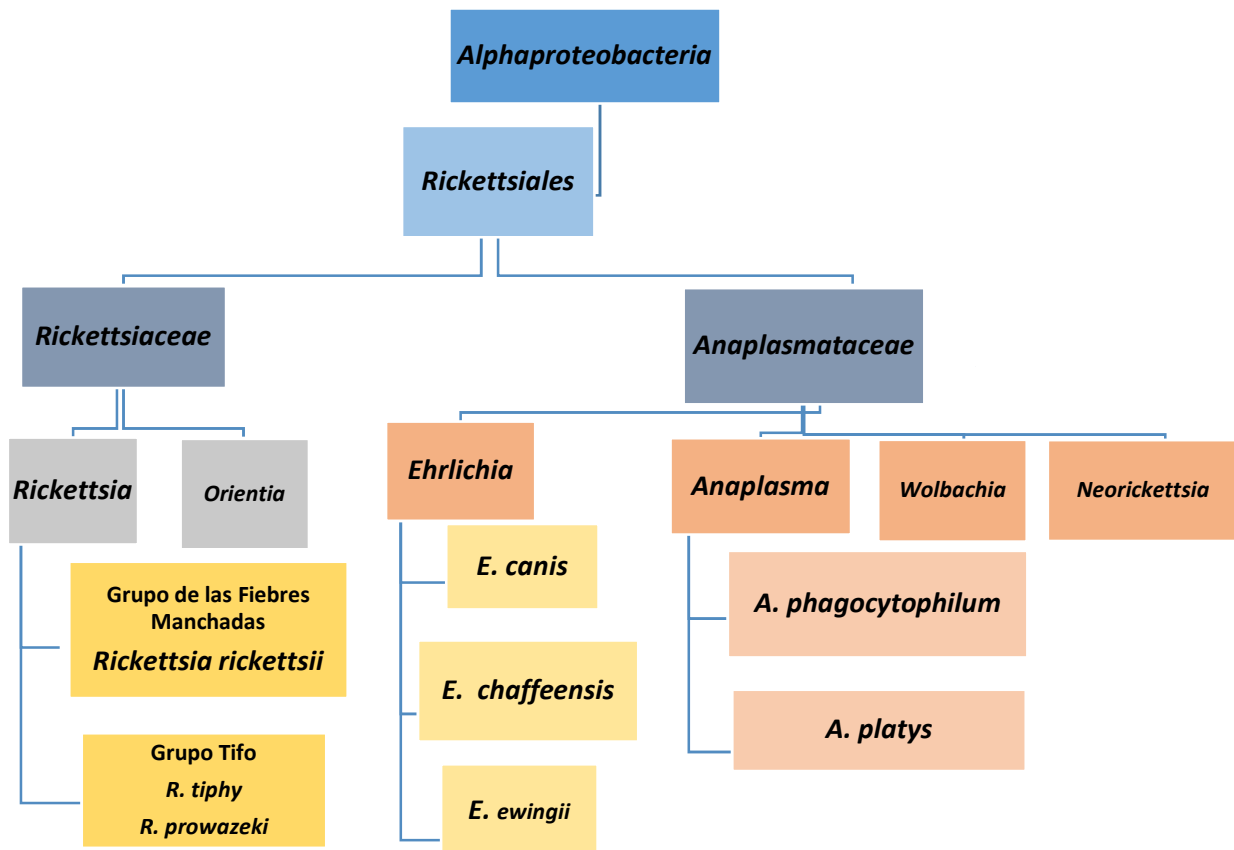
La familia *Rickettsiaceae* incluye a *Orientia* y *Rickettsia* (Raoult *et al.*, 2005). La filogenia del género *Rickettsia* está cercanamente relacionada, tienen una gran similitud en la secuencia de nucleótidos 16S rDNA; la cual, de manera histórica ha ocasionado la reacción cruzada con algunas cepas de *Proteus*, mismas que se utilizaron para la clasificación de las rickettsias en sus

tres grupos y subsecuentemente la *R. tsutsugamushi* fue reclasificada dentro del género *Orientia* (Raoult *et al.*, 2005).

Anaplasma phagocytophilum comprende actualmente las especies anteriormente denominadas como *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* y el agente causal de la ehrlichiosis granulocítica humana. Estudios genéticos determinaron la consolidación de estos tres agentes como una única especie (Dumler *et al.*, 2001; Parola *et al.*, 2005).

Ehrlichia ewingii presenta una fuerte reacción serológica cruzada con *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis*, la seroreactividad con *A. phagocytophilum* es mucho más débil (Buller *et al.*, 1999; Wolf *et al.*, 2000; Paddock *et al.*, 2001). Antigenicamente *E. chaffeensis* y *E. canis* presentan una elevada reacción cruzada, esto es debido a su homología genética en las proteínas de membrana expuestas. La homología en la secuencia *groESL* entre *E. chaffeensis* y *E. canis* es del 92.4 % (Rikihisa, 1999).

Cuadro 3. Árbol filogenético del género de las familias *Rickettsiaceae*.



Árbol filogenético de los distintos géneros en las dos familias en el grupo de las *Rickettsiaceae* (Basado en Dumler *et al.*, 2001; Garrity *et al.*, 2005).

En un estudio de tipificación genética basado en el análisis de 783 nucleótidos publican que *R. rickettsii* aisladas de humano y garrapatas en brotes de FMMR en Mexicali presentaron un genotipo único, diferente del genotipo de *R. rickettsii* transmitido por la garrapata café del perro y causante de FMMR en Arizona, demostrando así que los brotes de FMMR en Arizona y Mexicali fueron independientes y que las cepas de *R. rickettsii* eran distintas (Eremeeva *et al.*, 2011).

Se debe considerar la importancia del papel de las garrapatas, ya que son ectoparásitos obligados, de hábitos evolutivos hematófagos, que parasitan una gran diversidad de especies animales y ocasionalmente humanos. Se alimentan de sangre para sobrevivir y reproducirse. Necesitan de uno, dos o tres hospederos para completar su ciclo de vida (Goodman *et al.*, 2005), y dada su forma de alimentación son vectores y reservorios potenciales de agentes patógenos como las borrelias y rickettsias (Castillo *et al.*, 2015).

Los hábitos hematófagos de las garrapatas, hace que se les considera el segundo grupo más importante asociado a la transmisión de enfermedades a humanos después de los mosquitos. Tienen gran importancia médica y veterinaria, ya que producen daño directo e indirecto a su hospedero a través de la inoculación de organismos patógenos (Castillo, 2017).

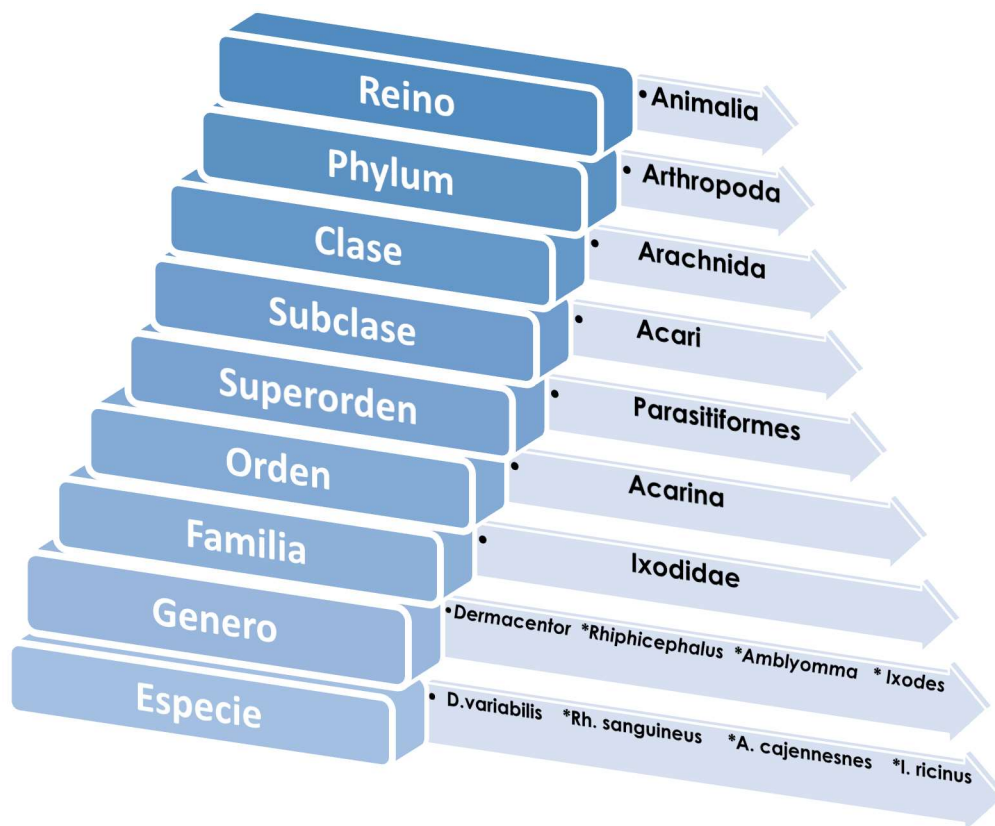
Las garrapatas de la familia Ixodidae agrupan seis subfamilias, 12 géneros y 683 especies; de los géneros que la constituyen, en esta revisión bibliográfica, solamente se incluirá a: *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma* y *Dermacentor* (Bowman, 2003).

Los miembros de la familia *Ixodidae* son garrapatas duras (tienen el cuerpo fuertemente quitinizado), presentan un escudo que en los machos cubre totalmente la parte dorsal y en las hembras solamente cubre una parte de la superficie dorsal. Las hembras ponen huevos por miles en una sola ocasión (después mueren), *Rh. sanguineus* normalmente deposita de 4,000 y hasta 7,273 huevos (Dantas, 2008; Bowman, 2003). Las larvas, ninfas y adultos se alimentan una sola vez y se requieren entre 5 y 21 días, para que la garrapata esté ingurgitada (repleta de sangre), normalmente viven fuera del hospedero y se unen a él cuando este pasa por donde ellas están (Castillo, 2017; Bowman, 2003).

La distribución geográfica y el hábitat de muchas especies, está controlada por la temperatura ambiental. Pueden sobrevivir en condiciones adversas, pero prefieren humedad alta; la falta de humedad atmosférica puede romper su ciclo de vida. Las larvas de *Rhipicephalus spp.* pueden sobrevivir hasta 43 días con 84 % de humedad relativa, pero sufren daños si la humedad disminuye del 63 %. Todas las garrapatas de la familia Ixodidae son susceptibles a la falta de humedad. La baja humedad relativa tiene efecto directo sobre el porcentaje de garrapatas durante las épocas del año que tienen mayor actividad (Bowman, 2003).

Temperaturas de entre 15 y 37 °C disminuyen el umbral de oviposición. Las garrapatas ponen sus huevos bajo la vegetación donde hay sitios húmedos, frescos y libres de radiación solar, buscando un microclima ideal para la oviposición; asegurando así, una eclosión alta. Cuando las larvas emergen se refugian en la sombra de pastizales, maleza o debajo del suelo para protegerse del sol y evitar desecarse; para buscar alimento trepan a la vegetación, muros u otras estructuras en las horas frescas del día en espera de hacer contacto con hospederos potenciales. Aunque existen especies de garrapatas que parasitan animales de su preferencia, cualquier hospedador puede llegar a constituirse en su presa, es por esto que el humano es un hospedero incidental (Castillo *et al.*, 2015).

Cuadro 4. Niveles taxonómicos de algunas garrapatas.



Clasificación taxonómica de algunas garrapatas tomada y modificada de Hoskins, 1991 (Castillo, 2017; Bowman, 2003).

La mayoría de los vertebrados son susceptibles al ataque de garrapatas por el calor corporal que emanan, la exhalación de CO₂ y el ácido butírico que éstos desprenden. Las larvas se pueden mover hasta 8 metros de su sitio original y trepan a la maleza o los pastizales para acceder a sus hospederos (Goodman *et al.*, 2005).

Epidemiología

La ehrlichiosis monocítica canina llega al continente americano en 1962, con perros militares de Estados Unidos usados en Vietnam, dando como resultado la muerte de aproximadamente 200 animales (Huxsoll *et al.*, 1970). Desde entonces se ha publicado una alta morbilidad y mortalidad entre perros domésticos y otros miembros de la familia *Canidae* en países de todo el mundo, sobre todo en regiones tropicales y subtropicales del planeta, esto en concordancia con la presencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Harrus *et al.*, 1999). Maeda *et al.* (1987) publicaron el primer caso de ehrlichiosis monocítica humana cuando se observó en el frotis sanguíneo de un paciente febril, cuerpos de inclusión intraleucocitarios. Para ese momento se pensó que podría tratarse de *E. canis* por la semejanza morfológica, ultraestructural y por la reacción positiva del suero de este paciente con antígeno de *E. canis*, pero después de analizar la secuencia genética, demostraron que era una especie diferente, a la que propusieron con el nombre de *Ehrlichia chaffeensis*, misma que también puede infectar a perros y el primer reporte fue en Estados Unidos (Dawson *et al.*, 1996; Gutiérrez, 2016).

No hay preferencia en cuanto a edad o sexo de los perros afectados ni tampoco preferencia en cuanto a razas, aunque el pastor alemán aparentemente es una raza más susceptible a la infección con *E. canis* que otras, la enfermedad es más severa y el pronóstico es malo, en comparación con otras razas. Se ha documentado que en el Pastor Alemán la respuesta inmune a nivel celular contra *E. canis* está disminuida, comparada con la de los perros Beagle (Harrus y Waner, 2011).

A grandes rasgos, la infección del perro y los humanos ocurre cuando las garrapatas infectadas ingieren sangre y sus secreciones salivales contaminan el sitio donde se alimentan. La saliva de la garrapata contiene una variedad de moléculas anticoagulantes, antiinflamatorias e inmunoreguladoras que facilitan la adquisición y transmisión del patógeno, pero para poder comprender el ciclo de vida de las enfermedades rickettsiales, es indispensable tener una idea muy clara del papel vital que juegan las garrapatas, principalmente en su patrón de alimentación y su ciclo de vida, para fungir como vectores en la transmisión de estas enfermedades.

El ciclo de vida natural de las enfermedades rickettsiales, requiere la participación de artrópodos y mamíferos como el perro, entre otros y debido a la cercanía que existe con estos mamíferos, estas enfermedades se presentan también en el humano (Beran, 1994). Típicamente, la mayoría de las rickettsias patógenas, sobreviven en una relación comensal en el cuerpo de un artrópodo vector, los cuales sirven como un reservorio primario. Los humanos son meramente hospederos incidentales, en los cuales el organismo no puede propagarse. Los reservorios de esta zoonosis, de los cuales los humanos típicamente adquieren la infección, son perros, ratones salvajes y otros mamíferos (Barba, 2009).

El hábitat de las garrapatas varía mucho en base a su biología y la de su hospedero. Las garrapatas tienen diferentes habilidades para resistir a la desecación. Las *Ixodes spp* requieren de ambientes húmedos y pueden pasar el 98 % de sus vidas fuera de sus hospederos (Anderson y Magnarelli, 2008), mientras que las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* pueden sobrevivir altas temperaturas, baja humedad, condiciones áridas y de desecación (35°C, 35 % de humedad relativa), (Biggs *et al.*, 2016; Davoust *et al.*, 2003). Las garrapatas *Dermacentor variabilis* se encuentran en lugares arbolados, mientras que *Amblyomma americanum* puede vivir en zonas donde hay madera seca. Las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* están bien adaptadas a vivir en zonas urbanas, son comúnmente encontradas alrededor de las casas habitación, ocasionando infestaciones domésticas. Son garrapatas activas durante todo el año y no solamente en clima tropical y sub tropical, sino también en climas templados y dependiendo del clima y de la disponibilidad de hospederos la garrapata *Rh. sanguineus* puede completar hasta 4 generaciones por año, como se publicó en un estudio en el centro-oeste de Brasil, en los estados de Goiás y Minas Gerais (Biggs *et al.*, 2016; Dantas, 2010). Algunas garrapatas buscan a sus hospederos en las puntas de los pastos y otro tipo de vegetación, mientras que otras se encuentran en camas de hojas o en los pinos. Algunas garrapatas están en movimiento constante hasta encontrar a su hospedero (garrapatas cazadoras), y otras permanecen en espera de que pase por ahí (Biggs *et al.*, 2016). Las garrapatas, cuando se encuentran en espera del hospedero, responden a múltiples factores como lo son olores, señales táctiles, vibraciones, radiación de calor y emisiones de dióxido de carbono; otra estrategia es que se entierran para protegerse del calor y la desecación, y cuando son estimuladas por un hospedero, emergen y atacan al hospedero (Sunyakumthorn, 2011).

Para su alimentación la garrapata cuenta con órganos bucales integrados, en principio por los palpos, para detectar las mejores zonas para alimentarse, ya que les permiten a estos organismos detectar la emisión de CO₂, adicionalmente cuenta con otros órganos pares denominados quelíceros, que le permite a la garrapata romper la piel con la finalidad de poder insertar su hipostoma en la piel del hospedero para alcanzar los vasos sanguíneos y succionar la sangre. Una vez insertado el hipostoma la garrapata secreta un cemento de unión para anclarse más firmemente a la piel del hospedero. El cemento es producido en los alveolos tipo II y III de las glándulas salivales y es altamente proteínico, pero también contiene lípidos, glicoproteínas, vasodilatadores, anestésicos, antiinflamatorios, antihemostáticos y moléculas inmunosupresoras (Dantas, 2008). Adicionalmente la saliva de las garrapatas incluye en su composición anticoagulantes para mantener la fluidez de los lagos de sangre (Barba, 2009; Valbuena, 2010), productos enzimáticos que digieren el tejido permitiendo la formación de espacios que se llenan de la sangre de los capilares rotos, con la que posteriormente se alimentan. Se ha encontrado la presencia de antihistamínicos que bloquean la aparición de la respuesta inflamatoria también como componentes de la saliva, de modo que los animales infectados con estos organismos, no manifiestan este tipo de respuesta y esto favorece la transmisión de los agentes infecciosos por el vector (Bowman, 2003; Sunyakumthorn, 2011).

Las garrapatas primitivas (ej. *Amblyomma*), se unen profundamente en la piel, mientras que las garrapatas evolucionadas (ej. *Rhipicephalus* y *Dermacentor*), se unen superficialmente, sus piezas bucales no penetran la dermis debido a que presentan hipostomas cortos, y para compensar la falta de sostén, secretan el cemento que se queda incrustado a las partes de la boca y así se adhieren sólidamente a la piel. Este procedimiento lo realiza la mayoría de las especies de garrapatas duras (pertenecientes a la familia Ixodidae), (Bowman, 2003; Sunyakumthorn, 2011). Hay reacción de la piel del hospedero alrededor de las piezas bucales de la garrapata y del cono de cemento; se presentan hiperplasia epidérmica, edema e infiltrado celular en la dermis (Szabó y Bechara, 1999).

Figura 3. Algunas de las garrapatas transmisoras de rickettsiosis.



Amblyomma americanum Hembra adulta
Garrapata estrella solitaria



Dermacentor andersoni hembra adulta (FMMR)



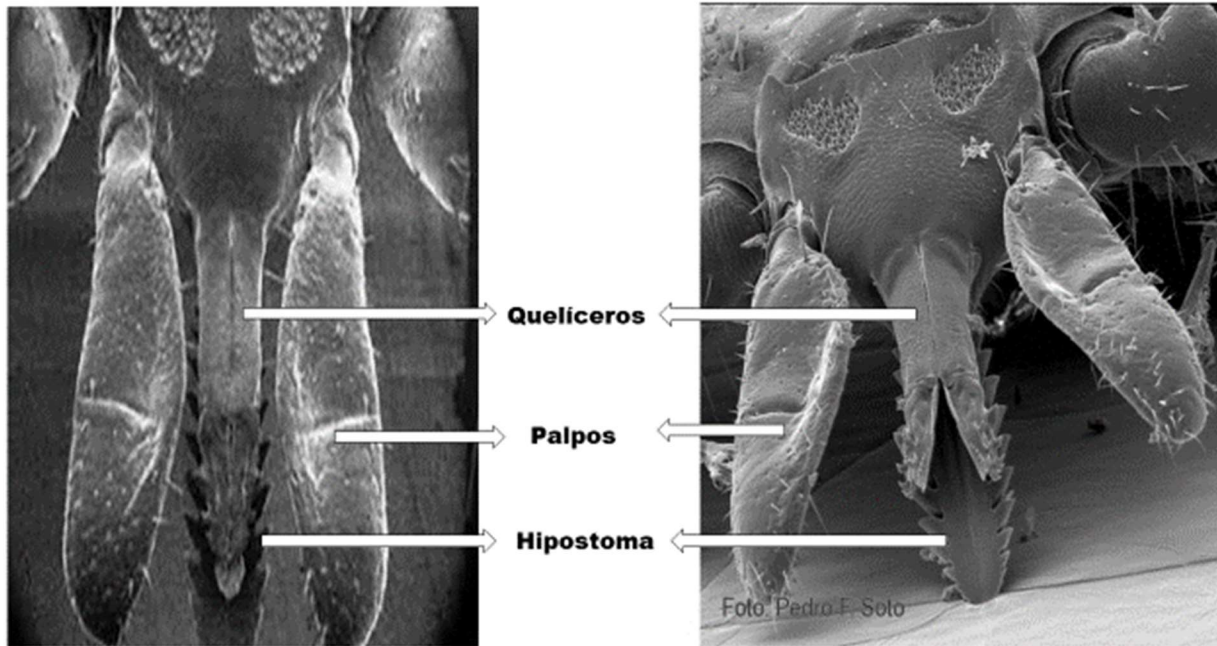
Rhipicephalus sanguineus hembra adulta
Garrapata café del perro



Ixodes pacificus hembra adulta

(Biggs, 2016)

Figura 4. Piezas bucales de las garrapatas.



Microfotografía electrónica UC Davis departametro de epidemiología.

Durante el consumo de sangre, hay un periodo de alimentación lenta, con continua digestión de sangre en el intestino medio, seguida por el periodo de ingurgitación rápida. Para optimizar su alimentación las garrapatas succionan en repetidas ocasiones la sangre y regresan el plasma al vertebrado, esto hace que los elementos retenidos sean esencialmente los sólidos de la sangre, por lo que, si valoramos el nivel de consumo de sangre de estos organismos, realmente es un volumen grande, por esta característica y dado que el ingreso y devolución de los productos ingeridos ocurre en múltiples ocasiones, la posibilidad de transmisión de agentes infecciosos es muy elevada (Parola y Roault, 2001; Barba, 2009; Valbuena, 2010).

Las glándulas salivales en las garrapatas son responsables de la osmoregulación, cuando la garrapata se alimenta, excreta alrededor de 70% del agua y los iones bebidos. La saliva posee inmunomoduladores poderosos con propiedades que le permiten continuar alimentándose de sangre por periodos prolongados (Dantas, 2008).

Cuando la garrapata está totalmente ingurgitada, desprende sus piezas bucales del hospedero para una digestión completa en un microambiente. La duración del proceso de alimentación varía de acuerdo a múltiples factores como: la fase evolutiva de la garrapata, el tipo de hospedero y las condiciones ambientales (Dantas, 2008).

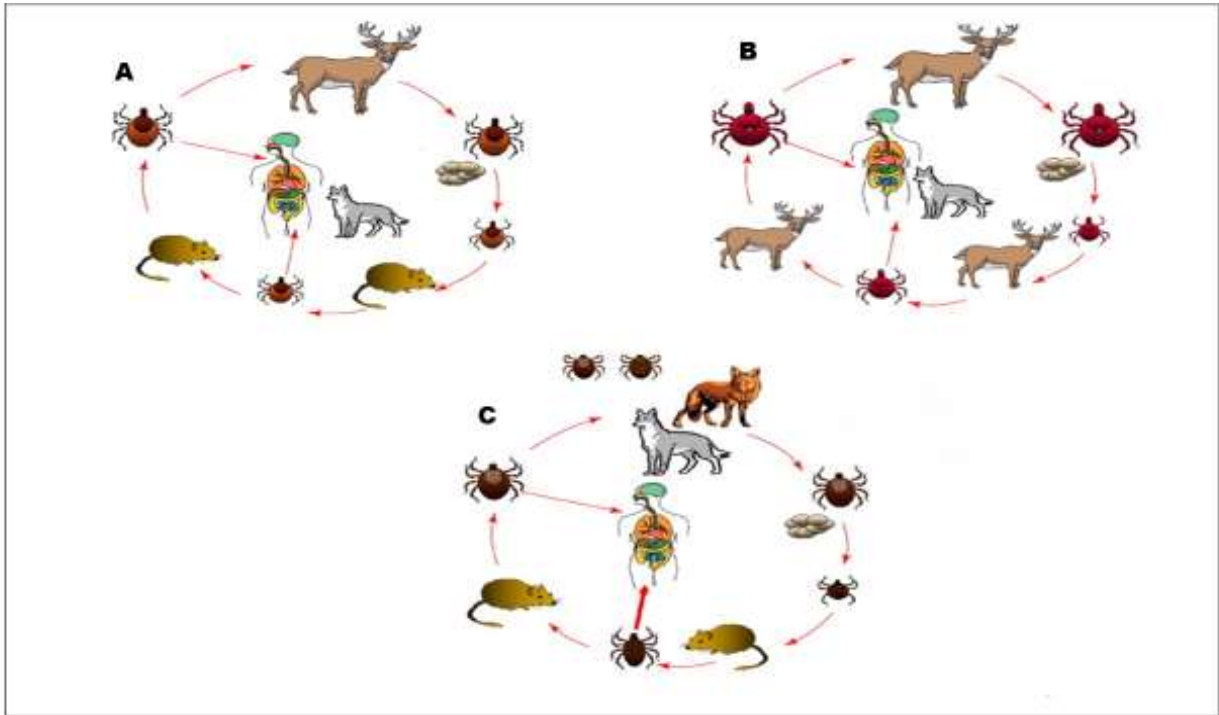
Es importante entender, que las garrapatas vectoras de las enfermedades rickettsiales revisadas en este trabajo, requieren de tres hospederos para su desarrollo, por lo cual, los estadios de larva, ninfa y adulto se desarrollan cada una, en un hospedero diferente y la duración de su desarrollo está directamente afectada por el intervalo de tiempo que pase hasta que hagan contacto con un nuevo hospedero para su alimentación, por lo que en algunos casos pueden transcurrir cientos de días como intervalo en el desarrollo de cada una de las fases evolutivas (Sonenshine, 1993; Bowman, 2003), estas garrapatas pasan del 94 – 97 % de su vida fuera del hospedero (Dantas, 2008).

En el ciclo de vida, la larva se alimenta de su primer hospedero, se baja y se resguarda en un microambiente donde muda a la etapa de ninfa, las ninfas que emergen buscan un nuevo hospedero, se alimentan hasta estar ingurgitadas y bajan, mudan a la fase adulta. La diferenciación sexual se presenta solamente en la fase adulta. La garrapata adulta que emerge busca hospedero, se alimenta hasta estar ingurgitada, se reproduce y se baja nuevamente. La hembra ingurgitada busca resguardo en un microambiente protegido, deposita miles de huevos y después muere. El tiempo en el que se completa el ciclo de vida dependerá de la disponibilidad de hospederos y del microambiente: temperatura y humedad. Cuando alguno de los recursos no está disponible, por ejemplo, comida, las garrapatas con tres hospederos pueden tardar hasta tres años para completar su ciclo de vida (Shonenshine, 1993). La importancia del número de hospederos y mudas, radica en que, es más fácil el control de una garrapata cuando se alimenta una sola vez y de un solo hospedero, que una que se alimenta de tres diferentes hospederos (Bowman, 2003). Las garrapatas con tres hospederos tienen la capacidad de transmitir la enfermedad de manera transestadial, o sea, de la etapa de ninfa infecta a un hospedero o la garrapata se infecta al alimentarse y lleva la enfermedad durante la segunda muda, infectando en esta al segundo hospedero o bien una garrapata hembra puede infectar a su descendencia cuando sus óvulos se contaminan durante la embriogénesis produciendo lo que se conoce como infección trasovárica (Price, 1954; Bowman, 2003).

El tiempo que las garrapatas necesitan estar unidas al hospedero para transmitir la rickettsiosis varía entre 2 y 20 horas para *R. rickettsii* (Biggs *et al.*, 2016; Davoust *et al.*, 2003), aunque hay algunos autores que señalan un lapso de 6 a 10 horas para la transmisión de *R. rickettsii* después de que la garrapata se ha alimentado (Lin-Decker, 2012). Para *A. phagocytophilum* y *E. canis* algunos estudios indican que tienen que pasar de 24 a 48 horas para la transmisión de estos organismos (Biggs *et al.*, 2016; Davoust *et al.*, 2003). En otras investigaciones publican que la velocidad con la que se puede llevar a cabo la transmisión de *A. phagocytophilum* por medio de la garrapata *I. scapularis* es de 24 a 36 horas después de que la garrapata ha picado, así también nuevos estudios indican que la transmisión de *E. canis* por medio de la garrapata *Rh. sanguineus* es de 3 a 6 horas después de la picadura de la garrapata, indicando que la transmisión de *E. canis* es mucho más rápida de lo que se creía (Fourie *et al.*, 2013). No hay información específica con respecto a *E. chaffeensis* (Biggs *et al.*, 2016). Todo lo anterior demuestra que, remover la garrapata lo más pronto posible es de primordial importancia,

ya que, mientras más tiempo pase adherida al hospedero aumenta considerablemente la probabilidad de la transmisión de estos patógenos (Biggs *et al.*, 2016).

Figura 5. Ciclos de transmisión que mantienen a los patógenos rickettsiales en las garrapatas, transmitiendo la infección a perros y humanos.



A) *Anaplasma phagocytophilum* con roedores como hospederos reservorios durante la fase de larva o ninfa de *Ixodes spp* y después es transmitida cuando se vuelve a alimentar como ninfa o adulta **B) *Ehrlichia chaffeensis***, donde la garrapata *Amblyomma americanum* tiene como hospedero al venado cola blanca, adquiere la infección como larva o ninfa y la transmite a los siguientes hospederos al momento de alimentarse. **C) *Rickettsia rickettsii***, la garrapata *Dermacentor spp* o *Rh. sanguineus* la adquiere durante la fase de larva o ninfa de roedores y la transmite a otros hospederos al momento de alimentarse, como ninfas o adultas. La transmisión en *R. rickettsii* se puede mantener de manera trasovárica, dando como resultado miles de huevos infectados, Trends in parasitology (Nicholson *et al.*, 2010).

En el interior de la garrapata, la rickettsia se mantiene en el divertículo posterior del intestino medio, en el intestino delgado, donde se lleva a cabo la primera replicación (Battilani *et al.*, 2017; Azad y Beard, 1998). Una vez que las rickettsias se encuentran en el intestino de la garrapata, estas se diseminan a todos los tejidos, incluyendo ovarios y las glándulas salivales. La transmisión trasovárica y transtádica, son definitivamente factores muy importantes para la persistencia de esta enfermedad (Barba, 2009; Murray *et al.*, 2009; Beran, 1994).

Los organismos entonces se diseminan dentro de los siguientes siete a diez días después de la infección de la garrapata (Ryan y Ray, 2004). La bacteria migra al epitelio de las glándulas

salivales de las garrapatas y es ahí donde se lleva a cabo el segundo ciclo de replicación y entra a la saliva cuando la garrapata se alimenta de su hospedero (Battilani *et al.*, 2017).

Todos los miembros de la familia Anaplasmataceae son bacterias cocoides a elipsoides intracelulares obligadas, que se replican en el interior de una vacuola intracitoplasmática de células hematopoyéticas maduras o inmaduras derivada de la membrana externa de la célula eucariota de hospederos vertebrados, formando inclusiones únicas, las mórulas (Lorente, 2005), aisladas y protegidas del sistema inmune, los lisosomas y las especies reactivas del oxígeno (Gutiérrez, 2017). En el caso de *R. rickettsii* se disemina vía sanguínea hacia el endotelio vascular (Opfer, 2009). Las rickettsias han desarrollado varios mecanismos que aseguran la evasión de la respuesta inmune del hospedero. Estos mecanismos abarcan adaptaciones para la supervivencia en diferentes compartimientos celulares. Los procesos de adhesión, internalización, proliferación, exocitosis y propagación intercelular de las rickettsias culminan con la adquisición de nutrientes, evasión lisosomal y la inhibición de la apoptosis de la célula hospedera (Gutiérrez, 2017).

Originalmente se había descrito, que no resultaba común que la misma garrapata estuviera infectada con más de dos diferentes tipos de rickettsias (Azad y Beard, 1998). Ahora esto ha cambiado y es de suma importancia epidemiológica, ya que la presencia de otras rickettsias en la garrapata es capaz de modular la población de las rickettsias, controlando su número debido a la competencia por nichos en los tejidos de la garrapata, a este fenómeno se le conoce como interferencia rickettsial; el desplazamiento de una especie por otra puede ocurrir intraováricamente, solo si el mantenimiento transovarial de la rickettsia daña a la garrapata o si la especie apatógena confiere ventajas importantes para mantener la progenie de la garrapata, aunque hay evidencia de que esto está cambiando, ya que hay estudios que indican la posibilidad cada vez más frecuente, de infecciones combinadas con este tipo de agentes. La infección por rickettsias reduce la fertilidad en las garrapatas (Barba, 2009; Murray *et al.*, 2009; Beran, 1994; Chen y Sexton, 2008). Lo anterior se demostró cuando de manera experimental se infectaron garrapatas con *R. montana* y *R. rhipicephali*, las garrapatas no pudieron mantener la infección transovarial de *R. rickettsii*, lo cual sugirió que la competencia interespecífica de rickettsias cercanamente relacionadas puede controlar el establecimiento de las rickettsias en el artrópodo (Azad y Beard, 1998).

En el caso de *R. rickettsii* la garrapata debe consumir un buen número de rickettsias para después lograr transmitir las de manera transovárica y asegurar la producción de miles de huevos infectados, seguidos de un gran número de larvas infectadas, que transmitirán la enfermedad a hospederos mamíferos, como el perro, esta es la manera natural en la que se mantiene la enfermedad (Greene, 2013).

En el caso de la garrapata *Dermacentor andersoni* se observó la transmisión trasovárica al 100% de las garrapatas viables durante 12 generaciones, esto a pesar de los elevados índices de mortalidad en las garrapatas (McDade *et al.*, 1986).

