

**Métodos diagnósticos clínicos para detectar la presencia de *Ehrlichia canis* en
pequeños animales: Revisión sistemática de literatura.**

Mariana López Ramírez

Pregrado de Bacteriología

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE MANIZALES

FACULTAD DE CIENCIAS PARA LA SALUD

MANIZALES

2021

**Métodos diagnósticos clínicos para detectar la presencia de *Ehrlichia canis* en
pequeños animales: Revisión sistemática de literatura.**

Mariana López Ramírez

Presentación de Monografía para Optar al Título de Bacterióloga

Tutor:

Mg. Nidia Marcela Zuluaga Londoño

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE MANIZALES

FACULTAD DE CIENCIAS PARA LA SALUD

PREGRADO DE BACTERIOLOGÍA

MANIZALES

2021

Nota de aceptación

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
INTRODUCCIÓN	12
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
2. JUSTIFICACIÓN	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	19
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	20
4. MARCO CONCEPTUAL	21
4.1 EHRlichia CANINA.....	21
4.1.1 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	22
4.1.2 AGENTES ETIOLÓGICOS	23
4.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	24
4.2.1 Fase aguda	24
4.2.2 Fase subclínica.....	25
4.2.3 Fase crónica.....	25
CAPÍTULO I	29
5. VECTORES	29
5.1 Transmisión	31
CAPÍTULO II	33
6. DIAGNÓSTICO	33
6.1 Hemograma.....	33
6.2 Bioquímica sanguínea	34
6.3 Frotis sanguíneo	35
6.4 Microscopia directa.....	36
6.5 Inmunofluorescencia indirecta.....	37
6.6 Reacción de cadena de polimerasa (PCR)	38
6.7 ELISA	39
CAPÍTULO III.....	43
7. NUEVAS INVESTIGACIONES: AVANCES.....	43
7.1 Diagnóstico histopatológico.....	43
7.1 Ampliación isotérmica mediada por bucle.....	43
7.2 Epidemiología molecular.....	43
8. DIAGNÓSTICO MOLECULAR	44
CAPÍTULO IV.....	46
9. TRATAMIENTO.....	46

9.1 Control del vector	46
9.2 Control del agente	46
9.3 Tratamiento de apoyo	47
CAPÍTULO V	48
10. EHRlichiosis como zoonosis	48
11. REDISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL VECTOR	50
12. METODOLOGÍA.....	51
12.1 Tipos de fuentes	54
12.2 Criterios de inclusión	55
12.3 Localización de los estudios de investigación	55
12.3.1 Bases de datos.....	55
13. DISCUSIÓN	56
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
BILIOGRAFÍA	65
ANEXOS	77
1. TABLA 1: TAXONOMÍA DE LA E. CANIS	77
2. TABLA 2: CLASIFICACIÓN POR GÉNEROS DE LA EHRlichIA	77
3. TABLA 3: EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD EN CADA FASE.....	77
4. TABLA 4: PRUEBAS DIAGNÓSTICAS Y HALLAZGOS EN LAS DISTINTAS FASES DE LA ENFERMEDAD	78
5. ILUSTRACIÓN 1: CICLO DE LAS GARRAPATAS.....	79
6. TABLA 5: CARACTERÍSTICAS DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	79
7. ILUSTRACIÓN DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	81
8. MATRIZ DE CLASIFICACIÓN DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	82
9. GRÁFICOS.....	83
10. ILUSTRACIÓN 2: DIAGRAMA DE FLUJO DE INCLUSIÓN DE ARTÍCULOS.....	84
11. ILUSTRACIÓN 3: DIAGRAMA DE DOCUMENTOS UTILIZADOS	84

Índice de ilustraciones

ILUSTRACIÓN 1: CICLO DE VIDA DE LAS GARRAPATAS.....	31
ILUSTRACIÓN 2: DIAGRAMA DE FLUJO DE INCLUSIÓN DE ARTÍCULOS.....	56
ILUSTRACIÓN 3: DIAGRAMA DE DOCUMENTOS UTILIZADOS.....	61

Índice de tablas

TABLA 1: TAXONOMÍA DE LA E. CANIS.....	22
TABLA 2: CLASIFICACIÓN POR GÉNEROS DE LA EHRLICHIA.	24
TABLA 3: EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD EN CADA FASE	26
TABLA 4: PRUEBAS DIAGNÓSTICAS Y HALLAZGOS EN LAS DISTINTAS FASES DE LA ENFERMEDAD	28
TABLA 5: CARACTERÍSTICAS DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	41
TABLA 6: MATRIZ DE CLASIFICACIÓN DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	53

Sin laboratorios los hombres de ciencia son como soldados sin armas.

Louis Pasteur.

Dedicatoria

A mi familia, principal fuente de inspiración y motivación para la finalización de este proceso, porque aunque en el camino nos encontramos con obstáculos, ausencias y pérdidas, nos salvaron miles de bendiciones y ángeles que extendieron su mano y fueron guía, salvación y motivación.

A mi mamá, en el cielo, desde donde me acompaña, desde donde me ve crecer y hasta donde quiero llevarle este logro. A mi papá, que en la distancia ha sabido darme su mano y la fortaleza que se necesita para continuar día tras día. A María Cristina, mi abuela, la mujer que con gran fuerza en su corazón ha forjado lo que soy y lo que pretendo ser, a ella, por la esperanza, la compañía y los consejos. A Sebas, mi hermano, por la sonrisa cotidiana, por el abrazo amigo, por la palabra esperada en el momento indicado, por ser mi polo a tierra. A mis tíos, primos, novio y cada una de las personas de mi familia que con su enorme corazón me dibujaron alas y me enseñaron a volar, porque sin ellos, este sueño no sería realidad.

¡Lo logramos juntos!

Agradecimientos

A la comunidad académica que me forjó como profesional y me incentivó a la investigación, a crecer, a luchar. A ellos, por el conocimiento, la paciencia y la pasión. A la Mg. Nidia Marcela Zuluaga, por ser guía en el proceso, por llevarme siempre por el mejor camino profesional; su orientación y apoyo hicieron de este proceso, un gran aprendizaje.

RESUMEN

En este trabajo se encontrará a una sistematización de literatura especializada en la cual se desarrolla una compilación de literatura orientada al diagnóstico de laboratorio de la Ehrlichiosis canina como aporte al quehacer bacteriológico, es un documento de apoyo para la consulta rápida y precisa del diagnóstico oportuno de la enfermedad. Esto según su potencial zoonótico y riesgo para la salud pública por afectar tanto a animales como a personas, de acuerdo con los hallazgos clínicos, hematológicos y serológicos, propios de la enfermedad y de cada una de sus fases de desarrollo.

El documento se puede considerar como un estado del arte que permite evidenciar las características de la enfermedad como reemergente, dado que por sus peculiaridades ha logrado movilizarse hasta áreas no endémicas y con esto, ha aumentado su probabilidad de contagio. Lo anterior proyecta en los profesionales en Bacteriología la necesidad de indagar y aprender más sobre los métodos diagnósticos, ya que estos actualmente no son lo suficientemente sensibles y específicos, por lo que su diagnóstico se puede confundir con enfermedades similares.

Palabras clave: *Ehrlichia canis*, Zoonosis, Diagnóstico clínico, Bacteriología.

ABSTRACT

In this work we will find a systematization of specialized literature in which a compilation of literature oriented to the laboratory diagnosis of canine Ehrlichiosis is developed as a contribution to the bacteriological task, it is a support document for the quick and accurate consultation of the timely diagnosis of the illness. This according to its zoonotic potential and risk to public health because it affects both animals and people, according to the clinical, hematological and serological findings, typical of the disease and each of its stages of development.

The document can be considered as a state of the art that allows to show the characteristics of the disease as re-emerging, given that due to its peculiarities it has managed to mobilize itself to non-endemic areas and with this, its probability of contagion has increased. The foregoing projects on Bacteriology professionals the need to inquire and learn more about diagnostic methods, since these are currently not sensitive and specific enough, so their diagnosis can be confused with similar diseases.

Key words: *Ehrlichia canis*, Zoonosis, Clinical diagnosis, Bacteriology.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con López y colaboradores (2012), los hemoparásitos que son transmitidos por garrapatas se han convertido en un tema emergente de interés académico y científico a nivel mundial, especialmente aquellas enfermedades que se relacionan con pequeños animales domésticos, por su contacto frecuente y constante con las personas alrededor del mundo (1).

La *Ehrlichia canis*, es una de las enfermedades infecciosas más comunes entre caninos y felinos, cuyos vectores incidentales van desde las condiciones medioambientales como el clima y la altitud (2). Sin embargo, la enfermedad se ha redistribuido a espacios geográficos no endémicos. En ese sentido, se estipula como un tema de interés debido a su relevancia en salud pública, lo que corresponde tanto a la medicina veterinaria, como la bacteriología en el eficaz diagnóstico de la enfermedad. Además de ser reportada como una enfermedad zoonótica emergente.

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad grave, e incluso fatal transmitida por garrapatas del género *Rhipicephalus sanguineus*, cuyo agente etiológico es la *Ehrlichia canis*, en adelante *E. cani*, que corresponde a una bacteria Gram negativa intracelular del orden *Rickettsiales* (2). Desde su descubrimiento, se han establecido gran cantidad de especies de esta bacteria en animales domésticos, con prevalencia en áreas tropicales y subtropicales y caracterizada por presentar tres fases durante el desarrollo de la enfermedad: aguda, subclínica y crónica (2).

Dadas las cosas, se establece como de vital importancia la identificación de los criterios diferenciales de la enfermedad, evidenciado en el marco conceptual y abordado específicamente en el capítulo I del presente trabajo, y con esto, de procesos clínicos diagnósticos que posibiliten la atención oportuna, pues se ha determinado que muchos animales domésticos pueden presentar signos clínicos compatibles con la *E. canis*, pero estos no son patognomónicos y que pueden confundirse con los manifestados por otras enfermedades hemoparasitarias como Babesiosis, Distemper, Hepatitis Infecciosa y otras, lo que abre una gama de posibilidades en el diagnóstico definitivo de la enfermedad, para lo que son precisos estudios clínicos específicos como prueba de Elisa, de inmunofluorescencia

y otras, que hacen un poco más efectivo y rápido el diagnóstico y manejo de la enfermedad, de las que se hablará a lo largo de este trabajo, específicamente en el capítulo II. Seguido a esto, se establecen algunos de los avances y nuevas investigaciones que se realizan en el diagnóstico de la enfermedad, esbozado en el capítulo IV.

Todo esto, aunado a la necesidad de que los profesionales en bacteriología necesitan mejorar sus conocimientos y actualizarlos en pruebas diagnósticas, por ejemplo que den respuesta rápida al diagnóstico de la enfermedad y así propender por el cuidado de la salud y bienestar del animal, lo que permite reconocer factores de riesgo del animal o el entorno (3), atendiendo a las estipulaciones dadas por el Ministerio de Salud sobre el quehacer de los profesionales en salud, entre los que se estipulan una serie de características propias de los bacteriólogos, en los que se estipula, especialmente, estar a la vanguardia de avances tecnológicos, globalización, necesidades del entorno y que va más allá de un conocimiento específico, por lo que el rol de los bacteriólogos en los laboratorios se hace tan importante en términos de diagnóstico en salud humana o animal y otros campos disciplinares, entendiendo que de esta forma la prevención de las enfermedades es mucho más ágil y certera, así como el diagnóstico de patologías, el seguimiento y control de las mismas (4).

En el capítulo V, se abordan la enfermedad en su aspecto zoonótico y se establecen algunos factores de su re-distribución geográfica, motivos principales para que esta se considere hoy como una amenaza a la salud pública.

De acuerdo con lo antes descrito, este documento de sistematización de literatura compila material que ofrece información clínica actualizada para estudiantes y profesionales de bacteriología que puede ser consultado sobre la génesis e identificación de los vectores propios de la enfermedad, su fisiopatología, pero especialmente, un abordaje sobre los procesos diagnósticos de laboratorio propios para la enfermedad. Aun cuando se ha realizado investigación continúa de la enfermedad desde distintos abordajes clínicos, este documento presenta una síntesis de otros documentos de interés bacteriológico con información relevante aplicable al quehacer profesional, que enfatiza en los procesos diagnósticos de la enfermedad como un medio el diagnóstico eficaz de la *E. canis*.

Esta revisión aporta, además, información de interés global sobre la enfermedad, pues no es un tema que le compete solo a profesionales en bacteriología y otros campos de la salud, sino también a distintas áreas del conocimiento y/o público en general, por establecerse como un problema de salud pública por su incidencia en la salud de humanos y animales, así como las causas de su redistribución a ecosistemas donde anteriormente esta no se evidenciaba de manera natural (5).

Entre las situaciones globales está el calentamiento global, que altera de forma evolutiva los ecosistemas, sin apenas percibirlo. Tal como lo expone Barcat (6) son los aumentos de temperaturas, los cambios en temporadas de lluvias, las precipitaciones y las crecientes áreas inundadas, los factores que favorecen la multiplicación de los insectos, lo que conlleva a una distribución atípica de los vectores, lo que conduce así, a la existencia de este tipo de enfermedades en zonas templadas y cálidas en el trópico alto y por lógicas razones, en el creciente aumento de las enfermedades emergentes cuyos agentes etiológicos son transmitidos por medio de las garrapatas e insectos hematófagos (5).