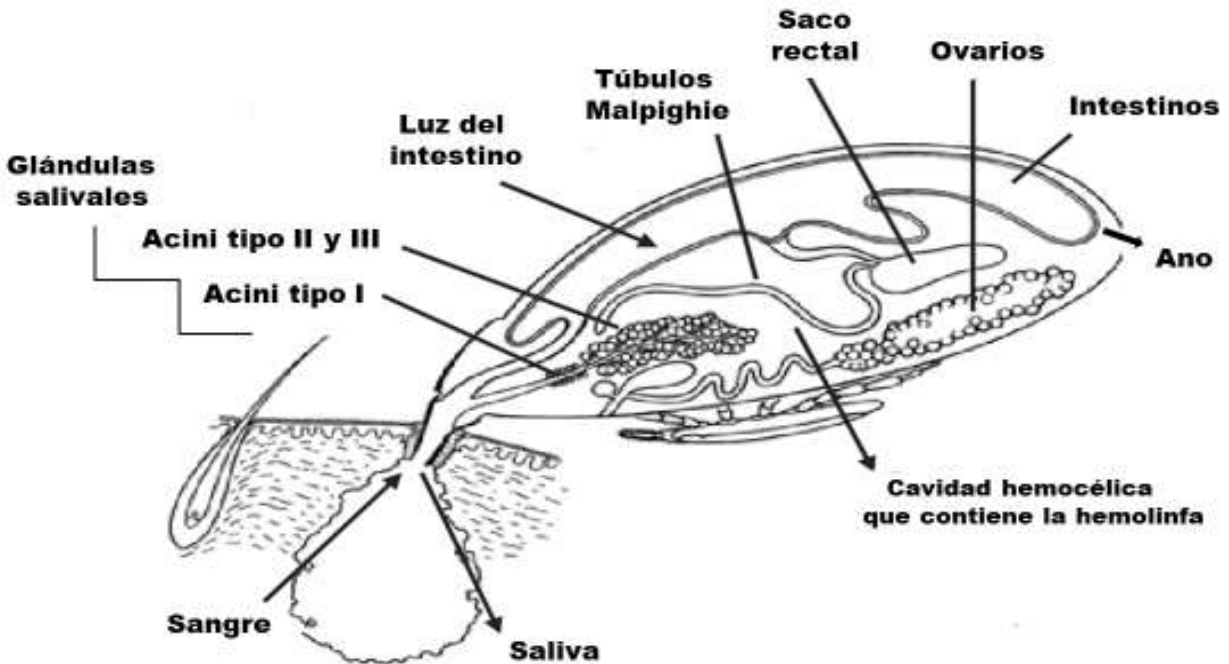
La transmisión transovárica de *Anaplasma spp* ha sido ineficiente (Parola *et al.*, 2005; Rar y Golovljova, 2011; Yu y Walker, 2006) y múltiples estudios han comprobado la ausencia de la transmisión trasovárica en el caso de *Ehrlichia canis* (Parola *et al.*, 2005; Long *et al.*, 2003; Gutiérrez *et al.*, 2017; Sykes, 2013). En los estudios donde se ha permitido a las hembras de garrapatas *A. americanum* alimentarse de hospederos infectados, manteniéndolas en observación y analizando a las mismas hasta el momento de la eclosión de los huevos, han confirmado la ausencia de *E. chaffeensis* en las larvas de las garrapatas. La inhabilidad para transmitir *E. chaffeensis* por vía trasovárica no está clara; pero una posibilidad es, que cuando la garrapata se está alimentando haya cambios en la glándula salival en las células acinares, en estos cambios hay desarrollo y regresión de algunas de estas células, si *E. chaffeensis* tuviera afinidad por un tipo de células que, al inicio de la alimentación son abundantes, pero al finalizar la alimentación desaparecen o ya no son tan abundantes. Otra posibilidad es la desaparición del tejido de la glándula salival en las garrapatas, algunos estudios sugieren esta posibilidad, ya que al realizar la disección de garrapatas antes de alimentarse y después de haberse alimentado, investigadores experimentados, no lograron encontrar estructuras de glándulas salivales en las garrapatas *A. americanum*; siendo la glándula salival el tejido predilecto para la acumular *E. chaffeensis*, cuando hay degeneración de este tejido y por lo tanto ausencia de la misma, desaparece la posibilidad de transmitir al organismo (Long *et al.*, 2003).

La transmisión transestadial de las rickettsias permite que las larvas, ninfas y las garrapatas adultas sean capaces de transmitir la enfermedad a mamíferos. Los machos de las garrapatas transmiten la rickettsias a través de los fluidos corporales o espermatozoides durante el periodo de reproducción (Raoult, 1997; Barba, 2009), pero las hembras que son infectadas de esta manera no transmiten la infección de manera trasovárica (Greene, 2013). *R. rickettsii* aparentemente, no es transmitida eficazmente a garrapatas hembras por esperma masculino durante su apareamiento (Barba, 2009).

El modo de transmisión de *Ehrlichia spp* y *Anaplasma spp* es transestadial, por lo cual la infección es transmitida subsecuentemente de larvas a ninfas y de ninfas a adultos, pero no de las hembras a los huevos de una nueva generación (Bremer *et al.*, 2005; Doudier *et al.*, 2010; Izzard, 2010). La infección de *Rh. sanguineus* ocurre durante el estadio de larva o ninfa cuando éstas ingieren sangre de un perro bacterémico infectado con *E. canis*. Además de la transmisión transestadial, se ha descrito que la transmisión también puede ser intraestadial, al menos en condiciones experimentales; de manera que los machos adultos pueden tomar múltiples comidas sanguíneas, adquirir y transmitir *E. canis* a animales susceptibles (Bremer *et al.*, 2005; Gutiérrez *et al.*, 2017). Los machos de las garrapatas *Rh. sanguineus* son capaces de adquirir y transmitir la enfermedad en ausencia de hembras, indicando que, sin la necesidad de copular se alimentan

en múltiples ocasiones y pueden mantener la transmisión de esta enfermedad (Bremer *et al.*, 2005).

Figura 6. Estructura de los órganos internos de las garrapatas.



(Bowman, 2009)

La transmisión horizontal, garrapata - mamífero - garrapata, es una transmisión que seguirá ocurriendo, ya que cuando se presenta una infestación severa en el tejido de la garrapata, aumenta la morbilidad y disminuye la fecundidad de las próximas generaciones, perdiendo la progenie de garrapatas infectadas (Raoult, 1997; Barba, 2009; Murray *et al.*, 2009; Beran, 1994; Anderson y Magnarelli, 2008).

Las rickettsias en las que se realiza esta revisión, residen en las garrapatas, para poder desarrollar por lo menos una parte de su ciclo de vida (Murray *et al.*, 2009). Una vez que la garrapata se infecta puede llevar el patógeno durante toda su vida, transmitiendo al agente causal por medio de la saliva mientras se alimenta, las garrapatas infectadas pueden sobrevivir hasta 4 años sin alimentarse (Ryan y Ray, 2004).

Los perros sirven como reservorios de *E. canis* y anfitriones de *Rhipicephalus sanguineus*, considerado el vector primario, ya que es la especie de garrapata más ampliamente distribuida y se ha publicado su presencia en áreas tropicales y subtropicales, entre los 50°N y 35°S y en el continente americano, su distribución va desde Canadá hasta Argentina, y aunque el principal anfitrión de *Rh. sanguineus* es el perro doméstico, en ambientes con alto porcentaje de vectores infectados, esta especie de garrapata puede parasitar otras especies animales, tales como: gatos, roedores, aves y hasta humanos (Gutiérrez *et al.*, 2017). Motivo por el cual las infecciones rickettsiales se clasifican como zoonosis (Barba, 2009).

Estudios recientes sugieren que *A. platys* puede ser transmitido de una hembra gestante a sus cachorros (Carvalho *et al.*, 2017). La transmisión transplacentaria parece ser la vía más probable en la transmisión de *A. platys* de la hembra a sus cachorros, porque, aun cuando la placenta debe ser una barrera de defensa contra enfermedades infecciosas, la transmisión podría ocurrir por extravasación de sangre en la interfase materno-fetal y la subsecuente fagocitosis de plaquetas infectadas por trofoblastos de la zona hematófaga marginal, de alguna manera, similar al paso de eritrocitos en el transporte de hierro. Debido a que en este estudio no se realizaron pruebas de qPCR o pruebas serológicas para la detección de anticuerpos de *A. platys*, se requiere de más estudios para confirmar la hipótesis de la transmisión vertical de *Anaplasma platys* (Matei *et al.*, 2017).

Solamente en el laboratorio se ha observado la posibilidad de adquirir la infección por contacto con tejidos de o fluidos de la garrapata y (Battilani *et al.*, 2017), por inhalación de aerosoles contaminados. Estas enfermedades también se pueden transmitir por transfusión sanguínea (Barba, 2009; Beran, 1994; Woody y Hoskins, 1991; Breitschwerdt, 2003; Lorente, 2005; Murray *et al.*, 2009; Leiby y Gill, 2004). Hay casos en los que se ha contraído la enfermedad por contacto con heridas, esto sucede, al tratar de remover garrapatas ancladas en el perro, hay ruptura de la garrapata infectada y posteriormente hay contacto de fluidos de la garrapata con la herida del mamífero (Beran, 1994; Meneses *et al.*, 2010).

En el estudio de la detección de agentes rickettsiales transmitidos por garrapatas en animales salvajes, Sagarna X.G. (2010), obtuvo un resultado relativamente inesperado al ver que los carnívoros no juegan un papel relevante en la epidemiología de estos agentes. La ausencia de estos organismos en los carnívoros analizados sugiere que estos animales no están involucrados como hospedadores de estos patógenos. No obstante, se debe mencionar que existe la posibilidad de que los métodos utilizados para la detección de estos organismos no hayan sido los suficientemente sensibles, por lo tanto, no permite descartar totalmente la circulación de agentes rickettsiales que hayan estado presentes, pero en niveles muy bajos. En este mismo estudio, se publicó la presencia de garrapatas en el 50 % de los zorros y lobos analizados.

Las enfermedades causadas por rickettsias presentan en tres etapas: aguda, subclínica y crónica. La virulencia de la cepa, la duración del proceso, el grado de respuesta inmune del perro afectado, edad y raza (Greene, 2013), son factores que determinan la evolución de la enfermedad, así como también la presencia de un mayor o menor número de manifestaciones clínicas (Nyindo *et al.*, 1980; Greene y Harvey, 1984). Se ha establecido que la transmisión de la enfermedad, ya sea por inoculación con fines experimentales o a través de la transmisión natural, por piquete de garrapatas, la vía de entrada, la exposición continua al agente (debido a múltiples garrapatas), factores que afectan la inmunidad del hospedero (inmunodepresión ocasionada por medicamentos, etc.), y la dosis inoculada por las garrapatas son factores que pudieran también afectar de manera crítica la respuesta del hospedero (Hess *et al.*, 2006).

Lo anterior es aplicable y lo demuestra Zhang *et al.* (1997) en su estudio, donde infectaron experimentalmente dos perros Beagle con *E. chaffeensis* cepa Arkansas y evaluaron los signos clínicos durante 6 meses posteriores a la inoculación; los cambios hematológicos, los anticuerpos anti-*E. chaffeensis* y la persistencia de la bacteria en sangre. Durante este periodo los perros no manifestaron fiebre ni perdieron peso, dentro de sus parámetros hematológicos, lo más relevante fue la presencia de trombocitopenia, la cual apareció dos semanas después de la inoculación y se mantuvo durante todo el estudio. En uno de los perros, se demostró por PCR la presencia de *E. chaffeensis* hasta los 4 meses, mientras que, en el otro animal, se demostró la presencia a los 81 días. Con respecto a los títulos de anticuerpos anti-*E. chaffeensis*, en ambos perros aparecieron a las 4 semanas postinoculación (día 23), a un título 1:64; luego aumentaron alcanzando en la séptima y octava semana un título 1:16.384. Durante el resto del estudio los títulos se mantuvieron altos. Los resultados de esta investigación demuestran que los perros pueden mantenerse como portadores de *E. chaffeensis* durante 3 a 4 meses sin presentar signos clínicos. Los investigadores concluyeron que se puede considerar a los perros como portadores de *E. chaffeensis* (Gutiérrez *et al.*, 2017).

En otra investigación se evidenció por PCR *E. chaffeensis* en perros del sureste de Virginia, (Estados Unidos). Se analizaron 38 muestras de perros de cinco diferentes refugios y una perrera; de los 38 perros, 8 (42%), fueron PCR positivos a *E. chaffeensis* y 6 (32%), fueron PCR positivos a *E. ewingii* y ninguno positivo a *E. canis*. La conclusión de estos investigadores coincide con el estudio que se mencionó anteriormente, el perro constituye un reservorio potencial para *E. chaffeensis* (Dawson *et al.*, 1996).

Dawson y Ewing (1992), inocularon experimentalmente a cuatro cachorros con *E. chaffeensis*, los perros presentaron una respuesta febril leve, sin otro signo clínico. Uno de los perros inoculado con *E. chaffeensis* fue re infectado con *E. canis* y presentó fiebre, anorexia y trombocitopenia, demostrándose así, la falta de protección cruzada contra *E. canis* previa inoculación con *E. chaffeensis*.

Morbilidad

Las enfermedades transmitidas por garrapatas son un problema creciente en salud pública (Rosenberg *et al.*, 2018). La situación que se presenta con estas enfermedades es que los médicos de humanos y los médicos veterinarios consideran el diagnóstico de estas enfermedades dependiendo de la prevalencia del agente en esa comunidad o región y es por ese motivo que personas o perros, que no viven en áreas donde la enfermedad es común, pueden pasar sin ser diagnosticados o pueden ser diagnosticados equivocadamente y por lo tanto reciben un manejo y tratamiento inadecuado para estas enfermedades (Bowman *et al.*, 2009). Las rickettsiosis en la población humana en general, son enfermedades subestimadas e ignoradas, lo cual tiene consecuencias negativas (Beier *et al.*, 2015).

Un ejemplo de esto se observa en el Sistema de Salud de Costa Rica, donde en el 2013 el diagnóstico de anaplasmosis y ehrlichiosis solo se basaba en la búsqueda visual de inclusiones en las células sanguíneas, utilizando las tinciones de Giemsa y Wright, ya que se carecía de técnicas diagnósticas sensibles y específicas como IFI, cultivo celular o técnicas moleculares. Los estudios realizados, ya con técnicas más sensibles y específicas demuestran la presencia de *E. canis*, *A. platys* y *A. phagocytophilum* en hospedadores humanos, reservorios y vectores de Costa Rica, además de que se demostró una amplia distribución en el país. Es importante mantener los muestreos y establecer el diagnóstico molecular de estos agentes en los Sistemas de Salud para determinar la dinámica de su comportamiento (Dolz *et al.*, 2013).

La prevalencia de la FMMR a nivel mundial, particularmente en climas húmedos y cálidos va en aumento y se considera una condición emergente. En México la recurrencia de formas graves de FMMR y el reforzamiento de su vigilancia epidemiológica en los últimos años, han propiciado un incremento en la notificación de casos en algunas regiones del país, sin embargo, aún se carece de un sistema de vigilancia especial para estas zoonosis (SSA, 2014). En países como Estados Unidos el reporte anual de las enfermedades rickettsiales del grupo de la fiebre manchada, ha incrementado notablemente en las dos últimas décadas (Biggs *et al.*, 2016).

En México a partir de 2009, se incrementa el registro de casos por asociación clínico-epidemiológica de rickettsiosis en el Sistema de Notificación Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades Sujetas a Vigilancia Epidemiológica, conocido por el acrónimo de su herramienta de captura, el Sistema Único Automatizado para la Vigilancia Epidemiológica (SUAVE), con 976 casos, al año siguiente se reduce a 614, para nuevamente incrementar a 741 y 782 en 2012, estos casos suman 3,113 de los cuales el 87 % corresponde a fiebre manchada de las montañas rocosas (SSA, 2014). En contraste hay el reporte de 2,865 muestras publicadas como positivas por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos en 2012, las cuáles se distribuyen en todo el territorio nacional, teniendo alta incidencia principalmente en los estados de Nuevo León (615), Sinaloa (472), Coahuila (444), Michoacán (350), Baja California Sur (233), Hidalgo

(76), Veracruz (72), Morelos (68), Colima (63) y Sonora (62), (SSA, 2014). Según estadísticas de la III jurisdicción de servicios de salud de Baja California se presenta una tasa de morbilidad del 2.9 % en humanos (Field y Moreno, 2011).

Las enfermedades transmitidas por garrapatas se duplicaron en los últimos 13 años también en los Estados Unidos, a pesar de que en su mayoría fue para la enfermedad de Lyme, la FMMR, anaplasmosis y ehrlichiosis también aumentaron (Rosenberg *et al.*, 2018).

La FMMR se ubica dentro de las 5 primeras causas de morbilidad por padecimientos infecciosos de interés epidemiológico y produce una carga de mortalidad que es inaceptable. En el estado de Sonora 9 casos (2003 – 2004), Incidencia: 124.6 por millón, letalidad 22 % y en el estado de Coahuila 125 casos (1975 – 2007), Incidencia: 3 por millón, letalidad 55 % (Álvarez, 2010).

Movilla *et al.*(2016), Desarrollaron un estudio para determinar la prevalencia de *E. canis* y otras enfermedades transmitidas por vectores en México, dividiendo al país en ocho zonas geoeconómicas donde las enfermedades transmitidas por vectores hematófagos son más comunes, zona noroeste: Baja California Norte y Sur, Chihuahua, Sinaloa y Sonora, zona noreste: Coahuila y Nuevo Leon; zona oeste: Colima, Jalisco y Nayarit, zona este: Puebla, Veracruz e Hidalgo; zona centro norte: Aguascalientes, Guanajuato y Querétaro; zona centro sur: Morelos; zona sureste: Quintana Roo y Yucatán y la zona suroeste: Chiapas y Guerrero. Se realizó el estudio en 1, 706 perros y los resultados demostraron la seroprevalencia de *E. canis* en todas las zonas, teniendo mayor incidencia en la zona noroeste con 51 % de los perros evaluados en la zona (muy elevada), seguidos por la zona este con 45 % (muy elevada), y los estados con menor seroprevalencia fueron los de la zona centro norte, con 2.4 %. Este estudio nos indica la presencia de *E. canis* a todo lo largo de la República Mexicana, haciendo la presencia de *E. canis* un problema endémico.

Considerando el potencial zoonótico se desarrolló un estudio en Chihuahua, México, se tomaron las muestras de 106 veterinarios, 36 asistentes veterinarios, 19 peluqueros y 6 de personal de administración para detectar seroreacción a *R. rickettsii*, *Ehrlichia spp* o *A. phagocytophilum*; en estas muestras se demostró a través de las pruebas de IFI y PCR que el 54 % de los individuos muestreados tuvo seroreacción a por lo menos uno de los agentes mencionados. El 2 % fue positivo a los tres agentes. Los resultados de este estudio indicaron, que los individuos con mayor riesgo a contraer estas enfermedades son los peluqueros (Escárcega *et al.*, 2019).

Queda claro que la distribución de estas enfermedades está relacionada con la distribución del vector. La presencia de las rickettsias en los vectores son un indicador del riesgo

a la exposición a estas enfermedades. En once estados de la República Mexicana, Sosa *et al.* (2014), recolectan muestras de cerca de 500 roedores y a través de pruebas específicas de PCR demuestran la presencia de *A. phagocitophilum* 3.7 %, *E. canis* 9.8 %, *R. rickettsii* 3.7 % y *E. chaffeensis* 3.9 %. Este es el primer trabajo para detectar la infección en roedores para buscar *E. chaffeensis* y *A. phagocitophilum*, lo cual, no solo hace entender mejor la epidemiología de la enfermedad, sino que también amplía el diagnóstico diferencial en la presencia de fiebres de origen inespecífico en los pacientes.

Mortalidad

La mortalidad esta documentada con la FMMR y ha sido asociada fundamentalmente a dos factores:

- a) falta de sospecha diagnóstica
- b) retraso en el inicio del tratamiento específico con el antibiótico de elección.

(SSA, 2014; Álvarez *et al.*, 2015)

En la comarca lagunera durante un periodo de 35 años (1975 – 2007), se realizó un estudio de investigación clínica en el hospital de pediatría, en ese lapso detectaron 115 casos de pacientes positivos a FMMR, en los que la mortalidad fue de un 55 % y 90 % de los pacientes manifestaron la convivencia con perros (Huerta y Barragán, 2008).

En algunos reportes indican que la mortalidad se ha visto disminuida, posiblemente debido a la modificación en cuanto a la administración de antibióticos y, por lo tanto, su eficacia al suministrarse de forma oportuna (Beier *et al.*, 2015), pero hay autores que cuestionan si es que realmente ha disminuido la mortalidad ocasionada por rickettsias, como en el caso de Estados Unidos, donde publican una mortalidad del 1.4 % en el periodo de 1997 – 2002, o está siendo comúnmente mal diagnosticada. Recientemente se encontró que, un tercio de los casos diagnosticados como FMMR, fueron realmente infecciones causadas por *R. parkeri*, basando este resultado en análisis por western blot. Lo cierto es que los reportes de mortalidad de FMMR en EUA, contradicen las revisiones actuales y lo escrito en los libros respecto a esta enfermedad, por lo que se sugiere analizar la verdadera prevalencia y distribución de *R. rickettsii* (Raoult y Parola, 2008).

En el estado de Baja California de marzo del 2009 a febrero del 2010 se presentaron un total de 278 casos en humanos donde se confirmó el diagnóstico de rickettsiosis por el método de Weil-Felix y se utilizaron pruebas de ELISA como confirmatorio. Se contabilizó un total de 13 defunciones sospechosas y 8 muertes confirmadas por el centro control y prevención de enfermedades de Estados Unidos. En otras entidades se publica mortalidad entre el 22 y 33.5 % (Field y Moreno, 2011).

En México, la mortalidad en humanos a consecuencia de estas patologías, en el 2010 y 2011 fue de 38 defunciones, principalmente en los estados de Baja California, Coahuila, Sinaloa y Sonora, afectando mayormente a los grupos de edades entre 5-14 años, seguidos por 1-4 años y 25-44 años de forma predominante (SSA, 2016). La FMMR es también conocida por ser el gran imitador; ya que puede ser confundida con diferentes enfermedades debido a que no hay signos característicos de esta enfermedad, dificultando el diagnóstico acertado y, por lo tanto, el retraso en el tratamiento efectivo. En Baja California se presentan dos casos en pacientes jóvenes donde el diagnóstico fue realizado post mortem, ya que a pesar de que los médicos están enterados de los brotes, no sospechan de la enfermedad y realizan el diagnóstico de manera tardía (Ramírez y Rodríguez, 2010). En los casos de población infantil, en el estado de Sonora en México, se ha observado un paulatino incremento de la letalidad del padecimiento, en un reporte previo, la letalidad de FMMR fue de 22 % en una serie de 9 casos y en el año 2009, la letalidad observada hasta la segunda semana de octubre fue de 43 % en 21 casos, una cifra superior a otros reportes de áreas endémicas (Álvarez, 2010).

En el periodo del 2009 al 2012 en los Estados Unidos se publicó un estudio en el que encontraron de 7 a 10 % de mortalidad en humanos, causada por las enfermedades rickettsiales del grupo de las fiebres manchadas, este índice de mortalidad se presentó en una de las áreas más afectadas por esta enfermedad, una reserva india en el sur de Arizona. Se considera que el alto índice en estas áreas se debe también, al retraso para establecer el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad (Biggs *et al.*, 2016; Ismail y Mc Bride, 2017).

En el caso de *Ehrlichia spp* detectan a nivel nacional en los Estados Unidos, una tasa de mortalidad del 2.5 – 3 % en humanos (Biggs *et al.*, 2016; Yu y Walker, 2006), la cual, en el caso de *E. chaffeensis*, se considera relacionada a factores que tienen que ver con la condición del paciente, como inmunodepresión y edad (Biggs *et al.*, 2016).

La mortalidad en humanos publicada por anaplasmosis en los Estados Unidos es menor al 1 %, pero es común también encontrar pacientes con infecciones mixtas, siendo *Borrelia spp* y *Babesia spp* las más comunes en algunas zonas y en otras *E. chaffeensis* y *R. rickettsii*, ya que comparten el mismo vector (*I. scapularis*), (Glaser y Christie, 2010; Biggs *et al.*, 2016).

Mittal *et al.* (2017), observaron una elevada mortalidad cuando *E. canis* se presentó simultáneamente con *Babesia gibsoni*; en su estudio, 6 de 13 perros presentaron infección simultánea de *E. canis* y *B. gibsoni*, de los 6 perros infectados tres murieron. A la necropsia se observó falla renal crónica, choque hemorrágico, choque tóxico y coagulación intravascular diseminada.

Impacto de las enfermedades rickettsiales

El impacto en la salud pública de estas infecciones no será apreciado hasta que no sean desarrollados métodos apropiados de diagnóstico y de vigilancia epidemiológica. De la misma manera que las ehrlichiosis humanas no eran reconocidas en los Estados Unidos hace dos décadas, su ocurrencia, etiología, agentes, incidencia, severidad clínica y distribución geográfica son actualmente desconocidos en la América Latina (de Lemos, 2004).

Se han demostrado los factores de riesgo epidemiológicos de las enfermedades rickettsiales y basados en pruebas serológicas, se ha confirmado el incremento en el número de casos en países Latino Americanos (Moreira y de Freitas., 2013). Hay brotes esporádicos, con mortalidad extremadamente alta. Las tasas reales de distribución geográfica, incidencia y de fatalidad de casos, no son conocidas debido a la falta de atención, falta de disponibilidad y aplicación poco frecuente de métodos de diagnóstico efectivos. La FMMR tiene ondas periódicas de incidencia progresivamente aumentada que se extiende por décadas y a pesar de ser una infección relativamente rara, posee una tasa de casos fatales que va de 23 % entre personas saludables previamente, entre las más altas de cualquier infección (de Lemos, 2004).

En México, durante el período 2007-2014 se reportaron 3,978 casos de FMMR, con una letalidad de 2.9 %, aunque reportes de investigación en población pediátrica han documentado tasas de letalidad que oscilan entre 20 % y 32 % (Álvarez *et al.*, 2015). La FMMR aparece a lo largo de los Estados Unidos con 600 casos reportados anualmente, con 5 % de fatalidades es probable que existan tres veces más casos, debido a que muchos de ellos no son reportados, incluyendo una tasa semejante de mortalidad oculta (de Lemos, 2004).

La vigilancia activa a la infección por *E. chaffeensis*, ha demostrado una incidencia mucho más alta (11 a 100 por cada 100,000 habitantes), que ha sugerido la vigilancia pasiva de esta dolencia difícil de diagnosticar (de Lemos, 2004). La evidencia de infecciones rickettsiales en perros, puede ser muy útil como elemento para monitorear la presencia de una enfermedad en humanos (Moreira y de Freitas, 2013; Opfer, 2009).

Es poca la evidencia actual sobre las secuelas en los pacientes sobrevivientes a FMRR, en una revisión, de siete niños sobrevivientes; tres de ellos permanecieron con secuelas neurológicas, incluyendo déficit motor con dificultad para la marcha, el habla, la deglución e indiferencia a los estímulos, como los estímulos dolorosos en piel y del tejido secundario debido a la vasculitis generalizada que puede evolucionar hasta necrosis y gangrena, lo que puede requerir amputación de dedos y pabellón auricular principalmente. La sordera bilateral ha sido ya también reportada como una secuela (Álvarez *et al.*, 2015).

En países como México y Estados Unidos las rickettsiosis son de notificación obligatoria a las autoridades federales (Biggs *et al.*, 2016), son enfermedades que se deben reportar de forma obligatoria en México de acuerdo con el artículo 136 de la Ley Sanitaria: Artículo 136.- Es obligatoria la notificación a la Secretaría de Salud o a la autoridad sanitaria más cercana de las siguientes enfermedades y en los términos que a continuación se especifican: II. Inmediatamente, en los casos de cualquier enfermedad que se presente en forma de brote o epidemia; III. En un plazo no mayor de veinticuatro horas en los casos individuales de enfermedades objeto de vigilancia internacional (Comisión, 2003).

Hay cinco motivos por los que la ehrlichiosis en humanos se verá en aumento en la próxima década:

1) Aumento en el tamaño de la población humana que viven cerca de áreas infestadas por garrapatas;

2) El incremento en el número de personas de la tercera edad que tienen una vida activa y son más susceptibles a estas enfermedades infecciosas;

3) Aumento en el número de personas inmunocomprometidas, como pacientes con cáncer, SIDA, sobrevivientes de cáncer, inmunosuprimidos debido a un trasplante de órganos, etc.

4) En un futuro el desarrollo y disponibilidad de pruebas de laboratorio, que permitan el diagnóstico de una manera más efectiva y estudios que revelen con mayor precisión la incidencia real de estas enfermedades;

5) El descubrimiento de más enfermedades rickettsiales en América, Euro-Asia y África.
(Dumler y Walker, 2001)

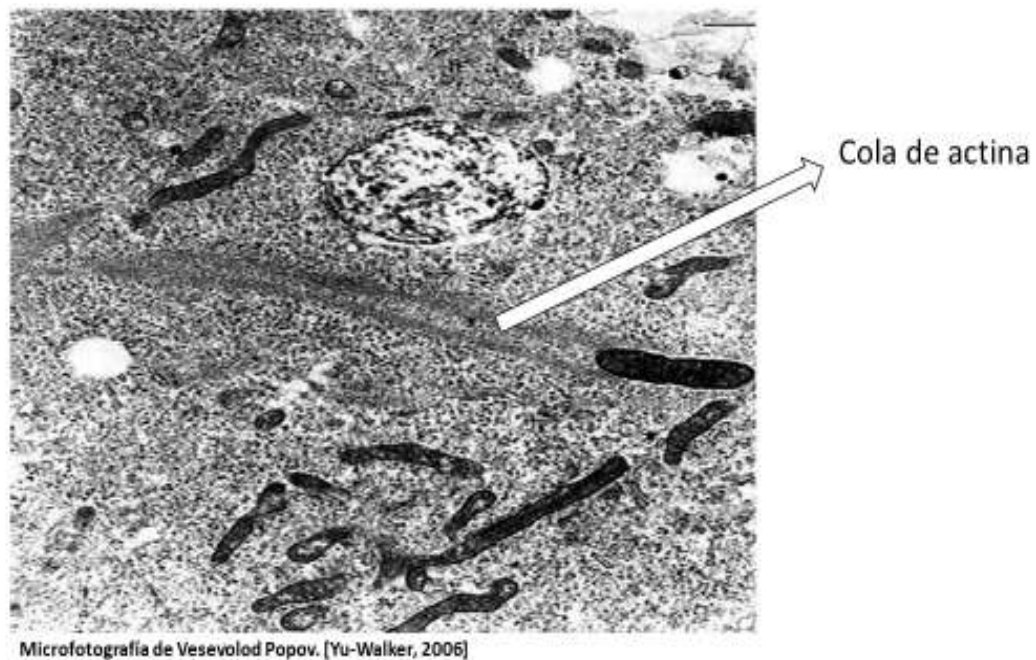
Patogenia

La enfermedad evoluciona inicialmente por una fase aguda que puede ceder con tratamiento adecuado, pero en los animales no tratados, después de 2 a 4 semanas pasan a la fase subclínica, que puede durar meses y persistir por años. Los perros inmunocompetentes pueden eliminar la infección durante este periodo, cuando la fagocitosis y procesamiento de bacterias es eficaz, se elimina la infección, de lo contrario, desarrollarán la fase crónica de la enfermedad, caracterizada por una grave aplasia de la médula ósea (mielosupresión), pancitopenia y alta mortalidad por septicemia y/o hemorragias graves (Gutiérrez, 2017; Harrus *et al.*, 1998; McClure *et al.*, 2010; Greene, 2013).

Después de la picadura y la consecuente inoculación del organismo, hay un periodo de incubación variable que va de 8 a 10 días (Greene, 2013), hay reportes en donde el periodo de incubación es de 8 a 20 días (Harrus *et al.*, 1998; Harrus *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 2017).

Las rickettsias son liberadas con la saliva del artrópodo al torrente sanguíneo, dando inicio a la infección en la zona de inoculación. Las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas rara vez se acumulan en grandes números, a diferencia de otras, que se acumulan en grandes cantidades dentro de la célula hospedera (monocito, plaqueta, etc.), hasta que esta estalla y libera las bacterias al torrente sanguíneo. Las rickettsias codifican otras proteínas como la Rick-A, la cual se expresa en la superficie de la bacteria y es la responsable de la activación del complejo Arp2/3 (proteínas relacionadas con la actina), para la polimerización de las actinas celulares (Suárez *et al.*, 2008). La polimerización de la actina del citoesqueleto celular, en presencia de calcio y hierro, es importante en el proceso de propagación intercelular (Gutiérrez, 2017), ya que estos filamentos de actina impulsan (formando filopodios), a las rickettsias hacia la superficie celular a una impresionante velocidad de 4.8 μm / min. Esto explica cómo es que *R. rickettsii* raramente se acumula en grandes cantidades dentro de células infectadas, en la figura 6 se observa una electromicrofotografía de *Rickettsia conorii* donde se puede apreciar una cola larga de actina, que se extiende a todo lo largo de la imagen (Yu y Walker, 2006; Opfer, 2009; Woods, 2013; Chen y Sexton, 2008).

Figura 7. Microfotografía *Rickettsia conori* seguida de la cola de actina (Yu y Walker, 2006).



Los miembros de la familia *Rickettsiaceae*: *Ehrlichia* y *Anaplasma* se multiplican en vacuolas, rodeadas de una membrana del citoplasma de la célula eucariótica (Izzard, 2010), las rickettsias de grupo de las fiebres manchadas se multiplican dentro del núcleo de las células del

hospedero, donde se multiplican por fisión binaria (Barba, 2009; Llop *et al.*, 2001; Weiss, 1973; Izzard, 2010; Gutiérrez *et al.*, 2017). La replicación dentro del hospedero toma lugar dentro de la membrana, aislada y protegida de la vigilancia del sistema inmune. Las rickettsias han desarrollado mecanismos que aseguran la evasión de la respuesta inmune del hospedero incluyendo la apoptosis. La sobrevivencia y la multiplicación en las células infectadas, depende de la habilidad de las bacterias para inhibir la fusión del fagolisosoma (los animales susceptibles tienen afectada esta propiedad en sus células fagocíticas). Se ha demostrado que con la administración de oxitetraciclinas o productos semejantes se recupera la habilidad de las células fagocíticas del hospedero para realizar este proceso, aparentemente debido a su capacidad de inhibir la síntesis de la proteína de la bacteria que inhibe la fusión (Greene, 2013).

La membrana citoplasmática se invagina dentro de la célula adyacente y la fusión de ambas membranas celulares permite el paso de las rickettsias, que posteriormente se extiende de célula a célula sin pasar por el espacio extracelular (Barba, 2009), no rompen la célula y salen de la célula hospedera estimulando la polimerización de la actina. Las rickettsias escapan de la membrana del fagosoma porque liberan fosfolipasa D y hemolisina C, las cuales la destruyen y son liberadas al citosol, donde se multiplican por fisión binaria hasta formar las mórulas, mismas que interactúan con las mitocondrias produciendo proteínas que inhiben su actividad y provocan apoptosis. Después de la desintegración de la mórula, se liberan nuevos cuerpos elementales que invaden nuevas células sanguíneas, en el estado tardío de la formación de mórula, causando la diseminación sistémica de las células sanguíneas en diferentes sitios (Greene, 2013; Chen y Sexton, 2008).

Las rickettsias carecen de enzimas para la biosíntesis de peptidoglicanos y lipopolisacáridos (LPS), que proveen de fuerza y rigidez a la membrana externa. La ausencia de LPS y peptidoglicanos tiene relevancia en el proceso de infección y supervivencia del organismo, tanto en el artrópodo como en el hospedero mamífero. El sistema inmune de los artrópodos es eficiente respondiendo a la presencia de LPS, por lo tanto, la ausencia en el organismo de LPS les da buenas oportunidades de sobrevivir. En los hospederos mamíferos, los macrófagos o neutrófilos utilizan receptores que reconocen patrones moleculares, como LPS o peptidoglicanos estimulando una reacción del sistema inmune para deshacerse del patógeno, es así que, la ausencia de LPS y peptidoglicanos favorece la sobrevivencia y desarrollo de las rickettsias dentro de las células del hospedero (Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017).

Las rickettsias de manera independiente, pueden llevar a cabo funciones simples, como desarrollar el ciclo de Krebs (Ryan y Ray, 2004); pero requieren de adaptaciones especializadas que incluyen una proteína de transferencia de trifosfato de adenosina (ATP), para poder adquirir ATP del hospedero (Beran, 1994). Necesitan obtener varios nutrientes que están a su alrededor y lo hacen a través de canales o poros presentes en su membrana externa, la proteína Omp-1F posee la habilidad de permitir al organismo regular la cantidad de nutrientes consumidos durante su desarrollo intracelular (Greene, 2013). Las caveolas (identificadas como balsas celulares),

ayudan a desarrollar el sistema de intercambio sin ser detectadas por los fagolisosomas, forman invaginaciones endocíticas y exocíticas únicas en la superficie de varios tipos celulares y pueden importar moléculas a lugares específicos dentro de la célula o exportarlas a espacios extracelulares (Rikihisa, 2010).

La interacción molecular entre las células del hospedero y las proteínas de repetición en tándem (PRT), 47 y 120 contiene blancos asociados con distintas funciones celulares que incluyen la señalización, regulación transcripcional, tráfico de vesículas, proliferación y diferenciación celular. La PRT120 está involucrada en la unión e internalización de *E. chaffeensis* y su expresión está regulada por un segundo mensajero GMP-di cíclico (monofosfato de guanosina dimérico cíclico), y la proteasa HtrA (Kuriakose *et al.*, 2012; McBride, 2013).

Las rickettsias no secretan endotoxinas, pero usan fosfolipasa A, proteasas y radicales libres para inducir daño oxidativo y peroxidativo a la membrana de las células del hospedero, la amplia distribución de las rickettsias que inducen vasculitis, conlleva al desarrollo de pequeñas áreas de microhemorragias, aumentando la permeabilidad vascular, induciendo edema local agravando la inflamación humoral y activando mecanismos de coagulación. La inmunidad celular induce apoptosis en las células infectadas con rickettsias por medio de mecanismos mediados por los linfocitos CD8+ y T citotóxicos. El efecto de este proceso es el daño endotelial celular, seguido de una respuesta inmune fagocítica con acumulación de linfocitos y macrófagos, ocasionando una vasculitis linfocitaria que causa finalmente la muerte celular y en conjunto, finalmente necrosis. La filtración de líquido de los vasos sanguíneos hacia el tejido puede tener resultados fatales cuando los órganos afectados son de vital importancia como en el caso del pulmón y el cerebro (Chen y Sexton, 2008).

Las actividades del sistema antioxidante del hospedero, están reguladas por tres enzimas en las células: la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa, la catalasa y la glutatión-peroxidasa, las cuales disminuyen durante la infección por *R. rickettsii*, mientras que la enzima superóxido dismutasa aumenta. Se ha demostrado que el ácido alfa-lipoico es un potente antioxidante y tiene efecto protector contra cambios oxidativos al disminuir los niveles de peróxidos y elevar los de glutatión reducido y la actividad de la glutatión-peroxidasa en células infectadas por *R. rickettsii*. Estos cambios se dan para la protección de la célula infectada por rickettsias. Las células endoteliales infectadas inducen la expresión de la enzima heme-oxigenasa como mecanismo protector contra el daño oxidativo (vasoprotector); el mecanismo regulador de la función de la heme-oxigenasa en la vasculatura, es el control de la actividad del sistema de la ciclooxigenasa, responsable de generar sustancias vasoactivas, como las prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano. Estos resultados demuestran la presencia del estrés oxidativo que se produce en las células infectadas por *R. rickettsii* y que además se asocia con el aumento en la permeabilidad vascular como parte de los daños provocados por la infección (Yu y Walker, 2006; Opfer, 2009; Woods, 2013).

La patogenia es muy similar al diseminarse las bacterias en las diferentes rickettsiosis, consiste en una vasculitis de los capilares por infección directa de las células endoteliales, mononucleares, macrófagos y el daño directo con la liberación de mediadores y citocinas (Opfer, 2009); originando un infiltrado linfo-histiocitario perivascular asociado a vasculitis, hemorragia y edema (Barba, 2009). Cuando las rickettsias se ponen en contacto con las células endoteliales, inducen una serie de señalizaciones que se requieren para su entrada y reproducción en ellas como: la transglutaminación, fosforilación de tirosina, activación de la fosfolipasa C (PLC) – $\gamma 2$, producción de Inositol trifosfato (IP_3), el cual actúa como mensajero de la transducción de señal celular y se produce por hidrólisis catalizada mediante PLC – $\gamma 2$, su efecto en el entorno celular es la movilización y el aumento moderado de Ca^{2+} citoplasmático. En el caso de *Rickettsia rickettsii* la proteína OmpA y la proteína OmpB, están relacionadas con la adherencia (Yu y Walker, 2006; Opfer, 2009; McBride *et al.*, 2003). Un receptor celular recientemente identificado, es la proteína Ku70, la proteína de la membrana externa OmpB de la rickettsia se une a las moléculas Ku70 en la superficie y engancha más moléculas Ku70 a la membrana del hospedero. Ku70 es una subunidad del DNA, dependiente de proteína-quinasa que se expresa en células de mamíferos y se localiza comúnmente en el núcleo y citoplasma; su localización está restringida a células endoteliales y monocitos, las dos principales células blanco para la FMMR (Woods, 2013; Chen y Sexton, 2008). La unión a la célula induce fagocitosis, pero las rickettsias rompen rápidamente la membrana de las vesículas fagocíticas para comenzar su vida en el citoplasma (Valbuena, 2010).

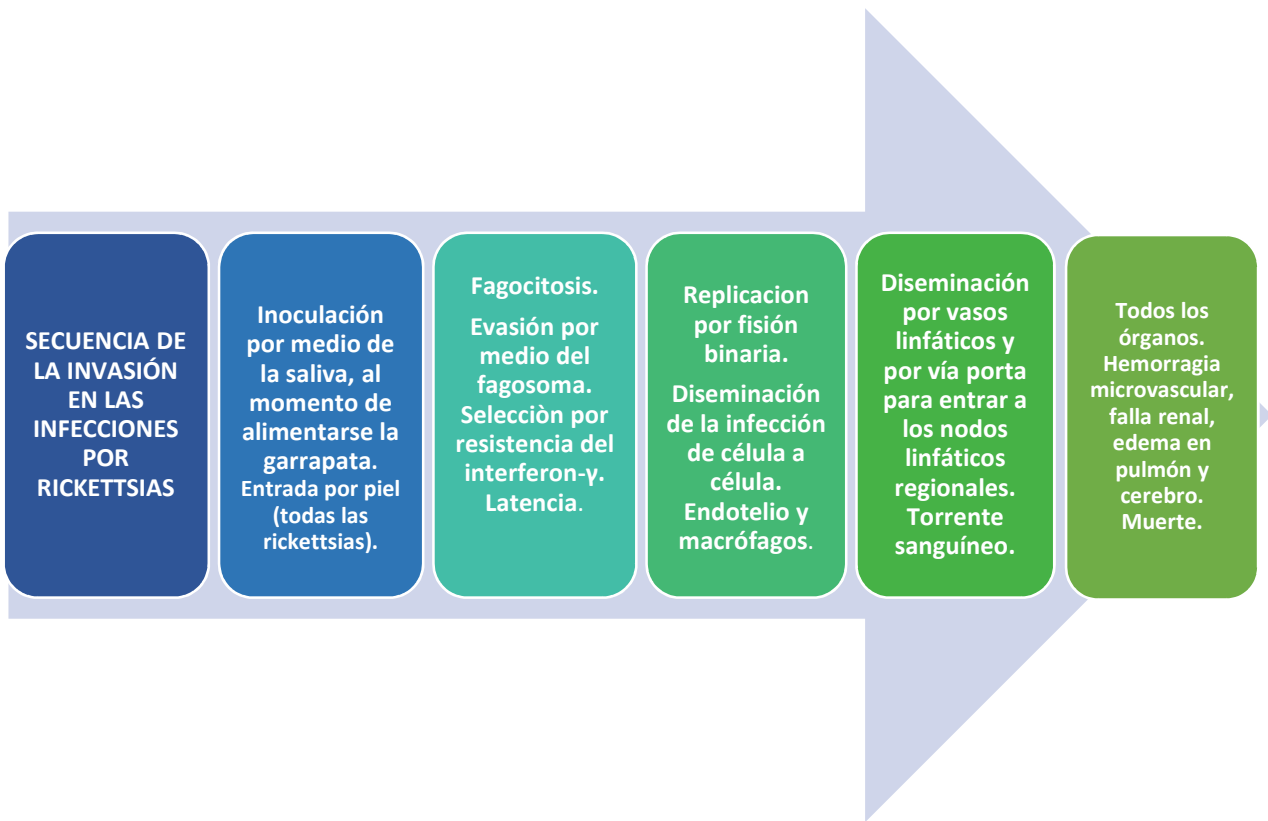
R. rickettsii es una bacteria que causa una enfermedad muy severa en humanos, cuyo tropismo y multiplicación en las células del endotelio vascular se asocia con efectos citopáticos que contribuyen con un aumento pronunciado en la permeabilidad vascular, ocasionando edema, hipovolemia (Opfer, 2009), daño y muerte de estas células y como resultado se produce un distintivo infiltrado perivascular linfocitario y la extravasación de fluidos del endotelio a otros órganos (Yu y Walker, 2006; Opfer, 2009; Woods, 2013). El daño vascular generalizado es principalmente derivado de afectación intracelular en la pared. La infección por rickettsias se disemina vía sanguínea o linfática dentro de las células mononucleares infectadas, llegando a otros órganos como hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos donde se multiplican (Harrus *et al.*, 1999). El edema puede ser muy peligroso en pulmón y cerebro, ya que los fluidos intersticiales no pueden eliminarse vía linfática y la hipovolemia puede causar disfunción renal. Las lesiones multifocales en cerebro causan pérdida de la función neurológica, pero en los demás órganos las lesiones rara vez causan falla orgánica, por ejemplo, en el hígado la destrucción de hepatocitos puede elevar las transaminasas, pero no se presenta falla hepática. A pesar de que *R. rickettsii* induce un estado pre-coagulante, en estudios en animales y en autopsias de casos fatales por *R. rickettsii* la CID (coagulación intravascular diseminada), es rara en FMMR (Opfer, 2009; Chen y Sexton, 2008; Llop *et al.*, 2001). La abundante presencia de *R. rickettsii* dentro y alrededor de pequeños vasos sanguíneos y endotelio vascular; también puede infectar músculo liso y monocitos (Kidd y Breitschwerdt, 2013).

La inflamación y la cascada de coagulación están afectadas por otros mecanismos asociados a estos organismos (Beran, 1994). La pérdida de la integridad de los pequeños vasos sanguíneos del cerebro da como resultado hemorragias en el espacio subaracnoideo, ocasionando irritación de las meninges, seguido por un infiltrado mononuclear perivascular, dando como resultado signos de daño a nivel de sistema nervioso central (Glaser y Christie 2010).

Gracias a varios estudios se ha podido demostrar que las rickettsias tienen la habilidad de modular y ser menos patogénicas durante periodos de estrés, como en la garrapata *D. andersoni*, cuando *R. rickettsii* se encuentra en las glándulas salivales y la garrapata ha pasado por un largo periodo de inanición, como ocurre en invierno, la virulencia de la bacteria disminuye y después, al alimentarse el vector, se reactiva la virulencia y además se estimula su multiplicación (Smith *et al.*, 1976). Esto se comprobó al inocular un macerado de garrapatas en ayuno infectadas a cuyos, los cuales no desarrollaron la enfermedad, pero sí la seroconversión asintomática. La recuperación de la capacidad virulenta ocurre dentro de las siguientes 24 a 72 horas de cuando la garrapata se alimenta o cuando se expone a temperaturas elevadas, 37° C (Raoult, 1997; Barba, 2009; Murray *et al.*, 2009; Beran, 1994; Anderson y Magnarelli, 2008). Esto se comprobó inoculando nuevamente en los cuyos con las garrapatas infectadas, alimentadas y mantenidas a 37° C y sí hubo infección y manifestaciones clínicas de la enfermedad en los animales infectados (Yu y Walker, 2006). Hay reportes de casos en donde la reactivación ocurre en un periodo de cuatro a seis horas (Barba, 2009). Este proceso conocido como reactivación se conoce desde hace más de 80 años, pero continúa siendo un misterio, cómo es que las rickettsias pueden estar en la larva y permanecer en ella por un año y después persistir en la fase de ninfa, reactivando su virulencia al momento en que esta fase comienza su alimentación, se cree que es el cambio de temperatura y el aumento en la ingestión de sangre lo que reactiva a las rickettsias (Yu y Walker, 2006, Greene, 2013), pero el mecanismo molecular que desencadena este proceso a ciencia cierta no se ha logrado descifrar (Chen y Sexton, 2008).

La diversificación de los signos pudiera depender de la variación en la virulencia de algunas rickettsias, la cual podría estar determinada genéticamente (Rodríguez y Camarillo, información no publicada; Rar y Golovljova, 2011); por ejemplo, *E. chaffeensis*, presenta una proteína de superficie expuesta e inmunodominante: la 120 kDa OMP, esta proteína tiene un gran número de aminoácidos hidrofílicos con repeticiones en tándem, estas repeticiones presentan pequeñas variaciones, de manera que al aislar muestras de *E. chaffeensis* en el humanos, en la garrapata *Amblyomma americanum* y en el venado cola blanca, hubo diferencias entre sí en la proteína 120 kDa, estos cambios podrían determinar la virulencia, pero qué es lo que define realmente la variación no está del todo comprendido (Rar y Golovljova, 2011).

Figura 8. Secuencia de invasión en las infecciones por rickettsias.



Tomado y modificado de: Rydkina E *et al.* *Rickettsia rickettsii* infection of cultured human endothelial cells induces hemoxygenase 1 expression. Ann NY Acad Sci 2005; 1063: 207-210 (Barba, 2009).

En la evolución de la patogenia se producen cambios hematológicos, uno sumamente importante es la trombocitopenia, la cual es uno de los hallazgos más consistentes en perros infectados natural o experimentalmente, ya que ocurre en más del 90 % de los casos. Cuando se induce la infección inyectando las rickettsias por vía intravenosa, se detecta una marcada trombocitopenia a los 10 a 14 días post inoculación, cuando la infección fue inducida por vía subcutánea, la trombocitopenia se presentó de manera consistente al día 28 postinoculación y el aumento en la producción de anticuerpos inició entre el día 14 y 28 (Gaunt *et al.*, 1996). Al mismo tiempo que se desarrolla la trombocitopenia en la etapa aguda de la enfermedad, es común que haya un aumento considerable en el volumen promedio de plaquetas y esto refleja una trombocitopoyesis activa (Harrus *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 2017; Little, 2010). Hay varios mecanismos involucrados en la patogenia de la trombocitopenia, en la etapa aguda, la trombocitopenia se atribuye a un aumento en el consumo de plaquetas incrementado debido a procesos inflamatorios en el endotelio de los vasos sanguíneos (vasculitis), aumento del secuestro esplénico de plaquetas y destrucción inmunomediada o lesión, que resulta en una disminución de la vida media plaquetaria, que va de 4 a 9 días (Harrus y Waner *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 2017; Greene, 2013). En la fase aguda, la unión plaquetaria se ha detectado en todo el cuerpo y los anticuerpos antiplaquetas (AAP) circulantes, se han detectado en el suero;

tanto en infecciones naturales, como de experimentación; este proceso esencialmente es la hipersensibilidad tipo II (conocida también como citotóxica), en la que se depositan antígenos solubles de las rickettsias que forman el complejo con los anticuerpos respectivos, fijan el complemento y este proceso induce su destrucción en la circulación particularmente en los capilares (Greene, 2013).

Lo anterior puede ser un elemento muy importante en la evolución de la trombocitopenia (Harrus *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 2017). El estímulo para la producción de los AAP no está del todo entendido, pero hay dos teorías:

- La presencia de AAP antes que la presencia de anticuerpos contra *E. canis* sugiere que las células B, que de manera natural tienen receptores auto-anticuerpos, son inducidas a proliferar y madurar cuando interactúan con antígenos sobre todo de tipo soluble de *Ehrlichia*, los cuales son antigénicamente similares a los antígenos propios.
- La otra teoría propone que la producción de AAP se incrementa, como consecuencia de una destrucción de componentes plaquetarios y una liberación masiva de proteínas estructurales, causada por una destrucción plaquetaria de origen no inmunológico (Harrus *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 2017). Dado que estas bacterias son capaces de producir grandes cantidades de antígenos solubles, su depósito en la superficie de las plaquetas debe estar conectado con el desarrollo de una respuesta, que inicialmente, está dirigida a productos antigénicos de origen bacteriano, los cuales se fijan a la célula y desencadenan una respuesta específica, pero en este caso, la célula portadora es la víctima, reduciendo su concentración en el cuerpo de el vertebrado infectado.

Cortese *et al.* (2011), demuestran la presencia de AAP en el suero de 60 % de los perros infectados con *E. canis* y un incremento del 20 % cuando están presentes otras enfermedades como leishmaniasis. Esto es perceptible hasta en el 80 % de muestras de suero de humanos con ehrlichiosis granulocítica, en estos casos la máxima concentración de AAP en la sangre se detectó entre los días 17 a 24 en la infección, lo cual sugiere que los AAP juegan un papel importante en la disfunción plaquetaria en la fase aguda de la ehrlichiosis (Harrus *et al.*, 1999).

En pacientes infectados con *E. canis* se ha demostrado, que la unión plaquetaria está disminuida en la etapa aguda y hay otros estudios, donde se demuestra la presencia del factor inhibidor de la migración plaquetaria, producido por linfocitos expuestos a monocitos infectados, los cuales han sido aislados y caracterizados de perros con ehrlichiosis y esto definitivamente está ligado a la presentación de hemorragias en la evolución de la enfermedad (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017).

En el caso de *A. platys*, la trombocitopenia aparece como un evento intermitente que dura 3 - 4 días y se presenta con intervalos de entre 7 - 21 días, de esto deriva la denominación de

trombocitopenia cíclica (Lorente, 2005). La trombocitopenia puede ser debida a la combinación del daño directo a las plaquetas y también por mecanismos inmunomediados, que tienden a resolverse de manera espontánea (Battilani *et al.*, 2017). La trombocitopenia está acompañada de disfunción plaquetaria (trombocitopatía), en los perros infectados, teniendo como implicaciones la diátesis al sangrado persistente (Gutiérrez *et al.*, 2017), observado también en la EMC (Harrus *et al.*, 1999).

La presencia de gammopatía monoclonal no es común, pero se han publicado casos en los que se desarrolló hiperviscosidad sanguínea con signos clínicos y lesiones patológicas asociadas a hemorragia subretinal y desprendimiento de retina causando ceguera aguda (Harrus *et al.*, 1999; Waner y Harrus, 2013; Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017).

Hay una leucopenia significativa causada por la disminución de neutrófilos (Harrus y Waner *et al.*, 1998; McClure *et al.*, 2010; Bremer *et al.*, 2005), estos cambios se presentan en todas las fases de la enfermedad (Greene, 2013). El bazo juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad, ya que, al acumularse las bacterias en pequeñas cantidades en el bazo, se mantiene la infección y los signos se presentan en los pacientes con mayor severidad. Se ha observado, que los perros con infección crónica sometidos a esplenectomía, presentaron signos moderados, comparados con la severidad en pacientes intactos. Los pacientes esplenectomizados presentaron resultados considerablemente más elevados en el conteo de eritrocitos, plaquetas, hematocrito y concentración de hemoglobina durante todo el estudio. Lo que nos indica que, al realizar esplenectomía aparentemente, se elimina el órgano que representa un almacén y de este modo se podría llegar a prevenir la pancitopenia en la fase crónica, previniendo también que se mantenga la infección y que haya portadores de la enfermedad (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017). En estudios donde se ha dado seguimiento 3 años después de la infección indicaron que, es probablemente en el bazo donde se acumulan las rickettsias en la fase subclínica de la enfermedad y es probable que sea el último órgano donde persisten antes de ser eliminadas (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013).

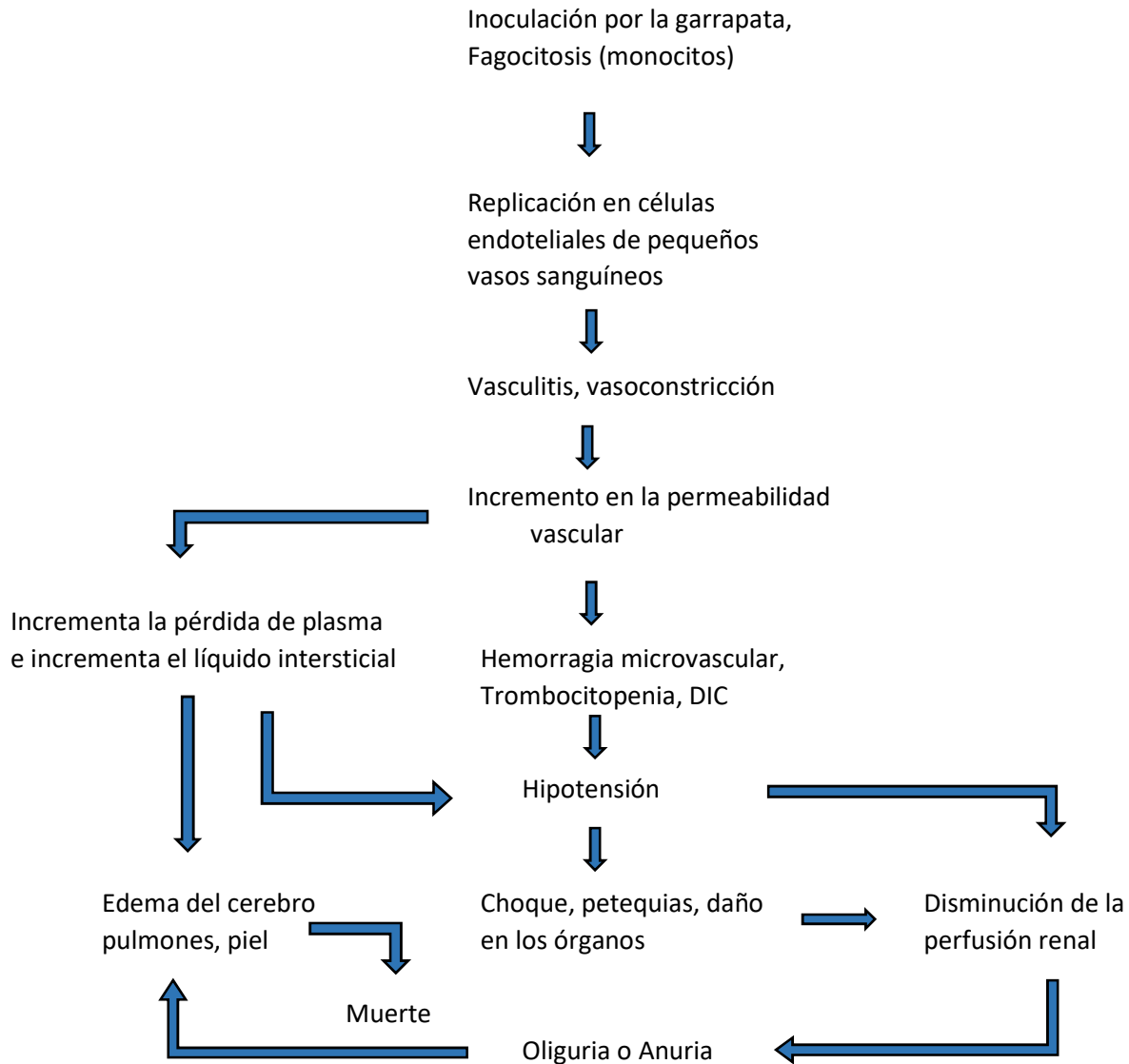
Algunos pacientes se han recuperado de la fase aguda de la enfermedad de manera espontánea, entrando a la fase subclínica, donde se presentan como clínicamente sanos, pero son portadores de la enfermedad y posteriormente entran a la fase crónica, aun cuando no todos los perros entran a la etapa crónica; como se señaló previamente, aparentemente el bazo juega un papel relevante como zona en la que se mantiene la presencia de las bacterias en pequeñas cantidades (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013).

Los anticuerpos IgG aparecen 15 días después de la infección experimental, son la principal respuesta en todas las fases de la enfermedad. Aparentemente la inmunidad inducida por las células T y la secreción del interferón gamma tienen un papel importante en la recuperación del paciente de la rickettsiosis (Greene, 2013).

Las reacciones de hipersensibilidad, clásicamente se refieren a una reacción inmunitaria exacerbada, donde se produce un cuadro patológico de rápida instalación y potencialmente mortal, donde los antígenos son propios. Estas reacciones requieren previa sensibilización y pueden estar presentes en la patogénesis de estas enfermedades, las variantes que se pueden asociar en este caso son la tipo II (citotóxica), que se describió en párrafos previos y se asocia a la destrucción inmunomediada de células rojas, blancas y plaquetas, pero también debe considerarse la existencia de la tipo IV, que se asocia al depósito de complejos inmunes (antígeno-anticuerpo), en la capa basal de las paredes de los capilares en los distintos tejidos, que al fijar parcialmente el complemento, provocan la destrucción de la pared vascular, que esta representada por una sola capa de células endoteliales, esto puede ligarse a la destrucción vascular, la activación de procesos de coagulación, deficiencias en la llegada de oxígeno y nutrientes a los tejidos que provocan eventos degenerativos y muerte tisular por lo que se puede inducir una extensa infiltración plasmática en la medula ósea y de los órganos parenquimatosos, resultados positivos a la prueba de Coombs, auto aglutinación, producción de AAP y la presencia de complejos inmunes circulantes después de infecciones naturales y experimentales. La hipergammaglobulinemia policlonal no corresponde con la magnitud de los títulos de anticuerpos específicos para esta enfermedad (McClure *et al.*, 2010; Harrus *et al.*, 1999) y más que tener un papel positivo en la evolución del proceso, puede resultar negativo debido al desarrollo de hipersensibilidad (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013).

La pancitopenia es resultado de la hipoplasia medular, este es un hallazgo común en la fase crónica de la enfermedad (McClure *et al.*, 2010; Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017; Hoyos, 2005), complicando el estado clínico (Harrus *et al.*, 1999). Una marcada disminución de los leucocitos y disminución en la producción de plaquetas en el hematocrito, están relacionados con un alto riesgo de mortalidad debido a la destrucción plaquetaria, a la presencia de factores que inhiben la unión plaquetaria y a que la vida de las plaquetas está disminuida. Cuando la leucopenia y la anemia son severas, la activación del tiempo parcial de tromboplastina (a PTT), está aumentado y hay hipocalcemia, la mortalidad es de un 100 %. La muerte puede producirse por las hemorragias y /o infecciones secundarias que, en el caso de los perros, puede estar asociada a otras bacterias como *Borrelia burgdorferi*; es común la presencia de las dos ya que comparten el mismo vector, la leishmaniasis y también infecciones por estreptococos; en humanos es común con la presencia de enfermedades inmuno supresoras como el SIDA (Greene, 2013; Shipov *et al.*, 2008). En general, se augura un mal pronóstico cuando hay presencia de leucopenia, pancitopenia y tendencia al sangrado que contribuye al agravamiento de la anemia (Mylonakis *et al.*, 2004; Palacios *et al.*, 2017; Shipov *et al.*, 2008). En países como Grecia, es bien sabido que perros de razas grandes, con pancitopenia asociada a *E. canis*, suelen sucumbir a la enfermedad, a pesar de todos los esfuerzos para controlarla. En contraste, hay autores que han observado, que pacientes de razas pequeñas, con exactamente los mismos resultados clínicos, tienen pronósticos positivos y se recuperan de la enfermedad. En la fase de recuperación, las primeras células en volver a la normalidad son los neutrófilos, seguidos por las plaquetas y glóbulos rojos (Mylonakis *et al.*, 2004).

Figura 9. Patogenia de la infección por *Rickettsia rickettsii*.



R. rickettsii entra generalmente, por medio de la picadura de garrapatas infectadas, se disemina a través del sistema circulatorio, invade y se replica en células endoteliales, (de acuerdo con la especie de rickettsia de que se trate hay replicación previa en monocitos, neutrófilos o plaquetas), con la activación de proteasas y fosfolipasas, hay daño a la membrana celular, vasculitis y activación de las plaquetas, la activación del sistema de coagulación. Hay presencia de edema y hemorragia en órganos como pulmón y cerebro lo cual puede ocasionar la muerte, así como también por falla renal. Tomado y adaptado de patogénesis de FMMR (Green 2013).

La persistencia de las rickettsiosis para desencadenar la fase crónica de la enfermedad, se logra activando inespecíficamente mecanismos de evasión inmune, lo cual ocurre debido a la constante variación en los antígenos de superficie de la envoltura bacteriana y la expresión de diferentes variantes proteicas que generan una gran variedad de moléculas y también grandes cantidades de estas, induciendo la producción de grandes volúmenes de anticuerpos, que resultan en un deterioro de células o tejidos asociados a los problemas de hipersensibilidad que se observan en estas enfermedades. Están identificadas nueve secuencias de homología en los

genomas de las rickettsias, las cuáles juegan un papel importante en la patogenicidad y la interacción del patógeno con las células del hospedero (Greene, 2013; Rodríguez y Camarillo, comunicación verbal). Además, otras condiciones para que se presente la fase crónica de la enfermedad pueden asociarse a características individuales como, la raza, el estado inmune del animal, nivel de estrés, co-infección con otros parásitos, ubicación geográfica, cepa del parásito o reinfección constante del animal (Harrus *et al.*, 1999). El riesgo de desarrollar la enfermedad crónica no debe ser ignorado. El diagnóstico y tratamiento de la enfermedad subclínica es recomendado con la finalidad de prevenir su avance. Una mejor comprensión de los factores que llevan a desarrollar esta etapa de la enfermedad y comprender la patogenia en la depresión de la médula ósea, podrán ayudar a desarrollar mejores protocolos de tratamiento y optimizar el pronóstico (Harrus *et al.*, 1999).

Característica clínicas

Para el diagnóstico de las enfermedades rickettsiales se puede hacer uso de diferentes herramientas de diagnóstico; es importante recordar que, estas enfermedades por muchos años se han diagnosticado únicamente en base a los signos clínicos, es por eso que un buen examen clínico es crítico para poder llegar a su diagnóstico (Roault-Roux, 1997; Fritz y Glaser, 1998).

Debemos partir de que en las enfermedades rickettsiales, en términos de signos clínicos, el único hallazgo consistente, es la inconsistencia. No hay signos patognomónicos en estas enfermedades (Buoro *et al.*, 1990). Un ejemplo fue un estudio realizado por Vlahakis *et al.* (2018), en Lusaka (Zambia), en el que los perros que se consideraban clínicamente sanos fueron los que resultaron positivos (9%). En estudios en Costa Rica y Japón respectivamente, los perros infectados no mostraron signos clínicos que pudieran ser detectados por los dueños, los perros no habían sido tratados con doxiciclina contra la anaplasmosis, por lo que se concluye, que la enfermedad puede haberse desarrollado de forma subclínica desde el principio, y se resolvió de manera espontánea; estos resultados pudieran estar conectados con la posibilidad de una respuesta inmune eficiente de estos animales permitiendo así, controlar la infección. Estos resultados son consistentes con otros estudios donde se describen algunos signos inespecíficos en perros infectados, pero también pueden asociarse con la adaptación gradual de los animales y la disminución del impacto de la enfermedad (Bonilla *et al.*, 2017; Taira *et al.*, 2018; Inokuma *et al.*, 2003; Eberts *et al.*, 2011).

En estas enfermedades se pueden distinguir claramente tres etapas evolutivas al finalizar el periodo de incubación que son la fase aguda, la subclínica y la crónica. La fase aguda puede durar de 1 a 4 semanas, la mayoría de los perros se recuperan de esta etapa con el tratamiento adecuado. Los perros inmunocompetentes que eliminan la infección durante este periodo, desarrollan la fase crónica (Harrus *et al.*, 1998; McClure *et al.*, 2010; Greene, 2013; Gutiérrez, 2017).

Es en la fase aguda donde se manifiestan la mayoría de los signos clínicos de estas enfermedades (Troy *et al.*, 1980; Hibler *et al.*, 1986). Ocurre dentro de los primeros 8 a 20 días después de la inoculación de las bacterias. Entre los signos generales, que son totalmente inespecíficos, se detecta fiebre, apatía, decaimiento, anorexia o apetito caprichoso, pérdida de peso, letargia, linfadenomegalia, esplenomegalia en un 25 % de los pacientes (Waner y Harrus, 2013; Stiles, 2000; Greene y Harvey, 1984; Breitschwerdt *et al.*, 1987; Waddle y Littman, 1988; Troy *et al.*, 1980; Kuehn y Gaunt, 1985; Greene *et al.*, 1985; Sainz *et al.*, 1996; Greene, 2013), y predisposición a hemorragias (Huxsoll, 1976; Troy *et al.*, 1980; Greene y Harvey, 1984; Kuehn y Gaunt, 1985; Greene *et al.*, 1985; Breitschwerdt *et al.*, 1987; Waddle y Littman, 1988; Sainz *et al.*, 1996). Estos signos clínicos pueden aparecer en numerosas enfermedades y no siempre aparecen conjuntamente en el curso de la ehrlichiosis, fiebre manchada o anaplasmosis canina (Lorente, 2005).

Dentro de la fase aguda, la epistaxis es un signo frecuente en ehrlichiosis (Harrus y Waner, 2011; Hoyos, 2005). Hay casos severos donde se pueden presentar hemorragias petequiales o equimóticas, linfadenopatía y casos poco comunes donde se presentan trastornos en el sistema nervioso central. También puede aparecer edema de extremidades o del escroto (Huxsoll *et al.*, 1970; Woody y Hoskins, 1991; Breitschwerdt, 1995). Poliartropatía, edema de los miembros, hepatomegalia, náusea, vómito, dolor cervical, mialgia, artralgia, neumonitis, tos y disnea (Waner y Harrus, 2013; Stiles, 2000; Battilani *et al.*, 2017). Pero pueden ser tan moderados, que pueden pasar desapercibidos. Si no hay tratamiento, especialmente cuando la enfermedad no ha generado manifestaciones severas, el perro pasa a la fase subclínica (Rar y Golovljova, 2011; Stiles, 2000; Nair, 2016).

Se debe considerar, que es común encontrar pacientes con enfermedades que se desarrollan simultáneamente, como la anaplasmosis y ehrlichiosis, infecciones por *Hepatozoon canis*, *Babesia canis vogeli* o *R. conorii* o infecciones virales, bacterianas y helmintiasis (Bouzouraa *et al.*, 2016; Harrus y Waner, 2011).

Signos oftálmicos.

Son comunes en la fase aguda de la ehrlichiosis y se presentan con menor frecuencia en la fase subclínica, consisten en uveítis anterior y enfermedad de la retina con presentación bilateral (Waner y Harrus, 2013), no ocurren en todos los pacientes y depende de la severidad de afección. Se documentó que 43 % de los pacientes que murieron por infección por *E. canis*, en diferentes instalaciones de la armada de los Estados Unidos en el sureste de Asia, presentaron problemas oculares (Waner y Harrus, 2013; Stiles, 2000). En un estudio experimental en Barcelona, España; el 37 % de los perros infectados, presentaron problemas oculares consistentes en cambios en color, algunos desarrollaron ceguera debido a la paraproteinemia (también denominada gammopatía monoclonal), (Harrus *et al.*, 1999; Waner y Harrus, 2013; Greene, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017). Se puede presentar hipertensión intraocular,

hipema (presencia de sangre en la cámara anterior del ojo), sangrado subretinal y desprendimiento de la misma. Las alteraciones asociadas a la enfermedad en la retina consisten en coriorretinitis, papiledema, hemorragia retinal, infiltrados retinales perivasculares, desprendimiento de la bulla retinal, hipopion y sinequia (adherencias), que son evidencia del infiltrado celular inflamatorio debajo y dentro de la retina. Puede presentarse glaucoma secundario a la uveítis anterior crónica, signo que también se ha observado en perros infectados con *E. chaffeensis* (Waner y Harrus, 2013; Stiles, 2000; Pendse, 2006; Greene, 2013; Gelatt, 1991). La escleritis necrotizante es una manifestación poco común, se asocia con la severa destrucción de estructuras intraoculares (Stiles, 2000). La neuritis óptica, puede ser evidencia de un disco óptico borroso y hemorragias peripapilares (Stiles, 2000). Hay estudios que describen que las lesiones oculares ocurren en casi todas las estructuras del ojo y en algunos casos, esa es la única referencia que lleva a los dueños de los perros para acudir a consulta (Waner y Harrus, 2013).