A esto, pueden sumársele factores como migración de personas, intercambios comerciales, expansión de territorios habitados, destrucción de hábitats naturales y cambios paisajísticos, mayor resistencia a los antiparasitarios, ampliación de las fronteras comerciales, agrícolas, humanas y disminución de la productividad de la tierra en países en desarrollo (7).

En este sentido, se cumple el objetivo central de este trabajo que busca desarrollar un texto académico que oriente el proceso diagnóstico de laboratorio de la E. canis en el quehacer de profesionales en bacteriología, a través del establecimiento de unos objetivos específicos que se desarrollaron a lo largo del texto, para conceptuar sobre la enfermedad, identificar criterios diferenciales sintomatológicos y así que permitan mejorar el proceso diagnóstico y por último, enunciar cuáles eran los procesos diagnósticos de la misma, lo que permite llegar a conclusiones generales de la enfermedad, pero, especialmente, conclusiones relacionadas al diagnóstico oportuno de la enfermedad, sus formas y hallazgos, lo que puede en este momento inferir que la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta y la PCR son las pruebas reinas en el proceso de diagnosis de la enfermedad.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades hemoparasitarias diariamente afectan a muchos animales, especialmente a pequeños animales. Estas son producidas por condiciones que desarrollan distintos vectores que posibilitan la existencia del hemoparásito, el cual está encargado de transmitir la enfermedad. Los organismos parasitarios originados por diversos factores etiológicos, representados comúnmente por bacterias como *Rickettsias*, *Espiroquetas* y *Nematodos* pueden habitar los glóbulos rojos u otras células sanguíneas lo que afecta a los pequeños animales como caninos y felinos y su transmisión se da a través de vectores artrópodos como garrapatas, pulgas, mosquitos y otros, que puede incluso, a afectar a los humanos debido a su potencial zoonótico.

Históricamente esta enfermedad, de carácter infecciosa y endémica de regiones tropicales y subtropicales, ha logrado migrar a ecosistemas donde anteriormente no se encontraba debido al cambio climático y a la capacidad de adaptación y evolución de algunos artrópodos. En este momento, la E. canis surge, incluso, en climas templados y fríos, áreas no endémicas de la enfermedad, entendiéndose el aumento de las enfermedades emergentes transmitidas por garrapatas y otros insectos hematófagos (5). No solo factores climáticos afectan y posibilitan esta redistribución de vectores, sino también factores globales como migración de personas, comercio internacional, destrucción de hábitats animales, desarrollo de resistencia a los antiparasitarios, ampliación de las fronteras agrícolas, entre otros (6).

Comúnmente, se presentan coinfecciones con otros patógenos transmitidos por garrapatas, lo que complica la patogénesis, es decir, el origen y evolución de dicha enfermedad y los factores que a ella están asociados, lo que modifica de esta manera sus manifestaciones clínicas y complica el diagnóstico y por ende, el tratamiento de esta.

Esta enfermedad constituye un problema en medicina veterinaria, pero también se establece como potencialmente zoonótica y de gran relevancia para la salud humana, pues los casos reportados de personas infectadas con la enfermedad son cada vez más, entendiéndose el contexto cercano entre animales domésticos y humanos, por ello, el estudio de la enfermedad no tiene relevancia únicamente en la medicina veterinaria, sino también en la salud pública,

pues los procesos de redistribución de los vectores son cada vez más rápidos, así como su acoplamiento a nuevas zonas geográficas, la facilidad de contagio y otros factores asociados (5).

En esta medida, el rol de los profesionales en Bacteriología cobra especial importancia en el diagnóstico oportuno, entendiéndolo como un medio para reducir y frenar los índices de contagio y también las complicaciones en pacientes contagiados, sin embargo, existe una problemática entorno a los procesos diagnósticos de la *E. canis* puesto que los signos clínicos son confundidos con otras patologías como Babesiosis, Leptospirosis, Anaplasmosis, Enfermedad de las montañas rocosas y otras (5), abriendo el espectro lo que dificulta el diagnóstico de la enfermedad y a su vez, impidiendo que se frenen los contagios y se atiendan oportunamente a los pacientes, lo que hace que esta enfermedad sea de alto riesgo de contagio y difícil diagnóstico.

Dado todo lo anterior, este trabajo atiende a la necesidad de brindar luces desde la práctica bacteriológica en el diagnóstico de la enfermedad y atención oportuna, así intervenir con un equipo en salud para evitar que su distribución no se prolongue y extienda con tanta rapidez. Adicionalmente se pretende establecer un conocimiento mayor sobre sintomatología, métodos diagnósticos y en este caso, se establecerá a través del estudio de referente expertos en literatura sobre: cuadros hemáticos, frotis sanguíneos y otras pruebas de laboratorio clínico atendiendo a la pregunta problema ¿Cómo realizar un diagnóstico oportuno y preciso de la *E. canis* en el quehacer bacteriológico?

Por otro lado, este trabajo busca atender de alguna manera a la necesidad de educación en temas veterinarios, como un intento de hacer un llamado de atención a universidades y centros académicos para que le den mayor trascendencia al enfoque clínico veterinario, entendiendo que en términos de diagnóstico, la rapidez permite que se hagan los respectivos tratamientos, así evitar la propagación de la enfermedad y empeoramiento de los pacientes diagnosticados con la misma. Así pues, el profesional en bacteriología encontrará en este trabajo una síntesis que le permitan condensar información sobre la enfermedad como un medio para fortalecer sus conocimientos al apoyar con su ejercicio profesional en un diagnóstico de *E. canis*.

2. JUSTIFICACIÓN

Con esta revisión sistemática de literatura especializada se pretende generar un documento de enfoque clínico, actualizado y de interés para profesionales en Bacteriología, en el que se evidencia información relevante sobre las características propias de la enfermedad, su

patogénesis, agentes etiológicos, vectores, epidemiología t otras características propias de la enfermedad; pretende además, evidenciar su posible diagnóstico a través de estudios de laboratorio como el cuadro hemático, frotis sanguíneo, la bioquímica sanguínea, la microscopia directa, la Inmunofluorescencia indirecta, la reacción de cadena de polimerasa y la prueba de ELISA, así como sus manifestaciones clínicas, entendiendo que la *E. canis* es una enfermedad bastante estudiada a nivel global de manera aislada y el enfoque en gran medida está dirigido a médicos veterinarios.

Una de las intencionalidades de este trabajo es aportar con un estado del arte en la compilación de información relevante en un solo documento que permita analizar la Ehrlichiosis desde un plano bacteriológico, otorgándole relevancia a los procedimientos diagnósticos de la enfermedad para actuar de forma oportuna sobre la afección y propagación de esta.

En este sentido, la idea de hablar de *E. canis* o mejor, la importancia de hacerlo, radica en la complejidad de la enfermedad en términos de diagnóstico oportuno y bien, en que esta se ha convertido en una amenaza para la salud pública, dado su carácter zoonótico y la estrecha relación entre pequeños animales, principales hospedadores del vector, y humanos, lo que aumenta las probabilidades de contagio, así como la redistribución de las garrapatas a lugares geográficos no endémicos.

De esta manera, la principal motivación para hacer este trabajo es la generación de un apoyo a los profesionales en bacteriología para el diagnóstico oportuno de la enfermedad, desde los métodos a utilizar, hasta los posibles hallazgos hematológicos, serológicos y/o moleculares que permitan precisar la presencia de *E. canis*.

En este trabajo se pretende poner en discusión, además, la *E. canis* como un tema interdisciplinario, es decir, no solo desde un campo profesional específico, sino desde enfoques que permitan comprender que la enfermedad corresponde a problemáticas sociales, como lo es el calentamiento global y su incidencia en la redistribución de la misma, así como otros factores propios de la globalización y la apertura de fronteras sociales, económicas y geográficas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Desarrollar una revisión sistemática de literatura científica orientada al diagnóstico de laboratorio de la *Ehrlichia canis*.

3.2 Objetivo Específicos

- Conceptuar las cualidades de la enfermedad reemergente según sus orígenes, el cambio climático y otros factores de interés global.
- Identificar los criterios diferenciales sintomatológicos.
- Enunciar los procesos diagnósticos para la identificación del agente etiológico desde el actuar bacteriológico.

4. MARCO CONCEPTUAL

4.1 Ehrlichia Canina

La Ehrlichiosis Monocítica Canina –EMC-, a la que también se ha nombrado como Pancitopenia Tropical Canina, Tifus Canico, Fiebre hemorrágica y de otras formas (7), es una enfermedad infecciosa inmunodepresora, de los caninos domésticos, silvestres, de distribución mundial, generalmente crónica (8), causada por bacterias Gram negativas llamadas Rickettsiales intracelulares *Ehrlichia Spp* y *Anaplasma Spp*, con estructuras pleomórficas, cocoides, elipsoidales de aproximadamente 0,5 mm de diámetro que se ubican dentro de los leucocitos y las plaquetas (9).

E. canis se transmite por la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, la cual es transtadial y no transovárica (10). Su reservorio es un mamífero y su vector se compone por un artrópodo –garrapata- para poder transmitirse, además, esta también puede ser transmitida a través de transfusiones sanguíneas de un mamífero infectado u otro susceptible de contagio, e incluso, puede ser transmitida a través de fómites, entendiéndose que su contagio es mecánico y no biológico (11).

La infección dentro del mamífero se disemina vía sanguínea o linfática dentro de las células mononucleares infectadas (12). Se establece que es endémica de áreas determinadas y surge especialmente en primavera y verano, cuando las condiciones climáticas son más oportunas para su aparición y las garrapatas surgen de forma activa (10).

La *E. canis* fue identificada por primera vez en Argelia en 1935, pero sólo fue hasta 1987 allí fue objeto de estudio y análisis cuando la *Ehrlichia chaffeensis*, un microorganismo con un 98,2% de homología con *E. canis*, fue identificada como la causa y factor principal de la Ehrlichiosis Monocítica Humana (10). Esta enfermedad fue reportada como una enfermedad zoonótica reemergente, con múltiples casos alrededor del mundo.

Tabla 1: Taxonomía de la *E. canis*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Rickettsiales</i>
Familia	<i>Anaplasmataceae</i>
Género	<i>Ehrlichia</i>
Especie	<i>Ehrlichia canis</i>

Fuente: Adaptación de NCBI Taxonomy, 2019.

4.1.1 Distribución geográfica

Los artrópodos –garrapatas- son portadores de agentes patógenos que pueden transmitir enfermedades tanto a humanos como a animales, y con más de 893 especies alrededor del mundo, se dividen en tres familias: *Ixodidae* (Con más 58 especies a nivel mundial, entre las que se cuenta *R. Sanguineus* el principal parásito de este grupo), *Argasidae* y *Nuttalliellidae*, presentes en regiones zoogeográficas, y la última, únicamente en Suráfrica (13).

La *E. canis* ha sido reportada en la mayoría de los países del mundo (14). En Colombia, esta enfermedad se ha reportado desde hace más de 30 años en regiones tropicales o subtropicales, con presencia de garrapatas vectores como *R.sanguineus* y *Amblyomma cajennense*, que afectan específicamente a pequeños mamíferos. Las *R. sanguineus* son garrapatas endémicas de climas cálidos como el sur de Estados Unidos, y se ha explicado, que el ingreso de estos vectores a las Américas surgió a través de caninos infectados provenientes de Europa (15).

Sin embargo, se han determinado dos tipos de este vector, el primero denominado como “Linaje de Sur”, correspondiente a especies de clima templado ubicadas geográficamente en países como Argentina, Uruguay y Chile, y, el segundo llamado “Linaje del Norte”, correspondientes a especies tropicales endémicas de países como Brasil, Paraguay, Colombia, Sur de África, Mozambique y el norte de Argentina (16).

En Colombia, la presencia de la *E. canis* ha sido históricamente registrada en altitudes entre 0 y los 2600 metros sobre el nivel del mar –msnm-. Sin embargo, actualmente hay registro

de la garrapata transmisora en altitudes superiores a los 2.600 msnm, cuya distribución atípica se debe a factores como movilidad, migración, cambio climático y otros.

En los últimos años se le ha dado especial reconocimiento y ha sido objeto de interés de múltiples estudios interdisciplinarios por su impacto en la salud humana y animal (17). En la actualidad se reconocen al menos 907 especies de distribución mundial (18).

4.1.2 Agentes etiológicos

Como ya se ha mencionado anteriormente, existen distintas especies de *Ehrlichias* que afectan a pequeños mamíferos como *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. risticii* reclasificada como “*Neorickettsia risticii*”, asociada a *E. monocitica* en equinos y *Anaplasma phagocytophilum* (19) (20).