Pancieria *et al.* (2001) y Waner y Harrus, (2013), realizaron un estudio comparativo en *Estados Unidos*, entre la habilidad de *E. canis*, *E. chaffeensis* y *A. phagocytophilum* para inducir inflamación ocular y meningitis cerebral y encontraron que únicamente *E. canis* fue consistente en causar inflamación uveal y meningitis en perros experimentalmente infectados.

En el caso de FMMR, las lesiones oculares son frecuentes y están asociadas principalmente como consecuencia de la vasculitis. Las lesiones más comunes son hiperemia conjuntival, hemorragia subconjuntival, hipema, uveítis anterior, hemorragia del iris, hemorragia retinal, edema retinal e infiltración perivascular de células inflamatorias. El incremento de la permeabilidad vascular de la retina inicia aproximadamente al sexto día de iniciada la infección y dos días después de la presencia de fiebre. Las vénulas se afectan dos veces más frecuentemente que las arteriolas. Las lesiones tienden a ser bilaterales, pero no simétricas y se puede presentar nistagmos. Los signos oculares en ehrlichiosis y FMMR son sumamente similares, pero con algunas excepciones, las hemorragias e infiltrados de células inflamatorias en FMMR tienden a ser menos dramáticos (Stiles, 2000; Kidd y Breitschwerdt; 2013; Greene, 2013).

Signos Neuromusculares.

Las manifestaciones neurológicas de la ehrlichiosis son principalmente el resultado de la inflamación, hemorragias en las meninges o las dos y se asocian con el daño al sistema nervioso central, adyacente al tejido del sistema nervioso periférico. Esto genera la presentación de convulsiones, estupor, ataxia, disfunción vestibular aguda periférica o central, anisocoria, disfunción cerebelosa, temblores intencionales, se ha observado también hiperestesia generalizada o localizada (Greene, 2013).

Buoro *et al.* (1990), describen en Nairobi, Kenia; dos casos de perros cuza de pastor alemán, que presentaron polimiositis, los dos pacientes con presentación relativamente aguda

de tetraparesis progresiva, hiporreflexia y desgaste muscular generalizado. El sistema músculoesquelético presentaba atrofia, histológicamente se caracterizó por infiltrados celulares linforeticulares inmaduros, plasmocíticos y linfocíticos con áreas acompañadas de necrosis. Las similitudes histopatológicas entre ehrlichiosis y polimiositis son notorias de manera que los autores deducen que existe relación en su etiología.

En cuanto al sistema locomotor se ha descrito la aparición de cojeras intermitentes debidas a poliartritis (Bellah *et al.*, 1986; Cowell *et al.*, 1988), y polimiositis (Buoro *et al.*, 1990). Sin embargo, en otros estudios no se logró demostrar evidencia citológica del proceso inflamatorio en las articulaciones durante la infección experimental aguda con *E. canis* (Theodorou *et al.*, 2015).

Signos cardiacos.

Existe evidencia que la ehrlichiosis puede ser un factor de riesgo para lesiones en el miocardio, esto debido al hallazgo de altos niveles de troponina cardiaca 1 (esta molécula se asocia a daño en musculatura cardiaca), en perros con infección aguda de *E. canis*. En un caso se publicaron cambios aparentes en el electrocardiograma asociados con la infección por *E. canis* (Greene, 2013). En un estudio en Sao, Paulo, Brasil, Diniz *et al.* (2008), evaluaron 194 perros con anomalías clínicas y de laboratorio que indicaban EMC, se realizó electrocardiograma, ecocardiograma, se midió la presión arterial y los niveles de troponina cardiaca en el suero (cTn1), (Koutinas *et al.*, 2012). Los perros infectados con *E. canis* presentaron elevados niveles de cTn1 en el suero comparados con los perros control. La conclusión fue que los perros con infección natural de *E. canis* en la etapa aguda tienen mayor riesgo de presentar daño al miocardio, esto debido a que los niveles elevados de cTn1 en el suero están relacionados, en humanos, con daño al músculo cardiaco, estriado y esquelético. La cTn1 está involucrada en la contracción y relajación de este tipo de músculos. Se documentó un solo caso en el que los cambios en el electrocardiograma fueron indicativos de una parasistolia atrial, causada por *E. canis*, y es básicamente una arritmia poco común; este cambio se resolvió con tratamiento de doxiciclina, lo que sugiere la asociación con esta enfermedad (Waner y Harrus, 2013).

Signos respiratorios.

Se caracterizan por la presentación de exudado mucopurulento acompañado en ocasiones de disnea y tos (Huxsoll *et al.*, 1970; Codner *et al.*, 1985; Kuehn y Gaunt, 1985; Sainz *et al.*, 1996). La disnea puede también ser debida a la existencia de anemia severa (Sainz *et al.*, 1996). Las manifestaciones respiratorias, oculares y cutáneas, aparecen en un 35 – 40 % de los casos. Estos signos suelen ser más habituales en la fase crónica, aunque también se han descrito en la fase aguda (Sainz *et al.*, 1996).

Signos hepáticos.

Hay un reporte de un caso donde el paciente presentó hepatitis severa, asociada con anorexia, vómito intermitente y diarrea, con duración de 5 días, signos asociados con EMC (Waner y Harrus, 2013).

Signos esplénicos.

La esplenomegalia es un hallazgo clínico comúnmente observado en la fase aguda y crónica de la enfermedad. En la fase aguda, la esplenomegalia no es congestiva. El bazo es un órgano reservorio de *Ehrlichia* probablemente por la abundante acumulación de macrófagos en su estructura (Harrus *et al.*, 1998, Waner y Harrus, 2013). Es por esto, que bazo es el tejido de elección, para el diagnóstico molecular en las diferentes fases de la enfermedad. Esto se ha comprobado en estudios en perros infectados, con trombocitopenia y signos clínicos de EMC, (Waner y Harrus, 2013). Faria *et al.* (2010), en Sao Paulo, Brasil; realizaron aspirados del bazo y detectaron mórulas de *Ehrlichia* en 48.5 % de los perros y el DNA de *E. canis* se detectó en 72.5 % de las muestras aspiradas.

El bazo juega un papel importante en la patogenia y severidad de la enfermedad, en estudios comparativos del daño ocasionado en pacientes con esplenectomía y en pacientes intactos, se ha demostrado que, los perros esplenectomizados desarrollan anticuerpos con los mismos títulos e intervalos que los pacientes intactos y los pacientes esplenectomizados manifiestan una enfermedad con signos clínicos moderados. Durante la fase aguda los pacientes intactos disminuyeron notoriamente el consumo de alimento, comparado con los pacientes esplenectomizados, así como también, hubo un incremento en la presencia de fiebre elevada en los pacientes intactos, en comparación con los pacientes esplenectomizados. Los cambios en los parámetros hematológicos como hematocrito, concentración de hemoglobina y conteo plaquetario fueron menos afectados en los perros esplenectomizados, en comparación con los perros intactos, esto es un indicativo de la participación del bazo en la patogenia de la enfermedad (Waner y Harrus, 2013).

Sintomatología cutánea.

Hasta hace no mucho tiempo, la sintomatología cutánea relacionada con la ehrlichiosis, era la presencia de alteraciones hemorrágicas como petequias y equimosis en mucosas o piel (Troy *et al.*, 1980; Waddle y Littman, 1988; Perille y Matus, 1991). Sainz *et al.*, (1996) describen una incidencia relativamente elevada de problemas cutáneos asociados a la ehrlichiosis, que pueden variar desde pelaje hirsuto, hasta la aparición de dermatitis alopécicas con eritema y descamación, que remiten tras el tratamiento; lesiones semejantes han sido descritas por otros autores (Lorente, 2005). La frecuencia de presentación de hemorragias se estima de un 35 % (Kuehn y Gaunt, 1985; Waddle y Littman, 1988; Sainz *et al.*, 1996), pero algunos estudios refieren incidencias más altas (hasta el 70 %), (Troy *et al.*, 1980, Price *et al.*, 1987; Troy y Forrester, 1990; Sainz *et al.*, 1996). Otros signos hemorrágicos que pueden aparecer son: hematoquecia,

hematuria, hipema, hemartrosis o hemorragia subconjuntival. También ha sido descrita, la aparición de hematomas tras la extracción sanguínea o la inyección de fármacos (Troy *et al.*, 1980).

En el caso de FMRR las hemorragias petequiales y equimóticas se llegan a presentar después de la fase aguda de la enfermedad en algunos perros, y cuando se presentan, su localización, es más común en mucosas (oral, ocular y genital), que en la piel. Epistaxis, melena y hematuria (Greene, 2013). En ocasiones gangrena, necrosis de la piel y tejidos blandos se pueden llegar a presentar en perros severamente afectados por la enfermedad (Beran, 1994; Greene, 2013; Fourie *et al.*, 2013).

Signos asociados a ganglios linfáticos.

La linfadenomegalia es un hallazgo clínico común durante la fase aguda de la enfermedad. El aumento en el tamaño de los ganglios linfáticos, es en parte debido a una actividad hiperplásica de linfocitos B y T en respuesta a la estimulación producida por los antígenos de *Ehrlichia*. La característica histológica de EMC se observa en la arquitectura alterada del tejido linfático, debido a la acumulación linfoide perivascular y la acumulación de células plasmáticas. La plasmocitosis es consistente con la hipergamaglobulinemia, hallazgo común en esta enfermedad (Waner y Harrus, 2013).

Signos asociados al deterioro de la médula ósea.

La aplasia de la médula ósea es un hallazgo común en la fase crónica de la enfermedad, esta ocasiona una pancitopenia severa, que puede inducir la debilidad por anemia, aumenta la susceptibilidad a infecciones debido a la leucopenia, hemorragias extendidas por todo el cuerpo debido a la trombocitopenia y a la disfunción plaquetaria, clínicamente se manifiesta con la presencia de petequias, equimosis, necrosis y tendencia al sangrado, como la presencia de epistaxis y en ocasiones hematemesis (Waner y Harrus, 2013).

Signos asociados al sistema nervioso central.

Los signos en sistema nervioso central no son comunes con *E. canis*, se pueden presentar manifestaciones neurológicas, como resultado de meningitis y / o hemorragia meníngea, se ha observado la aparición de episodios de ataxia, síndrome de neurona motora superior e inferior, que se manifiestan con ausencia de sensibilidad cutánea, trastornos en la marcha, hiperreflexia, parálisis, hiperestesia generalizada, polineuropatía periférica, e incluso convulsiones (Troy *et al.*, 1980; Greene y Harvey, 1984; Hibler *et al.*, 1986; Marezki *et al.*, 1994; Meinkoth *et al.*, 1998; Sainz *et al.*, 1996; Hernández *et al.*, 2003). En casos de infección experimental en perros pastor alemán, se observó meningitis de células mononucleares con un amplio rango de infiltrado celular en la corteza cerebral, médula y cerebelo (Waner y Harrus, 2013). Panciera *et al.* (2001), en su estudio de 14 perros con infección inducida con *E. canis*, los

14 presentaron meningitis. La meningitis se manifestó clínicamente con convulsiones, estupor, ataxia, disfunción vestibular central o periférica, anisocoria, disfunción cerebelosa como temblores intencionales e hiperestesia generalizada o localizada, incoordinación y falta de equilibrio (Waner y Harrus, 2013). En contraste con lo anterior, en el caso de *A. phagocitophilum*, no se observó ningún perro con meningitis, otros autores publican que en el caso de *E. chaffeensis*, se presentan más frecuentemente manifestaciones de daño al sistema nervioso y los más comúnmente encontrados son meningitis o meningoencefalitis, en algunos casos con asociación al coma (Waner y Harrus, 2013).

Signos renales.

Se define la existencia de falla renal aguda cuando los valores de creatinina fueron mayores a 2 mg / dL. La falla renal ha sido una complicación frecuente en humanos con FMMR y está estrechamente relacionada a desenlaces fatales; los cambios bioquímicos y sus variables son factores que pueden ayudar a predecir la evolución del caso (Conlon *et al.*, 1996). En la fase crónica, se puede desarrollar una glomerulopatía inmunomediada, que produce insuficiencia renal, la cual no suele responder al tratamiento. En estos casos la sintomatología asociada es la clásica de una insuficiencia renal crónica: poliuria, polidipsia, anorexia, vómitos o úlceras orales (Troy *et al.*, 1980; Codner y Maslin, 1992). La falla renal aguda es una complicación común en la FMMR en humanos, pero no es frecuentemente observada en perros (Greene, 2013).

Signos digestivos.

Suelen ser poco frecuentes, limitándose a la aparición de hematemesis y hematoquecia en animales con tendencias hemorrágicas (Hildebrant *et al.*, 1973; Woody y Hoskins, 1991), aunque más recientemente, se han descrito procesos diarreicos asociados al intestino grueso (Sainz *et al.*, 1996).

En hembras, se ha asociado con ehrlichiosis, la presencia de sangrado prolongado durante el proestro y post-parto, infertilidad, abortos y muerte neonatal (Woody y Hoskins, 1991; García *et al.*, 2003).

Tal y como se describió al inicio de la sintomatología, esta puede ser muy variada e inespecífica, se describió un caso de trombosis de la aorta y de la vena porta en un perro con ehrlichiosis (Bressler *et al.*, 2003). En otro estudio Inokuma *et al.* (2003), publicó, que los perros positivos a infección con *A. platys*, no presentaron ningún signo clínico que indicara la presencia de la enfermedad, pero tampoco se pudieron realizar pruebas en estos perros. En este estudio, se demostró la amplia distribución de *A. platys* en Japón, en el caso de *E. canis* solo se ha publicado un caso y era de un perro que provenía de Indonesia. Las variaciones geográficas en las cepas de *A. platys* se deben tomar en cuenta, pues hay evidencias de que las infecciones por

A. platys en España y Chile, provocan condiciones más graves que las observadas en América del norte (Little, 2010).

Little (2010), publicó un estudio realizado en las zona del oeste medio y noroeste de Estados Unidos, en áreas donde *A. phagocytophilum* es endémica, con hasta un 60 % de los perros serológicamente positivos y en la mayoría de estos casos, los animales no presentaron signos de esta enfermedad, la infección con *A. phagocytophilum*, históricamente se ha considerado autolimitante, pero se han publicado casos de reinfección y agravamiento de la enfermedad, después de la administración de prednisolona, indistintamente de si el paciente fue tratado con doxiciclina o no.

La fase subclínica.

Esta fase de la enfermedad puede durar meses y hasta años en perros naturalmente infectados. En la fase subclínica no se presenta pirexia y el perro parece estar mejor clínicamente. El agente causal pareciera haber sido eliminado o estar bajo el control del sistema inmune, en esta condición el perro puede pasar a la fase crónica (Rar y Golovljova, 2011; Stiles, 2000).

La fase crónica.

Las ehrlichiosis se caracterizan por una enfermedad vaga que incluye pérdida de peso, condición física deteriorada y supresión de la medula ósea que ocasiona anemia crónica, leucopenia y trombocitopenia (Lara *et al.*, 2010). La muerte puede ocurrir como consecuencia de la anemia severa o infecciones secundarias debido a la leucopenia (Nyindo *et al.*, 1980; Greene y Harvey, 1984).

El cuadro clínico puede sugerir la presencia de estas enfermedades, aun cuando está claro, que no existen signos patognomónicos. En cualquier caso, el análisis de la sintomatología clínica junto con la detección de garrapatas en la exploración, o el conocimiento de una infestación previa en un animal enfermo, o incluso sano, es suficiente para sugerir una probable infección por *Ehrlichia spp*, *Anaplasma spp* o *Rickettsia spp*, de ser así, es indispensable poner en marcha las pruebas encaminadas a su diagnóstico, especialmente en áreas con un alto índice de prevalencia de estos artrópodos (Keefe *et al.*, 1982; Garris, 1991; Woody y Hoskins, 1991).

Como ocurre en otras enfermedades infecciosas, los altos índices de anticuerpos no confieren inmunidad protectora, por lo que una nueva exposición al agente causal podría permitir nuevamente el desarrollo del cuadro clínico de la enfermedad, aunque comúnmente, el curso de la misma será menos grave (Lorente, 2005; Little, 2010; Hess *et al.*, 2006). En el caso de algunas especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma* pueden presentar re-infección (Nicholson *et al.*, 2010). En el

caso de *A. phagocytophilum* hay reportes de laboratorio donde se han confirmado las reinfecciones (Ismail y McBride, 2017). Pero en el caso de la exposición y enfermedad con *Rickettsia rickettsii* los perros, aparentemente desarrollan inmunidad; esto se demostró en un estudio donde, de manera experimental perros que se habían recuperado de FMMR fueron re infectados a los 6 meses y a los 3 años de la primera infección, y no volvieron a presentar signos de la enfermedad, evidencia de que la respuesta humoral es muy importante para prevenir el desarrollo de esta enfermedad, en caso de presentarse segundas exposiciones, o en casos letales la utilización de suero para transferencia de inmunidad pasiva. La respuesta humoral inmune anti-rickettsia tiene reacción cruzada con rickettsias del mismo grupo, pero no entre grupos (Valbuena, 2013; Kidd y Breitschwerdt, 2013).

Características clínicas en humanos

Estos aspectos han sido ampliamente estudiados con la FMMR y guardan diferencias notables con respecto a la forma en la que evoluciona la EMC.

En promedio, a los 7 días de que la garrapata inocular *R. rickettsii*, los humanos desarrollan fiebre, dolores de cabeza severos, malestar generalizado, dolor muscular frecuentemente acompañado de náusea y vómito, dolor abdominal y a veces tos. Hay salpullido que aparece después de 3 a 5 días de iniciada la enfermedad, asociado a hemorragias focales, la erupción es maculopapulosa, pero rápidamente evoluciona a purpúrica y equimótica, a veces necrótica en las formas más graves, con posible necrosis de las extremidades que puede llevar a una amputación. En las presentaciones más graves, el aspecto se asemeja a una púrpura fulminante. Así, el exantema se ha descrito como maculopapuloso en un 75-85 % de los casos, petequiral en un 52 %, petequiral y equimótico en un 49 %. La erupción inicia generalmente en muñecas, tobillos y zona palmoplantar, para seguir posteriormente con una evolución centrípeta (miembros, tronco), (Botelho, 2014).

En niños las manifestaciones de la FMMR se asocian con fiebre y salpullido (Buckingham *et al.*, 2007). El exantema no suele aparecer hasta el cuarto día; macular al inicio, evoluciona después a papular y petequiral (Bernabeu y Segura, 2005; Botelho, 2014). El 10 % de los pacientes no presenta exantema. La afección palmo-plantar suele ser tardía, pero se presenta en el 50 % de los casos. En el 25 % de los casos aparece conjuntivitis e ictericia (Bernabeu y Segura, 2005). En casos severos hay edema pulmonar no cardiogénico, cuando hay encefalitis, puede presentarse coma y epilepsia; son casos graves y se puede presagiar la muerte (Murray *et al.*, 2009). La mortalidad regularmente es elevada y común en pacientes no tratados, suele ocurrir en la segunda semana, aunque existen casos fulminantes, por lo general individuos de raza negra, pacientes con deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, deficiencia enzimática hereditaria ligada al sexo, que produce lisis de glóbulos rojos en condiciones de estrés producido por algún tipo de infección, son factores asociados a los desenlaces fatales de la

enfermedad (Bernabeu y Segura, 2005; Buitrago y Pachón, 2008; Lin-Decker, 2012). Algunas regiones son también endémicas de otras enfermedades febriles exantemáticas que semejan las manifestaciones clínicas de la FMRR como leptospirosis, dengue y malaria, dificultando aún más, la identificación de los casos y retrasando el tratamiento adecuado contra esta enfermedad (Álvarez *et al.*, 2015).

Los pacientes que sobreviven a la FMRR quedan inmunizados (Bernabeu y Segura, 2005). Hay reportes en pacientes pediátricos recuperados de FMRR, que presentan secuelas neurológicas tipo déficit motor (dificultad para la marcha, el habla, la deglución e indiferencia a los estímulos externos), (Martínez *et al.*, 2007; Rivera *et al.*, 2009). También se han presentado casos, donde las secuelas son ceguera cortical, epilepsia, parestesia, pérdida de la audición, parálisis facial y cambios en la personalidad (Woods, 2013).

E. canis no era considerado un patógeno que afectara al humano, hasta el reporte de un caso en Venezuela, donde se aisló por Rikihisa y Wen en 1996, una cepa genética y antigénicamente relacionada de manera muy estrecha a *E. canis*, por lo que puede ser una sub especie o una nueva cepa, la cual es denominada como *Ehrlichia* humana venezolana, estos hallazgos requieren de mayor investigación, pero desde entonces la posibilidad de que *E. canis* pudiera infectar a los humanos, se considera como un riesgo latente (Doudier *et al.*, 2010).

Una vez que fueron reconocidas la ehrlichiosis y anaplasmosis, se ha recopilado la información en el en el centro de control de enfermedades de los Estados Unidos, y se han reportado 10,181 casos de AGH y 8,404 de EMH en áreas donde abunda la garrapata *A. americanum*. Se presenta en pacientes con SIDA y esos casos pueden ser fulminantes, son también factores desencadenantes otras enfermedades inmunosupresoras como cáncer, diabetes o en los pacientes con trasplante de órganos. Los signos más comunes son fiebre (92 – 100 %), dolor de cabeza (62 – 93 %), mialgia (63 – 90 %), malestar generalizado (73 – 98 %), náusea o vomito (35 – 93 %). El salpullido es más frecuente en EMC (media de 26 %), que en AGH (media de 6 %), confusión y cambios de comportamiento se presentan en 19 – 22 % en EMC y en un 16 – 17 % en AGH. Cerca del 50 % de los pacientes con EMH requieren de hospitalización y 36 % de los pacientes con AGH (St Clair y Decker, 2012; Silva *et al.*, 2014; Dumler, 2013).

Después del reporte de los casos de ehrlichiosis en humanos ocasionada por *E. canis* en Venezuela (EHV), se detectaron seis más, donde los pacientes presentaron signos como fiebre arriba de los 39°C, erupciones en la piel, dolor de cabeza, mialgia y citopenia (Rar y Golovljova, 2011). En estudios comparativos, se demostró que la secuencia genética de 16S rRNA de EHV en seis humanos con fiebre, seis perros infectados de manera natural en la misma zona y tres garrapatas *Rh. sanguineus* era idéntica, lo que sugiere que los perros deben considerarse reservorios de la EMC en humanos y la garrapata *Rh. sanguineus* como el vector (Rar y

Golovljova, 2011). Sosa *et al.* (2013), en su investigación realizada en Sinaloa, Mx., tomaron muestras sanguíneas de dueños de perros, trabajadores de 5 clínicas veterinarias y 2 refugios que tuvieron el antecedente de mordedura por garrapata o una mascota infestada con garrapatas y encontraron que parte de la población total que se muestreó, resultó positiva a *Ehrlichia spp* 31/110 (28 %), pacientes de 27 ± 15 años de edad, 4 niños de 12-17 años, proporción sexo H: M 1:1, 19/31 (61 %), tuvieron mordedura por garrapata y 12/31 (39 %), contacto con perros. Siendo este entonces el primer reporte en México que confirma una zona endémica de ehrlichiosis monocítica.

En el humano *E. chaffeensis* causa signos neurológicos prominentes que incluyen dolores de cabeza severos, artralgia, mialgias, vómito, meningismo y un estado de alteración mental. El exantema maculopapuloso es raro en el adulto, más frecuente en niños. Las formas más graves, con insuficiencia renal, dificultad respiratoria, miocarditis y pancitopenia pueden causar la muerte en el 3 % de los casos (Botelho, 2014).

La infección por *A. phagocytophilum* en humanos, se asocia a fiebre, malestar generalizado, dolor de cabeza, mialgia, rigidez del cuello, náusea y tos. Diarrea, vómito y confusión que no son signos frecuentes, se llegan a presentar. Son aislados los casos en donde se pone en riesgo la vida del paciente debido a complicaciones que incluyen, choque séptico, síndrome de estrés respiratorio o infecciones oportunistas causadas por hongos o agentes virales (Battilani *et al.*, 2017). Las lesiones cutáneas son inconsistentes, pero se presentan en forma de exantema maculopapuloso, a veces petequial y menos frecuentemente vesiculoso, nodular o ulcerado. Predominan en las extremidades, aunque el tronco y el rostro también pueden afectarse, pero la afectación palmoplantar es rara (Botelho, 2014).

Diagnóstico de laboratorio

La manera más simple para llegar al diagnóstico de estas enfermedades es por medio de la observación de mórulas o inclusiones intracelulares, sin embargo, es difícil la observación de estas formas debido a que su tamaño es muy pequeño y que el total de células mononucleares infectadas suele ser inferior al 1 %, además de que la observación es factible dentro de las dos o tres primeras semanas; por lo que la posibilidad se va reduciendo a medida que evoluciona la enfermedad (French y Harvey, 1983; Cowell *et al.*, 1988). La probabilidad de encontrar las formas intracelulares es alta durante la fase aguda, especialmente en perros leucopénicos, si previamente se realiza una leucoconcentración de la muestra sanguínea y se realiza un frotis a partir de la capa flogística que forma el acúmulo de glóbulos blancos al realizar el microhematocrito (Ewing, 1969; Hibler *et al.*, 1986; Beaufile y Legroux, 1992), también se aumenta la posibilidad, cuando se realizan frotis delgados de sangre periférica obtenida del pabellón auricular para observar las mórulas (Ewing, 1969; Greene y Harvey, 1984; Hibler *et al.*, 1986). Se han observado estas mórulas en leucocitos procedentes de líquido cefalorraquídeo,

líquido articular y de lavado prostático (Bellah *et al.*, 1986; Cowell *et al.*, 1988; Marezki *et al.*, 1994; Meinkoth *et al.*, 1998).

La observación de las mórulas, si bien indica infección, no identifica el tipo de agente rickettsial responsable de la misma, dada su similitud morfológica (Arraga-Alvarado *et al.*, 2003).

Diagnóstico serológico

Las técnicas serológicas más utilizadas para el diagnóstico de estas enfermedades incluyen la inmunofluorescencia indirecta (IFI), esta prueba reemplazó a la de Weil-Felix para la detección de anticuerpos inducidos por rickettsias, ya que era muy inespecífica. La IFI tiene como desventaja, la falta de estandarización a nivel mundial dentro de los laboratorios y ha ocasionado dudas, en cuanto a su aplicación para el diagnóstico de las enfermedades rickettsiales (Richards, 2012; Cohn, 2003; Paddock, 2013), pero a pesar de esto sigue siendo la prueba serológica más utilizada y continúa siendo considerada como “el estándar de oro” para el diagnóstico de ehrlichiosis monocítica en humanos (Ismail y Mc Bride, 2017; Hoyos *et al.*, 2007; Dantas, 2007; Neer *et al.*, 2002). En México hay restricciones para acceder a la IFI, ya que en teoría solo está disponible para FMMR en los humanos, en la parte veterinaria este procedimiento solo está disponible en algunas universidades de los Estados Unidos, que son puntos de referencia, por lo que el camino para el envío, procesamiento y la obtención de los resultados, es complejo. En México, se cuenta con el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica del Sector Salud para realizar la prueba IFI, también destinada a la detección de FMMR y no está disponible para animales. También se emplea la prueba de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), esta prueba sirve para detectar los anticuerpos producidos contra estos agentes infecciosos. Es un método de diagnóstico simple, donde se detectan anticuerpos entre los 7 y 28 días post infección, siendo a los 80 días cuando se alcanzan los valores máximos, esos títulos permanecen elevados mientras la infección perdura y en general no guardan una correlación con la protección que podrían conferir (Ristic *et al.*, 1972; Buhles *et al.*, 1975; Weisiger *et al.*, 1975; Maeda *et al.*, 1987). Esta técnica junto con el examen hematológico, ha sido de gran utilidad en el diagnóstico de la ehrlichiosis. La prueba IFI para el diagnóstico de EMC, es una ayuda importante para confirmar la exposición a *E. canis*, cuando pruebas más sofisticadas como, Western blot, PCR o cultivo de tejido no están disponibles, como es el caso de México. Esta prueba se debe de usar en combinación con una buena historia clínica y un buen examen físico del paciente. Cuando se requiera de la identificación del patógeno, se deberán utilizar técnicas moleculares (Waner *et al.*, 2001), en la medida de las posibilidades, ya que son pruebas que no están siempre al alcance de los clínicos. La prueba de IFI emplea como antígenos, cultivos celulares infectados (Dawson *et al.*, 1991). En relación con su especificidad, se ha comprobado la ausencia de reacciones cruzadas con un gran número de agentes como *Leptospira canicola*, *Brucella canis*, herpesvirus canino, virus de parainfluenza, *Borrelia burgdorferi* y diversas rickettsias como *R. tsutsugamushi*, *R. canada*, *R. burnetti*, *R. mooseri*, *R. akari* (Ristic *et al.*, 1972; Magnarelli y Anderson, 1993), por lo tanto, tiene la capacidad de identificar la especie de *Rickettsia* que está ocasionando la infección (Richards, 2012).

Los títulos elevados de anticuerpos con la técnica de ELISA se pueden observar tras la exposición del agente, durante la fase aguda, subclínica y crónica de la infección e incluso después de un tratamiento efectivo. Por ello, es importante entender que un diagnóstico serológico positivo, puede indicar infección activa, o simplemente exposición al agente, y que la interpretación de los resultados de estas pruebas, siempre debe realizarse en el contexto del caso clínico y no de forma aislada. En las fases iniciales en algunos animales, se pueden encontrar resultados falsos negativos, por no haber dado tiempo a la producción de una respuesta humoral, que comúnmente, se presenta a dos semanas de la evolución de la enfermedad (González, 2008), y en pacientes en muy malas condiciones, también se podrían presentar resultados falsos negativos, debido al agotamiento de la producción de anticuerpos (Waner *et al.*, 2001; Cohn, 2003).

Los anticuerpos IgG son considerados el estándar para determinar la exposición a *E. canis*, las IgM no se consideran indicadores confiables para demostrar la exposición, esto se debe a que la producción de anticuerpos IgM, ocurre dentro de las primeras semanas en el desarrollo de la enfermedad. La corta duración de la respuesta por IgM implica que sus valores máximos duren poco y se reduzcan rápido, haciéndose no detectables (hasta menos de 7 días), (Mc Bride *et al.* 2003). Es por esto que se recomienda realizar dos pruebas de IFI consecutivas con un intervalo de 7 – 14 días y si se observa un incremento de 4 veces en los títulos de anticuerpos, es sugerente de una infección activa. Las IgG persisten por varios meses y hasta años después del tratamiento y eliminación de la rickettsia, por lo tanto, son indicadores de que el paciente ha estado expuesto al agente infeccioso y no forzosamente que este sea aun un proceso activo (Harrus y Waner, 2011). Los anticuerpos antinucleares, no juegan un papel definitivo en la patogenia de la ehrlichiosis canina, por lo tanto, la presencia de los mismos no define la presencia de la enfermedad, pero algunas manifestaciones de la ehrlichiosis están asociadas a la presencia de complejos inmunes (Harrus *et al.*, 2001).

El diagnóstico puede considerarse como positivo cuando se han obtenido algunos de los siguientes resultados:

- a) Titulación de anticuerpos IgG de por lo menos 256 o títulos de $\geq 1:64$;
- b) Seroconversión de anticuerpos de negativo a positivo con una titulación mínima de 64;
- c) Un incremento de 4 veces la titulación durante la convalecencia.

La serología también tiene sus limitaciones, mismas que deberán ser consideradas antes de emitir un diagnóstico basado en los resultados de estas pruebas:

- 1) La prueba IFI de IgG, es negativa en un 80 % en los pacientes si la muestra se toma dentro de la primera semana de la enfermedad y los anticuerpos IgM también pueden ser de poco valor durante este mismo periodo; por lo tanto, un resultado negativo de una muestra en la fase aguda, no necesariamente determina el diagnóstico;

2) Valores elevados de falsos positivos, generalmente ocurren cuando hay reacción cruzada entre los antígenos que comparten *Ehrlichia* y *Anaplasma* e inducen reacción cruzada, por lo que se deberán realizar pruebas con los antígenos de *Ehrlichia* y *Anaplasma* específicos cuando se desee obtener al agente específico, (siempre y cuando se tenga el acceso a este tipo de pruebas);

3) Cuando no hay seroconversión, en algunos casos se puede atribuir a un deterioro inmunológico;

4) El tratamiento prematuro con antibióticos del grupo de las tetraciclinas, reduce o elimina los valores de anticuerpos contra el agente causal (Ismail y Mc Bride, 2017; Lin-Decker, 2012).

La prueba de inmunoensayo de Western blot permite la diferenciación, detecta dos tipos de antígenos, lipopolisacáridos y dos proteínas de alto peso molecular, (rOmpA y rOmpB). Estas proteínas son específicas de especie y proveen la base para la serotipificación las rickettsias, la reacción cruzada entre las proteínas de las rickettsias dificulta su identificación (Roault, 1997). Este tipo de pruebas no están disponibles en México.

Se ha señalado la existencia de reacciones cruzadas entre diferentes especies de la familia *Ehrlichia*, siendo éstas más intensas entre las especies del mismo género, aunque los títulos son siempre más elevados para el agente que está causando la infección (Woody y Hoskins, 1991). No existe reacción cruzada entre *E. canis* y *Anaplasma platys* y mínima, si no es que ninguna, reacción cruzada entre *E. canis* y *R. rickettsii*. Debido a la similitud clínica entre estas enfermedades, perros con signos clínicos de ehrlichiosis que sean sero-negativos a *E. canis*, deben someterse a pruebas serológicas contra FMMR. En la interpretación serológica de los resultados, se deberá tomar en cuenta la anamnesis y los signos clínicos, ya que la presencia de múltiples agentes etiológicos transmitidos por garrapatas, son un factor que afecta los signos clínicos y las reacciones cruzadas con organismos rickettsiales (Harrus y Waner, 2011). Aquí debemos hacer notar, que en México la disponibilidad de IFI, para el diagnóstico de rickettsiosis y PCR, para el diagnóstico de FMMR, son sumamente limitadas todavía para el diagnóstico rutinario en perros.

Para muchos clínicos la solución actual es procesar las muestras de los pacientes mediante sistemas de inmunocromatografía que basan su funcionamiento en la técnica de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), usando como soporte el papel de nitrocelulosa que hace del diagnóstico algo bastante accesible, varios laboratorios comerciales han desarrollado este sistema y entre ellos se cuenta con el Kit de los laboratorios IDEXX® conocido como Snap 4Dx®, este sistema que detecta anticuerpos, inmunoglobulinas G y M proteínas inmunodominantes contra *Anaplasma phagocytophilum* (p44/MSP2), y *Ehrlichia canis* (30 y p30-1), además de enfermedad de Lyme y dirofilariosis, la prueba la puede realizar el médico veterinario dentro de la clínica, teniendo el resultado en cuestión de minutos y su costo es menor

al de los realizados en un laboratorio de referencia. Estudios preliminares indican que *A. phagocytophilum* tiene reacción cruzada con *A. platys* en estas pruebas. Los fabricantes de esta prueba indican que tiene una especificidad y sensibilidad de un 99.1 - 100 % para la detección de anticuerpos contra *A. phagocytophilum* y 96.2 – 100 % para *E. canis* (Movilla *et al.*, 2016). Estas pruebas se han vuelto accesibles para los veterinarios, e indudablemente se deben realizar en áreas endémicas y en pacientes en los que la historia, el examen clínico, las alteraciones hematológicas comunes y antecedentes de mordeduras de garrapatas lleven a pensar la posibilidad de estas enfermedades (Granick *et al.*, 2009; Benavides y Ramírez, 2003; Hoyos, 2005; Sosa *et al.*, 2012). La sensibilidad de estas pruebas disminuye para valores de anticuerpos menores de 1:320 (Waner *et al.*, 2000; Harrus *et al.*, 2002), por lo que, en caso de sintomatología compatible y resultado negativo, es aconsejable repetir la prueba en una o dos semanas, para dar tiempo a un aumento significativo del título de anticuerpos en el caso de infecciones agudas, el espectro de esta prueba no incluye la detección de *R. rickettsii* que puede infectar a los animales e inducir manifestaciones clínicas compatibles con las otras rickettsiosis y esto nos lleva a considerar que si todos los indicios clínicos nos hacen pensar en una infección por rickettsias y el resultado es negativo debe establecerse el tratamiento por el supuesto de una infección por estos organismos (Lorente, 2005; Granick *et al.*, 2009; Harrus y Waner, 2011). En razón de que la norma mexicana asociada a las enfermedades transmitidas por vectores (NOM 032-SSA2-2010), no consideraba la existencia de la ehrlichiosis monocítica ni la anaplasmosis, las cuáles se declararon inexistentes y esto se detuvo la importación de SNAP 4Dx[®], por lo que esta herramienta no estuvo disponible, hasta que en noviembre de 2018 finalmente se reconoció y estos sistemas estarán disponibles nuevamente.

La prueba Witness[®] Ehrlichia es una prueba serológica en base a inmunocromatografía; con una sensibilidad del 97 % y especificidad del 100 %, es una prueba confiable para la detección de anticuerpos contra *E. canis* se ha comprobado su efectividad, aunque debe considerarse que los títulos de anticuerpos y la presencia de los mismos no protege, ni es indicador de enfermedad, a menos de que se contextualice contra un cuadro clínico agudo, no detecta anaplasmosis, ni enfermedad de Lyme, ni dirofilariosis. Tiene la ventaja de que se puede almacenar a temperatura ambiente (entre 2 – 25 °C), y se emplea únicamente para la detección de *E. canis*, su bajo costo, (dos veces menos que la prueba de IFI), y su fácil manejo la hacen una prueba ideal para lugares en donde la enfermedad es considerada enzoótica (Davoust *et al.*, 2014).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa Inversa (PCR), es una técnica molecular relativamente reciente en las rickettsiosis, la cual está basada en las propiedades bioquímicas del ácido desoxirribonucleico (DNA), asociadas a la composición y secuencia de nucleótidos que permite amplificar pequeños fragmentos de DNA característico de género y especie. Esta prueba demostró su efectividad para la detección de DNA de las rickettsias desde 1989 y a partir de esto su uso se ha ido popularizando (Richards, 2012). La prueba emplea segmentos cortos y simples de nucleótidos, llamados cebadores, cuyas secuencias son complementarias de las secuencias del DNA del organismo que se investiga. La amplificación de los cebadores permite la

identificación del DNA bacteriano. Los cebadores y otros reactivos necesarios para que se produzca la reacción en cadena de la polimerasa se añaden a un volumen de solución que contiene DNA representativo de la muestra de estudio, incluido DNA del hospedador y del microorganismo que se busca. La muestra puede ser cualquier tejido capaz de portar al agente investigado (Lorente, 2005). Si la muestra es de sangre completa, se debe tomar en tubos con anticoagulante como EDTA o citrato de sodio y se deben obtener antes de iniciar la terapia o al inicio de la misma, para aumentar la sensibilidad (Ismail y Mc Bride, 2017).

La prueba de PCR realizada a partir de muestras de bazo se considera de las más sensibles en comparación con las realizadas en muestras de sangre o médula ósea (Harrus y Waner, 2011). Los resultados de PCR en médula ósea parecen ser menos sensibles en la fase crónica comparados con la fase aguda en EMC (Mylonakis *et al.*, 2004). Para la prueba de PCR se puede utilizar el suero cuando no hay muestras de sangre, pero se recomienda realizar el análisis por triplicado (Harrus y Waner, 2011). *Ehrlichia spp* y *Anaplasma spp* están en los leucocitos circulantes durante la infección aguda, por lo tanto, realizar la prueba de PCR en sangre completa en esta etapa de la infección tiene buenos resultados. *R. rickettsii* también puede ser detectada por PCR en sangre completa pero la sensibilidad es baja. La detección de *R. rickettsii* por PCR o inmunohistoquímica en biopsias de piel en zonas donde hay erupciones parece tener un alto grado de sensibilidad comparado con muestras de sangre completa (Nicholson *et al.*, 2010).

La variante de PCR cuantitativo (qPCR), se utiliza para detectar, caracterizar y cuantificar ácidos nucleicos en tiempo real, es decir, permite la recopilación de datos a medida que la PCR avanza. Es más sensible que la PCR convencional y permite su cuantificación en pacientes infectados de manera natural y experimental, hay menor probabilidad de contaminación y en caso de presentar contaminantes es fácilmente detectable usando el análisis de curva de fusión, se han desarrollado varias pruebas de qPCR multiplex que presentan la ventaja de detectar simultáneamente *E. canis* y otros organismos, como *E. chaffeensis*, *E. canis*, *E. ewingii*, *A. phagocytophilum* y *A. platys*. La sensibilidad de la prueba se puede ver disminuida cuando reacciona a múltiples agentes etiológicos (Harrus y Waner, 2011). Esta prueba se está volviendo rápidamente el método preferido para el diagnóstico de *E. canis*, ya que ha mejorado mucho (Harrus y Waner, 2011; Richards, 2012), y junto con la PCR convencional pueden proporcionar un diagnóstico acertado durante la fase aguda de la enfermedad. Sin embargo, las muestras de mayor accesibilidad en los pacientes, como las de sangre, no suelen contener el suficiente número de microorganismos para su adecuada amplificación y caracterización, de acuerdo con el autor, la mayor utilidad de estos métodos está en casos con lesiones dermatológicas que se prestan para realizar una biopsia y que contienen considerable número de microorganismos viables (Hidalgo *et al.*, 2013). Este tipo de pruebas, en nuestro país se encuentran en una etapa incipiente y genéricamente se emplean para estudios epidemiológicos por su elevada efectividad, todavía existe la limitante de su costo, pero gradualmente se están popularizando para incorporarlas como procedimientos diagnósticos regulares.

En el caso de *R. rickettsii* en humanos se usan actualmente pruebas qPCR para el diagnóstico de FMMR en los centros diagnóstico de referencia, la prueba utilizada es 7500 Fast DX RRI6 para *R. rickettsii*, que permite utilizar sangre y biopsias de piel, esta prueba se completa en un tiempo aproximado de una hora en lugar de 1 a 2 días en el caso de la prueba de PCR convencional (Kato *et al.*, 2013). En México, se deberá utilizar un laboratorio de referencia como el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica, cuando se sospeche que el paciente pudiera estar infectado con *R. rickettsii*.

Existen varias ventajas en la utilización de las pruebas de PCR o qPCR, como la detección del DNA antes de que la seroconversión ocurra, es altamente sensible y detectan el DNA del agente etiológico en lugar de los anticuerpos contra la enfermedad, con la posibilidad de indicar una infección activa en lugar de la exposición. Lo cual podría permitir a los clínicos monitorear mejor el tratamiento. En caso de obtener una prueba PCR negativa, se debe interpretar con cuidado, especialmente cuando se utiliza una prueba PCR multiplex, ya que no se puede descartar totalmente la presencia de DNA en la muestra (Harrus y Waner, 2011).

Estas pruebas junto con cultivos y pruebas serológicas ofrecen un método de diagnóstico muy completo para la detección, identificación y caracterización de rickettsias nuevas y conocidas alrededor del mundo (Richards, 2012). Con el cultivo celular se pueden detectar mórulas a partir de sangre de perros infectados, pero es un método que requiere de mucho tiempo, es muy laborioso y especializado, que necesita equipo especial y personal capacitado. El crecimiento inicial puede tomar hasta 10 semanas después de la inoculación, sólo suelen estar disponibles en laboratorios especializados y no siempre se logra el objetivo (Neer *et al.*, 2002). El aislamiento de *las rickettsias*, es más para uso de laboratorio de investigación que para su uso en diagnóstico clínico (Harrus y Waner, 2011). El cultivo se ha desarrollado en una línea continua de macrófagos (DH82), y ha sido exitosa en el cultivo de *E. canis*. También se han adaptado para el crecimiento continuo de *E. canis* macrófagos de ratón (J774.A1), esta es una alternativa a la línea DH82. Hay incluso una línea inmortal de endotelio microvascular humano (CDC/EU.HMEC-1), que es útil para el aislamiento de *E. canis* (Harrus y Waner, 2011). El cultivo es una prueba realmente limitada.

La recomendación por parte del Grupo de Estudio de Enfermedades Infecciosas del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria, es que los investigadores y los clínicos, no deben únicamente basarse en signos clínicos y frotis sanguíneos o pruebas serológicas, (pruebas que realicen detección de anticuerpos), sino que, se debe correlacionar con pruebas que permitan demostrar la existencia de una infección activa, (pruebas con metodología para detección de antígenos o ácido nucleico), con la finalidad de llegar a una estrategia efectiva en el control de las enfermedades rickettsiales, en lugares donde sean endémicas (Mittal *et al.*, 2017), por esto y debido a que no existe una prueba o método de diagnóstico que sea 100 % efectivo por sí solo, las pruebas más recomendadas son las técnicas de PCR (Neer *et al.*, 2002).

Por supuesto que esta recomendación se aplica en la medida de las posibilidades y accesibilidad a las pruebas que tengan los clínicos.

Lamentablemente en muchas áreas donde se presentan estas enfermedades, los requisitos para poder realizar los sofisticados análisis de laboratorio y el alto costo de los elementos necesarios para pruebas como PCR y análisis serológicos, son factores limitantes, por lo que los veterinarios tienden a establecer tratamientos en los animales que muestren manifestaciones sugerentes de este tipo de infecciones, a esto se le conoce como diagnóstico terapéutico, que se basa en suprimir las manifestaciones mediante un tratamiento donde se corta la evolución de la enfermedad, siendo viable tanto en medicina veterinaria, como en medicina humana, especialmente cuando se piensa en FMMR que, en muchas ocasiones, conlleva al uso indiscriminado de doxiciclina y a la posibilidad de crear resistencia a este antibiótico, situación que no ha sido documentada hasta el momento (Mittal *et al.*, 2017).

Diagnóstico diferencial

Debido a la gran variedad de signos clínicos con los que cursan estas enfermedades, el diagnóstico diferencial de las rickettsiosis debe incluir numerosas patologías. Hay un gran número de enfermedades que tienen similitud en muchos de sus signos: fiebre, hemorragias, apatía, pérdida de peso, linfadenopatía, uveítis, hiperproteinemia con hiperglobulinemia, artritis, etc. (Sainz *et al.*, 1996; Sykes, 2013). La aparición de estos cuadros hemorrágicos hace más probable la inclusión de la ehrlichiosis en un listado de diagnósticos diferenciales; sin embargo, recordemos que esta sintomatología hemorrágica se presenta en menos de la mitad de los perros (Troy y Forrester, 1990).

Las enfermedades en las que se presentan los mismos signos inespecíficos, como fiebre, mialgia, etc. Con historia previa de picadura de garrapatas o actividades desarrolladas en áreas donde hay estos organismos deben considerarse por el veterinario para establecer el diagnóstico diferencial, entre ellas pueden citarse: Tularemia, borreliosis, babesiosis y hepatozoonosis que pueden estar presentes simultáneamente. Cuando haya signos en sistema nervioso, considerar meningoencefalitis viral o bacteriana. En humanos considerar el síndrome de choque tóxico, meningococcemia, tifo murino, leptospirosis, hepatitis, infección enteroviral, influenza, sepsis bacteriana, endocarditis, enfermedades colágeno–vasculares o púrpura trombocitopenia autoinmune (Ismail y Mc Bride, 2017).

La variedad de las manifestaciones asociadas al cuadro clínico en los perros, así como en los humanos con rickettsiosis, lleva con frecuencia a un diagnóstico erróneo y un tratamiento a destiempo, dando como consecuencia pacientes que desarrollan complicaciones medianas y tardías de un cuadro de rickettsiosis y en algunos casos hasta la muerte; de modo que en muchos

casos, cuando se reciben pacientes humanos a nivel hospitalario, a su ingreso esos pacientes humanos pudieron ser diagnosticados de primera intención y erróneamente como casos de: meningitis bacteriana, choque séptico, síndrome de coagulación intravascular diseminada, falla orgánica múltiple, encefalopatía hepática, neumonía, infección de vías urinarias, exantema, edema agudo pulmonar, apendicitis, choque hipovolémico y fiebre tifoidea, entre otros que pueden ser causados por una gran variedad de agentes infecciosos sin considerar que pudiera tratarse de casos de rickettsiosis (Field y Moreno, 2011).

Patologías clínicas

Estas enfermedades se caracterizan por generar presentaciones multisistémicas, con fases clínicas bien definidas en los perros.

En la fase aguda las pruebas de laboratorio inespecíficas, como lo son la biometría y la química sanguínea, pueden ayudar al diagnóstico de las enfermedades rickettsiales. La biometría hemática es una prueba esencial para el diagnóstico de ehrlichiosis canina y una de las anormalidades típicas en los perros afectados de manera natural incluye trombocitopenia, la cual puede aparecer a los 15 – 20 días postinfección y puede perdurar durante toda la evolución de la enfermedad (Troy *et al.*, 1980; Greene *et al.*, 1985; Codner y Farris, 1986; Breitschwerdt *et al.*, 1987; Waddle y Littman, 1988; Davoust *et al.*, 1991a). La trombocitopenia puede ir de severa a moderada y este es un hallazgo hematológico distintivo, por lo que la evaluación de un frotis sanguíneo, donde se confirme el número de plaquetas, es obligatorio para poder confirmar una verdadera trombocitopenia. El conteo plaquetario varía entre 20,000 y 52,000 / μL (los valores normales van de 200,000 – 500, 000/ μL), generalmente la fase aguda va acompañada de una anemia moderada y un conteo de glóbulos blancos ligeramente reducido, esto comparado con los valores antes de la infección (Greene, 2013; Harrus y Waner, 2011). El recuento plaquetario no siempre está relacionado con la presencia y gravedad de cuadros hemorrágicos (Troy *et al.*, 1980), puede haber trombocitopenia en ausencia de hemorragia y hemorragias en ausencia de trombocitopenia (Kuehn y Gaunt, 1985; Codner *et al.*, 1985; Woody y Hoskins, 1991; Perille y Matus, 1991).

También se pueden encontrar en el curso de estas enfermedades otras alteraciones de laboratorio menos frecuentes, como anemia y leucopenia, que preceden a una leucocitosis (Waddle y Littman., 1988; Troy *et al.*, 1980; Frank y Breitschwerdt, 1998b). La anemia que se presenta durante la etapa aguda es considerada una “anemia por enfermedad inflamatoria” y es comúnmente una anemia normocítica, normocrómica no regenerativa (Harrus *et al.*, 1999; Greene, 2013). Algunos autores consideran que la leucopenia, trombocitopenia y anemia en ehrlichiosis, son consecuencia del secuestro celular en vasos sanguíneos periféricos y del consumo o destrucción de células sanguíneas circulantes en ausencia de vasculitis, no por depresión de la médula ósea, ya que la hiperplasia mieloide, los megacariocitos, la

hipercelularidad de la médula ósea y el aumento de neutrófilos en banda en sangre periférica, son encontrados con relativa frecuencia y no solamente en la fase crónica de la enfermedad (Rikihisa, 1999). En los casos en los que se presenta coinfección con otros organismos como *A. platys*, se ha observado una marcada disminución en el conteo de plaquetas, comparado con perros infectados con un solo organismo. Otros cambios hematológicos importantes son: la disminución total de leucocitos, disminución en el conteo de neutrófilos, disminución del hematocrito y concentración de la hemoglobina (Gaunt *et al.*, 2010; Greene, 2013).

Durante la fase aguda se presenta más frecuentemente la linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia y hepatomegalia. La detección molecular de DNA ehrlichial en ganglios linfáticos, bazo, hígado y riñones y la amplia variedad de órganos que muestran evidencia histológica de infiltrado linfocítico, plasmocítico y monocítico apoyan la teoría de que *estas rickettsias* están ampliamente distribuidas por todo el organismo del animal infectado, con el potencial de ocasionar una variedad de signos clínicos (Waner y Harrus, 2013).

Las anomalías más frecuentes en la química sanguínea como evidencia de lesiones a tejidos incluyen la hiperproteinemia debida a una hiperglobulinemia, es un hallazgo frecuente en el curso de la ehrlichiosis canina, debido al estímulo antigénico crónico (Lorente, 2005; Romero, *et al.*, 2011), hipoalbuminemia y aumento en la actividad de las enzimas transaminasa, alanino aminotransferasa y fosfatasa alcalina (Harrus *et al.*, 1999; Beran, 1994; Greene, 2013; Fourie *et al.*, 2013), así como también hipergamaglobulinemia (Harrus *et al.*, 1999).

La hiperproteinemia es resultado de los niveles elevados de globulinas. Los perros con *E. canis* frecuentemente presentan plasmocitosis en la médula ósea y otros tejidos, a este hallazgo se le puede confundir con mieloma de células plasmáticas (Greene, 2013). Hay estudios donde se evaluaron e identificaron diferentes proteínas que incluyen albúmina, hepatoglobina (Hp), antitripsina-alfa-1 (AAT), glicoproteína ácida alfa-1 (AGP), proteína de unión al retinol 4 (RBP-4), proteína de unión a vitamina D (VDBP), proteasas inhibitorias de la serina y proteínas antiinflamatorias. La diferencia entre los valores encontrados en el proteoma sérico de los perros con ehrlichiosis y los perros sanos fue considerable en la fase aguda de la enfermedad, lo que lleva a pensar que estos cambios pueden estar relacionados con la inmunomodulación y el proceso inflamatorio que ocurre durante la enfermedad (Escribano *et al.*, 2017).

La hiperglobulinemia suele corresponder a una gammopatía policlonal, como se puede apreciar por electroforesis, mediante la separación de las moléculas en un campo eléctrico en base a su peso, pasando más rápidamente las moléculas pequeñas y más lentamente las grandes, comúnmente se utiliza DNA recombinante (Kuehn y Gaunt, 1985; Ghorbel *et al.*, 1993b). Ocasionalmente se puede detectar gammopatía monoclonal por aumento de inmunoglobulina G (Hoskins *et al.*, 1983; Codner y Farris, 1986; Breitschwerdt *et al.*, 1987; Matus *et al.*, 1987; Harrus y Waner, 2011). El aumento de las globulinas no está tan relacionado con la cantidad de

anticuerpos producidos frente a *E. canis*, como con la duración de la enfermedad y la producción de autoanticuerpos (Lorente, 2005).

La hipoalbuminemia puede ser consecuencia de la pérdida periférica de albúmina en fluidos inflamatorios edematosos como resultado de un incremento de la permeabilidad vascular, pérdida de sangre o disminución en la producción de proteínas debido a una enfermedad leve del hígado o puede ser debido a cambios mínimos del glomérulo. Como la síntesis de la albúmina está regulada por la presión oncótica, la disminución en la concentración de albúmina puede actuar como un mecanismo compensatorio para el estado hiperglobulinémico y así mantener la presión oncótica y prevenir un aumento de la viscosidad sanguínea (Gutiérrez *et al.*, 2017).

La hipoalbuminemia, también está asociada al agotamiento de la albúmina en el proceso inflamatorio y el catabolismo proteico asociado a la enfermedad (Hibler *et al.*, 1986; Woody y Hoskins, 1991; Davoust *et al.*, 1993). Además, se ha observado una relación inversamente proporcional entre la cantidad de proteína perdida en orina y la concentración sérica de albúmina, por lo que la presencia de proteinuria es un indicador importante de la disminución de la albúmina (Codner y Maslin, 1992).

Los valores de los electrolitos están disminuidos (hiponatremia), como resultado de la presencia en el espacio intravascular y retención de líquidos. El resultado de la infección está determinado por la extensión del daño causado por la rickettsia a nivel endotelial y el tiempo que se mantenga la infección (Beran, 1994).

En la infección inducida de *E. canis* se observa aumento en las concentraciones de urea y creatinina (Gutiérrez *et al.*, 2017). Se han observado cambios patológicos en túbulos y en los glomérulos renales. Hay proteinuria transitoria durante la fase aguda de la infección, la mayor pérdida de albúmina se observa 2.5 a 3.5 semanas después de la infección (Waner y Harrus, 2013), y puede persistir por tiempo indeterminado durante la infección. La proporción de urea – creatinina en el pico de la proteinuria es de 4.5 a 23.2, el rango de referencia es menor a 1.0. Hay disminución en la concentración de albúmina sérica y puede haber presencia de hematuria (Greene, 2013).

El examen histológico durante la fase aguda revela infiltrados plasmocíticos y linfocíticos perivenulares, especialmente en la corteza renal. La glomerulopatía puede ser atribuible a la proteinuria transitoria, la cual puede contribuir a la hipoalbuminemia observada durante EMC (Waner y Harrus, 2013).

El incremento en el tiempo de coagulación es otro resultado clínico patológico; cuando el paciente presenta una leucopenia severa, acompañada de anemia severa, hipocalcemia, un incremento en el tiempo de la protrombina (aPTT), son signos clínicos que se presentan en el perro antes de la muerte, por otro lado, cuando los valores de los leucocitos están arriba de los $5.8 \times 10^3/\mu\text{L}$, las plaquetas sobre $89.5 \times 10^3 \mu\text{L}$, el hematocrito arriba del 33.5 %, aPTT debajo de 14.5 segundos y los niveles de potasio arriba de 4.75 mmol/L las probabilidades de sobrevivir son del 100% (Greene, 2013; Shipov *et al.*, 2008).

Los valores de las enzimas hepáticas se ven aumentados en un 90 % de los casos en pacientes infectados (St Clair y Decker, 2012). Las colinesterasas representan un grupo de enzimas que hidrolizan a la acetilcolina y otros esteres como acetilcolinesterasa y la butirilcolinesterasa (BChE), mismas que están involucradas en la neurotransmisión, coordinación motriz, memoria, hematopoyesis y respuesta anti-inflamatoria. La BChE es producida por el hígado, pero también se puede encontrar en suero, páncreas, riñón y sistema nervioso central y su actividad está relacionada a procesos inflamatorios. En el estudio realizado por do Carmo *et al.* (2015), concluyen que en la etapa aguda de *E. canis* se puede presentar con un aumento en la actividad de la BChE y algunos mediadores antiinflamatorios. Por lo que esta enzima se puede usar como marcador de la respuesta inflamatoria aguda en perros infectados de manera natural con *E. canis*. En la fase subclínica de la enfermedad la disminución en la actividad de la BChE podría deberse a la lesión hepática, que podría interferir con la síntesis de enzimas hepáticas.

En un bajo porcentaje, también se ha podido demostrar que pudiera existir un aumento en la concentración de lipasa pancreática inmunoreactiva en perros infectados de manera natural con *E. canis*, aun cuando no se pudieron reproducir estos mismos resultados en perros infectados en el laboratorio (Mylonakis *et al.*, 2014).

En las radiografías pulmonares se puede presentar radiopacidad intersticial que va de un patrón lineal moderado hasta una infiltración intersticial con opacidad peribronquial. En el líquido cerebroespinal, en perros que presentan signos de daño en sistema nervioso central, detectan un incremento en la concentración de proteína y una pleocitocis linfocítica similar a la que se observa en infecciones virales. Hallazgos similares se han encontrado en humanos con ehrlichiosis linfocítica (Greene, 2013).

En la fase subclínica, puede haber una ligera trombocitopenia aún en ausencia de signos clínicos, se ha observado disminución en los números de plaquetas de hasta un 42 %, con conteos disminuidos de hasta 140,000 / μL , los leucocitos y eritrocitos también pueden estar disminuidos, pero estos cambios pueden ser difíciles de detectar en el entorno clínico (Harrus y Waner, 2011).

En la fase crónica la trombocitopenia se agrava, generalmente es severa y va acompañada de anemia y leucopenia. La pancitopenia marcada debido a una hipoplasia de la médula ósea, es característica de la fase crónica severa, como a la que se presenta en la ehrlichiosis causada por *E. canis*, con anemia severa, diátesis al sangrado y una alta tasa de mortalidad (Mylonakis *et al.*, 2004). Aun cuando la trombocitopenia es un hallazgo típico en las infecciones con *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, hay perros que pueden tener la infección sin presentar trombocitopenia, por lo tanto, a pesar de que se debe sospechar de estas enfermedades con la presencia de trombocitopenia, no se debe descartar la posibilidad de que sean los mismos agentes causales, en ausencia de trombocitopenia. Se deberán considerar otros parámetros, como frotis sanguíneos confirmados finalmente por pruebas de PCR (Eiras *et al.*, 2013).

En los perros afectados de manera crónica, la presencia de hemosiderina está disminuida, lo que sugiere la deficiencia de hierro, que puede estar asociada a la pérdida crónica de sangre relacionada con la anemia, en lugar de ser una consecuencia del secuestro por la inflamación o por falla mieloide (Greene, 2013).

En el humano también se presentan anomalías en las pruebas en un 86 % de los pacientes, estos incluyen leucopenia con linfopenia y neutropenia en un 60 – 70 %, trombocitopenia en un 70 – 90 % y un aumento en la actividad de las transaminasas séricas en un 80 – 90 %. En pacientes con enfermedades inmunosupresoras como SIDA, o que requieren de suministrarles dosis elevadas de corticosteroides por períodos prolongados, así como en pacientes que tienen trasplante de órganos, podrían presentarse complicaciones fulminantes. Las fatalidades se han presentado más en hombres adultos y en pacientes inmunocomprometidos o con enfermedades debilitantes (Murray *et al.*, 2009).

Lesiones macroscópicas

En el caso de FMMR se pueden presentar una gran variedad de lesiones esto, depende del curso de la enfermedad. Se puede presentar una amplia distribución de hemorragias petequiales y equimóticas en la mayoría de los órganos y tejido subcutáneo, linfadenopatía hemorrágica generalizada, emaciación, hepatomegalia, esplenomegalia, edema de los miembros, lesiones vasculares en la piel, epidídimos, testículos, aparato gastrointestinal, páncreas, riñones, vejiga urinaria, miocardio, meninges, retina y sistema músculo esquelético. Zonas necróticas en hígado y miocardio, son los hallazgos macroscópicos más comunes (Greene, 2013).

Las lesiones a nivel de aparato reproductor son muy poco frecuentes, habiéndose descrito hemorragias petequiales en mucosa genital y edema de escroto. El edema periférico y pulmonar se presenta más frecuentemente (Woody y Hoskins, 1991; García *et al.*, 2003).

En un estudio desarrollado por de Castro *et al.* (2004), indujeron EMC en 4 perros, a la necropsia, las mucosas se observan pálidas, también el tejido subcutáneo, hígado y riñón, además se observó linfadenopatía generalizada y esplenomegalia con marcada hiperplasia de la pulpa blanca. Linfonodos edematosos y el área medular se observaba ligeramente amarillenta con presencia de hemorragias petequiales, ascitis y congestión pulmonar en algunos.

Lesiones microscópicas

De Castro *et al.* (2004), detectan en su estudio con *E. canis*, que las lesiones microscópicas que se presentan fueron: infiltrado de células linforeticulares y células plasmáticas en varios órganos y tejidos, incluyendo sistema nervioso, riñones, pulmones, hígado y tejido linfático. Estos infiltrados y la proliferación de los linfocitos modifican la arquitectura microscópica del bazo y de los linfonodos.

En la histopatología de los linfonodos se observó hiperplasia folicular con presencia tangible de macrófagos y pérdida ocasional de la delimitación dentro de la zona paracortical. También encontraron expansión moderada del área paracortical e hiperplasia de los cordones medulares con presencia de células plasmáticas y elevado número de histiocitos. Además de presencia de histiocitos sinusales de moderada a severa, eritrofagocitosis y vasculitis mononuclear. Las lesiones más notorias en el bazo consistieron en hemorragia folicular multifocal y congestión en la pulpa blanca. Hiperplasia folicular, engrosamiento de los cordones esplénicos (cordones de células reticulares o de Billroth), y expansión moderada de las vainas linfoides periarteriolas (de Castro *et al.*, 2004).

Esteatosis severa a nivel hepático, infiltrado de células mononucleares periportales y perivasculares de leve a moderado y congestión sinusoidal evidente en el hígado de dos de los animales. Se describe también glomerulonefritis crónica y vasculitis caracterizada por la presencia de infiltrado de células mononucleares en el riñón de los animales infectados (de Castro *et al.*, 2004; Harrus *et al.*, 2001).

Se ha detectado también presencia de meningitis con infiltrado de células mononucleares y abundante presencia de cadenas perivasculares de células mononucleares afectando la corteza cerebral, el cerebelo y la médula. En los pulmones se observan pequeños focos de

infiltrado celular mononuclear en el septum alveolar y vasculitis con células mononucleares (de Castro *et al.*, 2004).

Los hallazgos histopatológicos en cerebro muestran infiltrado de células linfoides atípicas en las leptomeninges involucrando las paredes de los vasos sanguíneos extendiéndose a los espacios perivasculares (Waner y Harrus, 2013). Se han documentado casos en los que hay hepatitis aguda en humanos infectados con *Ehrlichia* (Waner y Harrus, 2013).

Tratamiento

En el reporte del Centro de Control y Prevención de Enfermedades del Departamento de Salud de los Estados Unidos y entre la gente dedicada a la clínica veterinaria en pequeñas especies en México, se reconoce a la doxiciclina como el antibiótico de elección para el tratamiento de las enfermedades rickettsiales transmitidas por garrapatas y se entiende que el tratamiento con antibióticos en las primeras etapas de la enfermedad, aún sin tener la certeza del agente etiológico (tratamiento empírico), puede ser la diferencia para prevenir la severidad de la enfermedad y hasta la muerte (Biggs *et al.*, 2016; Ismail y Mc Bride, 2017; Opfer, 2009).

Tradicionalmente los principios activos de la familia de las tetraciclinas han sido los fármacos de elección para el tratamiento de estas enfermedades (Huxsoll *et al.*, 1970; Bhules *et al.*, 1974); principalmente tratándose de enfermedades transmitidas por garrapatas (Harrus *et al.*, 1998), y son los únicos recomendados en la actualidad (Biggs *et al.*, 2016). Aunque la tetraciclina y la oxitetraciclina siguen manteniendo su eficacia, son la doxiciclina y la aminociclina los fármacos más empleados de este grupo, debido a su excelente absorción y a su sencilla administración una vez al día (Shaw y Rubin, 1986; Troy y Forrester, 1990; Neer *et al.*, 2002), en comparación con la dosificación de las otras tetraciclinas cada 8 horas y en ayunas. La doxiciclina es un medicamento con una amplia distribución en el cuerpo (Harrus *et al.*, 1998); además, la oxitetraciclina puede ser nefrotóxica, mientras que la baja toxicidad renal de la doxiciclina la hace recomendable para su empleo en perros con insuficiencia renal (Van Heerden e Immelman, 1979). Hay que tener en cuenta que cualquiera de los fármacos incluidos en este grupo de antibióticos puede producir decoloración dental en cachorros (Lorente, 2005).

El cloranfenicol tiene efectos hematológicos adversos y se ha comprobado *in vitro* que no es efectivo en el tratamiento contra ehrlichiosis ni anaplasmosis, de manera que el cloranfenicol no sería efectivo contra estas dos enfermedades (Biggs *et al.*, 2016). Su efectividad contra las rickettsiosis sería inferior a la deseada y se sabe que la terapia instaurada únicamente con cloranfenicol en vez de tratamiento con doxiciclina puede aumentar el riesgo de desenlaces fatales de la enfermedad (Buitrago y Pachón, 2008); por lo tanto, se sugiere sustituirlo con

doxiciclina para el tratamiento inicial y mantenerlo hasta tener un diagnóstico definitivo (Biggs *et al.*, 2016). Solo en mujeres embarazadas se recomienda el uso del cloranfenicol para evitar malformaciones asociadas con tetraciclinas en los dientes y huesos de los bebés. El cloranfenicol se asocia con otros efectos secundarios, como la anemia aplásica, por lo que se recomienda monitoreo sanguíneo constante (Opfer, 2009).

La doxiciclina actúa favoreciendo la fusión entre los fagosomas y los lisosomas favoreciendo la destrucción de las rickettsias. También posee actividad bacteriostática, se implanta en los ribosomas de la bacteria e inhibe, de este modo, la síntesis de proteína bacteriana (Brouqui y Raoult, 1990). Se han empleado diversos protocolos de tratamiento con la doxiciclina (Van Heerden e Immelman, 1979; Green-Harvey, 1984). A las 24 - 48 horas de iniciado el tratamiento suele apreciarse una mejoría clínica importante en perros en fase aguda o fase crónica leve de la enfermedad (Breitschwerdt *et al.*, 1998b).

Actualmente en perros se aconseja administrar la doxiciclina en dosis diaria de 10mg/kg durante 28 días (Breitschwerdt, 1998b; Sainz *et al.*, 2000; Neer *et al.*, 2002; Little, 2010), este es el protocolo recomendado por Grupo de Estudio de Enfermedades Infecciosas del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria para el tratamiento de EMC (McClure *et al.*, 2010). Los protocolos de tratamiento más cortos pueden dar lugar a una mejoría inicial del paciente, pero los síntomas suelen volver a aparecer (Sainz *et al.*, 2000; Lorente, 2005).

En humanos se utiliza la doxiciclina en adultos a dosis de 100mg c/12 horas. Niños mayores de 9 años 5mg/kg/día c/12 horas, Cloranfenicol 50mg/kg/día, claritromicina 15mg/kg/día c/12 horas, ciprofloxacina 750mg c/12 horas en adultos, con esta terapia de antibióticos hubo buena respuesta al tratamiento (Field y Moreno, 2011). Es de vital importancia que el tratamiento adecuado sea administrado al paciente dentro de los primeros 5 días de iniciada la infección, esto aumenta considerablemente las posibilidades de sobrevivir de los pacientes. La administración del tratamiento adecuado después del décimo día, en humanos, está notoriamente relacionada con resultados letales (Rivera *et al.*, 2009; de Lara; Huerta y Barragán, 2008).

Siguiendo los lineamientos previos se hizo un estudio con diez perros que fueron inoculados por vía intravenosa con sangre de un portador de *E. canis*, desarrollaron cuadros clínicos y hematológicos de fase severa aguda. Estos pacientes fueron tratados con doxiciclina a dosis de 10mg / kg PO SID durante 28 días y no se detectó la presencia de *E. canis* en muestras de sangre periférica. El conteo celular en la biometría hemática bajó, las plaquetas, leucocitos y hematocrito y recuperaron los valores normales en pacientes tratados. Las muestras de sangre periférica, en los pacientes tratados con doxiciclina en la fase subclínica de EMC, resultaron negativas a la prueba de PCR y así se mantuvieron durante todo el tratamiento. Existen varios estudios donde se encontraron mórulas de *Ehrlichia spp* aún después de terminado el tratamiento

con doxiciclina, estos fueron reportes en perros expuestos de manera natural y en una zona donde la constante exposición a la garrapata *A. americanum* sugería la reinfección de estos pacientes (McClure *et al.*, 2010).

En un programa de quimioprevención para EMC, se trataron 614 perros que regresaban de África, Guyana y / o Medio Oriente, donde permanecieron por un periodo mínimo de 4 meses. En estas zonas la EMC es considerada una enfermedad endémica. Se administró doxiciclina a dosis de 100 mg PO diariamente (aproximadamente 3 mg / kg), como quimioprevención, se midieron los niveles de doxiciclina en sangre de 124 perros al azar y los valores mínimos observados fueron siempre mayores que 0.2 µg/ml, en lo que se refiere a una infección por *E. canis*, la concentración mínima inhibitoria de doxiciclina es de ≤ 0.03 µg/ ml, por lo que los perros dentro del programa de quimioprevención debían de estar protegidos. El porcentaje de morbilidad y mortalidad en los 614 perros dentro del programa fue de cero (Davoust *et al.*, 2005).