Se solía afirmar que las variaciones de *Ehrlichia* pertenecían a un hospedador específico, es decir, cada una de sus variaciones afectaba a un tipo de mamíferos, sin embargo, en la actualidad, se ha comprobado que *E. chaffeensis*, *E. 14 canis*, *E. equi*, *E. ewingii* y *E. platys*, pueden poseer hospedadores distintos que causan anomalías clínico-patológicas en perros, gatos y otros mamíferos (21).

Se estableció anteriormente que a esta enfermedad se le conoce por distintos nombres, y esto se debe a que existen distintos aspectos de la enfermedad (22). Su agente etiológico es la *E. canis*, familia *Anaplasmataceae*, orden *Rickettsiales* y *Phylum prtotobacteria*. La *E. canis*, es una bacteria cocoide Gram Negativa con comportamiento de parásito intracelular obligado y que afecta puntualmente los leucocitos y conforma racimos de organismos, conocidos como mórulas (23).

La *Ehrlichia* ha sido clasificada por géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia*, también organizados en cuatro grupos genéticos, tal como se evidencia en la Tabla 2.

Tabla 2: Clasificación por géneros de la Ehrlichia.

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
<i>Anaplasma marginate.</i> <i>Anaplasma centrare.</i> <i>Anaplasma caudatum.</i> <i>Ehrlichis Phagocytiphila</i> (hoy <i>Anaplasma phagocytophilum</i>). <i>Ehrlichia bovis</i> (Acutalmente <i>Anaplasma bovis</i>). <i>Ehrlichia platys</i> (Hoy <i>Anaplasma platys</i>).	<i>E. canis.</i> <i>E. chaffeensis.</i> <i>E. ewingii.</i> <i>E. muris.</i> <i>Cowdria ruminantium</i> (Hoy <i>Ehrlichia ruminantium</i>).	<i>Neorickettsia Helminthoeca.</i> <i>Ehrlichia risticii.</i> <i>Ehrlichia sennetsu</i> (<i>N. risticii</i> y <i>N. sennetsu</i>).	La especie <i>Wolbachia pipientis</i> será el único miembro del género <i>Wolbachia</i>

Fuente: Adaptación de la tesis expuesta por Craig (23).

Como se observa en la tabla 2, la *Ehrlichia* tiene una gran cantidad de especies diferentes, aisladas entre sí, aunque algunas con características similares. Enfoca el estudio etiológico en el tema central de este trabajo, en pequeños animales la enfermedad se ha descrito con las especies *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. ruminantium*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *N. sennetsu* y *N. risticii*, aunque vale la pena aclarar que a nivel mundial solo *E. canis* se ha descrito como patógeno (23).

Por otra parte, las infecciones ocasionadas por *E. Canis*, pueden llegar a coexistir con *Babesia canis* y *Hepatozoon canis*, sugiriendo que la transmisión de los organismos puede ser simultanea por los vectores (24).

4.2 Epidemiología

Con lo ya establecido y a sabiendas que en la enfermedad no se asumen factores de predisposición para que esta se presente, solo se establece como proporcional a la respuesta inmune de los pacientes frente a la patogenia, esta si puede desarrollarse en distintas fases: aguda, subclínica y crónica y sus signos clínicos puede ser variables y ocasionar confusión para su diagnóstico oportuno.

4.2.1 Fase aguda

Las células mononucleares infectadas transitan en los vasos pequeños o por los tejidos endoteliales, lo que produce vasculitis, esta ocurre entre la segunda y tercera semana después

de adquirir la infección, con una duración de 14 a 24 días (25). Generalmente los síntomas son inespecíficos y transitorios como anorexia, petequias, linfadenopatía, secreciones oculonasales, disnea, hepatomegalia, neumonitis y otros signos neurológicos asociados a la meningoencefalitis (26). Hematológicamente, en esta fase se pueden observar síntomas como trombocitopenia, anemia y leucopenia leve o moderada (27), con lo cual pueden llegar a encontrarse leucocitosis con monocitosis y/o linfocitosis.

4.2.2 Fase subclínica

Esta fase puede tener una duración de hasta 5 años en perros con infección natural, unos pueden llegar a eliminar el agente pero otros lo conservan dentro de las células sanguíneas, lo que produce la fase crónica de la enfermedad (28). Esta fase ocurre tras 6 o 9 semanas del contagio y dura entre 1 y 4 meses y los síntomas son similares a la fase aguda con algunas complicaciones y hematológicamente las alteraciones de la fase aguda permanecen, especialmente la trombocitopenia y aumento de las plaquetas (9).

4.2.3 Fase crónica

Esta fase, puede llegar a ocasionar daños en la médula ósea de los hospedadores, afectar gravemente la hematopoyesis y causar la muerte del animal infectado, en caso de no recibir un tratamiento acorde y oportuno. Inicialmente es asintomática, pero alrededor de 8 o 20 días, los síntomas podrían ser fiebre, adenopatía generalizada, leucopenia, anemia moderada y especialmente trombocitopenia. La trombocitopenia se sucede en episodios de 3-4 días y a intervalos de 7-21 días (25), de ahí que a la enfermedad se le haya denominado “Trombocitopenia cíclica infecciosa del perro”. El vector *R. sanguineus*, es el principal asociado y factor de distribución de la enfermedad a través de Asia, América, África y Europa (29). Y su distribución se asocia al transporte de animales infectados a lugares no endémicos, así como a factores exógenos que serán mencionados más adelante.

En este sentido, la epidemiología de las *Ehrlichias* se diferencia entre ellas por el hospedador que suelen invadir. Por su parte, la *Ehrlichia monocítica canina* (EMC) es una enfermedad *Rickettsial* grave que afecta a los caninos y muy posiblemente en felinos en la

mayor parte del mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales, transmitida por la garrapata *Rhipicephalus Sanguineus* sensu lato lo que causa enfermedad multisistémica que se representa en anomalías hematológicas y otros síntomas que afectan el bazo, el hígado y los ganglios linfáticos (30).

En la Tabla 3, se puede observar un resumen de cada fase de la enfermedad –aguda, subclínica y crónica-, el número de semanas que tarda en manifestarse tras su contagio, la duración de cada una de las fases y los signos clínicos evidentes en pacientes infectados

Tabla 3: Epidemiología de la enfermedad en cada fase

FASE	EVIDENCIA TRAS CONTAGIO	DURACIÓN	SIGNOS CLÍNICOS
AGUDA	2 a 3 semanas tras el contagio	14 a 24 días	síntomas inespecíficos y transitorios <ul style="list-style-type: none"> • Anorexia • Petequias • Equimosis. • Linfadenopatía, • Secreción oculonasal • Disnea • Hepatomegalia • Meningoencefalitis
SUBCLÍNICA	6 a 8 semanas tras su contagio	De 1 a 4 meses e incluso hasta 5 años	Se agudizan los signos de la fase aguda y se presentan además: <ul style="list-style-type: none"> • Fiebre • Adenopatía generalizada • Leucopenia • Trombocitopenia
CRÓNICA	Es la última fase de la enfermedad y surge tras un empeoramiento en el sistema del paciente	Puede durar muchos años (sin precisión aún) e incluso llevar a la muerte.	Se deteriora la producción de elementos sanguíneos debido a hipoplasia de la médula ósea. <ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia. • Hemorragias • Linfadenopatías. • Esplenomegalia • Signos neurológicos • Anemia no regenerativa • Debilidad, depresión y petequias

Fuente: Adaptación de la información recopilada en distintos autores: Duración (25). Signos clínicos (9).

La *E. canis* corresponde a un trastorno multisistémico, entre sus signos clínicos más comunes se presentan la depresión, letargia, anorexia, con o sin hemorragias. En caso de que se presenten, se muestra en forma de petequias dérmicas o equimosis, aunque la epistaxis es de las formas más frecuentes de hemorragia (31).

Pueden existir otros signos clínicos evidentes –oculares y neuromusculares- que son definidos según la respuesta inmunitaria de cada paciente. Por otro lado, pueden llegar a existir infecciones secundarias por protozoos, hongos o bacterias que pueden ser producidas por múltiples organismos patogénicos que se alojan en las garrapatas (31).

Otra de las variables es la Ehrlichiosis Granulocítica canina que surge de la *E. ewingii* y es una de las especies más frecuentes en caninos en América, clínicamente es una enfermedad relevante para perros, pero se ha observado en venados de cola blanca como reservorios de este agente y sus síntomas van desde infecciones crónicas representadas por la poliartritis, y cambios hematológicos, de especial interés en este trabajo de recopilación sistemática de información, que son leves e incluyen la trombocitopenia y anemia (31). Sin embargo, existe gran preocupación, pues esta especie se ha descubierto en perros, caballos e incluso en humanos y se relaciona al factor genético, por lo que su interés como enfermedad zoonótica, ha aumentado (32).

Por su lado, la Ehrlichiosis y Anaplasmosis felina es causada por *Ehrlichia spp.* Y *Anaplasma spp.*, generalmente en felinos y sus síntomas se relacionan a la fiebre, el letargo y la anorexia, a pesar de no ser una especie tan documentada y sólo se ha diagnosticado a través de microscopía y PCR (33).

Otra de las especies es la Ehrlichiosis monocítica humana –EMH-, que puede ser moderada o fatal, evidenciada en soldados, personas que cuidan mascotas o tienen una, o personal expuesto a garrapatas infectadas, cuyos síntomas, que por cierto son inespecíficos, aparecen entre una a dos semanas después de su contagio y tiene una duración de alrededor de un mes. Otros signos pueden incluir mialgias difusas o severas, linfadenopatía, anorexia, pérdida de peso, dolores abdominales, confusiones, vértigo, ataxia, coma, disnea, entre otros. Esta enfermedad es mortal en un 2 a 3% de los casos; en un 10% afecta a niños y es clínicamente

diferente en adultos puesto que esta enfermedad deja secuelas cognitivas y neurológicas significativas (34).

Por último, la Anaplasmosis granulocita humana –AGH- es transmitida por garrapatas causada por *Anaplasma phagocytophilum* y es altamente estudiada, ya que su incidencia ha aumentado en América, muy a pesar de considerarse como una enfermedad asintomática y por el poco avance clínico y de diagnóstico de la enfermedad.

En tabla 4, se podrán observar las distintas fases de la enfermedad, así como sus signos clínicos más evidentes, pero especialmente y para interés de este trabajo, las pruebas diagnósticas pertinentes y los hallazgos que se pueden encontrar en las distintas fases de la enfermedad, así posibilitar el diagnóstico oportuno.

Tabla 4: pruebas diagnósticas y hallazgos en las distintas fases de la enfermedad

FASE	SIGNOS CLÍNICOS	PRUEBA DIAGNÓSTICA	HALLAZGOS
AGUDA	Fiebre, anorexia, Vómito y hemorragias tras 1 a 4 semanas del contagio.	Microscopía, IFA o PCR.	Anemia monocítica, leucopenia con desviación a la izquierda y Trombocitopenia.
SUBCLÍNICA	Sangrado, debilidad, mucosas pálidas, anorexia, tras 6 a 9 semanas del contagio.	IFA, ELISA, PCR.	Anemia no regenerativa, leucopenia y Trombocitopenia.
CRÓNICA	Epistaxis y petequias tras meses o años del contagio Meses o incluso años	PCR o ELISA	Pancitopenia.

Fuente: Elaboración propia. Signos clínicos (9, 21). Pruebas diagnósticas (33). Hallazgos (34)

Capítulo I

5. Vectores

Las Ehrlichiosis son un grupo de enfermedades que son transmitidas por garrapatas que amenazan a animales y humanos en todos los países del mundo. Los agentes de estas, se mantienen en ciclo enzoótico a través de garrapatas, cuyo reservorio principal son los mamíferos, y a su vez, son los principales diseminadores de estos patógenos puesto que la transmisión transovárica es ineficiente en las garrapatas, en consecuencia, la infección se transmite de larvas a ninfas y de ninfas a adultos, pero no de las hembras a los huevos de las nuevas generaciones. Estas, son ectoparásitos hematófagos obligados que se alimentan de animales, y son consideradas el segundo vector más importante en la transmisión de enfermedades infecciosas a humanos (35).

Después de que el vector asciende al hospedero e inicia su proceso de alimentación tarda por lo menos entre 4 a 6 horas para transmitir la bacteria de forma efectiva, sin embargo su eficacia se establece entre las 22 a 24 horas siguientes (35).

El vector de transmisión de *E. canis* es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, y es considerada como la garrapata de mayor distribución a nivel mundial. Se cree que esta es endémica de África y se establece especialmente en zonas trópicas durante todo el año, sin embargo, en países con estaciones, predominan en otoño y primavera, cuyas temperaturas son óptimas para su propagación. Sus hospedadores son, mayormente, mamíferos como bovinos, ovinos, caprinos, equinos, felinos, roedores y humanos, pero también se hospeda en algunos reptiles y aves (16).

La infección de *R. sanguineus* con *E. canis* ocurre cuando el vector está en estadio de larva o ninfa, al ingerir sangre de un perro bacteriémico, y estos microorganismos, en el interior de la garrapata, se multiplican en células del intestino medio y luego, en glándulas salivales, lo que involucra la bacteria a un nuevo hospedador cuando se distribuyen.