En la conclusión a su estudio con 6 perros Harrus *et al.* (1998), sugiere que el tratamiento de seis semanas con doxiciclina en dosis de 10 mg / kg q24 podría no ser suficiente para eliminar *E. canis* de los perros infectados y que para la prueba de PCR se deben realizar muestreos en diferentes órganos, para poder determinar con exactitud si el paciente se ha recuperado del todo de la enfermedad. La investigación anterior coincide con los resultados obtenidos en otro estudio de cinco perros infectados con *E. canis* por vía intravenosa y tratados con doxiciclina a 10 mg/ kg PO q24 horas durante una semana, en la necropsia a los 54 – 59 días posteriores al tratamiento, se realizaron cultivos a partir de bazo, hígado, riñón y ganglios linfáticos, se logró el aislamiento de *E. canis* en tres de los cinco perros. Los resultados del estudio indicaron que bajo esas circunstancias, la doxiciclina no eliminó *E. canis* en tres de los cinco perros; Lo que indica que es necesaria la realización de estudios para ajustar los protocolos en cuanto a dosis y duración del tratamiento, así como también la consideración de otros antibióticos y recomiendan una dosis de 10 mg de doxiciclina / kg de peso q12 h. durante 2 a 3 semanas y volver a analizar por IFI 2 meses posteriores al tratamiento, si los títulos de IFI no disminuyen significativamente (> 16 veces), se deberán dar nuevos tratamientos con doxiciclina (Iqbal *et al.*, 1994).

No suele ser necesario instaurar un tratamiento de apoyo en el curso de estas enfermedades ya que la terapia específica por sí sola suele conseguir una buena respuesta. No obstante, según la gravedad del proceso, pueden ser necesarios algunos tratamientos de soporte como fluidoterapia o transfusiones (Woody y Hoskins, 1991; Neer *et al.*, 1998). Además, en ocasiones se necesita instaurar un tratamiento específico frente a determinadas complicaciones asociadas a una infección crónica por *E. canis* (como la glomerulonefritis, tratamiento contra infecciones secundarias causadas por bacterias oportunistas, principalmente disfunción respiratoria y la administración de terapia de fluidos para reestablecer la volemia y antibióticos de amplio espectro, como amoxicilina con ácido clavulánico), (Cohn, 2003).

Palacios *et al.* (2017), recomiendan el uso del siguiente protocolo como una alternativa para el tratamiento de casos con mielosupresión severa: filgrastim (Producto comercial, Neupogen). Es un factor estimulante de colonias de granulocitos producido por tecnología DNA-recombinante. Es una proteína de 175 aminoácidos producida en bacterias de *Escherichia coli* transgénicas, en las que se ha trasplantado el gen del factor estimulante de granulocitos (eosinófilos, neutrófilos y basófilos), este producto aumenta la producción de neutrófilos por la médula ósea sin aumentar el número de basófilos, eosinófilos o monocitos. En cuanto al mecanismo de acción, se une en forma específica a receptores de superficie de las células hematopoyéticas y estimula la proliferación, diferenciación y activación funcional selectiva de varias células finales, para estimular la producción, maduración y activación de neutrófilos a dosis elevadas por un periodo corto (50 µg / kg, SC, q 48 h por 4 días), también aumenta la capacidad fagocítica de los neutrófilos y la producción de anticuerpos letales. Se incluyó el uso de prednisona a dosis de 2 mg/ kg PO cada 24 horas por 28 días con disminución gradual en la última semana de tratamiento, para disminuir la destrucción inmunomediada de las plaquetas o eritrocitos asociada a la infección y también se sugirió la suplementación con hierro, para compensar su deficiencia en los huesos. A pesar de los efectos adversos asociados con el filgrastim como dolor de huesos, sangrado y el empeoramiento de la trombocitopenia, en este caso se observó la mejoría clínica y del conteo celular en menos de un mes.

En contraste con el protocolo de Palacios *et al.* (2017), otros autores no recomiendan el uso de glucocorticoides, recomendándolos únicamente cuando la trombocitopenia o anemia grave puedan amenazar la vida del animal (Grindem *et al.*, 1999). La dificultad que existe para diferenciar los signos de las enfermedades rickettsiales de otras anemias y/o trombocitopenias inmunomediadas o autoinmunes, justifican el empleo de glucocorticoides mientras se esperan los resultados serológicos (Troy y Forrester, 1990; Neer *et al.*, 1998; Frank y Breitschwerdt, 1999). Los glucocorticoides también pueden estar indicados en el curso de poliartritis, vasculitis o meningitis asociadas a la infección (Maretzki *et al.*, 1994; Neer *et al.*, 1998; Meinkoth *et al.*, 1998). En todo caso, los corticosteroides se deben emplear siempre asociados al tratamiento específico frente a las rickettsiosis ya que, de otra manera, podrían agravar la infección (Breitschwerdt, 2003).

Los parámetros de laboratorio que se normalizan más rápidamente son los recuentos de eritrocitos y de plaquetas, habitualmente a los 14 días de tratamiento (Neer *et al.*, 1998; Frank y Breitschwerdt, 1998a; Neer *et al.*, 2002). Incluso en casos crónicos, si el cuadro clínico y los parámetros hematológicos no mejoran en una o dos semanas desde el inicio del tratamiento, se debería reevaluar el diagnóstico, ya que la falta de mejoría puede ser debida a una infección crónica grave, la existencia de una infección simultánea con otro microorganismo, o una enfermedad no infecciosa (Cohn, 2003). En la mayoría de los casos donde no hubo respuesta al tratamiento y se confirmó la ausencia de otra infección, se ha observado que los pacientes presentan insuficiencia renal y/o aplasia medular severa (Sainz *et al.*, 2000).

En un estudio, realizado por Breitschwerdt *et al.* 1991, en Carolina del Norte, EUA; utilizaron cloranfenicol, enrofloxacin y tetraciclinas para el tratamiento contra FMMR causada por *Rickettsia rickettsii* en perros de raza beagle; la dosis de cloranfenicol fue de 29.9 mg/kg PO q8 h; enrofloxacin fue de 3.0 mg/kg PO q12-h; HCl de tetraciclina fue de 31.3 mg/kg PO q8 h. se continuó el tratamiento con los tres antibióticos por 7 días y después de este periodo, se determinó la reducción de la rickettsemia a tan solo 24 horas de haber iniciado el tratamiento con los antibióticos. El estudio concluyó que los tres son igualmente eficaces para el tratamiento de perros positivos a FMMR experimental y que estos antibióticos hacen que se produzca una mejoría en los indicadores clínicos, hematológicos y vasculares de la infección causada por rickettsias (Breitschwerdt, 1991). La enrofloxacin no ha demostrado eficacia contra *Ehrlichia spp*, pero podría ser efectiva contra *A. phagocytophilum* (Little, 2010).

La utilización de antibióticos de amplio espectro para tratar empíricamente a pacientes con fiebre, como son los beta-lactámicos (penicilinas, cefalosporinas), macrólidos (eritromicina, azitromicina), aminoglucósidos (estreptomina), sulfonamidas (sulfas / trimetoprim) o fluoroquinolonas (levofloxacin), no resultan efectivos para el tratamiento de estas enfermedades. No solo no se ha demostrado la efectividad de estos medicamentos contra estas enfermedades, sino que, en el caso de las sulfonamidas, fluoroquinolonas y los macrólidos, se han asociado con el incremento en la severidad de las enfermedades rickettsiales transmitidas por garrapatas (Yu y Walker, 2006; Rudoler *et al.*, 2012; Woods, 2013, Buhles *et al.*, 1974).

Se sugiere, que todos los pacientes diagnosticados con enfermedades transmitidas por parásitos hematófagos, tengan terapia de apoyo adicional. En México las medidas de prevención no siempre se pueden llevar a cabo involucrando a todos los sectores de la sociedad por motivos socioeconómicos y culturales; en áreas donde las enfermedades transmitidas por garrapatas son comunes, el tratamiento tendrá que involucrar el combate de los vectores en el ambiente, sobre los animales y la aplicación de productos como la doxiciclina e imidocarb, muchas veces van acompañados de terapia de apoyo, que permitan ayudar a combatir infecciones secundarias oportunistas y también en caso de requerirse, terapia de fluidos (Movilla *et al.*, 2016).

Control

El control de la garrapata continúa siendo a la fecha, la manera más efectiva para la prevención de estas enfermedades (Harrus *et al.*, 1999). Evitar la picadura por garrapatas y remover inmediatamente a las garrapatas que se han subido a los animales, son las mejores estrategias para la prevención.

Control químico

El control de las garrapatas desde hace ya mucho tiempo, se ha venido realizando por medio de la aplicación de productos químicos (conocidos como ixodicidas), los cuales se han utilizado tanto en los animales como en el medioambiente. Para el control de las garrapatas, se han utilizado los siguientes grupos de ixodicidas:

Los organoclorados: son el primer grupo de ixodicidas clásicos, la mayoría son acaricidas que funcionan por contacto. Los organoclorados han sido descartados en la mayoría de los países por su residualidad y toxicidad, (a pesar de su prohibición, en México se continúa utilizando este tipo de insecticidas incluso a nivel agrícola). El organoclorado por excelencia, es el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), primer insecticida orgánico de amplio espectro, funciona sobre las membranas de las células nerviosas alterando los canales de sodio, impidiendo la transmisión correcta del estímulo nervioso, en bajas cantidades el parasito presenta hiperexcitación y en concentraciones altas hay parálisis y muerte del parasito (Blagburn y Dryden, 2009).

Ha ocurrido una evolución que ha dado paso varias familias de ixodicidas diferentes y eficientes como la aparición de las izoxalinas contra las garrapatas. Algunos de estos ingredientes continúan siendo usados, otros generan conflictos éticos y por cuestiones ambientales ya están saliendo del mercado, ya no se usan con la frecuencia que solían tener; una excepción son las permetrinas (Blagburn y Dryden, 2009).

Otro grupo importante incluye a los organofosforados: son insecticidas clásicos, la mayoría actúan por contacto, algunos por vía oral o sistémica. Son ésteres orgánicos del ácido fosfórico, que actúan sobre el sistema nervioso de los parásitos como inhibidores de la colinesterasa, una enzima implicada en la transmisión de los impulsos nerviosos. Se unen a esta enzima bloqueándola de modo irreversible, interrumpiendo la transmisión de impulsos nerviosos ocasionando parálisis y muerte. El poder residual es muy variable. Algunos principios activos dentro de este grupo son los coumafós y el triclorfon que se administran tópicamente, como jabones; el clorpirifós, acaricida, adulticida, larvicida de contacto, se administra únicamente por vía tópica en collares, aerosol, jabones y champúes.

Los carbamatos: son ésteres del ácido carbámico, al igual que los organofosforados, también son inhibidores de la colinesterasa, pero la inhiben de modo reversible. Entre los principios activos más usados está el propoxur, utilizado como talco, aerosol, champú e integrado en collares, como el collar bolfo de ®Bayer.

Las piretrinas: son sustancias activas insecticidas naturales, de origen vegetal, que actúan sobre la transmisión nerviosa de los insectos. Al igual que los piretroides sintéticos interfieren con el transporte de sodio en la membrana celular de las neuronas. La molécula representativa en este caso es la piretrina, esta molécula se acopla a los canales de sodio en dichas membranas celulares provocando una hiperexcitación de las neuronas haciendo que pierdan su función. Esto paraliza y finalmente mata al parasito. Estos productos naturales, pueden ser útiles en lugares o épocas del año con poco desafío parasitario, pero resultarán del todo insuficientes para controlar infestaciones elevadas. Algunos productos son Bravo aerosol (permetrina), de @Halvet.

Los piretroides: son análogos sintéticos de las piretrinas naturales, que se desarrollaron a partir de que se descifró la molécula de la piretrina, las moléculas resultantes tienen amplio espectro de acción contra parásitos externos, son insecticidas y también repelentes de los insectos. Actúan sobre todo por contacto, sobre la transmisión nerviosa de los insectos. Interfieren con el transporte de sodio en la membrana celular de las neuronas, de modo similar al de los organoclorados. Una característica de muchos piretroides es su efecto KO (knock-out), los insectos quedan paralizados casi inmediatamente. Los piretroides sintéticos son insensibles a la luz ultravioleta (UV), tienen un amplio espectro de acción y tienen un efecto residual medianamente largo, comparable a los organofosforados. Se han formulado como piestas, aerosoles, jabones incluso en combinación con otros ingredientes activos es en aplicación spot on.

Las permetrinas son la tercera generación de piretroides que ejercen su efecto modulando los canales de sodio en los nervios, esta acción resulta en descargas repetitivas o despolarización de membrana con la subsecuente muerte del artrópodo. Las permetrinas y otros piretroides sintéticos matan al parasito rápidamente y repelen al contacto. Las permetrinas siguen siendo el principio activo de una gran variedad de productos garrapaticidas (Blagburn y Dryden, 2009). Se presentan en forma de jabón, champúes y solución tópica. Las soluciones tópicas se aplican cada 4 semanas, con dosis recomendada de 30 – 200 mg / kg, con riesgo de intolerancia en algunas razas.

El uso de deltametrina, piretroide sintético, en champú a una concentración de 0.07 % es bien tolerada por perros de entre 10.2 y 12 kg, con una efectividad del 95 % en garrapatas (*Rh. sanguineus*) después de 48 horas de aplicado el tratamiento. Mantiene un efecto residual en la primera semana de $\geq 99\%$ y $\geq 96\%$ en la segunda semana de su aplicación (Franc y Cadiergues, 1999). Su efecto principal es el de repelencia. En México hay una extensa variedad de champúes en supermercados o tiendas especializadas de mascotas, que contienen deltametrina.

Las amidinas o formamidinas: son una clase especial de sustancias activas ectoparasiticidas, con actividad por contacto sobre todo contra garrapatas, ácaros y piojos. El principio activo de esta clase es el amitraz, que se siguen usando abundantemente hoy en día.

Las amidinas son antagonistas de los receptores de la octopamina en el cerebro de los parásitos, provocan hiperexcitabilidad, seguida de parálisis y muerte. La excitación no permite que las garrapatas se fijen al hospedador para alimentarse y también poseen un cierto efecto repelente, lo que hace que muchas garrapatas se desprendan del hospedador antes de morir, o que ni siquiera se suban al animal tratado. Actúan sobre los parásitos externos fundamentalmente por contacto. Hay varias presentaciones, collares, pipetas y spot on, estos dos últimos son mezclas de sustancias activas de varias clases químicas, pero también se manejan suspensiones en las que diluye la molécula y resulta en términos generales muy efectiva. El amitraz es un compuesto de la formamidina, del grupo de las amidinas, inhibe las funciones de las oxidasas. Este producto es conocido por inhibir la monoamino oxidasa, efecto que parece ser menos importante que su efecto en las diferentes funciones de las oxidasas. Las garrapatas que entran en contacto con el amitraz tienen cambios en el comportamiento, como hiperactividad, movimiento de las patas y desprendimiento, hace que las garrapatas adheridas al cuerpo se desprendan (ixodicida de derribo). Este producto también disminuye la fecundidad, inhibe la ovoposición y disminuye la incubabilidad de los huevos. Es un producto de amplio espectro contra garrapatas y ácaros (Blagburn y Dryden, 2009). Este principio activo es muy importante porque al igual que la deltametrina, tiene un efecto de derribo y se utiliza en los servicios de estéticas con el fin de que los animales regresen a sus casas libres de garrapatas. Hay productos comerciales como solución de inmersión con amitraz 5 %.

Los fenilpirazoles: son una clase química de insecticidas y acaricidas cuyo representante principal es el fipronil. Más recientemente se ha introducido el piriprol contra pulgas y garrapatas en perros. Su mecanismo de acción consiste en bloquear los canales de cloro regulados por GABA (ácido gama-aminobutírico), en la membrana celular de las células del sistema nervioso central. Los insectos afectados muestran hiperexcitación y acaban muriendo. El bloqueo parece que es más estable en insectos que en vertebrados y mamíferos, en los que se dan también este tipo de mecanismo. Su presentación es sobre todo en formulaciones spot-on o pipetas, pero también en aerosoles. Algunos productos son: Certifect (fipronil + amitraz + metopreno), de ®Merial; Effipro Duo (fipronil + piriproxifén), de ®Virbac; Fiprosol pipeta (fipronil) de ®Pet's Pharma, entre muchos otros.

El fipronil, única molécula de la familia de los fenilpirazoles, al 9.7 % y aerosol 0.25 % se ha usado extensamente con 100 % de eficacia en la eliminación de *Rh. sanguineus* en perros infestados experimentalmente. El efecto residual de fipronil en ambas presentaciones evaluadas, se prolonga por un período mínimo de 30 días en perros infestados con *Rh. sanguineus* en forma experimental. No se presentaron ningún tipo de reacciones adversas con la aplicación del producto (Penroz, 2009). Un estudio en perros de la armada francesa en el oeste de África (Dakar y Senegal), y en el este de África (Dijibouti), lugares donde la presencia de garrapatas es endémica, Davoust *et al.* (2003), aplicaron fipronil a 248 perros durante un año. Fipronil es un inhibidor del GABA, principal neurotransmisor que inhibe el sistema nervioso central en los invertebrados, fipronil fue usado como método preventivo contra *E. canis*. Después de la aplicación, el fipronil se difunde en menos de 24 horas, concentrándose en las estructuras que

contengan lípidos, por toda la superficie del cuerpo. Fipronil proporciona una eficacia mínima del 95 % contra *Rh. sanguineus* y *Dermacentor reticulatus* por más de 29 días. Una vez que el perro ha sido tratado, el efecto letal en *Rh. sanguineus* comienza a las 12 horas de haberse aplicado la solución cutánea. Los valores pico de letalidad en las garrapatas es a las 24 horas de la aplicación. En su estudio Davoust *et al.* (2003), publican que la eficacia del fipronil para la prevención en la transmisión de *E. canis* es del 96.4 % en zonas endémicas.

Los endectocidas como la ivermectina, moxidectina, doramectina, etc. son antiparasitarios al mismo tiempo externos e internos, que pertenecen al grupo de las lactonas macrocíclicas, de las que se ha hecho uso y abuso. Derivadas de productos naturales obtenidos por fermentación de organismos del suelo del género *Streptomyces*. El primer antiparasitario endectocida en el mercado fue la ivermectina. Los endectocidas actúan sobre los receptores GABA de las células del sistema nervioso: bloquean la transmisión del impulso nervioso lo que conduce a la parálisis y muerte del parásito. Los endectocidas tienen un espectro muy amplio de acción ectoparasiticida. Su presentación oral es en tabletas masticables, comprimidos, cápsulas etc. La susceptibilidad de algunas razas de perros a los endectocidas y ciertos otros medicamentos pueden presentar problemas de tolerancia más o menos graves. Por ello la dosificación debe hacerse lo más exactamente posible. Se trata sobre todo de los Collies y razas próximas, que tienen una mutación (en el gen MDR-1), que afecta a la barrera sangre-cerebro que hace que ciertos medicamentos de ordinario no entren en el cerebro de los mamíferos. Algunos productos son: Nexgard Spectra (afoxolaner + milbemicina + oxima), de ®Merial.

La familia de las isoxazolininas incluye plaguicidas de una nueva clase química descubierta en la década de los 2000, se introdujeron como antiparasitarios para perros contra pulgas y garrapatas. Las isoxazolininas son derivados del isoxazol, que es un compuesto heterocíclico de la familia de los azoles y son administrados por vía oral. El modo de acción sistémico implica que tanto las pulgas como las garrapatas deben picar al hospedador e ingerir la suficiente cantidad de sangre, para que el producto las mate. Son antagonistas no competitivos de receptores GABA, mucho más selectivos para receptores de artrópodos que de mamíferos, incluidos seres humanos. Se acoplan a canales de cloruro de las células nerviosas y musculares, lo que bloquea la transmisión de impulsos nerviosos. Los parásitos afectados quedan paralizados y mueren rápidamente.

Por ahora sólo están disponibles formulaciones para la administración oral en forma de tabletas masticables para perros, de diversas dosis según el peso del perro. En algunos países está disponible también ®Bravecto tópico como spot-on (pipetas). Han sido aprobadas inicialmente en Estados Unidos y/o en la Unión Europea, y ya están disponibles en varios países de América Latina, incluido México.

Cuadro 5. Algunas isoxazolinas autorizadas para uso veterinario.

Principio activo	Recomendación
Afoxolaner	Para uso en perros contra pulgas y algunas especies de garrapatas. Nexgard y Nexgard Spectra de @Merial.
Fluralaner	Para uso en perros contra pulgas y varias especies de garrapatas. Bravecto y spot on de MSD @Salud Animal, Merck Animal Health.
Lotilaner	para uso en perros contra pulgas y algunas especies de garrapatas. Credelio de @Elanco.
Sarolaner	Para uso en perros contra pulgas, varias especies de garrapatas y algunos ácaros dela sana en perros. Simparica de @Zoetis.

Tomado y modificado de Han y Chen 2018.

La utilización de ixodicidas para el control de las garrapatas es el método más efectivo para la prevención de estas enfermedades rickettsiales, como lo demuestra en su estudio Davoust *et al.* (2014), donde encontraron una marcada diferencia en los valores positivos a la infección por *E. canis* en un grupo de perros de trabajo de los militares y los perros nativos de las zonas endémicas en el este y oeste de África, esta gran diferencia la atribuyen a las posibles medidas de prevención utilizadas en los perros de trabajo de los militares, como el uso de acaricidas, ya que a estos perros generalmente, se les proporcionan mejores cuidados.

Cuadro 6. Antiparasitarios para perros con espectro contra garrapatas.

NOMBRE COMERCIAL / LABORATORIO	PRINCIPIO ACTIVO	POSOLÓGIA (en base al peso)	FORMA FARMACÉUTICA	PRECAUCIONES ESPECIALES PARA SU USO
Advantix– Bayer	Imidacloprid +Permetrina	1 pipeta 3 – 4 semanas	Spot on	Edad mínima: 8 s
Bolfo spay – Bayer	Propoxur	-	Spray	Edad mínima: 7 s Peso mínimo: 1 kg
Bolfo collar – Bayer	Propoxur	1 collar / 4 meses	Collar	Edad mínima: 3m
Bravecto - MSD	Fluralaner	1 comprimido / 3 m (25 mg/ kg)	Comprimidos	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Comboline – Boehringer / Ingelheim	Fipronilo +(S)-metopreno	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Credelio – Elanco	Lotilaner	1 comprimido / mes (20-43 mg/kg)	Comprimidos	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 1,3 kg
Effitix - Virbac	Fipronilo + Permetrina	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 12 s Peso mínimo: 1,5 kg
Exspot – MSD Defendog- Virbac	Permetrina	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 2 s

NOMBRE COMERCIAL / LABORATORIO	PRINCIPIO ACTIVO	POSOLÓGIA (en base al peso)	FORMA FARMACÉUTICA	PRECAUCIONES ESPECIALES PARA SU USO
Frontline Perro – Boehringer / Ingelheim	Fipronilo	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Frontline Perro - Boehringer / Ingelheim	Fipronilo	3 - 6 ml/kg / mes	Spray	-
Frontline Combo Spot-On Perro -Boehringer / Ingelheim	Fipronilo + (S)-metopreno	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Frontline Tri-Act Perro - Boehringer / Ingelheim	Fipronilo + Permetrina	1 pipeta / mes	Spot on	-
Kiltix - Ecuphar	Propoxur + Flumetrina	1 collar / 6 meses	Collar	-
NexGard - Boehringer / Ingelheim	Afoxolaner	1 comprimido / mes (2,7-6,9 mg/kg)	Comprimidos	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
NexGard Spectra - Boehringer / Ingelheim	Afoxolaner + Milbemicina oxima	1 comprimido / mes (2,5-5,36 mg/kg + 0,5-1,07 mg/kg)	Comprimidos	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Prevender Perro - Virbac	Diazinón	1 collar / 7 meses	Collar	Edad mínima: 6 m
Prac-tic - Elanco	Piripro	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 2 kg
Prevender Perro - Virbac	Diazinón	1 collar / 7 meses	Collar	Edad mínima: 6 m
Sarnacurán - Bayer	Foxima	-	Solución tópica	-
Seresto Collar - Bayer	Flumetrina + Imidacloprid	1 collar / 7-8 meses	Collar	Edad mínima: 7 s
Simparica - Zoetis	Sarolaner	1 comprimido / 5 s (2-4 mg/kg)	Comprimidos	Edad mínima: 8 s Peso mínimo: 1,3 kg
Scalibor Collar - MSD	Deltametrina	1 collar / 4-6 meses	Collar	Edad mínima: 7 s
Taberdog – Divasa / Farmavic	Permetrina	1 collar / 4 meses	Collar	-
Vectra 3D - CEVA	Dinotefuran + Piriproxifeno + Permetrina	1 pipeta / mes	Spot on	Edad mínima: 7 s Peso mínimo: 1,5 kg

(ESCAAP, 2018)

Como es de esperarse, hay reportes de resistencia a los productos químicos utilizados para el control y la prevención de garrapatas. En el 2010 se publica resistencia y la necesidad de un aumento considerablemente mayor a la dosis recomendada, para mantener su efecto y basados en su estudio, los piretroides están pasando a ser menos efectivos contra garrapatas *Ixodes* (Enayati *et al.*, 2010). Miller *et al.* (2001) colectó garrapatas *R. sanguineus* en perros y encontró una alta resistencia a la permetrina, DDT y coumaphos, moderadamente resistente al amitraz, este resultado coincide con el estudio realizado por Martínez *et al.* (2017) estudiaron la susceptibilidad de las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en los estados de Sonora y Morelos, utilizando una técnica considerada ideal que es la de paquete de larvas; las garrapatas no presentaron susceptibilidad hacia los organofosforados (chlorpiriphos coumaphos y diazinon), y los valores de mortalidad en clorpiriphos estuvieron entre 34 a 53 % (muy bajos), en coumaphos la efectividad más alta fue de 81 % y la mínima de 60 y por ultimo al diazinon de 55 a 93 % respectivamente de mortalidad. Para los piretroides el principio activo de mejor actividad biológica fue la flumetrina, respecto a deltametrina la efectividad fue de 53 al 86 % y la cipermetrina de 63 al 92 % de efectividad. En el estado de Morelos los productos que menos afectaron toxicológicamente a las larvas de *R. sanguineus* fueron: los organofosforados (chlorpiriphos, coumaphos y diazinon), con mortalidades que variaron del 2.17 al 98.4 % y solo manifestaron susceptibilidad en los municipios de Xochitepec y Oaxtepec en una sola muestra. En el caso de deltametrina solo una muestra del municipio de Oaxtepec fue susceptible y en todas las demás el efecto tuvo variaciones importantes, mientras que para cipermetrina con rangos del 100 al 47.2 %, teniendo dos poblaciones susceptibles en Oaxtepec. Con estos resultados se documenta por primera vez, la resistencia de algunas especies de garrapatas a algunos ixodicidas.

El uso indiscriminado de productos químicos para el control y la prevención de parásitos hematófagos nos ha llevado a la necesidad de buscar nuevas opciones de control biológico.

Como la mayor parte del tiempo las garrapatas se encuentran fuera del hospedador, normalmente se requiere el uso de acaricidas en el ambiente donde vive el perro. El tratamiento del ambiente puede ser efectivo solo cuando el área tratada está restringida, es decir, cuando se trata de garrapatas domésticas con superficies limitadas (jardines, perreras, etc.). La efectividad de esta estrategia depende de varios factores como: el nivel de infestación ambiental, la presencia de áreas infestadas cercanas a un área tratada, el efecto residual del acaricida y las condiciones del medio ambiente. Además, hay muchas dudas sobre el uso de acaricidas en el ambiente. El uso inapropiado de acaricidas puede causar contaminación ambiental y toxicidad en humanos y otros organismos que no son objetivos del acaricida. Si se emplean acaricidas ambientales, éstos se deberían aplicar detrás, debajo y alrededor de las jaulas, en las grietas y hendiduras de los suelos, paredes y techo (Dantas, 2008).

Cuadro 7. Porcentajes de mortalidad obtenidos en larvas de *Rhipicephalus sanguineus* mediante las técnicas de paquete e inmersión de larvas, en el municipio de Hermosillo, Sonora y en 5 diferentes municipios del estado de Morelos.

IXODICIDAS

Municipio	Organo-clorado Lindano	Fenilpirazolonas Fipronil	Chlorp	Couma	Diaz	Flumet	Delta	Cyper	Amitraz
Hermosillo 1	100	100	53.13	81.54	93.1	100	85.56	92.31	100
Hermosillo2	100	100	38.71	70.79	75.78	100	65.28	78.75	100
Hermosillo 3	100	100	43.18	65.79	62.30	100	61.79	71.73	100
Hermosillo 4	100	100	34.44	60.56	55.13	82.35	86.79	64.81	100
Hermosillo 5	92.86	100	53.93	76.81	59.14	100	53.33	63.89	100
Temixco 1	100	100	88.7	75.6	63.9	97.5	88.1	89.0	98.04
Temixco 2	100	100	95.5	75.0	78.5	98.8	96.6	86.1	100
Alpuyeca	100	100	81.9	2.17	95.2	100	83.0	88.0	100
Xochitepec	27.1	100	100	9.55	5.67	100	48.1	60.13	97.11
Juitepec 1	100	100	88.0	95.49	98.4	100	98.5	91.2	100
Juitepec 2	0	100	42.3	70.1	75.2	90.5	86.7	87.5	82.1
Juitepec 3	35.3	100	78.9	99.4	97.9	100	77.9	74.8	56.5
Juitepec 4	100	100	13.0	35.1	35.2	100	80.2	55.89	81.97
Oaxtepec 1	73.72	100	22.9	29.2	20.0	100	67.3	100	75.3
Oaxtepec 2	100	100	10.74	42.22	37.9	100	87.7	82.9	85.1
Oaxtepec 3	94.7	100	8.7	48.9	40.0	100	69.2	47.2	0.39
Oaxtepec 4	100	100	18.4	77.3	52.2	99.4	76.0	38.7	100
Oaxtepec 5	100	100	93.89	100	100	100	100	100	100
Oaxtepec 6	100	100	27.5	85.7	51.3	100	51.6	47.2	100
Oaxtepec 7	100	100	21.0	80.7	72.7	100	80.6	59.4	92.4
Oaxtepec 8	100	100	22.5	89.9	65.6	100	65.4	66.4	79.11

Organofosforados: Chlorp = Chlorpirifos, Couma = Coumaphos, Diaz = Diazinon
 Piretroides: Flumet = Flumetrina, Delta = Deltametrina, Cyper = Cypermetrina

(Martínez *et al*, 2017)

Los veterinarios juegan un papel sumamente importante para educar a los dueños de las mascotas en cuanto el uso indiscriminado de acaricidas. Una estrategia integrada para el control de las garrapatas es esencial y esta incluye métodos químicos y no químicos. Para que el control de las garrapatas sea efectivo, se deberá actuar en coordinación de la agencia ecológica local la cual deberá tener un programa implementado para su control, de esta manera controlar también la contaminación ambiental, el riesgo de resistencia a los acaricidas y los costos elevados; pero sobre todo aplicar las medidas en todas las zonas en las que se detecte la presencia de las garrapatas, lo cual requiere de una gran inversión económica, convirtiendolo en una limitante (Dantas, 2008).

Control no químico

La incansable búsqueda de un método que pueda prevenir estas enfermedades está en constante cambio, un estudio determinó que la utilización de atomizadores para rociar hongos entomopatógenos, agentes altamente patógenos para las garrapatas, en este estudio se usa al hongo *Metarhizium brunneum*; la forma en la que actúan estos organismos le produce la muerte a las garrapatas por medio de micotoxinas, cambios patológicos en el hemocele, acción histolítica y bloqueo mecánico del aparato digestivo, secundario al crecimiento de las hifas. Determinan su capacidad para matar garrapatas adultas, disminuye la producción de huevos y la eclosión de los estadios larvarios. Las garrapatas rociadas redujeron su oviposición de un 30 – 63 %, las garrapatas ingurgitadas tratadas con *M. brunneum* ovipositaron 21.5 % menos que las garrapatas control y más aún estas garrapatas rociadas transmitieron conidia, (esporas de producción asexual), a los huevos por contacto, resultando en una eclosión de los huevos tres veces menor que las garrapatas control (Rot *et al.*, 2013; Ojeda *et al.*, 2011).

Se continúan haciendo estudios con respecto al uso de los hongos como un método de control de las garrapatas, aparentemente con futuro prometedor ya que se ha demostrado que el uso de hongos, no causa efectos colaterales en los animales de sangre caliente ni al medio ambiente; se han realizado estudios en los que se demuestra que sólo exhibe toxicidad en células de insectos y no en células humanas, bacterias o protozoarios (Rot *et al.*, 2013). Se requieren de más estudios para poder implementar el uso de estos mecanismos de control a nivel comercial.

Aljamali *et al.* (2003), realizan el primer ensayo con la garrapata *Amblyomma americanum* en el que desarrollan una manipulación genética por medio de la interferencia del RNA, con la finalidad de silenciar la proteína de unión a la histamina que esta presente en la saliva de esta garrapata, dando como resultado un patrón de alimentación totalmente anormal. Posteriormente se han publicado ya un gran número de artículos, donde se utiliza RNA de doble cadena para interferir en uno o más genes en garrapatas adultas y evaluar el nivel de supervivencia de la garrapata, el peso de organismos ingurgitados, su tasa de oviposición y eclosión, determinando de este modo el efecto del silenciamiento de genes específicos en la alimentación, digestión y reproducción de las garrapatas. Un ejemplo adicional es el silenciamiento de synaptobrevin y *nSec-1* de *Amblyomma americanum* dando como resultado la inhibición en la secreción de proteínas anticoagulantes, ocasionando una alimentación aberrante, esto también lo desarrollaron con *I. scapularis* silenciando factores asociados a la saliva que repercuten en la ingestión de sangre. Por el momento no existen estudios de esta naturaleza con *Rh. sanguineus*, pero se espera que el uso de esta estrategia tenga mayor aplicación en situaciones claves y por modificaciones puntuales de grandes poblaciones de estos organismos para que se produzca un impacto importante en las poblaciones de estos parásitos.

La subolesina es una proteína usada para múltiples funciones en la garrapata, con el silenciamiento genético de la subolesina, se ha logrado demostrar la reducción en la supervivencia y reproducción de la garrapata, también causa degeneración del intestino, glándulas salivales, órganos reproductivos, provoca esterilidad en machos y la disminución de la capacidad de la garrapata para funcionar como vector. Un ejemplo importante del efecto de las proteínas de las garrapatas sobre las bacterias fue realizado por de la Fuente *et al.* (2007) con *Anaplasma*, esto se logra al momento de que algunas moléculas, diferentes proteasas, proteínas salivares y receptores en intestinales evitan la colonización, proliferación o transmisión de las bacterias deteriorándolas. Se espera que, en un futuro, la utilización del silenciamiento genético tenga mayor aplicación en situaciones claves como la disrupción del desarrollo, fisiología y regulación genética de las garrapatas (Manzano *et al.*, 2012).

En la actualidad se realizan estudios sobre el papel que juegan los anticuerpos para proteger al hospedero de infecciones por *Ehrlichia*, se ha demostrado que los epítopes lineales de proteína de repetición en tándem (TRP), inmunodominantes (32,47 y 120), son protectores y al parecer involucran mecanismos mediados por anticuerpos intracelulares y extracelulares. Estos son los epítopes que se deben incluir para el desarrollo de vacunas y terapia contra *Ehrlichia* y realizar más estudios para entender el mecanismo de acción de los anticuerpos mediados anti – TRP para protección durante una infección de *E. chaffeensis* (Kuriakose *et al.*, 2012). En este sentido hay dos variantes, en el caso del animal enfermo, la vacuna no solo promovería la formación de más anticuerpos, lo cual únicamente incrementaría la variación antigénica, que de manera natural se presenta en el caso de *Ehrlichia* con anticuerpos que no protegen contra futuras enfermedades ocasionadas por el mismo agente etiológico, dando como consecuencia mayor daño a nivel endotelial y la utilización en perros sanos, la cual podría promover la formación de anticuerpos específicos contra estos tres TPR y proteger de la enfermedad o disminuir los signos con los que se podría presentar.