La enfermedad es transmitida a los cánidos a través de artrópodos hematófagos de la familia *Ixodidae* de la clase *Arachnida*, cuyo vector primario es la *R. sanguineus* (35) y se considera

su distribución en América, desde Canadá hasta Argentina (16), aunque bien, se asume que esta especie de garrapatas probablemente es la especie con mayor presencia a nivel mundial: Norte, Centro y Sudamérica, África, Madagascar, China, Australia, Sur de Europa, etc. (36) (37). Esta garrapata es endémica de áreas tropicales y subtropicales y tiene presencia continua, es decir, prevalece en todas las épocas del año, sin embargo se asocia especialmente con la primavera y el verano, cuya propagación es más rápida y notoria (37). Se establece que la garrapata afecta principalmente a los perros, pero se ha encontrado también en otras especies de mamíferos, asumiendo esta nueva adaptación a la fisionomía de las garrapatas *Ixódidias* (garrapatas duras) y a las *Argasidae* (garrapatas blandas) (37).

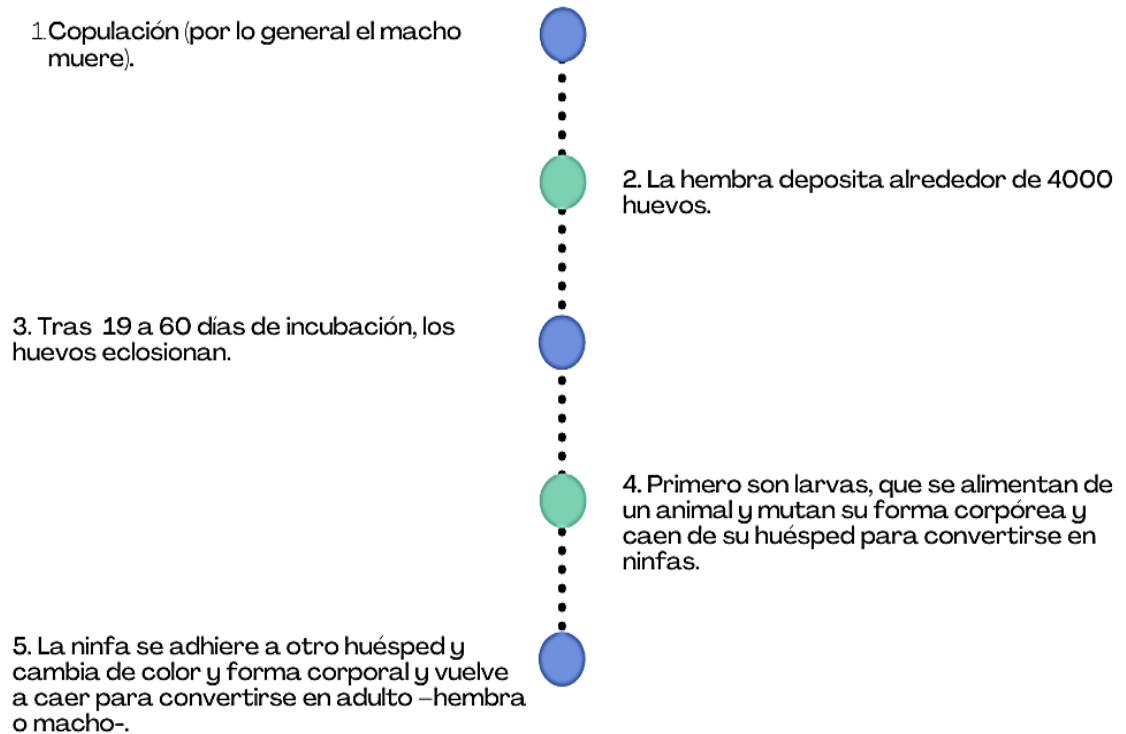
Según Dantas-Torres et al (16), para la garrapata *R. sanguineus* su principal hospedador es el perro doméstico, sin embargo, cuando los niveles de presencia de estas son elevados, y los ambientes que habitan están muy parasitados, esta especie puede llegar a parasitar otras especies de animales como gatos, aves, roedores e incluso humanos. Y aunque la mayor parte de garrapatas *Ixódidias* con exófilos *R. sanguineus*, han adquirido gran adaptación al ambiente intradomiciliario, observándose un nivel alto de infestación en perros que permanecen en el interior de casas, apartamentos, refugios y bioterios (19).

Las garrapatas se presentan como ácaros con cabeza, tórax y abdomen fusionados, con cuerpo no segmentado, y son considerados parásitos en animales domésticos y el ser humano, puesto que se alimentan de sangre de sus huéspedes (38).

Su localización se establece especialmente en las orejas, la nuca y entre los dedos de las patas, y las larvas y ninfas, situadas en el pelo largo del cuello de los animales (37). Esta garrapatas en su mayoría de edad, es decir, adultos hembras o machos, se alimentan de la succión de la sangre de animales e incluso de humanos, dependiendo el contexto en donde se ubiquen (38).

Leal (9) y Bustos (38) establecieron el ciclo de vida de las garrapatas, desde su copulación, hasta su adultez o maduración así:

Ilustración 1: Ciclo de vida de las garrapatas.



Fuente: Adaptación tesis de Leal (9) y Bustos (38)

Este ciclo se puede completar en 63 días a 29°C, pudiéndose presentar de tres a cuatro generaciones por año (9) (38) (39). Además se ha estudiado que estas pueden permanecer con vida sin alimentarse hasta por 183 días e incluso, las hembras pueden sobrevivir el doble de eso (37).

5.1 Transmisión

Las garrapatas adquieren *E. canis* al succionar la sangre de un animal infectado (9), de ahí, las *Ehrlichias* pasan por faringe, esófago, hasta llegar al intestino y ser expulsadas a través de las heces, otras a través de saliva que posibilita la inoculación en cualquier hospedador (40). Una vez transmitida la enfermedad, se multiplican hemocitos y las células del intestino delgado de estas garrapatas (9). La garrapata *R. sanguineus* muerde e inyecta las secreciones de las glándulas salivales contaminadas con *E. canis*, en el perro (25).

El potencial patogénico es favorecido por la movilidad de los macrófagos que permiten la diseminación de la infección a través de todo el organismo del hospedador. La bacteria tiene tropismo por plaquetas y leucocitos, principalmente monocitos, macrófagos y granulocitos y cuando estos ingresan a dichas células, los microorganismos empiezan su desarrollo en los fagosomas, que impide que se unan los lisosomas y se evada así el sistema inmunitario del hospedador (41).

De esta manera, las bacterias se empiezan a replicar en los leucocitos lo que forma una mórula, que es a la cual puede ser observada a través de la realización de un Frotis Sanguíneo; sin embargo, además, las bacterias circulan por exocitosis o lisis celular y se desplazan por el sistema linfático y sanguíneo, incluido el bazo y el hígado, lo que produce hiperplasia de estos órganos donde se replica por fisión binaria (42).

En la fase aguda las células mononucleares infectadas se marginan en los vasos pequeños o migran dentro de tejidos endoteliales induciendo vasculitis, esta etapa inicia 2-3 semanas luego de la infección, y dura de 2-4 semanas, la mayoría de los perros inmunocompetentes sobreviven. La fase subclínica puede durar hasta 5 años en perros con infección natural, algunos perros eliminan el agente en esta etapa, pero otros conservan el patógeno dentro de sus células sanguíneas avanza hasta la fase crónica de la enfermedad y lo diseminan (43). La fase final o crónica viene siendo la más delicada donde *E. canis* va a causar daños a nivel de médula ósea afecta la hematopoyesis genera la muerte del animal si este no recibe tratamiento a tiempo. La infección es a menudo inaparente, pero tras una incubación de 8 a 20 días, puede producirse fiebre, adenopatía generalizada, leucopenia, anemia moderada y especialmente trombocitopenia. La trombocitopenia se sucede en episodios de 3-4 días y a intervalos de 7-21 días, de ahí que a la enfermedad se le haya denominado “Trombocitopenia cíclica infecciosa del perro”. Los valores mínimos de plaquetas se observan en el primer episodio, siendo posible visualizar numerosas plaquetas infectadas en los frotis sanguíneos.

Capítulo II

6. Diagnóstico

Los procesos diagnósticos de muchas y diversas enfermedades infecciosas se basan en los datos de la anamnesis o síntomas clínicos que el paciente presente, así como también a través de los resultados de las pruebas de laboratorio, y para la detección de la *E. canis* es necesario el uso de algunas pruebas clínicas de laboratorio para realizar un diagnóstico oportuno que permita frenar los índices de contagio en distintas áreas geográficas, ya que esta se ha convertido en una enfermedad reemergente y con alto potencial zoonótico.

En laboratorios clínicos de nuestro país, mayormente se realizan pruebas simples como hemogramas, bioquímica sanguínea o pruebas de PCR para su diagnóstico, o bien, la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA), específicamente, los kits de prueba rápida para detectar la enfermedad. Sin embargo, existen también nuevos avances científicos, que consisten en pruebas diagnósticas a nivel molecular que posibilitan aún más la detección temprana y precisa de los antígenos y su posterior tratamiento (44).

Por ello, hacer uso de las pruebas diagnósticas y sus hallazgos hematológicos y/o serológicos, constituye un canal de importante envergadura en la prevención y mitigación del daño ocasionado por la presencia de antígenos ehrlichiales.

6.1 Hemograma

El hemograma es una prueba en donde se analizan diferentes células sanguíneas de forma cualitativa y cuantitativa y que posibilita la obtención de datos que se pueden confrontar con distintos valores de referencia (45). La toma de la muestra se realiza con la extracción de sangre de la vena cefálica anterior y esta debe ser almacenada en viales EDTA al 10% como anticoagulante. El tubo debe ser llenado en 2/3 partes y se homogeniza invirtiéndolo ligeramente entre 5 a 10 veces y puede ser procesada 20 minutos después de que es tomada, o en su defecto, ser refrigerada a una temperatura de 4°C en un lapso no mayor a 24 horas (46) (47). Tras su análisis hematológico, los hallazgos más significativos para la

Ehrlichiosis canina incluyen: anemia no regenerativa, trombocitopenia, leucopenia y presencia de mórulas en monocitos (47) (48) (49), y cuyos parámetros se asocian a hematocitos, hemoglobina, conteo de leucocitos y de plaquetas (46).

En las distintas fases de la enfermedad los signos hematológicos pueden variar y se puede observar leucopenia, leucocitosis, monocitosis y linfocitosis (50), sin embargo, la trombocitopenia y la anemia no regenerativa son los principales signos, tal como se observa en la siguiente relación:

- En la fase aguda, el principal hallazgo se observa con la detección de trombocitopenia (51). Pero, en esta fase también es factible evidenciar un aumento en el tiempo de coagulación causado por la disminución en la agregación plaquetaria por anticuerpos que atacan las glucoproteínas y esta se evidencia desde el inicio de la enfermedad e incluso, hasta la fase crónica de la misma (52).
- En la fase aguda y crónica, la trombocitopenia y la anemia no regenerativa son los más comunes
- En la fase crónica, es muy común evidenciar un descenso considerable en los recuentos de las 3 líneas celulares sanguíneas (52).

6.2 Bioquímica sanguínea

La bioquímica sanguínea es una prueba de sangre que posibilita analizar de forma cuantitativa el funcionamiento de algunos órganos y enzimas que tiene parte en los procesos homeostáticos del organismo (53). La prueba de ser tomada de la vena yugular o cefálica y ser depositada en un tubo sin anticoagulante y llenado en 2/3 partes, centrifugarse a 3000 revoluciones durante aproximadamente 10 minutos para la obtención del suero; o en su defecto, ser refrigerada a 4°C, por no más de 24 horas (54).

En este tipo de prueba, la *E. canis* se determina por el hallazgo de hiperproteinemia por hiperglobulinemia, asociada regularmente por la presencia de hipoalbuminemia, esto, debido a la existencia de proteinuria, malnutrición, pérdida de peso, hepatopatía o a una compensación de la hiperproteinemia. Aunque también se describe en el diagnóstico a

partir de la bioquímica sanguínea, elevaciones de las enzimas hepáticas, creatinina de origen prerrenal (por deshidratación) o renal por glomerulonefritis o plasmocitosis intersticial renal (54) (25) (53).

Durante la fase inicial de la enfermedad, o aguda, los niveles de ALT y FA pueden verse en aumento, lo que frecuentemente produce una inflamación en el hígado, así como un aumento en la bilirrubina causado por una hemólisis intensa cuando se presenta fracta ictericia (52). En la fase crónica de la enfermedad, incluso, puede evidenciarse hipergammaglobulinemia, proveniente de una estimulación antigénica, que puede presenciarse incluso desde la fase aguda; e hipoalbuminemia asociada a proteinuria por glomerulonefritis y por la disminución de proteínas o pérdida de estas (52), que pueden persistir durante meses o años tras su tratamiento (55).

6.3 Frotis sanguíneo

El frotis sanguíneo es un estudio cualitativo que se obtiene de la extracción de sangre fresca y de ser posible, sin anticoagulante (56), este hace parte del hemograma y representa la extensión morfológica del estado en que se encuentran los elementos celulares de la sangre (57), en donde se pueden observar los cambios morfológicos, inclusiones de parásitos o bacterias sanguíneas, formas, número y tamaño (47). Para la toma de este procedimiento se usan dos métodos: el primero, es el método de portaobjetos (predilecto en el quehacer bacteriológico), cuya muestra se obtiene de la toma de sangre con un capilar o aplicador y se deposita una pequeña gota sobre un extremo del portaobjetos puesto sobre una superficie plana, luego se apoya al extremo de otro portaobjetos por delante de la gota y una vez haga contacto con la gota de sangre, se procede a extender hacia delante de forma rápida, continua y uniforme, y se cubren 2/3 partes del otro portaobjetos, esta se seca al aire, sin soplar o aplicar calor (56)(47); y el segundo, el método de cubreobjetos, igual que el anterior se toma la muestra con un capilar o aplicador, pero la gota de sangre se deposita en un cubreobjetos y se pone un segundo cubreobjetos diagonalmente sobre el primero, y cuando la gota se extiende, el cubreobjetos debe ser deslizado de forma uniforme en dirección paralela a la superficie de contacto hasta separarlos y se seca al aire (58)(47). Después de realizada la toma de la prueba, con cualquiera de los dos métodos, se procede a

su tinción, con previa preparación de los colorantes y siguiendo el procedimiento específico de cada uno, dentro de los que se incluye la fijación del frotis con metanol absoluto, cubriéndolo y sumergiéndolo e la tinción, se juaga con agua destilada y se deja secar al aire y después de seco se observa a través del microscopio (47). Los hallazgos más comunes cuando hay sospechas de *E. canis* son inclusiones intranucleares de apariencia morular en el citoplasma de los leucocitos compatibles con *Ehrlichia Spp*, tiñéndose de color rojo púrpura en la tinción de Wright o de color azul con la tinción de Giemsa durante la fase aguda de la enfermedad (2) (9) (59).

Este método diagnóstico es considerado el método más simple, rápido y económico en la detección de la *E. canis*, pero no es un método específico y es el menos sensible, a sabiendas que se pueden ver inclusiones no relacionadas a la bacteria y no distingue la especie de *Ehrlichia* lo que causa confusión y además, no detecta las bajas cantidades de bacterias circulantes en sangre, ni su diferencia morfológica (60); además es importante resaltar que un mal procedimiento puede alterar el resultados puesto que pueden existir cambios morfológicos en los eritrocitos, deformaciones celulares o precipitaciones del colorante (47) (61).

La desventaja de este procedimiento reside en la dificultad para observar la bacteria se debe al bajo porcentaje de infección celular –menos 1%-, y las inclusiones intracitoplasmáticas solo aparecen en el 4% de los pacientes infectados de donde se deriva su baja sensibilidad y que la lectura del resultado sea dispendiosa, por lo que se asume como diagnóstico positivo definitivo en un paciente con la sintomatología clínica y los parámetros hematológicos característicos de *E. canis* (62).

6.4 Microscopia directa

La microscopia directa con tinción de Giemsa o Diff Quick es un método sencillo y económico que se realiza mediante el examen de la capa leucocitaria tomada de una muestra de sangre periférica. En el análisis la bacteria aparece como racismos púrpura oscuros, pequeños puntos como mórulas en el citoplasma de los leucocitos (63). Otra de las formas de hacerla, es a través del aspirado con aguja fina a partir de nódulos linfáticos y

biopsia de nódulos linfáticos (64). Estas mórulas de la *Ehrlichia* se pueden observar durante dos semanas, en algunos animales pueden variar hasta 52 días pos-infección, por lo que la detección microscópica de los parásitos en la sangre sea más viable en fase aguda que en la fase crónica (32).

6.5 Inmunofluorescencia indirecta

La Inmunofluorescencia Indirecta –IFA por sus siglas en inglés Indirect Immunofluorescence Assay- es una de las técnicas más empleadas para el diagnóstico de Ehrlichiosis Monocítica canina y humana (65). Sin embargo, se han reportado casos de falsos positivos debido a la reacción cruzada con otros microorganismos de los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia* (66).

Es una técnica que evidencia los anticuerpos sobre extensiones de muestras clínicas que se realizan sobre un portaobjetos y que detectan el aumento o descenso de los mismos, con el uso de anticuerpos marcados con fluorocromo o molécula fluorescente que permite detectar antígenos específicos en una parte de tejido o preparación antigénica que puede ser directa, para la cual se utiliza un anticuerpo marcado con una sustancia fluorescente –fluorocromo- o la Inmunofluorescencia indirecta donde el anticuerpo empleado no está marcado con ninguna sustancia y la presencia del antígeno se revela al emplear un segundo anticuerpo marcado con un fluorocromo frente al anticuerpo primario (67).

La toma de la muestra se toma por venopunción de la vena cefálica del animal y se deposita en un tubo de ensayo sin anticoagulante y en caso de no ser procesada inmediatamente, esta muestra debe ser congelada a -20°C (9). En el proceso de análisis de la muestra a esta se le debe proporcionar una temperatura ambiente de 37°C en el portaobjetos antes de remover el empaque, y luego de esto, poner 10ul de suero diluido en los pozos designados y se incuba el portaobjeto en cámara húmeda a 37°C por 30 minutos.

Luego de esto, la lámina se debe enjuagar con solución FA Buffer, y se le elimina el exceso y se ponen 10 ul de Anti.IgG; se incuba y enjuaga y escurre para poner la muestra con solución de glicerol/FA y es observado con microscopio de fluorescencia a 100x- 250x.

Tras todos los pasos, la reacción antígeno anticuerpo se verá marcada por inclusiones fluorescentes, cuando es positiva, en caso contrario, no habrá reacción fluorescente (9).

Con este proceso diagnóstico se detectan anticuerpo después de siete días post-infección y determina los anticuerpos existentes en el animal (68). Y para su interpretación es necesario entender que los caninos pueden tardar en presentar seropositividad hasta 28 días post-infección, por lo cual es recomendado hacer una segunda prueba pasadas 2 o 3 semanas (69). La confirmación de la *E. canis* a través de este tipo de prueba requiere evaluar las muestras del paciente en la fase aguda y convaleciente para evidenciar seroconversión - diferencia de 4 veces en el título de anticuerpos- debido a que los niveles de anticuerpos pueden continuar por un periodo prolongado, incluso post-tratamiento (70). Esta técnica de Inmunofluorescencia es considerada como la prueba de oro para el diagnóstico efectivo de la *E. canis* (62).

6.6 Reacción de cadena de polimerasa (PCR)

La detección de la *Ehrlichia spp* a través de pruebas moleculares como la Reacción de Cadena de Polimerasa permite identificar la infección de individuos de forma experimental o natural en su fase aguda o crónica (71). Este método diagnóstico se considera como uno de los métodos con mayor especificidad y sensibilidad comparados con los demás métodos diagnósticos (72), además esta prueba permite caracterizar diferentes microorganismos que causan *E. canis* mediante la amplificación y posterior análisis de la secuencia del gen rRNA.

La PCR es una reacción enzimática in vitro que amplía en millones de veces una secuencia específica de ADN durante ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada y los elementos importantes en la reacción son el (ADN), la enzima, los oligonucleótidos o Primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora o buffer y H₂O. Todos estos elementos interactúan en tres etapas: desnaturalización, hibridación y extensión (73). Tras la reacción, y para corroborar si se amplificó la secuencia blanco de interés, los productos de la PCR –

amplicones- son analizados en geles de agarosa para confirmar si la reacción tuvo éxito (62).

La muestra se toma extrayendo entre 1 y 5 ml por paciente de la vena safena, cefálica o yugular con agujas desechables y se almacenan en tubos o envases vacutainer con anticoagulante EDTA y se refrigeran a 4°C hasta su procesamiento, que no debe superar las 24 horas (74). En este método diagnóstico basado en el análisis molecular del microorganismo (Reacción en Cadena de la Polimerasa), con alta efectividad puesto que los resultados son más específicos, debido a que en esta prueba no se producen reacciones cruzadas y, además, detecta la *Ehrlichia spp* en cualquiera de sus fases, así ya este tratada (74).

Por su alta sensibilidad permite el diagnóstico temprano y oportuno del agente *Ehrlichia Spp*, antes de que se desarrollen los anticuerpos y permite determinar el estado del portador y diferenciar entre todas las especies de la bacteria (75) (76), además es una prueba que se puede realizar para evaluar que el patógeno haya sido eliminado tras la terapia con antibióticos (62).

6.7 ELISA

Esta prueba posee una sensibilidad del 79,2% y especificidad del 100% si es comparada con la Inmunofluorescencia (1), pero en estudios más recientes, se ha comprobado una sensibilidad del 98.8% y una especificidad del 100% (77).

Mediante la visualización de mórulas es posible el diagnóstico inicial de la enfermedad en el extendido de sangre y en la citología de nódulos linfáticos en la fase aguda de la enfermedad, sin embargo, es importante resaltar que el diagnóstico también necesita pruebas serológicas que hacen visible la presencia de anticuerpos (78).

La prueba ELISA es cualitativa, y posibilita la detección de anticuerpos como respuesta inmunológica del huésped, y su resultado se relaciona con la condición del paciente, disminuyendo a su vez, la confiabilidad diagnóstica (79). Se obtiene por venopunción de la vena cefálica, extrayendo de 1 a 3 ml de sangre y se procesa según la prueba que se vaya a

utilizar, que puede ser, sangre completa, en tubo sin anticoagulante o jeringa, para su procesamiento inmediato (80); o bien, suero, el cual se obtiene sin anticoagulante y se deja coagular hasta la retracción del coagulo en posición de 30° por 30 a 60 minutos, o bien, plasma obtenido por centrifugación de la muestra con anticoagulante a 3000 r.p.m durante 10 a 15 minutos, o para almacenamiento del suero o plasma a temperatura de 4°C entre 2 o 3 días y a temperatura de 20°C cuando la muestra se debe conservar por más tiempo (47).

Sin embargo, también existen los kits de prueba rápida para el diagnóstico de la Ehrlichiosis canina, diseñados para detectar anticuerpos igG de *E. canis* en pacientes infectados tras 14 o 15 días de infección, puesto que para los días 4 a 7, aparece igM e IgA y solo a partir del día 15 aumenta la IgG (2) Sin embargo, algunos pacientes infectados solo desarrollan anticuerpos hasta el día 28 tras la infección (2).

Estos kits de prueba –SNAP 4DX- son de venta libre a nivel mundial y son de uso veterinario usual para el diagnóstico entendiendo que poseen alta sensibilidad y especificidad. Aunque usualmente, los médicos veterinarios primero analizan los signos clínicos a través del hemograma en donde se puede observar trombocitopenia, hemoglobina baja, proteínas altas y demás signos clínicos ya presentados, se envía el test de *Ehrlichia*, para finalmente terminar con el SNAP 4DX, pero todo esto, se realiza por cuestión de costos.

Dado este panorama y asumiendo la incidencia de las pruebas diagnósticas para la detección oportuna en las distintas etapas de la enfermedad y su posterior tratamiento en la práctica clínica, se puede afirmar que cada una de ellas permite su diagnóstico en etapas específicas de la enfermedad y evitar de cualquier modo su propagación; así, la detección de mórulas permite hacer un diagnóstico inicial de la enfermedad a través del extendido de sangre y a través de citología de nódulos en su fase aguda. Sin embargo, el diagnóstico requiere de pruebas serológicas como presencia de anticuerpos de *Ehrlichia* en los pacientes que presentes signos clínicos compatibles con la enfermedad (2).

De esta manera, se puede afirmar que el diagnóstico oportuno de la enfermedad es una ayuda importante e indispensable en la práctica clínica veterinaria, e incluso puede decirse que es una ayuda para la salud pública pues por considerarse como enfermedad zoonótica y

reemergente, no sólo se está previendo el cuidado de animales, sino también el cuidado humano, su distribución y propagación.

En Colombia, existen muchas técnicas avanzadas en los laboratorios diagnósticos, desde las más simples a las más complejas, para la detección oportuna de hemoparásitos en la sangre de animales con signos clínicos de la enfermedad, sin embargo, es necesario añadir a esto, que el diagnóstico no solo depende de la bacteriología, pues hay que asumir aquí factores exógenos que derivan de la importancia dada a las enfermedades hemoparasitarias en los distintos contextos, en donde entran a jugar un papel importante el poder adquisitivo, la centralidad de los laboratorios, la accesibilidad a los mismos y factores humanos que determinan la posibilidad de que la enfermedad sea detectada a tiempo y tratada, con el fin de salvar al paciente infectado y prevenir su propagación a otros animales y/o humanos.

Así, se podría decir que los parámetros de diagnóstico de las enfermedades hemoparasitarias, como la *Ehrlichia*, especialmente a través de extendidos de sangre periférica y técnicas de inmunofluorescencia y ELISA, son relevantes en el diagnóstico acertado de la enfermedad, sin embargo, no brindan un diagnóstico preciso, por lo que a veces, resulta necesario el uso de pruebas inmunocromatográficas, es decir, aquellos kits de prueba rápida que se venden comercialmente.