Siendo la ehrlichiosis una enfermedad importante tanto para animales como para humanos, Rudoler *et al.* (2012), han evaluado la posibilidad de que la cepa # 611A de *E. canis* pudiera ser utilizada como vacuna, esto debido a que esta cepa ha sido atenuada, después de 8 años de pasajes alternos en líneas celulares caninas, aparentemente ha perdido su virulencia en los perros y ha dejado de infectar a las garrapatas. Se realizó un estudio usando tres grupos de 4 perros cada uno, solo 2 fueron inoculados (vacunados), con la cepa # 611A y un tercer grupo control; posteriormente se desafió a todos los perros, inoculando por vía intravenosa una cepa virulenta. Los signos en los 4 perros del grupo control fueron severos, el promedio de rickettsias en sangre fue considerablemente mayor en este grupo, aumentando hasta 92 veces más en el día 19 post desafío, comparados con los perros vacunados. Los resultados de este estudio indican que el uso de la cepa atenuada de *E. canis* # 611A reduce la severidad de los signos y la carga de rickettsias después del desafío con cepas virulentas, ya que en el caso de los perros vacunados la única patología clínica que presentaron fue trombocitopenia transitoria y como signos clínicos fue fiebre moderada (entre 39.6 y 40.1 °C), en solamente 3 de los 8 perros vacunados, los demás no presentaron ningún otro signo. Este estudio indica que podría servir

como una vacuna contra *E. canis*, después de ser perfeccionada en cuanto a dosificación, vía de administración y que no hubiera reversión en la cepa atenuada como ha ocurrido en otros casos; como en *A. marginale* donde sí hubo reversión de virulencia en la cepa y en lugar de protección causó la enfermedad.

No existe en estos momentos una vacuna aprobada para prevenir la FMMR (Opfer, 2009). Se han realizado estudios y pruebas, pero no hay ninguna vacuna que sea efectiva para el control de *E. canis* en animales ni en humanos (Harrus *et al.*, 1999). En los Estados Unidos no se ha publicado la existencia de ninguna vacuna para la prevención de enfermedades rickettsiales transmitidas por garrapatas en perros (Biggs *et al.*, 2016).

En la última década se han investigado más a fondo las cistatinas, proteínas que inhiben proteasas del grupo de las cisteín proteinasas, varias cistatinas de diferentes garrapatas han sido identificadas y bioquímicamente analizadas en el papel que juegan dentro de la fisiología y el proceso de alimentación de las garrapatas. Las cistatinas fueron identificadas en glándulas salivales y en el intestino medio de las garrapatas, órganos clave para la digestión de la sangre y la expresión de potentes proteínas salivales con acción farmacológica que ayudan para su alimentación. Por ejemplo, la Om-cistatina 2 (Omcis-2), y Sialostatina L poseen fuertes propiedades inmunosupresoras en el hospedero, Omcis-2 se cree que está involucrada en regular la digestión de la sangre y solamente Bmcistatina parece tener efecto en la embriogénesis; todas las cistatinas son poderosas inhibidoras de las proteasas y tal vez algunas de ellas se puedan utilizar en el futuro para el desarrollo de vacunas contra garrapatas y como productos de importancia médica. Este estudio, plantea el bloqueo de la producción de estas moléculas, ya sea a través de la vacunación o del silenciamiento genético, (mismo que no se ha llevado a cabo), para neutralizar la naturaleza inmunosupresora de la saliva de la garrapata, se considera entonces que el descubrimiento de dichos antígenos, podría traer nuevas perspectivas para el desarrollo de inmunógenos contra garrapatas que protejan animales y también humanos contra la picadura de las garrapatas y los patógenos que transmiten. Considerando aún más importante el desarrollo, en un futuro cercano, de una vacuna que contenga diferentes cistatinas, como un cocktail multicomponente, para potencializar antígenos contra las cistatinas (Schwarz *et al.*, 2012).

En otro estudio Perez *et al.* (2010), considerando la inclusión de las garrapatas *Boophilus* al género *Rhipicephalus*, investigaron la reacción cruzada al antígeno Bm86, denominado antígeno oculto del intestino de la garrapata, que fue identificado y utilizado de manera efectiva como inmunógeno para la producción comercial de vacunas contra *Rhipicephalus spp* en infestaciones en ganado bovino, en este estudio vacunaron cuatro perros y un grupo control no fue inmunizado con este producto y cuando fueron desafiados los dos grupos, el resultado de la investigación fue de una reducción significativa; se evaluó el número de garrapatas recolectadas vivas y los resultados fueron: 38 % menos larvas, 29 % menos ninfas y 31 % menos hembras adultas que en los perros no vacunados. El peso de las garrapatas ingurgitadas y la eficiencia

para la oviposición fue mayor para las garrapatas alimentadas en el grupo control. Concluyendo que el antígeno Bm86 usado como vacuna para perros reduce la viabilidad y potencial biótico de *Rh. sanguineus*.

Prevención

Claramente la prevención juega el papel más importante en las rickettsiosis incluyendo medidas de protección personal y cambios en el comportamiento (Biggs *et al.*, 2016), así como con brigadas de fumigación y limpieza de zonas marginadas y campañas para eliminación de animales callejeros y su manejo contra infestaciones de garrapata (Field y Moreno, 2011). Se debe limitar el acceso de animales silvestres que pueden vehicular garrapatas en las viviendas, destruir zonas de refugio de estos parásitos; eliminar hierbas, malezas y arbustos, sobre todo cuando estén cerca de edificios o de las casas o perreras de las mascotas. Destruir áreas donde abundan garrapatas y utilizar productos para eliminar a las garrapatas, tanto en el medio ambiente como en las mascotas. Se debe de tomar en cuenta que cualquier método contemplado para la prevención que involucre a las garrapatas, que solamente el 5 % de ellas está en el hospedero, el otro 95 % está en el ambiente, por lo tanto, un tratamiento efectivo requiere de un manejo integral, estrategias donde el objetivo no solamente sea el perro sino también el ambiente (Dantas, 2008).

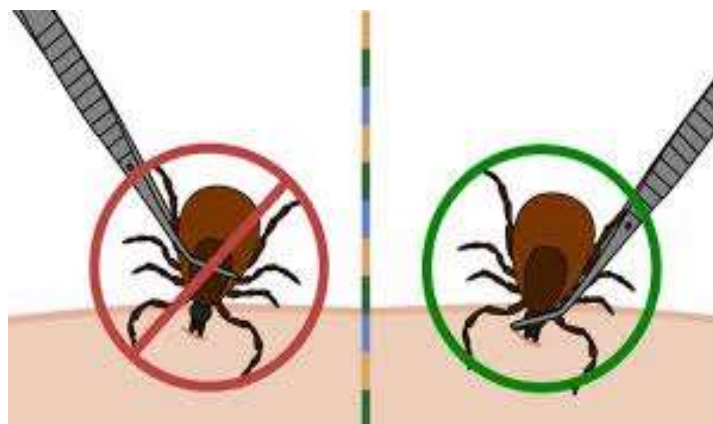
Es muy difícil pensar que las personas pueden evitar el contacto con garrapatas debido a la gran diversidad de hábitats donde se pueden encontrar: en praderas, jardines, zonas rurales y en personal que desarrolla actividades que representan riesgo (veterinarios, auxiliares, técnicos, etc.), pero al saberlo, se pueden tomar medidas preventivas antes y después de haber estado en zonas de riesgo. Se sugiere: utilizar ropa clara para detectar la presencia de las garrapatas, no dejar descubiertas partes de la piel entre los pantalones y las calcetas. Usar repelentes que contengan permetrina en la ropa y zapatos, ya que permanecen por muchos días y esto representa un cambio de comportamiento frente a una amenaza presente en el entorno que deberá generalizarse (Opfer, 2009; Biggs *et al.*, 2016; Field y Moreno, 2011).

Evitar contacto con garrapatas es la manera más efectiva de evitar una infección transmitida por estos vectores; caminar por senderos, evitar lugares con vegetación abundante, áreas cubiertas de hierba, boscosas o con maleza y tener patios que no representen un hábitat ideal para las garrapatas ayudará a reducir el riesgo de las picaduras. Mantener el césped cortado y remover las hojarascas, maleza y mala hierba para reducir las garrapatas en el hogar (Biggs *et al.*, 2016).

En zonas de riesgo las personas y las mascotas expuestas a estos artrópodos deberán realizar o realizarse una revisión corporal completa de su cuerpo, se debe revisar a los niños y a las mascotas, inmediatamente después de regresar del paseo, con el propósito de buscar garrapatas pegadas, se debe considerar la utilización de lupas para observar las ninfas. Como recomendación, es fundamental guardar las garrapatas encontradas en un frasco limpio, ya que sería de mucha utilidad contar con esa información y muestra para un diagnóstico más preciso, en caso de que se presente un cuadro clínico asociado (Opfer, 2009). Es importante hablar con el veterinario sobre protección para las mascotas (Biggs *et al.*, 2016).

Cuando se detectan garrapatas unidas al humano, se deben remover inmediatamente. En estos casos el método más adecuado para quitar las garrapatas, es tomar a la garrapata con una pinza, lo más cercano posible a la piel por el gnatosoma y jalar suavemente hacia arriba manteniendo presión constante. Las garrapatas se deben de quitar con sumo cuidado, de lo contrario se puede romper el gnatosoma y permanecer enterrado como cuerpo extraño en la piel del hospedero (Bowman, 2003).

Figura 10. Método correcto para quitar las garrapatas.



Para quitar a una garrapata se debe sujetar la garrapata de la zona más próxima a su cabeza, pegada al cuerpo Jalar hacia arriba completamente. Evitar retorcerla o tirarla con violencia, eso puede hacer que las partes de los órganos bucales de la garrapata se rompan y queden incrustadas en la piel. https://www.cdc.gov/ticks/removing_a_tick.html .

Jamás se deberá utilizar la aplicación de gasolina, keroseno, petrolato, barniz de uñas, alcohol o cerillos encendidos para quitar las garrapatas. Hay un gran número de dispositivos destinados a desprender las garrapatas que se han desarrollado para cubrir esta necesidad o, están a la venta y funcionan de forma equivalente al uso de pinzas o fórceps pequeños. Se debe evitar quitar a las garrapatas con los dedos, así como tampoco deberán aplastarse con los dedos, ya que los fluidos del cuerpo de las garrapatas podrían contener a las rickettsias; aun cuando se debe tomar en cuenta, que es más importante quitar a la garrapata lo más pronto posible debido

a que el tiempo que las garrapatas necesitan estar unidas al hospedero varía de entre 2 a 48 horas para la transmisión de estos organismos (Biggs *et al.*, 2016; Davoust *et al.*, 2003; Lin-Decker, 2012; Opfer, 2009). Lo anterior demuestra que remover la garrapata lo más pronto posible, es de primordial importancia, mientras más tiempo pase adherida al hospedero, aumenta considerablemente la probabilidad de la transmisión de estos patógenos (Biggs *et al.*, 2016). Después de quitar la garrapata, se deberá limpiar el área con agua y jabón, alcohol y frotar la zona con yodo. La persona que pudiera haber tocado a la garrapata, se deberá lavar las manos muy bien, sobretodo antes de tocarse la cara o los ojos (Biggs *et al.*, 2016; Field y Moreno, 2011).

Salud Pública

Los esfuerzos para la prevención de estas enfermedades deberán estar enfocados en las diferentes necesidades de las comunidades, en algunas zonas el control de las garrapatas es sumamente difícil, en parte por la relación que existe entre el humano y el perro. Los perros en algunas zonas son propiedad de la comunidad y no de un único dueño, esto permite que los perros vaguen libres dentro de esa zona, haciendo difícil o imposible la aplicación de productos garrapaticidas, mientras, el perro continúa diseminando garrapatas en áreas donde ya han sido eliminadas o donde antes no existían (Walker, 2013; Dantas *et al.*, 2012; Nicholson *et al.*, 2010).

La FMRR causada por *Rickettsia rickettsii* es un problema de salud pública en varios países del continente americano. Aunque es una enfermedad de relevancia médica debido a su potencial letalidad, es un padecimiento prevenible y tratable mediante intervenciones de diversa complejidad, casi todas accesibles a la mayoría de las naciones. Debido a la interacción de múltiples factores de orden biológico, ecológico y social, su abordaje requiere de enfoques integrados, centrados en las siguientes líneas estratégicas:

1. Inclusión de la FMRR en la agenda regional de prioridades asistenciales y de investigación, con la asignación de recursos financieros para la implementación de programas específicos de prevención y control.
2. Mejoramiento de la capacidad diagnóstica y la vigilancia epidemiológica.
3. Fortalecimiento de la capacitación del personal de salud.
4. Control poblacional del vector y tenencia responsable de mascotas.
5. Promoción de la salud y prevención de la enfermedad.
6. Fomento de la investigación regional.

Un estudio para evaluar el conocimiento de los médicos sobre el diagnóstico y manejo de FMRR en el estado de Mississippi, publicó que solamente el 21 % de los médicos familiares y el 25 % de los médicos en el área de urgencias médicas, pudo sugerir correctamente el uso de doxiciclina para el tratamiento de FMRR; más aún, 23 % de los médicos sugirieron que esperar a que se presentara salpullido y después dar tratamiento, era una estrategia apropiada. Esto sugiere que la educación continua es esencial para prevenir muertes causadas por el tratamiento tardío con doxiciclina en pacientes enfermos (Dantas, 2007). Esto es de suma importancia en México, donde un estudio que abarcó a 343 médicos generales de diferentes especialidades en diferentes municipios del estado de Sonora, fueron encuestados en este sentido y manifestaron su renuencia a la administración de doxiciclina en pacientes menores de 10 años (Álvarez, información no publicada). Todo esto nos lleva a considerar la necesidad de la inclusión del estudio de estas enfermedades en los programas de formación del personal médico, con el fin de que cuenten con la información y tengan presente el riesgo de la presencia de estas enfermedades asociadas a los animales y los humanos.

La recomendación es que se discutan estrategias de contención y prevención de la letalidad por FMRR, tanto al interior de los hospitales como en unidades de primer nivel de atención, específicamente para mejorar:

- 1) La sospecha diagnóstica y el inicio temprano (primeras 72 horas), del tratamiento con doxiciclina;
- 2) La disponibilidad de doxiciclina en presentación oral y la autorización para disponer de la formulación inyectable disponible en México, en unidades de primer nivel de atención.
- 3) La referencia oportuna y adecuada de pacientes hospitalizados;
- 4) El manejo hospitalario de la sepsis, choque séptico y otras complicaciones metabólicas y hemodinámicas asociadas con casos graves de FMRR;
- 5) La identificación de factores de riesgo y mal pronóstico en pacientes pediátricos con FMRR (Álvarez y Contreras, 2013).

Conclusiones

Los cambios biogeográficos, inducidos por la modificación de las costumbres de la agricultura, las tendencias en el desarrollo, así como también los cambios climáticos, nos han llevado al aumento en la distribución geográfica tanto de las garrapatas como de los animales domésticos y silvestres reservorios de estas enfermedades, ocasionando que tanto humanos como animales, se verán afectados con las enfermedades que estas garrapatas transmiten. Estos eventos continuarán desafiando a los sistemas de salud y otras organizaciones sociales, de modo que su ocurrencia actual constituye un llamado urgente para la acción regional. Las sinergias entre especialistas de la salud animal, de la salud pública y del medio ambiente

aplicadas a nivel local, nacional y mundial contribuyen, sin duda alguna, a la mejora continua y simultanea de la salud pública y de la salud animal en el mundo (OMS).

En los últimos meses, en México se realizó la modificación de la Norma Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector, NOM-033-SSA2-2011, donde finalmente se reconocen a la erlichiosis y anaplasmosis como enfermedades ciclo antropozoonoticas presentes en el país. Las instituciones de salud, médicos y veterinarios deben integrar ésta enfermedad emergente en el diagnóstico diferencial de humanos y perros.

Las enfermedades rickettsiales están en aumento, la unificación de profesionales de la salud es vital para reducir la carga en términos de morbilidad y mortalidad. Un cambio en la perspectiva y fomentar la comunicación entre médicos humanos y veterinarios podría jugar un papel central. Es evidente la gran necesidad de un enfoque, donde se considere a la salud como una condición integrada entre los animales y el humano, orientada al mejor manejo de enfermedades. Donde haya intercambio de información y de ideas, para el beneficio, no solamente de los profesionales en el área médica, sino principalmente de los pacientes. En este ambiente de cambio, la educación continua es esencial, los profesionistas deben estar al tanto de los nuevos descubrimientos y mejorar su práctica, el enfoque de “UNA SOLA SALUD”, podría unificarse al tener médicos veterinarios y humanos en la misma mesa, comparando resultados, trabajando por un bien común, proponiendo en conjunto normas de calidad y herramientas específicas para brindar servicios que cumplan con las normas de calidad.

La vigilancia del binomio animal-humano, hará posible la detección oportuna de estas zoonosis graves para el humano. La epidemiología de estas enfermedades está estrechamente relacionada con la amplia población de perros callejeros, que en muchos casos están infestados de garrapatas y mantienen un contacto cercano con humanos. En el periodo del 2003 al 2016 Álvarez *et al.*, (2017) confirma que el 58 % de los casos positivos de FMMR se presentaron en individuos menores de 19 años y con una mortalidad del 60 %. Hay un amplio conocimiento en el área de medicina humana con respecto a FMMR, pero el área de medicina veterinaria no cuenta con estos conocimientos, ni con el apoyo de pruebas de laboratorio accesibles, confiables ni económicas para poder realizar diagnósticos acertados y por lo tanto tratamientos efectivos para el control de esta enfermedad. Lo contrario ocurre con la ehrlichiosis y anaplasmosis, el área de medicina veterinaria tiene un amplio conocimiento, métodos de diagnóstico y pruebas accesibles para poder realizar el diagnóstico adecuado, seguido de un tratamiento efectivo contra estas enfermedades, pero en el caso de los médicos humanos los recursos para el diagnóstico de estas enfermedades son extremadamente limitados. El implemento de técnicas específicas y moleculares para el diagnóstico de este tipo de enfermedades deberá ser una herramienta diagnóstica tanto para el médico veterinario como para el humano.

Debido a la rápida evolución de estas enfermedades la identificación de la enfermedad en sus primeras etapas es de crucial importancia, pero es también en esta etapa en la que los signos son tan inespecíficos que pueden ser confundidos con otras enfermedades, haciendo el diagnóstico de estas enfermedades un reto. Es imperativo que los médicos cirujanos reconozcan la enorme relevancia de la administración de la doxiciclina antes del 5° día de evolución de la enfermedad y como terapia de primera elección para el tratamiento, ya que, si el tratamiento se retrasa hasta el 6° día o después, el riesgo de muerte es cuatro veces mayor que los pacientes que sí reciben el tratamiento antes. Aún en niños, en quienes, por el miedo a la presencia de manchas en los dientes o hipoplasia en el esmalte los médicos limitan su utilización, esto, a pesar de múltiples estudios donde se demuestra la ausencia de estos efectos secundarios cuando la doxiciclina se usa por periodos cortos. El tratamiento antibacterial, jamás se debe posponer hasta obtener resultados definitivos del laboratorio confirmando la presencia de enfermedades rickettsiales, ni tampoco se deberá descontinuar el tratamiento solo porque la prueba fue negativa, y más aún cuando la muestra se tomó en la fase aguda de la enfermedad.

Esclarecer la epidemiología y las variantes genéticas de estos organismos, crear estrategias de control y prevención efectivas, identificar la secuencia del genoma completo (WGS), y la amplificación del genoma completo (WGA), son por el momento limitadas, debido al elevado costo para su realización, pero son estudios de vital importancia para una mejor comprensión de la evolución de estos organismos y su interacción con sus hospederos.

La educación es la base para el control de las enfermedades y sin lugar a dudas los investigadores, médicos veterinarios y humanos, propietarios de mascotas, los legisladores en salud pública, granjeros, las personas que viajan, etc., deben de estar enterados de la posibilidad de adquirir enfermedades transmitidas por garrapatas y cómo lidiar con ellas.

Bibliografías

- Aljamali MN, Bior AD, Sauer JR, Essenberg RC. RNA interference in ticks: a study using histamine binding protein dsRNA in the female tick *Amblyomma americanum*. *Insect molecular biology*. 2003 Jun;12(3):299-305.
- Almazán C, González-Álvarez VH, de Mera IG, Cabezas-Cruz A, Rodríguez-Martínez R, de la Fuente J. Molecular identification and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs in Mexico. *Ticks and tick-borne diseases*. 2016 Mar 1;7(2):276-83.
- Álvarez-Hernández G, Contreras-Soto JJ. Letalidad por fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* en pacientes de un hospital pediátrico del estado de Sonora, 2004-2012. *salud pública de México*. 2013 Apr;55(2):151-2.
- Álvarez-Hernández G, Candia-Plata MD, Martínez EB, de la Mora JD, Guzmán AS, Soto LF. Fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* en las Américas: un problema creciente de salud pública. *Revista Salud UIS*. 2015 Oct 27;47(3).
- Álvarez-Hernández G. La Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas, una epidemia olvidada. *Salud Pública de México*. 2010 Feb;52(1):01-3.
- Álvarez-Hernández G, Roldán JF, Milan NS, Lash RR, Behravesh CB, Paddock CD. Rocky Mountain spotted fever in Mexico: past, present, and future. *The Lancet Infectious Diseases*. 2017 Jun 1;17(6):e189-96.
- Anderson BE, Sims KG, Olson JG, Childs JE, Piesman JF, Happ CM, Maupin GO, Johnson BJ. *Amblyomma americanum*: a potential vector of human ehrlichiosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1993 Aug 1;49(2):239-44.
- Anderson JF, Magnarelli LA. Biology of ticks. *Infectious disease clinics of North America*. 2008 Jun 1;22(2):195-215.
- Arraga-Alvarado C, Palmar M, Parra O, Salas P. *Ehrlichia platys* (*Anaplasma platys*) in dogs from Maracaibo, Venezuela: an ultrastructural study of experimental and natural infections. *Veterinary pathology*. 2003 Mar;40(2):149-56.
- Azad AF, Beard CB. *Rickettsial* pathogens and their arthropod vectors. *Emerging infectious diseases*. 1998 Apr;4(2):179.
- Barba Evia JR. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2009;56(3):193-208.
- Battilani M, De Arcangeli S, Balboni A, Dondi F. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2017 Apr 1;49:195-211.
- Beaufils JP, Legroux JP. Présence simultanée d'*Ehrlichia* sp. et d'Hepatozoon canis dans des granulocytes de chien: A propos de 2 cas. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp*. 1992;27:81-6.
- Beier-Sexton M, Driscoll TP, Azad AF, Gillespie JJ. The Family *Rickettsiaceae*. In *Practical Handbook of Microbiology* 2015 Jun 4 (pp. 572-591). CRC Press.
- Bellah JR, Shull RM, Selcer EV. *Ehrlichia canis*-related polyarthritis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1986 Oct;189(8):922-3.

- Benavides JA, Ramírez GF. Ehrlichiosis canina. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2003;16(3):268-74.
- Beran GW, Editor in Chief. Handbook of zoonoses. 2nd Ed. Section A: Bacterial, *Rickettsial*, Chlamydial, and Mycotic. CRC Press, Inc. 1994
- Bernabeu-Wittel M, Segura-Porta F. Enfermedades producidas por *Rickettsia*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005 Mar 1;23(3):163-72.
- Biachi RA, Velázquez JZ, Sansores CJ, Martínez PG. Primer caso de ehrlichiosis en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 1999;19(3):139.
- Biggs HM, Barton Behravesh C, Bradley KK, Dahlgren FS, Drexler NA, Dumler JS, Folk SM, Kato CY, Ryan R, Levin ML, Massung RF. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever and other spotted fever group rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmosis—United States. *MMWR. Recommendations and Reports*. 2016;65.
- Blagburn BL, Dryden MW. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 2009 Nov 1;39(6):1173-200.
- Bonilla MC, Campos-Calderón L, Jiménez-Rocha AE, Romero-Zúñiga JJ, Alberti A, Zobba R, Dolz G. Characterization of *Anaplasma spp.* infection in dogs from Costa Rica. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2017 May 1;8:60-5.
- Botelho-Nevers E. Rickettsiosis y ehrlichiosis. *EMC-Dermatología*. 2014 Sep 1;48(3):1-0.
- Bouzouraa T, René-Martellet M, Chêne J, Attipa C, Lebert I, Chalvet-Monfray K, Cadoré JL, Halos L, Chabanne L. Clinical and laboratory features of canine *Anaplasma platys* infection in 32 naturally infected dogs in the Mediterranean basin. *Ticks and tick-borne diseases*. 2016 Oct 1;7(6):1256-64.
- Bowman D, Little SE, Lorentzen L, Shields J, Sullivan MP, Carlin EP. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. *Veterinary parasitology*. 2009 Mar 9;160(1-2):138-48.
- Bowman DD. *Georgis' Parasitology for Veterinarians-E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2003 Mar 12.
- Breitschwerdt, E.B. Canine and feline ehrlichiosis: new developments. 19th Annual Congress of the ESVDECVD. Tenerife, Spain. 2003; 66-71.
- Breitschwerdt, E.B. The rickettsiosis. En: *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat*. Ettinger SV, Feldman EC (Eds). W.B. Saunders. Philadelphia. 1995; 376-383.
- Breitschwerdt EB, Davidson MG, Aucoin DP, Levy MG, Szabados NS, Hegarty BC, Kuehne AL, James RL. Efficacy of chloramphenicol, enrofloxacin, and tetracycline for treatment of experimental Rocky Mountain spotted fever in dogs. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1991 Nov 1;35(11):2375-81.
- Breitschwerdt, E.B.; Hegarty, B.C., and Hancock, S.I. Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two *Ehrlichia canis* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998b; 42:362-368.

- Breitschwerdt, E.B.; Hegarty, B.C., and Hancock, S.I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. J Clin Microbiol. 1998a; 36(9):2645-2651.
- Breitschwerdt, E.B.; Woody, B.J.; Zerbe, C.A.; De Buyscher, E.V., and Barta, O. Monoclonal gammopathy associated with naturally occurring canine ehrlichiosis. J Vet Intern Med. 1987; 1(1):2-9.
- Bremer WG, Schaefer JJ, Wagner ER, Ewing SA, Rikihisa Y, Needham GR, Jittapalpong S, Moore DL, Stich RW. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. Veterinary parasitology. 2005 Jul 15;131(1-2):95-105.
- Bressler C, Himes LC, Moreau RE. Portal vein and aortic thromboses in a Siberian husky with ehrlichiosis and hypothyroidism. Journal of Small Animal Practice. 2003 Sep;44(9):408-10.
- Brouqui PH, Raoult DI. In vitro susceptibility of *Ehrlichia sennetsu* to antibiotics. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1990 Aug 1;34(8):1593-6.
- Brown GK, Martin AR, Roberts TK, Dunstan RH, 2005. Molecular detection of *Anaplasma platys* in lice collected from dogs in Australia. Aust Vet J 83: 101-2.
- Buckingham SC, Marshall GS, Schutze GE, Woods CR, Jackson MA, Patterson LE, Jacobs RF, Tick-borne Infections in Children Study Group. Clinical and laboratory features, hospital course, and outcome of Rocky Mountain spotted fever in children. The Journal of pediatrics. 2007 Feb 1;150(2):180-4.
- Buhles Jr WC, Huxsoll DL, Ristic M. Tropical canine pancytopenia: Clinical, hematologic, and serologic response of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. Journal of Infectious Diseases. 1974 Oct 1;130(4):357-67.
- Buhles, Jr.W.C.; Huxsoll, D.L., and Hildebrandt, P.K. Tropical canine pancytopenia: Role of aplastic anaemia in the pathogenesis of severe disease. J Comp Path. 1975; 85:85: 511-21, 1975.511-521.
- Buitrago Medina DA, Pachón Melo HE. Epidemiología de las rickettsiosis, una revisión narrativa. Aportes para la vigilancia epidemiológica. Medidas de presentación y factores asociados, 2008.
- Buller RS, Arens M, Hmiel SP, Paddock CD, Sumner JW, Rikihisa Y, Unver A, Gaudreault-Keener M, Manian FA, Liddell AM, Schmulewitz N. *Ehrlichia ewingii* , a newly recognized agent of human ehrlichiosis. New England Journal of Medicine. 1999 Jul 15;341(3):148-55.
- Buoro IB, Kanui TI, Atwell RB, Njenga KM, Gathumbi PK. Polymyositis associated with *Ehrlichia canis* infection in two dogs. Journal of Small Animal Practice. 1990 Dec;31(12):624-7.
- Bustamante ME, Varela G. Aislamiento de una cepa de fiebre manchada idéntica a la de las montañas rocosas en Sinaloa, México. 1944.
- Carvalho L, Armua-Fernandez MT, Sosa N, Félix ML, Venzal JM. *Anaplasma platys* in dogs from Uruguay. Ticks and tick-borne diseases. 2017 Feb 1;8(2):241-5.
- Castillo-Martínez A. Patógenos *Rickettsiales* asociados a ixódidos en áreas rurales de Coahuila y Durango, México. 2017
- Castillo-Martínez A, Cueto-Medina SM, Hernández-Rodríguez S, Gallegos-Robles MÁ, Valdés-Perezgasga MT, Sánchez-Ramos FJ, Ortega-Morales AI. Detección de *Rickettsia* sp. en la

- garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) en Matamoros, Coahuila, México. *Acta zoológica mexicana*. 2015;31(1):80-3.
- Chen LF, Sexton DJ. What's new in Rocky Mountain spotted fever?. *Infectious disease clinics of North America*. 2008 Sep 1;22(3):415-32.
- Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Nava S. Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (Rickettsiales: Anaplasma taceae) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks and tick-borne diseases*. 2015 Sep 1;6(6):724-9.
- Codner EC, Farris-Smith LL. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1986 Jul;189(1):47-50.
- Codner EC, Maslin WR. Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *American journal of veterinary research*. 1992 Mar;53(3):294-9.
- Codner EC, Roberts RE, Ainsworth AG. Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1985 Jan;186(2):166-9.
- Cohn LA. Ehrlichiosis and related infections. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2003 Jul;33(4):863-84.
- Comisión de Salud, Comisión de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. DOF-21 de julio del 2003. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-032-SSA2-2002, PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA, PREVENCION Y CONTROL DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR.
- CoNaVE, (Comité Nacional de Vigilancia Epidemiológica en México), Aviso epidemiológico Rickettsiosis: Incremento de casos de Rickettsiosis en Coahuila. CoNaVE/07/RICKETTSIOSIS. 15/noviembre/2012.
- Conlon PJ, Procop GW, Fowler V, Eloubeidi MA, Smith SR, Sexton DJ. Predictors of prognosis and risk of acute renal failure in patients with Rocky Mountain spotted fever. *The American journal of medicine*. 1996 Dec 1;101(6):621-6.
- Cortese L, Terrazzano G, Piantedosi D, Sica M, Prisco M, Ruggiero G, Ciaramella P. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally co-infected by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *The Veterinary Journal*. 2011 Apr 1;188(1):118-21.
- Costa Jr LM, Rembeck K, Ribeiro MF, Beelitz P, Pfister K, Passos LM. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *The Veterinary Journal*. 2007 Nov 1;174(3):673-6.
- Cowell, R.L., Tyler, R.D., and Clinkenberad, K.D. Ehrlichiosis and poliartthritis in three dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1988; 192(8):1093-1095.
- Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & vectors*. 2010 Dec;3(1):26.
- Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in parasitology*. 2012 Oct 1;28(10):437-46.
- Dantas-Torres F. Rocky Mountain spotted fever. *The Lancet infectious diseases*. 2007 Nov 1;7(11):724-32.

- Dantas-Torres F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary parasitology*. 2008 Apr 15;152(3-4):173-85.
- Davoust B, Keundjian A, Rous V, Maurizi L, Parzy D. Validation of chemoprevention of canine monocytic ehrlichiosis with doxycycline. *Veterinary microbiology*. 2005 May 20;107(3-4):279-83.
- Davoust B, Marie JL, Mercier S, Boni M, Vandeweghe A, Parzy D, Beugnet F. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. *Veterinary parasitology*. 2003 Feb 28;112(1-2):91-100.
- Davoust B, Parzy D, Demoncheaux JP, Tine R, Diarra M, Marié JL, Mediannikov O. Usefulness of a rapid immuno-migration test for the detection of canine monocytic ehrlichiosis in Africa. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2014 Jan 1;37(1):31-7.
- Davoust B, Parzy D, Ott D, Hasselot N. Ehrlichiose canine chronique: intérêt de la numération plaquettaire. *Rev Méd Vét*. 1991a. 1991;142:287-92.
- Davoust, B. Canine ehrlichiosis. *Point Vét*. 1993; 25(151):43-5
- Dawson JE, Ewing SA. 1992. Susceptibility of dogs to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, causative agent of human ehrlichiosis. *Am. J. Vet. Res*. 53(8):1322-1327
- Dawson JE, Stallknecht DE, Howerth EW, Warner C, Biggie K, Davidson WR, Lockhart JM, Nettles VF, Olson JG, Childs JE. Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, the etiologic agent of human ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1994 Nov 1;32(11):2725-8.
- Dawson, J.E.; Anderson, B.E.; Fishbein, D.B.; Sánchez, J.L.; Goldsmith, C.S.; Wilson, K.H., and Duntley, C.W. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol*. 1991; 29(2741-2745).
- Dawson JE, Biggie KL, Warner CK, Cookson K, Jenkins S, Levine JF, Olson JG. Polymerase chain reaction evidence of *Ehrlichia chaffeensis*, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. *American journal of veterinary research*. 1996 Aug;57(8):1175-9.
- de Castro MB, Machado RZ, de Aquino LP, Alessi AC, Costa MT. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary parasitology*. 2004 Jan 5;119(1):73-86
- de Lemos-Sampaio LE. Investigación sobre Rickettsiosis: Diagnóstico y avances. Consulta OPS/OMS de expertos sobre rickettsiosis en las Américas. Informe final. Organización Panamericana de la Salud. Washington, USA. 2004:33-4.
- del Campo LM, Magdaleno AA, Moreno PP, Rodríguez HJ. Primer reporte de infección por *Rickettsia rickettsii* en Guadalajara, México. *Med Int Mex*. 2010 Mar 1;26:183-5.
- de la Fuente J, Kocan KM, Almazán C, Blouin EF. RNA interference for the study and genetic manipulation of ticks. *Trends in parasitology*. 2007 Sep 1;23(9):427-33.
- do Carmo GM, Crivellenti LZ, Bottari NB, Machado G, Borin-Crivellenti S, Moresco RN, Duarte T, Duarte M, Tinucci-Costa M, Morsch VM, Schetinger MR. Butyrylcholinesterase as a marker of inflammation and liver injury in the acute and subclinical phases of canine ehrlichiosis. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2015 Dec 1;43:16-21.