La tabla 5 explica de manera resumida cuáles son los hallazgos propios de cada método diagnóstico de laboratorio, así como el porcentaje de sensibilidad y especificidad de estos:

Tabla 5: Características de los métodos diagnósticos

MÉTODO	DETECCIÓN	SENSIBILIDAD/ESPECIFICIDAD
MICROSCOPIA	Presencia del agente	Sensibilidad: 70,1% Especificidad: 51%
ELISA	Valoración de los estímulos y las respuestas inmunitarias, exposición del vector	Sensibilidad: 96,2% Especificidad: 97,7%
IFA	Detección de anticuerpos IgG y confirmación de la exposición del patógeno	Sensibilidad: 90-100% Especificidad: 80%

PCR	Presencia del agente, es decir, detecta la infección activa y los microorganismos existentes/Análisis del gen 16S Rna.	Sensibilidad: 33,3% Especificidad: 100%
------------	--	--

Fuente: Adaptación información recopilado sensibilidad y especificidad (44, 61, 62, 71, 78).

Las pruebas serológicas más usadas para el diagnóstico de *E. canis*, alrededor del mundo, son la Inmunofluorescencia indirecta (IFA), la PCR y la prueba ELISA. Los kits de prueba rápida, por su parte, toman cada vez mayor fuerza, por su rapidez y facilidad de uso, por lo que se ha convertido en la prueba reina en distintos laboratorios de América Latina, en donde la prevalencia de la enfermedad es mucho mayor (81).

Sin embargo, cada día, las técnicas diagnósticas revolucionan mucho más, incluso, técnicas a nivel molecular que permiten conocer los genes involucrados en presencia de antígenos en los microorganismos Ehrlichiales (44). Es por ello, que profesionales en salud, están en búsqueda de inmunizar de manera eficiente a los pequeños animales, entendiendo la proximidad entre estos y los humanos. Todos estos avances y procesos diagnósticos se realizan a través de la codificación de proteínas, que son insertadas en microorganismos y que a su vez, expresan las proteínas en grandes cantidades. Estas proteínas, son base de una inmunización dirigida contra las proteínas que promueven la respuesta inmune en los animales infectados por *E. canis* (82).

De esta forma, evidenciamos la importancia del diagnóstico, basado en las manifestaciones clínicas, alteraciones hematológicas y las pruebas diagnósticas, como una herramienta definitiva y de valor absoluto en la prevención de futuros contagios, así como también el tratamiento oportuno y adecuado para los animales ya contagiados (ver anexo 7).

Capítulo III

7. Nuevas investigaciones: Avances

7.1 Diagnóstico histopatológico

En animales positivos con la enfermedad se observan lesiones en diversos órganos y tejidos, entre los hallazgos histopatológicos más frecuentes se incluyen las infiltraciones de células linfocitares y de células plasmáticas en distintos órganos y tejidos (83). Mayormente, se establecen hallazgos histopatológicos asociados a cuadros hiperplásicos en los nódulos linfáticos; además de histiocitosis, eritrofagocitosis, vasculitis mononuclear (84).

7.1 Ampliación isotérmica mediada por bucle

Este método diagnóstico vanguardista, LAMP –por sus siglas en inglés Loop-mediated Isothermal amplification-, es una nueva técnica de muy bajo costo y más rápida que no requiere el uso de termociclador y que su resultado puede evidenciarse en los tubos de prueba (81), además posee una mayor especificidad comparada con la prueba PCR y reconoce 6 regiones en el DNA muestreado. Distintos estudios han establecido esta prueba como un test de ácido nucleico o NAT -por sus siglas en inglés- rápido, sencillo y a bajo costo en caso de poderse vender comercialmente (82).

7.2 Epidemiología molecular

Los estudios epidemiológicos en garrapatas y los patógenos que se transmiten, son una puerta al progreso en términos de pruebas diagnósticas de *Ehrlichia* (85), permitiendo garantizar un mayor control epidemiológico de la enfermedad, e incluso, poder predecir la dinámica de esta en poblaciones de alta susceptibilidad, lo que conllevaría a generar medios de control, intervención y/o prevención de estas, así evita de esta manera su propagación y contagio tanto en animales como en humanos.

Respecto a estos dos últimos procedimientos diagnósticos, se debe decir que en Colombia, las pruebas moleculares aunque son utilizadas, no son comercialmente accesibles a la mayor parte de la comunidad, debido a sus altos costos, complejidad y sobre todo, a los pocos laboratorios que hacen uso y se especializan en estos.

8. Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular realizado a partir de pruebas PCR, es hasta ahora, uno de los métodos con mayor sensibilidad. Fue así como Mc Bride *et al*, (44) lograron determinar que la proteína p30 de *E. canis* era codificada por genes múltiples y que estos, a su vez, codificaban subunidades de proteínas p30, partiendo del hallazgo de sistema análogo de las especies *E. chaffeensis*, *A. marginale* y *C. ruminantium*.

En humanos, por su parte, las proteínas de superficie *rOmpA* y *rOmpB* son las que determinan las enfermedad del género *Rickettsia spp.*, las cuales son genéticamente muy similares al género *Ehrlichia spp.*, sin embargo, a diferencia de estas, las primeras destruyen células endoteliales que ocasionan manchas rojizas sobre la piel e incluso, en órganos internos (86).

A hoy, el uso de proteínas recombinantes constituye la base principal para la investigación sobre el diagnóstico molecular (87). Esta forma diagnóstica se debe a que existen reacciones cruzadas entre *E. canis* y *E. chaffeensis* debido a su peso molecular similar codificadas por familias multigénicas de genes homólogos. Cuya familia multigénica *p28*, se compone por 21 subunidades para *E. chaffeensis* y un valor similar para *E. canis* (88).

La importancia de la familia multigénica *p28* de *E. canis* en el diagnóstico oportuno de la enfermedad, radica en que esta no varía entre las cepas de diferente distribución geográfica (44). Contrario a la familia *p28* de *E. chaffeensis* cuya variación genética es evidente respecto a su ubicación geográfica.

Por otra parte, es la proteína *p43* es detectada en el 100% de animales infectados por *E. canis*, pero no en el genoma de *E. chaffeensis*. Esta proteína se ha convertido en la

herramienta por excelencia en el diagnóstico molecular de la enfermedad en humanos y animales, pues no da pie a confusiones con otras especies para su diagnóstico (44).

Aunado a esto, la proteína recombinante *rMAP2* de *E. canis* y *E. chaffeensis* tiene una especial trascendencia en el diagnóstico de la enfermedad, ya que esta está presente en animales y humanos infectado (89), sin embargo, no permite diferenciarlas serológicamente.

La variación antigénica en las proteínas es uno de los problemas que han impedido, no solo el diagnóstico, sino también la producción de vacunas a nivel mundial, ya que la mayoría de los genes varían de acuerdo con su contexto geográfico (88).

Capítulo IV

9. Tratamiento

El tratamiento para la *E. canis* se enfoca en el control del vector en el entorno y en el hospedador (38), que puede ser a través del uso de fármacos específicos que se deben recetar por un médico veterinario, que permita eliminar el agente causal y la terapia de apoyo sintomática para la recuperación total del paciente (54). El tratamiento, incluye medicamentos antirickettsiales. Los fármacos con mayor éxito en el tratamiento son la tetraciclina y cloranfenicol, dipropionato de imidocarb y la amicarbalida (21).

9.1 Control del vector

El control del vector, se refiere al control de las garrapatas en el entorno y en el cuerpo del hospedador, para lo cual se debe hacer control no químico, que corresponde a mantener los espacios despejados de pasto y hierbas, y de esta forma el suelo incrementa sus temperaturas y las garrapatas mueren por deshidratación; o bien, a través de insectos, que es un tipo de control de biológico, que disminuye significativamente la población de garrapatas (38). Por otro lado, este control también puede ser químico, y corresponde al control del entorno a través de insecticidas, o bien, el control del vector en el animal a través de baños con shampoos insecticidas o antiparasitarios externos (54).

9.2 Control del agente

El control del agente, se hace a través de fármacos, mayormente del grupo de las tetraciclinas y lo que hacen es unirse a la subunidad de ribosoma y de esta forma impiden la elongación de la cadena y alteran la síntesis de proteínas (21) (11). Sin embargo, como muchos medicamentos, tiene efectos secundarios y no se debe usar en animales cachorros – menores de 6 meses-, ya que derivan afinidad por el calcio y son nefrotóxicas, por lo que tampoco deben administrarse en pacientes con insuficiencia renal (9) (54).

Un estudio turco, demostró que la administración de doxiciclina combinada con cloroquina para el tratamiento de la enfermedad disminuía potencialmente los signos clínicos y los parámetros hematológicos anormales (84).

Los fenicoles, además, se usan habitualmente en el tratamiento de la enfermedad pues estos alteran de forma parcial la síntesis de proteínas, uniéndose a la subunidad del ribosoma e inhibiendo la actividad de la enzima peptidiltransferasa, lo que impide la unión de aminoácidos a la síntesis de proteínas (85).

9.3 Tratamiento de apoyo

Esta terapia se hace a través del suministro de fluidos, bien sean electrolitos o transfusiones de sangre o plasma, para animales con anemia o hemorragias debidas a la trombocitopenia (11). Tras el uso de este tratamiento, es recomendable hacer un recuento plaquetario para evaluar la eficacia de la terapia (60).

Por su parte, las alteraciones del proteinograma, los valores de la albúmina y las globulinas se normalizan tras 3 o 9 meses, e incluso 12 meses hasta volver a la normalidad (1). Sin embargo, los anticuerpos específicos de *Ehrlichia spp* suelen disminuir tras el tratamiento eficaz y aproximadamente tardan en negativarse entre los 6 a 9 meses (49). Sin embargo, existen animales que mantienen los títulos de los anticuerpos durante años, por lo que se debe asegurar un tratamiento adecuado, o control constante del animal (54).

Capítulo V

10. Ehrlichiosis como zoonosis

Las *Ehrlichias*, como ya se ha estipulado son un grupo de enfermedades transmitidas por garrapatas que amenazan tanto a animales como a humanos y están presentes en países desarrollados y en desarrollo, endémicas de regiones tropicales y subtropicales, pero que actualmente se presenta como una enfermedad reemergente en zonas no endémicas por causas ecológicas, climáticas y antropogénicas. Esta redistribución se asocia además con nuevas prácticas agrícolas, comerciales respecto a las áreas o hábitats naturales y en ese sentido, las zoonosis cada vez tienen mayor protagonismo en las causas de morbilidad y mortalidad humana, especialmente en áreas rurales de los países en desarrollo (90).

Los agentes de las *Ehrlichias* y *Anaplasmosis* se mantienen en la naturaleza en ciclo enzoótico por medio de las garrapatas que habitan animales silvestres y domésticos como reservorio y diseminador de los patógenos. Sin embargo, es trascendental comprender el potencial zoonótico de estos agentes en la relación ecosistema-mascota-humano y la importancia de comprender su impacto en la salud pública, entendiendo que esta se transmite de forma natural entre animales y humanos, además por la alta prevalencia de los vectores y su adaptación eficaz al entorno en distintos contextos climáticos, puede llegar a afectar a personas de cualquier edad y sexo, por la conjugación del entorno perro, garrapata y humanos (7). Y de esta forma se considera que los pequeños animales, son hospedadores naturales del vector y los humanos conviven en un mismo entorno, estos pueden llegar a infestar a los humanos (91).

Anteriormente, se conceptualizaron las 6 especies de las *Ehrlichias*: *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. canis*, *E. muris*, *E. Ruminantium* y *E. mineirensis* (90). Sin embargo, son las especies *E. canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *E. chaffeensis* los agentes etiológicos que afectan a cánidos, félidos y humanos (92).

La historia de las *Ehrlichias* es larga en animales, pero en humanos no tanto, entendiendo que su frecuencia está dada por nuevas especies de las *Ehrlichias*, debido a que los

reservorios animales y los vectores de las garrapatas han ido en aumento y los humanos habitan dichas áreas endémicas (91).

Investigadores venezolanos en 2016 aseguraron que la primera infección humana con *E. canis* fue reportada en 1996 a partir de un aislamiento en cultivo celular y una caracterización genética realizada a muestras tomadas de un humano asintomático con infección crónica (93) y nueve años después, fueron diagnosticados 6 nuevos casos clínicos de Ehrlichiosis Monocítica Humana –EMH-, confirmado a través de la prueba de Reacción de Cadena de la Polimerasa –PCR- (94), por lo cual, es necesario darle importancia al potencial zoonótico del patógeno. Y desde esa fecha, se han reportado 2396 casos de infección por *E. chaffeensis* con distintas variaciones geográficas: en un 0,3% en algunas regiones endémicas y 0,02-0,06% en otras, con tendencia de aumento en los meses de mayo y agosto (93).

Esta expansión de vectores a áreas no endémicas se debe a diversos factores, que van de la mano o se traducen, en el cambio climático, factores bióticos, apertura de fronteras, expansiones habitacionales y otros asociados (95). Sin embargo, los riesgos de contagio pueden ser evitados con controles químicos y no químicos del vector, mencionados anteriormente.

En ese sentido, es evidente la importancia que tienen las herramientas diagnósticas, especialmente aquellas de diagnóstico molecular, que son las que han encargado del avance en la identificación de los patógenos indeterminados(95)., y por ello, sigue siendo importante avanzar en términos diagnósticos, acción que le compete a bacteriólogos y que se vuelve fundamental en términos de intervención, prevención y gestión del riesgo para abordar asertivamente los problemas emergentes de salud pública (96) De esta manera, la mitigación y prevención propenderán por mejores acciones para combatir las zoonosis, la prevención de enfermedades rickettsiales y el control de ectoparásitos (97).

Sin embargo, las enfermedades derivadas de las *Ehrlichias* no son fácilmente diagnosticadas puesto que poseen alta inespecificidad clínica asociada a otra enfermedad (98), sumado a que no existe en Colombia acceso a laboratorios para realizar pruebas de inmunofluorescencia indirecta (97). Muchos estudios de brotes surgidos en el país han

asociado la ausencia de un diagnóstico oportuno a las altas tasas de mortalidad de las enfermedades zoonóticas (98, 99, 100, 101).

11. Redistribución geográfica del vector

Colombia, tiene variedad de pisos térmicos, estaciones climáticas y niveles respecto al mar, sin embargo, es el trópico colombiano y sus componentes, los principales factores para la proliferación de garrapatas y con ello, la proliferación de enfermedades que de ellas se derivan, aumenta además el riesgo de contagio e incremento de las probabilidades de transmisión de patógenos en animales y humanos (100), sin embargo, debido a factores exógenos y globales como el cambio climático, la movilización de personas, los nuevos medios de producción agrícola, la apertura de la economía y otros, han generado un movimiento de los vectores y patógenos a áreas no endémicas en el país (99, 101) . Y en ese sentido, la nueva re-distribución geográfica requiere una atención oportuna y minuciosa que permita establecer mecanismos de prevención que posibiliten frenar los contagios y disminuir el riesgo de que, tanto animales como humanos, adquieran alguna enfermedad hemoparasitaria (102).

En ese sentido, el papel de los bacteriólogos cobra especial trascendencia, entendiendo la importancia que tiene un diagnóstico oportuno y específico de la enfermedad, lo que permita generar protocolos de acción para atender al paciente infectado y a los posibles contagios que le devienen, asumiendo el rol que como profesional se tiene en el impacto de la enfermedad en la salud humana y animal como un factor determinante para minimizar riesgos de contagio, pero especialmente, la propagación de esta y otras enfermedades infecciosas de orden zoonótico, su re-distribución y tratamiento de la misma (106).

12. Metodología

La metodología se desarrolla de acuerdo con las normas y orientaciones para el desarrollo de revisiones sistemáticas de literatura especializada, la cual se inicia con la búsqueda, selección, análisis y recolección de información científica de alto interés académico, enfocada en los métodos diagnósticos de laboratorio de la *E. canis*. Lo anterior se desarrolló a través de una búsqueda bibliográfica en distintas fuentes como primarias, secundarias e incluso terciarias, en distintas bases de datos como Science Direct, Scielo, DialnetUnirioja, Elsevier, Evidence, Scopus, PubMed y Google Academics a las que el autor tuvo acceso y fueran de interés académico.

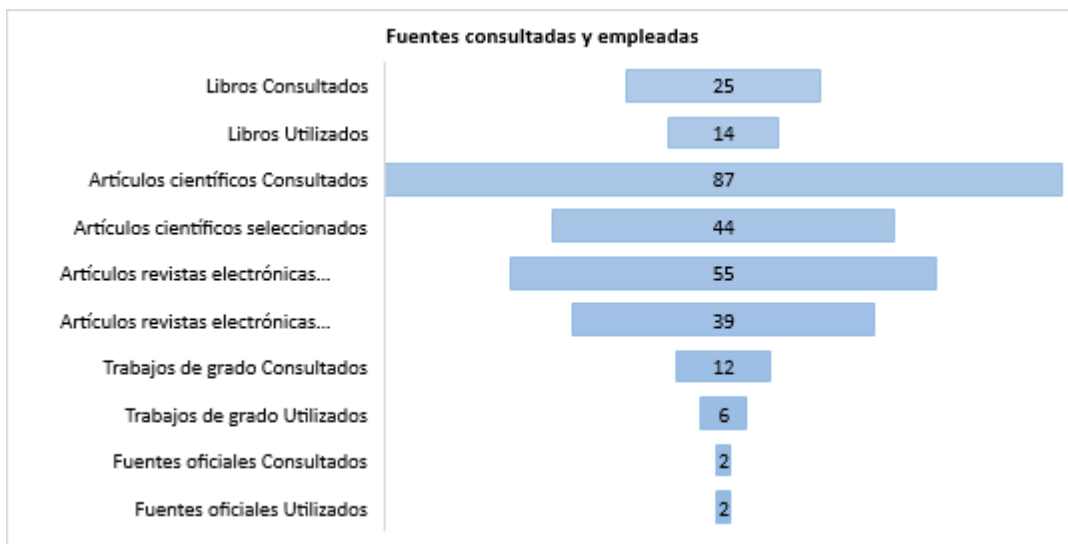
Para la búsqueda de la literatura, se utilizó un filtro manual para el área de salud animal y humana, principalmente, pero también, se realizó una búsqueda desde el ámbito ambiental, social y de salud pública, entendiendo la intención de generar un panorama sobre la *E. canis* desde esferas interdisciplinarias.

De esta forma, la búsqueda se realizó en mayor medida bajo la referencia de procesos diagnósticos de laboratorio de la enfermedad, así como de los posibles hallazgos y signos clínicos y hematológicos presentes en pacientes infectados, principalmente la trombocitopenia, la anemia no regenerativa, la pancitopenia y otras.

De acuerdo con el número de documentos empleados para apoyar la consolidación de esta revisión de literatura, se puede compartir que se analizaron en gran número documentos que incluían las palabras claves de criterios de búsqueda: *E. canis*, Zoonosis, Diagnóstico clínico, bacteriología. De este modo se agruparon 287 textos tomados de las distintas bases de datos consultadas: DialnetUnirioja, Elsevier, Evidence, Google Academics, PubMed, Scielo, Science Direct y Scopus.

Posteriormente se filtraron un total de 106 textos que permitieron recolectar la información aquí presentada.

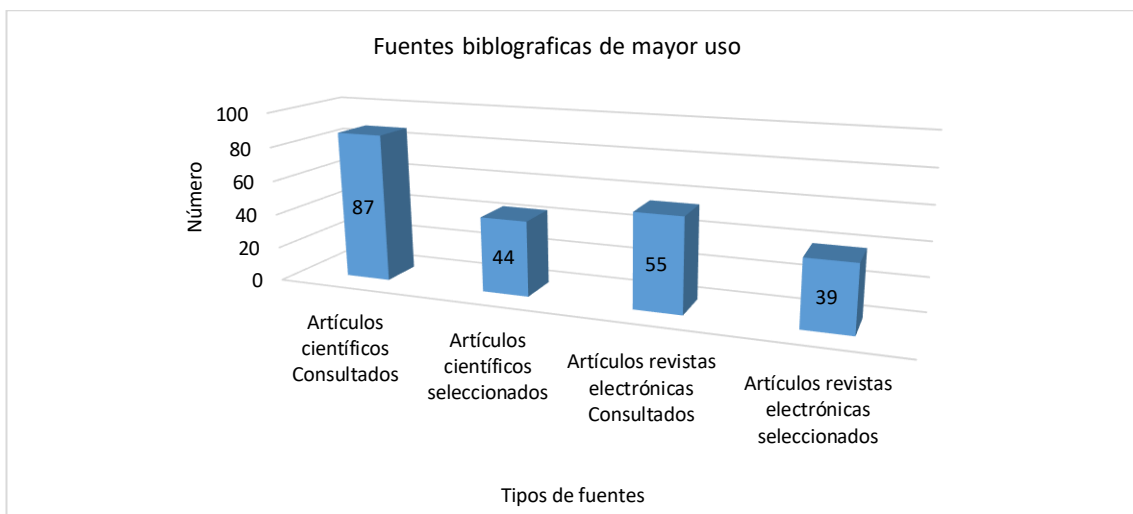
Gráfico 1. Fuentes consultadas Vs fuentes empleadas



Fuente: elaboración propia.

Del total de las fuentes empleadas para la revisión sistemática se emplearon en mayor proporción artículos científicos, en el Gráfico 2 se presenta en resumen la información:

Gráfico 2. Fuentes bibliográficas de mayor uso



Fuente: elaboración propia.

El proceso de selección de estos documentos, se hizo a partir de una matriz de referencias, en donde se seleccionaron aquellos textos académicos de interés y especialmente aquellos que presentaban información rigurosa y acertada que pudieran dar respuesta a los objetivos de este trabajo, en donde se organizó cada texto por autor, título, objetivos, tipo de documento y año de publicación, esta matriz permitió establecer la cercanía y relación con el tema de interés de este trabajo.

En la tabla 6, se podrá evidenciar un bosquejo de la matriz de clasificación de las fuentes bibliográficas consultadas, con la cual se lograron sesgar aquellas fuentes que eran de interés para la realización de este documento.

Tabla 6: Matriz de clasificación de fuentes bibliográficas.

AUTOR(ES)	TÍTULO	OBEJTIVO	TIPO DE DOCUMENTO	AÑO
Mccown, Michael E; Monterroso, Víctor H; Cardona, W.	Monitoreo e investigación de perros en las ciudades de Medellin, Barranquilla y Cartagena en Colombia y determinar la existencia de enfermedades como la enfermedad del gusano del corazón (“ <i>heartworm disease</i> ” - <i>dirofilaria immitis</i>), <i>ehrlichiosis</i> (<i>ehrlichia canis</i>), <i>lyme disease</i> (<i>borrelia burgdorferi</i>) y <i>anaplasmosis</i> (<i>anaplasma phagocytophilum</i>).	Ofrecer información suficiente respecto a la epidemiología de la enfermedad y a la distribución de su agente causal y vector, a nivel nacional y mundial con el fin de predecir la dinámica de esta en concordancia con el cambio climático.	Artículo revista electrónica	2015
González-Morteo C; De La Cruz-Moreno, O; Álvarez-Guerrero, C; Borrayo-González, J.	Presencia de estructuras sugestivas de Ehrlichiosis en perros de la ciudad de Tepic Nayarit	La enfermedad Ehrlichia es un factor de riesgo para la salud pública del estado de Nayarit, ya que este reúne todas las características medio ambiente favorables para el desarrollo de esta enfermedad zoonótica.	Artículo revista electrónica	2017
Waner T; Harrus S.	Carmichael LE ed. Recent Advances in Canine Infectious Diseases. Ithaca, New York: International Veterinary Information Service	In this series of 11 monographs, authors were chosen because of their proficiency as clinicians or as individuals who have done recent research in the area of their expertise. The goal is to provide veterinarians and others	Libro	2000

		<p>interested in canine infectious diseases with a concise account of the current status of each disease discussed. Where appropriate, each author was invited to provide a brief overview of the subject, including definition of the disease, its natural history and a brief description of the properties of the etiological agent. Also included are important aspects of the epidemiology and pathogenesis of each disease. Salient clinical signs and pathological features also are noted, as well as factors that affect severity of disease or the prognosis. Newer diagnostic methods are included in most discussions. Also included, where appropriate, are current views on prevention and control, including vaccines or vector control</p>		
--	--	--	--	--

Fuente: adaptación de estructura de sistematización sugerida (ver anexo 8).

12.1 Tipos de fuentes

- Libros
- Artículos científicos
- Artículos de revisión
- Tesis de grado
- Fuentes oficiales (Ministerio de Educación y Ministerio de salud, ESSCAP).

12.2 Criterios de inclusión

Para los criterios de inclusión se utilizaron un total de 287 documentos entre los que se cuentan libros, artículos, tesis y otros, sin embargo, de estos se incluyeron 106 en la base de todo el documento y finalmente, para la realización de la discusión y las conclusiones. Para su selección se establecieron criterios claves que determinaron la pertinencia o no de los mismos para los objetivos del trabajo.

Estos criterios se centraron en:

- Textos que incluyen las palabras clave
- Textos en español, inglés y portugués
- Textos académicos que incluyen métodos diagnósticos de *E. canis*, principalmente.
- Textos que incluyeran conceptualización del tema, datos de interés, que podían incluso no pertenecer exclusivamente al campo bacteriológico, sino también, estudios veterinarios, humanos, factores climáticos y demás, que incluyeran la enfermedad como foco de interés para sus estudios.