- Dolz G, Ábrego L, Romero LE, Campos-Calderón L, Bouza-Mora L, Jiménez-Rocha AE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*. 2013 Jul;55:34-40.
- Doudier B, Olano J, Parola P, Brouqui P. Factors contributing to emergence of *Ehrlichia* and *Anaplasma* spp. as human pathogens. *Veterinary parasitology*. 2010 Feb 10;167(2-4):149-54.
- Dumler JS. Human ehrlichiosis and anaplasmosis in America. *Acta Med Costarric*. 2013;55:29-33.
- Dumler J.S; Barbet A.F.; Bekker C.P.J.; Dash G.A.; Palmer G.H.; Ray S.C.; Rikihisa Y., and Rurangirwa F.R. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasma* taceae in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma* , *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neo Rickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as a subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2001; 51:2145-2165.
- Dumler JS, Asanovich KM, Bakken JS, Richter P, Kimsey R, Madigan JE. Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and human granulocytic *Ehrlichia*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995 May 1;33(5):1098-103.
- Dumler JS, Walker DH. Tick-borne ehrlichioses. *The Lancet infectious diseases*. 2001 Apr 1;1:21-8.
- Eberts MD, Vissotto de Paiva Diniz PP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2011 Nov;47(6):e86-94.
- Eiras DF, Craviotto MB, Vezzani D, Eyal O, Baneth G. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2013 Mar 1;36(2):169-73.
- Enayati AA, Asgarian F, Amouei A, Sharif M, Mortazavi H, Boujhmehrani H, Hemingway J. Pyrethroid insecticide resistance in *Rhipicephalus bursa* (Acari, Ixodidae). *Pesticide biochemistry and physiology*. 2010 Jul 1;97(3):243-8.
- Engvall EO, Pettersson B, Persson M, Artursson K, Johansson KE. A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. *Journal of Clinical Microbiology*. 1996 Sep 1;34(9):2170-4.
- Eremeeva ME, Zambrano ML, Anaya L, Beati L, Karpathy SE, Santos-Silva MM, Salceda B, Macbeth D, Olguin H, Dasch GA, Aranda CA. *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus* ticks, Mexicali, Mexico. *Journal of medical entomology*. 2011 Mar 1;48(2):418-21.
- ESCAAP Consejo Europeo Para el Control de las Parasitosis de los Animales de Compañía. No. 3 Segunda edición. Abril 2018.
- Escárcega-Ávila AM, de la Mora-Covarrubias A, Quezada-Casasola A, Jiménez-Vega F. Occupational risk for personnel working in veterinary clinics through exposure to vectors of rickettsial pathogens. *Ticks and tick-borne diseases*. 2019 Feb 1;10(2):299-304.

- Escribano D, Cihan H, Martínez-Subiela S, Levent P, Kocaturk M, Aytug N, Cerón JJ, Tvarijonaviciute A, Yilmaz Z. Changes in serum proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. *Microbial pathogenesis*. 2017 Dec 1;113:34-9.
- Ewing, S.A. Canine ehrlichiosis. *Adv Vet Sci Comp Med*. 1969; 13:331-353.
- Field-Cortazares J, Moreno JL. Rickettsiosis in Baja California. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora*. 2011;28(2):44-50.
- Fourie JJ, Stanneck D, Luus HG, Beugnet F, Wijnveld M, Jongejan F. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. *Veterinary parasitology*. 2013 Nov 8;197(3-4):595-603.
- Franc M, Cadiergues MC. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. *Veterinary parasitology*. 1999 Mar 15;81(4):341-6.
- Frank, J.R. and Breitschwerdt, E.B. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. *J Vet Int Med*. 1999; 13(3):194-201.
- French TW, Harvey JW. Serologic diagnosis of infectious cyclic thrombocytopenia in dogs using an indirect fluorescent antibody test. *American journal of veterinary research*. 1983 Dec;44(12):2407-11.
- Fritz CL, Glaser CA. Ehrlichiosis. *Infectious disease clinics of North America*. 1998 Mar 1;12(1):123-36.
- García-Pérez AL, Barandika J, Oporto B, Povedano I, Juste RA. *Anaplasma phagocytophila* as an abortifacient agent in sheep farms from northern Spain. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003 Jun;990(1):429-32.
- Garris, G.I. Control of ticks. *Vet Clin North Am*. 1991; 21:173-183.
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn T. Class II. Betaproteobacteria class. nov. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology 2005* (pp. 575-922). Springer, Boston, MA.
- Gaunt SD, Beall MJ, Stillman BA, Lorentzen L, Diniz PP, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites & vectors*. 2010 Dec;3(1):33.
- Gaunt SD, Corstvet RE, Berry CM, Brennan B. Isolation of *Ehrlichia canis* from dogs following subcutaneous inoculation. *Journal of clinical microbiology*. 1996 Jun 1;34(6):1429-32.
- Gelatt KN. Canine anterior uvea. *Veterinary Ophthalmology*. Gelatt KN (ed). Lea and Febiger. Philadelphia. 1991:374-5.
- Ghorbel A, Clerc B, Cadoré JL, Djaeiim A, Sayn MJ. Ehrlichiosis asymptotique: etude de l'electrophorese des protéines seriques. *Recueil De Médecine Vétérinaire*. 1993b.;169:561-6.
- Glaser C, Christie L. *Rickettsial and Ehrlichial infections*. In *Handbook of clinical neurology 2010 Jan 1* (Vol. 96, pp. 143-158). Elsevier.
- González Ramírez CA. Fiebre Manchada de las rocallosas un posible riesgo para Nayarit. 2008.
- Goodman J.L., Dennis D.T., and Sonenshine D.E. 2005. *Tick-Borne Diseases of Humans*. ASM press.

- Granick JL, Armstrong PJ, Bender JB. *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000–2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2009 Jun 15;234(12):1559-65.
- Greene CE. *Infectious Diseases of the Dog and Cat-E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2013 Sep 27.
- Greene, C.E. and Harvey, J.W. Canine ehrlichiosis. En: *Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat*. C.E. Greene (Ed). W.B. Saunders. Philadelphia. 1984; 704-709.
- Greene, C.E.; Burgdorfer, W.; Cavagnolo, R.; Philip, R.N., and Peacock, M.G. Rocky Mountain spotted fever in dogs and its differentiation from canine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc*. 1985; 186(5):465-472.
- Grindem CB, Breitschwerdt EB, Perkins PC, Cullins LD, Thomas TJ, Hegarty BC. Platelet-associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 1999 Jan 1;35(1):56-61.
- Groß D, Schäfer G. 100th Anniversary of the death of Ricketts: Howard Taylor Ricketts (1871–1910). The namesake of the *Rickettsiaceae* family. *Microbes and infection*. 2011 Jan 1;13(1):10-3.
- Groves MG, Dennis GL, Amyx HL, Huxsoll DL. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *American Journal of Veterinary Research*. 1975 Jul;36(7):937-40.
- Gutiérrez CN, Pérez-Ybarra L, Agrela IF. Ehrlichiosis canina, Canine ehrlichiosis. *SABER*. 2017 Jan 30;28(4):641-65.
- Han HS, Chen C, Schievano C, Noli C. The comparative efficacy of afoxolaner, spinosad, milbemycin, spinosad plus milbemycin, and nitenpyram for the treatment of canine cutaneous myiasis. *Veterinary dermatology*. 2018 Aug;29(4):312-e109.
- Harrus S, Alleman AR, Bark H, Mahan SM, Waner T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Microbiology*. 2002 May 24;86(4):361-8.
- Harrus S, Day MJ, Waner T, Bark H. Presence of immune-complexes, and absence of antinuclear antibodies, in sera of dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis*. *Veterinary microbiology*. 2001 Dec 4;83(4):343-9.
- Harrus S, Waner T, Aizenberg I, Bark H. Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course. *Journal of clinical microbiology*. 1998 Jul 1;36(7):2140-2.
- Harrus S, Waner T, Bark H, Jongejan F, Cornelissen AW. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999 Sep 1;37(9):2745-9.
- Harrus S, Waner T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. *The Veterinary Journal*. 2011 Mar 1;187(3):292-6.
- Hernández AM, Lorente C. Síndrome cervico-torácico asociado a infección por *Ehrlichia canis*. *Clínica veterinaria de pequeños animales*. 2003;23(4):0218.
- Hernández GÁ. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora*. 2010;27(2):90-1.

- Hernández HJ, Tesis. Investigación hemero – bibliográfica del género *Rickettsia* (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Rickettsia prowazekii*) y su importancia en México. 2012.
- Hess PR, English RV, Hegarty BC, Brown GD, Breitschwerdt EB. Experimental *Ehrlichia canis* infection in the dog does not cause immunosuppression. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2006 Jan 15;109(1-2):117-25.
- Hibler SC, Hoskins JD, Greene CE. *Rickettsial* infections in dogs. II. Ehrlichiosis and infectious cyclic thrombocytopenia. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*. 1986.
- Hidalgo M, Faccini-Martínez AA, Valbuena G. Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomédica*. 2013;33(1).
- Hildebrandt PK, Huxsoll DL, Walker JS, Nims RM, Taylor R, Andrews M. Pathology of canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia). *American journal of veterinary research*. 1973 Oct;34(10):1309.
- Hoskins JD, Barta O, Rothschnitt J. Serum hyperviscosity syndrome associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1983 Nov;183(9):1011-2.
- Hoyos S, Li E, Alvarado S, Suárez A, Díaz C. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2007 Jul;18(2):129-35.
- Hoyos Sifuentes LA. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis canina, 2005.
- Huerta JD, Barragán RC. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas en pediatría Revisión clínica de una serie de 115 casos. *Revista de enfermedades infecciosas en pediatría*. 2008;21(85):4-9.
- Hun L. Rickettsiosis in Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*. 2013 Jul;55:25-8.
- Huxsoll DL. Canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia): a review. *Veterinary parasitology*. 1976 Sep 1;2(1):49-60.
- Huxsoll, D.L.; Hildebrandt, P.K.; Nims, R.M., and Walker, J.S. Tropical canine pancytopenia. *J Am Vet Med Ass*. 1970; 157:1627-1632
- Inokuma H, Beppu T, Okuda M, Shimada Y, Sakata Y. Epidemiological survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* using ticks collected from dogs in Japan. *Veterinary Parasitology*. 2003 Aug 14;115(4):343-8.
- Iqbal Z, Rikihisa Y. Reisolation of *Ehrlichia canis* from blood and tissues of dogs after doxycycline treatment. *Journal of Clinical Microbiology*. 1994 Jul 1;32(7):1644-9.
- Irwin PJ, Jefferies R. Arthropod-transmitted diseases of companion animals in Southeast Asia. *TRENDS in Parasitology*. 2004 Jan 1;20(1):27-34.
- Ismail N, Bloch KC, McBride JW. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clinics in laboratory medicine*. 2010 Mar 1;30(1):261-92.

- Ismail N, McBride JW. Tick-borne emerging infections: ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clinics in laboratory medicine*. 2017 Jun 1;37(2):317-40.
- Izzard L. *Rickettsiales and Rickettsial diseases in Australia* (Doctoral dissertation, Murdoch University), 2010.
- Johansson KE, Pettersson B, Uhlen M, Gunnarsson A, Malmqvist M, Olsson E. Identification of the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses by direct solid phase sequencing of PCR products from the 16S rRNA gene. *Research in veterinary science*. 1995 Mar 1;58(2):109-12.
- Kato CY, Chung IH, Robinson LK, Austin AL, Dasch GA, Massung RF. Assessment of real-time PCR assay for detection of *Rickettsia* spp. and *Rickettsia rickettsii* in banked clinical samples. *Journal of clinical microbiology*. 2013 Jan 1;51(1):314-7.
- Keefe, T.; Holland, C.; Salyer, P.E., and Ristic, M. Distribution of *Ehrlichia canis* among military working dogs in the world and selected civilian dogs in the United States. *JAVMA*. 1982; 181:236-238.
- Kidd L, Breitschwerdt EB. Rocky Mountain Spotted Fever. *Canine and Feline Infectious Diseases-E-BOOK*. 2013 Jun 6:300.
- Koutinas CK, Mylonakis ME, O'Brien PJ, Leontides L, Siarkou VI, Breitschwerdt EB, Koutinas AF. Serum cardiac troponin I concentrations in naturally occurring myelosuppressive and non-myelosuppressive canine monocytic ehrlichiosis. *The Veterinary Journal*. 2012 Nov 1;194(2):259-61.
- Kuehn, N.F. and Gaunt, S.D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc*. 1985; 186(4):355-358.
- Kuriakose JA, Zhang X, Luo T, McBride JW. Molecular basis of antibody mediated immunity against *Ehrlichia chaffeensis* involves species-specific linear epitopes in tandem repeat proteins. *Microbes and infection*. 2012 Oct 1;14(12):1054-63.
- Lara VR, Arancibia DM, Saenz M, Bonilla JL. Hallazgo de Ehrlichiosis canina causada por *E. canis* en una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. 2010;1695:7504.
- Leiby DA, Gill JE. Transfusion-transmitted tick-borne infections: a cornucopia of threats. *Transfusion medicine reviews*. 2004 Oct 1;18(4):293-306.
- Li H, Walker DH. rOmpA is a critical protein for the adhesion of *Rickettsia rickettsii* to host cells. *Microbial pathogenesis*. 1998 May 1;24(5):289-98.
- Lin L, Decker CF. Rocky mountain spotted fever. *Disease-a-Month*. 2012;6(58):361-9.
- Little SE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 2010 Nov 1;40(6):1121-40.
- Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL. *Microbiología y parasitología médicas*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas. 2001:31-8.

- Long SW, Zhang X, Zhang J, Ruble RP, Teel P, Yu XJ. Evaluation of transovarial transmission and transmissibility of *Ehrlichia chaffeensis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*. 2003 Nov 1;40(6):1000-4.
- Lorente Méndez C. *Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la " Ehrlichiosis Canina" evolución tras la administración de " Dipropionato de Imidocarb"* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones) 2005.
- Lugo-Caballero C, Dzul-Rosado K, Rodríguez-Moreno G, Tello-Martín R, López-Ávila K, Zavala-Castro J. Caso fulminante de rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) en una lactante del sureste de México. *Archivos argentinos de pediatría*. 2017 Feb;115(1):e5-8.
- Maeda, K.; Markowitz, N.; Hawley, R.C.; Ristic, M; Cox, D., and McDade, J.E. Human infection with *Ehrlichia canis* a leukocytic *Rickettsia*. *N Engl J Med*. 1987; 853-856.
- Magnarelli, L.A. and Anderson, J.F. Serologic evidence of canine and equine ehrlichiosis in north-eastern United States. *J Clin Microbiol*. 1993 . 1993; 31(11):2857-2860.
- Manzano-Román R, Oleaga A, Pérez-Sánchez R, Siles-Lucas M. Gene silencing in parasites: current status and future prospects. In *Advances in parasitology 2012 Jan 1* (Vol. 78, pp. 1-55). Academic Press.
- Maretzki CH, Fisher DJ, Greene CE. Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1994 Dec;205(11):1554-6.
- Martínez I.F, Peláez F.A y Perez, de la R.J.D. *Rhipicephalus sanguineus* susceptibilidad y mortalidad a los ixodídeos en dos estados de México. ¹Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. CENAPA-SENASICA-SAGARPA. 2017.
- Martínez-Medina MÁ, Álvarez-Hernández G, Padilla-Zamudio JG, Rojas-Guerra MG. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas en niños: consideraciones clínicas y epidemiológicas. *Gaceta médica de México*. 2007;143(2):137-40.
- Matei IA, Stuen S, Modrý D, Degan A, D'Amico G, Mihalca AD. Neonatal *Anaplasma platys* infection in puppies: Further evidence for possible vertical transmission. *The Veterinary Journal*. 2017 Jan 1;219:40-1.
- Matus RE, Leifer CE, Hurvitz AI. Use of plasmapheresis and chemotherapy for treatment of monoclonal gammopathy associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1987 May;190(10):1302-4.
- McBride JW, Corstvet RE, Gaunt SD, Boudreaux C, Guedry T, Walker DH. Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* immunoreactive proteins. *Infection and immunity*. 2003 May 1;71(5):2516-24.
- McBride JW. *Ehrlichia*: Advances in vaccines, diagnostics and pathobiology. *Acta Médica Costarricense*. 2013 Jul;55:41-4.
- McClure JC, Crothers ML, Schaefer JJ, Stanley PD, Needham GR, Ewing SA, Stich RW. Efficacy of a doxycycline treatment regimen initiated during three different phases of experimental ehrlichiosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010 Dec 1;54(12):5012-20.
- McDade JE, Newhouse VF. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. *Annual Reviews in microbiology*. 1986 Oct;40(1):287-309.

- Meinkoth, J.H.; Ewing, S.A.; Cowell, R.L.; Dawson, J.E.; Warner, C.K; Mathew, J.S; Bowles, M; Thiessen, A.E; Panciera, R.J., and Fox, C. Morphologic and molecular evidence of a dual species *Ehrlichia* infection in a dog presenting with inflammatory central nervous system disease. *J Vet Intern Med.* 1998;12(5):389-393.
- Meneses GF., Peregrino RG., Olmos RP. Secretaría de Salud. Rickettsiosis una enfermedad presente pero olvidada. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Número 46 Volumen 27 Semana 46 Del 14 al 20 de Noviembre de 2010.
- Mercado-Uribe MC. Rickettsiosis. Historia y actualidades. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología.* 2010;30(1):25-31.
- Mil Baruch M. Frecuencia y alteraciones hematológicas identificadas en animales afectados con ehrlichiosis y babesiosis canina (Doctoral dissertation) 2005.
- Mittal M, Kundu K, Chakravarti S, Mohapatra JK, Nehra K, Sinha VK, Sanjeeth BS, Churamani CP, Kumar A. Canine Monocytic Ehrlichiosis among working dogs of organised kennels in India: A comprehensive analyses of clinico-pathology, serological and molecular epidemiological approach. *Preventive veterinary medicine.* 2017 Nov 1;147:26-33.
- Moreira-Galvão MA, de Freitas-Padilha A. *Rickettsial* diseases: ¿ a public health problem in Latin America?. *Acta Médica Costarricense.* 2013 Jul;55:07-10.
- Movilla R, García C, Siebert S, Roura X. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma spp.*, *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasites & vectors.* 2016 Dec;9(1):421.
- Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC, Fox JC, Kocan AA. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Veterinary parasitology.* 1998 Nov 27;79(4):325-39.
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology.* 9th Ed. Vol.1 Copyright ASM Press Washington DC. 2009
- Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Billinis CD, Leontides LS, Kontos VS. Chronic canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 19 natural cases. *Journal of the American Animal Hospital Association.* 2004 May;40(3):174-84.
- Mylonakis ME, Xenoulis PG, Theodorou K, Siarkou VI, Steiner JM, Harrus S, Leontides L, Rallis T, Suchodolski JS, Koutinas CK, Koutinas AF. Serum canine pancreatic lipase immunoreactivity in experimentally induced and naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Veterinary microbiology.* 2014 Mar 14;169(3-4):198-202.
- Nair ADS, Cheng C, Ganta CK, Sanderson MW, Alleman AR, Munderloh UG, Ganta RR. 2016. Comparative experimental infection study in dogs with *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *Anaplasma platys* and *A. phagocytophilum*. *PLoS One.* 11(2):e0148239.
- Neer, T.M. Ehrlichiosis: canine monocytic and granulocytic ehrlichiosis. Greene, G.E., editor. *Infectious diseases of the dog and the cat.* 2 ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1998; pp. 139-149.

- Neer, T.M.; Breitschwerdt, E.B., and Green, R.T. Consensus statement on *Ehrlichial* disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. J Vet Intern Med. 2002; 16(3):309315.
- Nicholson WL, Allen KE, McQuiston JH, Breitschwerdt EB, Little SE. The increasing recognition of *Rickettsial* pathogens in dogs and people. Trends in parasitology. 2010 Apr 1;26(4):205-
- Nyindo M, Huxsoll DL, Ristic M, Kakoma I, Brown JL, Carson CA, Stephenson EH. Cell-mediated and humoral immune responses of German shepherd dogs and beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. American journal of veterinary research. 1980 Feb;41(2):250-4.
- Ojeda-Chi MM, Rodríguez-Vivas RI, Galindo-Velasco E, Lezama-Gutiérrez R, Cruz-Vázquez C. Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari: *Ixodidae*) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: *Clavicipitaceae*): Revisión. Revista mexicana de ciencias pecuarias. 2011 Jun;2(2):177-92.12.
- Opfer LH. Las fiebres manchadas y su importancia en Costa Rica. Acta Médica Costarricense ISSN 0001-6012. 2009 May 25;50(2).
- Paddock CD, Folk SM, Shore GM, Machado LJ, Huycke MM, Slater LN, Liddell AM, Buller RS, Storch GA, Monson TP, Rimland D. Infections with *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in persons coinfecting with human immunodeficiency virus. Clinical infectious diseases. 2001 Nov 1;33(9):1586-94.
- Paddock CD. Perspectives on the laboratory diagnosis of *Rickettsial* diseases in the 21st century. Acta Médica Costarricense. 2013 Jul;55:13-24.
- Palacios M, Arteaga R, Calvo G. High-Dose Filgrastim Treatment of Nonregenerative Pancytopenia Associated With Chronic Canine Ehrlichiosis. Topics in companion animal medicine. 2017 Mar 1;32(1):28-30.
- Pancieria RJ, Ewing SA, Confer AW. Ocular histopathology of ehrlichial infections in the dog. Veterinary pathology. 2001 Jan;38(1):43-6.
- Parola P, Beati L, Cambon M, Brouqui P, Raoult D. *Ehrlichial* DNA amplified from *Ixodes ricinus* (acari: *Ixodidae*) in france. Journal of medical entomology. 1998 Mar 1;35(2):180-3.
- Parola P, Davoust B, Raoult D. Tick-and flea-borne *Rickettsial* emerging zoonoses. Veterinary research. 2005 May 1;36(3):469-92.
- Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. Clinical infectious diseases. 2001 Mar 15;32(6):897-928.
- Pendse S, Bilyk JR, Lee MS. The ticking time bomb. Survey of ophthalmology. 2006 May 1;51(3):274-9.
- Penroz H. *Evaluación de fipronil (Frenil®) contra Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) en perros infestados en forma experimental* (Doctoral dissertation, Tesis de Médico Veterinario. Chillán, Chile: Universidad de Concepción. 48 p.(Links)) 2009.
- Perez-Perez D, Bechara GH, Machado RZ, Andrade GM, Del Vecchio RE, Pedroso MS, Hernández MV, Farnós O. Efficacy of the Bm86 antigen against immature instars and adults of the dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae). Veterinary parasitology. 2010 Feb 10;167(2-4):321-6.

- Perille AL, Matus RE. Canine ehrlichiosis in six dogs with persistently increased antibody titers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1991 May;5(3):195-8.
- Price JE, Sayer PD, Dolan TT. Improved clinical approach to the diagnosis of canine ehrlichiosis. *Tropical animal health and production*. 1987 Mar 1;19(1):1-8.
- Price WH. The epidemiology of Rocky Mountain spotted fever. II. Studies on the biological survival mechanism of *Rickettsia rickettsii*. *American journal of hygiene*. 1954;60(3):292-319.
- Ramírez HJ, Rodríguez M. Rickettsiosis. Presentación de dos casos, en medio de un brote en Mexicali, Baja California. *Medicina Interna de México*. 2010;26(2):180-2.
- Ramírez LC, Corrales JC, Carlos J, Florez R. Revisión: Situación actual de la ehrlichiosis en perros y zorros de América. 2016.
- Raoult D, Fournier PE, Ereemeeva M, Graves S, Kelly PJ, Oteo JA, Sekeyova Z, Tamura A, Tarasevich I, Zhang L. Naming of *Rickettsiae* and *Rickettsial* diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005 Dec 1;1063(1):1-2.
- Raoult D, Parola P. Rocky Mountain spotted fever in the USA: a benign disease or a common diagnostic error?. *The Lancet infectious diseases*. 2008 Oct 1;8(10):587-9.
- Raoult D, Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997 Oct 1;10(4):694-719.
- Rar V, Golovljova I. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and “*Candidatus NeoEhrlichia*” bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infection, Genetics and Evolution*. 2011 Dec 1;11(8):1842-61.
- Richards AL. Worldwide detection and identification of new and old *Rickettsiae* and *Rickettsial* diseases. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2012 Jan 10;64(1):107-10.
- Rikihisa Y. Clinical and biological aspects of infection caused by *Ehrlichia chaffeensis*. *Microbes and infection*. 1999 Apr 1;1(5):367-76.
- Rikihisa Y. Molecular events involved in cellular invasion by *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Parasitology*. 2010 Feb 10;167(2-4):155-66.
- Ristic, M.; Huxsoll, D.L.; Weedier, R.M.; Hildebrandt, P.K., and Nyindo, M.B. Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. *Infect Immun*. 1972; 6(3):226-231.
- Rivera NG, Hernández GÁ, Zárate MG, Chon IF, Rangel MA, García LV, Pizaña EV, Moya GD. Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas en niños. Informe de 18 casos. *Revista Mexicana de Pediatría*. 2009;76(6):245-50.
- Romero-Blancas-V.H.*, Padilla-Arellanes-S., Alvarado-Enríquez-N.L.A. Cambios hematológicos en pacientes positivos a ehrlichiosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas, Michoacán. XXII Encuentro de investigación veterinaria y producción animal, 2011.
- Rodríguez-Vivas RI, Albornoz RE, Bolio GM. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology*. 2005 Jan 4;127(1):75-9.
- Rosenberg R, Lindsey NP, Fischer M, Gregory CJ, Hinckley AF, Mead PS, Paz-Bailey G, Waterman SH, Drexler NA, Kersh GJ, Hooks H. Vital Signs: Trends in Reported Vectorborne Disease Cases—

- United States and Territories, 2004–2016. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2018 May 4;67(17):496.
- Rot A, Gindin G, Ment D, Mishoutchenko A, Glazer I, Samish M. On-host control of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* Latreille (Acari: Ixodidae) by *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Veterinary Parasitology. 2013 Mar 31;193(1-3):229-37.
- Rudoler N, Baneth G, Eyal O, van Straten M, Harrus S. Evaluation of an attenuated strain of *Ehrlichia canis* as a vaccine for canine monocytic ehrlichiosis. Vaccine. 2012 Dec 17;31(1):226-33.
- Ryan KJ, Ray CG. Medical microbiology. McGraw Hill. 2004;4:370.
- Sagarna XG. *Los carnívoros silvestres como reservorios de enfermedades de interés en sanidad animal y salud pública* (Doctoral dissertation, Universidad de Castilla-La Mancha). 2010.
- Sahni SK, Narra HP, Sahni A, Walker DH. Recent molecular insights into *Rickettsial* pathogenesis and immunity. Future microbiology. 2013 Oct;8(10):1265-88.
- Sainz A, Tesouro MA, Amusatogui I, Rodriguez F, Mazzucchelli F, Rodriguez M. Prospective comparative study of 3 treatment protocols using doxycycline or imidocarb dipropionate in dogs with naturally occurring ehrlichiosis. Journal of veterinary internal medicine. 2000 Mar;14(2):134-9.
- Sainz, A.; Delgado, S.; Amusatogui, I.; Tesouro, M.A., and Cármenes, P. Seroprevalence of canine ehrlichiosis in Castilla-León (NW Spain). Preventive Veterinary Medicine. 1996; 29:1-7.
- Saito TB, Cunha-Filho NA, Pacheco RC, Ferreira F, Pappen FG, Farias NA, Larsson CE, Labruna MB. Canine infection by *Rickettsiae* and *Ehrlichiae* in southern Brazil. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2008 Jul 1;79(1):102-8.
- Schwarz A, Valdés JJ, Kotsyfakis M. The role of cystatins in tick physiology and blood feeding. Ticks and tick-borne diseases. 2012 Jun 1;3(3):117-27.
- SSA Secretaría de Salud. Gobierno de México. Gob.mx.blog sistema infomex. *Rickettsia* una enfermedad poco conocida. 14 abril 2016.
- SSA Secretaría de Salud. Programa de acción específico prevención y control de la rickettsiosis. Programa Sectorial de Salud 2013 – 2018. 1ra Ed. 2014 México.
- Shaw, D.H. and Rubin, S.I. Pharmacologic activity of doxycycline. J Am Vet Med Assoc. 1986; 189(7):808810.
- Shipov A, Klement E, Reuveni-Tager L, Waner T, Harrus S. Prognostic indicators for canine monocytic ehrlichiosis. Veterinary Parasitology. 2008 May 6;153(1-2):131-8.
- Silva AB, Pina-Canseco S, Gabriel-De la Torre MP, Mayoral-Silva A, Mayoral MA, Pérez-Campos-Mayoral L, López-Martínez J, Pérez-Campos E. Infección humana asintomática por contacto con perros. Un caso de ehrlichiosis humana. Gaceta Médica de México. 2014;150(2):171-4.
- Smith RD, Sells DM, Stephenson EH, Ristic MR, Huxsoll DL. Development of *Ehrlichia canis*, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a

- symbiotic *Rickettsia*. American Journal of Veterinary Research. 1976 Feb;37(2):119-26.
- Sonenshine, D. E. 1993. Biology of Ticks. Oxford University Press, New York.
- Sosa-Gutiérrez CG, Quintero Martínez MT, Gaxiola Camacho SM, Cota Guajardo S, Esteve-Gassent MD, Gordillo-Pérez MG. Frequency and clinical epidemiology of canine monocytic ehrlichiosis in dogs infested with ticks from Sinaloa, Mexico. Journal of veterinary medicine. 2013; 2013.
- Sosa - Gutiérrez Carolina 1 , Quintero - Martínez María T 2 , Torres Javier 1 y Gordillo-Pérez Guadalupe 1
Primera evidencia de una zona endémica de ehrlichiosis monocítica en México. UMAE Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional SXXI, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. 2013
- Sosa-Gutiérrez CG, Vargas M, Torres J, Gordillo-Pérez MG. Tick-borne rickettsial pathogens in rodents from Mexico. J Biomed Sci Eng. 2014 Aug 25;7(11):884-9.
- St Clair K, Decker CF. Ehrlichioses: anaplasmosis and human ehrlichiosis. Disease-a-month: DM. 2012 Jun; 58(6):346.
- Stiles J. Canine Rickettsial infections. Veterinary Clinics: Small Animal Practice. 2000 Sep 1;30 (5):1135-49.
- Stoffel RT, McClure JC, Butcher MM, Johnson GC, Roland W, Cheng C, Sirigireddy KR, Ganta R, Boughan K, Ewing SA, Stich RW. Experimental infection of *Rhipicephalus sanguineus* with *Ehrlichia chaffeensis*. Veterinary Microbiology. 2014 Aug 6;172(1-2):334-8.
- Suárez R, Hidalgo M, Niño N, González C, Vesga JF, Orejuela L, Sánchez R. Las *Rickettsias* como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia. Universidad de los Andes; 2008 Jul.
- Sumner, J.W.; Nicholson, W.L., and Massung, R.F. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the groESL heat shock operon of *Ehrlichia* species. J Clin Microbiol. 1997; 35:2087-2092
- Sunyakumthorn P. The tick response to *Rickettsial* dissemination during typical and atypical *Rickettsial* infection. 2011.
- Sykes JE. Canine and Feline Infectious Diseases-E-BOOK. Elsevier Health Sciences; 2013 Jun 6.
- Szabó MP, Bechara GH. Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. Experimental & applied acarology. 1999 Nov 1; 23(11):915-28.
- Taira M, Ando S, Kawabata H, Fujita H, Kadosaka T, Sato H, Monma N, Ohashi N, Saijo M. Isolation and molecular detection of *Ehrlichia* species from ticks in western, central, and eastern Japan. Ticks and Tick-borne Diseases. 2018 Nov 13.
- Theodorou K, Leontides L, Siarkou VI, Petanides T, Tsafas K, Harrus S, Mylonakis ME. Synovial fluid cytology in experimental acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). Veterinary Microbiology. 2015 May 15;177(1-2):224-7.
- Troese MJ, Carlyon JA. Anaplasma phagocytophilum dense-cored organisms mediate cellular adherence through recognition of human P-selectin glycoprotein ligand 1. Infection and immunity. 2009 Sep 1;77(9):4018-27.

- Troy, G.C. and Forrester, S.D. *Ehrlichia canis*, *E. equi*, and *E. risticii* infections. En: Infectious Diseases of the Dog and Cat. C.E. Greene (Ed.). W.B. Saunders. Philadelphia. 1990; 404-414.
- Troy, G.C.; Vulganot, J.C., and Turnwalt, G.H. Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. J Am Anim Hosp Assoc. 1980; 16:181-187.
- Valbuena G. Patogénesis de las infecciones producidas por Rickettsias en las Américas. Revista MVZ Córdoba. 2010;15(1).
- Valbuena G. Rickettsioses: pathogenesis, immunity, and vaccine development. Acta Médica Costarricense. 2013 Jul;55:48-59.
- Van Heerden J, Immelman A. The use of doxycycline in the treatment of canine ehrlichiosis. Journal of the South African Veterinary Association. 1979 Dec;50(4):241-4.
- Vargas-Sandoval M, Priego-Santander AG, Larrazábal A, Sosa-Gutiérrez CG, Lara-Chávez B, Avila-Val T. Potential species distribution and richness of Ixodidae ticks associated with wild vertebrates from Michoacán, Mexico. Journal of geographic information system. 2014 Oct 6;6(05):467.
- Vlahakis PA, Chitanga S, Simuunza MC, Simulundu E, Qiu Y, Changula K, Chambaro HM, Kajihara M, Nakao R, Takada A, Mweene AS. Molecular detection and characterization of zoonotic *Anaplasma* species in domestic dogs in Lusaka, Zambia. Ticks and tick-borne diseases. 2018 Jan 1;9(1):39-43.
- Waddle, J.R. and Littman, M.P. A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 1988; 24:615-620.
- Walker DH, In: Baron S ed. *Rickettsiae* Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 38
- Walker DH. *Rickettsial* diseases in travelers. Travel medicine and infectious disease. 2003 Feb 1;1(1):35-40.
- Walker DH. The challenges of *Rickettsial* diagnosis, research, and awareness in Latin America. Acta Médica Costarricense. 2013 Jul;55:04-6.
- Waner T, Harrus S, Jongejan F, Bark H, Keysary A, Cornelissen AW. Significance of serological testing for *Ehrlichial* diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. Veterinary parasitology. 2001 Feb 5;95(1):1-5.
- Waner T, Harrus S. Canine monocytic ehrlichiosis-from pathology to clinical manifestations. Isr J Vet Med. 2013 Mar 1;68(1):12-8.
- Waner, T.; Strenger, C., and Keysary, A. Comparison of a clinic-based ELISA test kit with the immunofluorescence test for the assay of *Ehrlichia canis* antibodies in dogs. J Vet Diagn Invest. 2000; 12(3):240-244.
- Weisiger, R.M.; Ristic, M., and Huxsoll, D.L. Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* assayed by indirect fluorescent antibody method. Am J Vet Res. 1975; 36(5):689-694.
- Weiss EM. Growth and physiology of *Rickettsiae*. Bacteriological reviews. 1973 Sep;37(3):259.
- Wolf L, McPherson T, Harrison B, Engber B, Anderson A, Whitt P. Prevalence of *Ehrlichia ewingii* in *Amblyomma americanum* in North Carolina. Journal of clinical microbiology. 2000 Jul 1;38(7):2795-

- Woods CR. Rocky Mountain spotted fever in children. *Pediatric Clinics*. 2013 Apr 1;60(2):455-70.
- Woody, B.J and Hoskins, J.D . *Ehrlichial* diseases of dogs. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract*. 1991; 21(1):75-98.
- Yabsley MJ. Natural history of *Ehrlichia chaffeensis*: vertebrate hosts and tick vectors from the United States and evidence for endemic transmission in other countries. *Veterinary parasitology*. 2010 Feb 10;167(2-4):136-48
- Yu XJ, McBride JW, Walker DH. Restriction and expansion of *Ehrlichia* strain diversity. *Veterinary parasitology*. 2007 Feb 28;143(3-4):337-46.
- Yu XJ, Walker DH. The order *Rickettsiales*. In *The prokaryotes 2006* (pp. 493-528). Springer, New York, NY.
- Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Arcila EE, Laviada-Molina H, Olano JP, Ruiz-Sosa JA, Small MA, Dzul-Rosado KR. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico. *Emerging infectious diseases*. 2006 Apr;12(4):672.
- Zhang Y, Ohashi N, Lee EH, Tamura A, Rikihisa Y. *Ehrlichia sennetsu* groE operon and antigenic properties of the GroEL homolog. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 1997 May 1;18(1):39-46.