12.3 Localización de los estudios de investigación

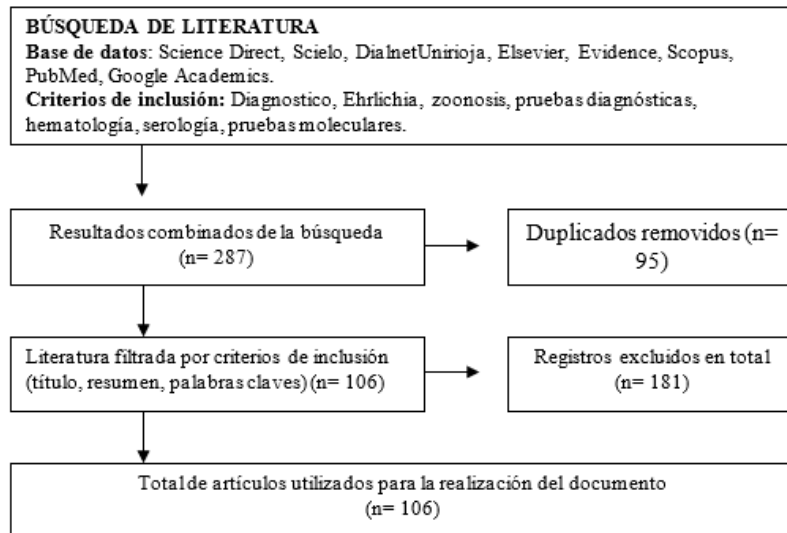
Se realizó una búsqueda exhaustiva sobre literatura reproducible sobre el tema de métodos diagnósticos de *E. canis*, en bases de datos electrónicas, con búsquedas detalladas en revistas y/o portales relacionados, así como búsquedas de ‘literatura gris’.

12.3.1 Bases de datos

Las bases de datos bibliográficas son compilaciones de contenido científico-técnico, en donde se pueden encontrar de divulgaciones, que agrupan contenidos, que tienen como objetivo reunir toda la creación bibliográfica posible sobre un área de conocimiento. Las bases de datos consultadas que se estipulan como las más consultadas y de mayor peso especialmente en el área de ciencias de la salud con Scopus y Pubmed, en ellas se logró encontrar artículos académicos y científicos, tesis y libros relacionados con la temática. En

la ilustración 2, se puede evidenciar el proceso que se realizó frente al uso de las bases de datos.

Ilustración 2: Diagrama de flujo de inclusión de artículos



Fuente: Adaptación recopilada de la guía de normas prisma.

13. Discusión

La *E. canis* como enfermedad con alto potencial zoonótico, que es una enfermedad transmitida a través de ciclos enzoótico entre garrapatas y animales, por la ineficiente transmisión transovárica de las garrapatas, se ha convertido en el centro de muchas investigaciones, tanto por constituirse como zoonótica, como por haberse convertido en una enfermedad reemergente y con redistribución geográfica, haciendo presencia en lugares donde no se presentaba anteriormente y bien, ha pasado a considerarse como una enfermedad que atenta contra la salud pública mundial (9).

Esta relevancia en salud pública está dada por la alta prevalencia del agente en animales y sus garrapatas (7), aumenta la probabilidad de contagio en humanos, además de la redistribución geográfica y acoplamiento a nuevos contextos del agente.

Dentro de la literatura traída a colación y utilizada para evidenciar las distintas pruebas diagnósticas de la *E. canis*, se logra evidenciar que las pruebas ‘tradicionales’ de laboratorio no tienen la especificidad necesaria para determinar el diagnóstico de la enfermedad (44,81), pues esta, suele confundirse con otras infecciones y/o enfermedades; sin embargo, los estudios, investigaciones y avances van en aumento, dada la importancia creciente que ha tomado la enfermedad a nivel mundial por los motivos anteriormente expuestos. Sin embargo, debe decirse, además, que muchos de estos textos, enfocan sus estudios en la medicina veterinaria, por lo que en este trabajo, además de hacer una conceptualización de la enfermedad, se realizó un análisis desde una perspectiva enfocada en el quehacer bacteriológico, entendiendo que como profesionales en el campo, estamos llamados a aportar en el diagnóstico, a sabiendas que es desde ahí, es desde donde se previene, en gran medida, la propagación de la enfermedad, por lo cual, se recomienda fortalecer la investigación en diagnóstico de la enfermedad, asumiendo la escasa literatura especializada en enfoques diagnósticos desde el área de bacteriología y no de medicina veterinaria como habitualmente se encuentran.

En efecto, la alerta evidente por la salud pública respecto de esta enfermedad, corresponde no solo a los profesionales en medicina veterinaria, sino también a bacteriólogos como puentes determinantes en la mitigación del riesgo de contagio a nivel mundial. Aunque aún existan vacíos en el diagnóstico y sea una de las propuestas finales de este documento, aquí se pretendió proporcionar una base para mejorar el diagnóstico de la enfermedad, su prevención y control.

Por otra parte, entre los hallazgos más evidentes en todo el proceso de revisión literaria, se pudo encontrar un factor determinante en la redistribución del agente, que corresponde al cambio climático y factores humanos asociados a la apertura de fronteras, comercio internacional, migración de personas, cambios del paisaje y demás factores asociados a la movilización de personas, animales, productos y demás alrededor del mundo, lo que genera una capacidad adaptativa y evolutiva de los artrópodos que los han movilizados a ecosistemas de los que no son propios (5).

La prevalencia de casos en Colombia, atribuidos a distintas especies de *Rickettsias* y transmitidas por garrapatas, necesita ser objeto de estudio debido a su relevancia para la salud pública (5) y es una de las conclusiones generales que se puede encontrar en casi toda la literatura consultada, en donde se exponen motivos similares, especialmente, por su potencial carácter zoonótico.

En lo referente al tema de interés, que es el diagnóstico clínico de laboratorio de la enfermedad, se coincide en que los signos clínicos de la enfermedad, pueden llegarse a confundir con otras patologías como babesiosis, distemper, hepatitis infecciosa, leptospirosis y otras, lo que ha impedido que el diagnóstico sea oportuno y definitivo, por lo que la realización de pruebas específicas, como los kits de prueba rápida basado en la prueba Elisa (uno de los más usados actualmente), pruebas de Inmunofluorescencia y PCR (44).

Además, de que en definitiva, los autores discrepan sobre la importancia de conocer el tema con el fin de evitar la pérdida de tiempo en procedimientos no indicados. Por tanto, es deber de profesionales asociados, tener mejor y más actualizado conocimiento sobre la patología, que posibilite diagnosticar oportunamente la enfermedad en aras de prevenir y mitigar las probabilidades de contagio (56).

Por otra parte, y más enfocados ya en lo relevante al tema central de esta revisión de literatura, muchos autores como López, J, et al, Leal M, Mc Cown y colaboradores y otros, coinciden en la importancia que tienen los métodos diagnósticos en la prevención de la enfermedad y precisan en la trascendencia que tiene, primero, el hemograma para corroborar de forma más precisa la sintomatología clínica, antecedentes de garrapatas en el paciente y de esta forma, tener evidencia hematológicas para proceder a precisar en el diagnóstico. Sin embargo, y entendiendo lo confuso que puede llegar a ser el diagnóstico de la enfermedad, la técnica indirecta de ELISA y la PCR, son los métodos por excelencia para confirmar de manera precisa la presencia de la enfermedad en los pacientes. Ahora bien, esto no excluye a las demás pruebas de ser utilizadas en el diagnóstico, sin embargo,

en la mayoría de casos, se usan estas, ya que arrojan los resultados necesarios para determinar la presencia de la enfermedad a partir de hallazgos hematológicos compatibles con *E. canis* –citopenias-.

Ettinger y Feldman (21), expusieron además, que cuando los resultados suelen ser negativos y positivos al tiempo, es decir, negativos en su sintomatología clínica y serológica y positivos en el cuadro hematológico, posiblemente el paciente padezca otra infección como *Babesia spp.*, *Leptospira spp* y otras, con lo que el diagnóstico se dificulta debido a que las especies de *Ehrlichias* no son detectadas en totalidad con pruebas comerciales.

Entre los hallazgos con más significancia encontrados en la revisión literaria, se encuentran:

- La trombocitopenia, como el hallazgo hematológico más frecuente en pacientes infectados con la enfermedad (81), en ese mismo sentido, Neer (51) establece un porcentaje del 82% de casos positivos para *E. canis* que presentan esta alteración hematológica; aunque bien, la ausencia de trombocitopenia, no descarta tampoco la presencia de *E. canis* en los pacientes (21).
- La leucopenia, es una alteración común entre los pacientes positivos para *E. canis* (52). El bajo conteo de leucocitos se debe a la destrucción masiva de células en el torrente sanguíneo –linfocitos y monocitos- que son blanco de la *E. canis* (51).
- La anemia a nivel hematológico, es significativa puesto que la mayoría de paciente con esta alteración, presentaron positividad para la enfermedad, un total de 82% como lo estipula Neer (51), y que a su vez, desemboca en anemia no regenerativa (52) debido a la supresión en la producción de glóbulos rojos; además de la destrucción de eritrocitos debido a trastornos inmunomediados (55).

Por su parte la baja de las 3 líneas celulares: glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas, ha mostrado especial trascendencia debido a la frecuente presencia de pancitopenia (81), que es común entre los pacientes en fase crónica de la enfermedad (30). Concluyéndose

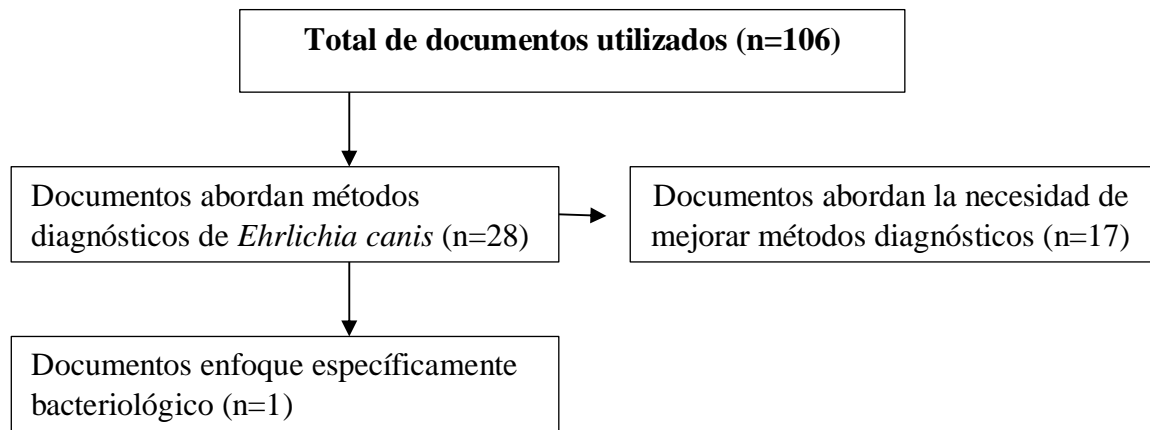
que los signos inespecíficos en fase aguda son latentes y por ello la dificultad evidente de diagnosticar oportunamente la enfermedad (1). En este sentido, los hallazgos de alteraciones hematológicas como pancitopenia, trombocitopenia y anemia, son clave en el diagnóstico oportuno de la *E. canis* (50).

Por su parte, los autores consultados, en su 90%, tienen un enfoque clínico veterinario, cuyo fin último es el tratamiento de la enfermedad. De los 106 artículos utilizados, 28 de ellos, es decir el 26,42%, dedican al menos un capítulo o apartado de su trabajo para abordar algunas técnicas de diagnóstico, en donde prevalece la prueba ELISA, la PCR y los kits comerciales de prueba rápida de *E. canis*, un tema, que a pesar de no ser el tema central del 100% de los textos, en todos se estipulan por lo menos, grosso modo, una o varias de las técnicas diagnósticas.

De los 28 trabajos que contienen en su índice, las pruebas diagnósticas como uno de sus temas centrales, 17 de ellos, es decir, el 16,04% del total de trabajos, estipulan la necesidad de mejorar en las técnicas de diagnóstico, entendiendo la dificultad reinante en el proceso, puesto que las pruebas de laboratorio no son lo suficientemente específicas y sensibles en la detección de las distintas especies de *Ehrlichias*, por lo que se puede llegar a confundir el diagnóstico con otras infecciones relacionadas, por lo que su tratamiento es difícil y su propagación cada día más acelerada. Sin embargo, de todos los trabajos consultados, solo 1 de ellos (46) tuvo un enfoque bacteriológico netamente enfocado en los procesos diagnósticos, sin embargo su vigencia está un poco obsoleta a la fecha, por lo que este trabajo tiene peso para los profesionales en bacteriología con enfoques veterinarios.

Por otro lado, de la totalidad de trabajos, el 12,26% de ellos, estipulan como relevante el carácter zoonótico y la afección que esta tiene en la salud humana, por lo que se hace especialmente necesario establecer criterios diagnósticos más precisos para que esta no se convierta en un problema peor de salud pública a mediano y largo plazo.

Ilustración 3: Diagrama de documentos utilizados



Fuente: Adaptación recopilada de la guía de normas prisma.

De esta manera, y como ya se ha dicho, se evidencia la importancia que se le debe dar al diagnóstico de la *E. canis*, a partir de las manifestaciones clínicas, los hallazgos hematológicos y las pruebas diagnósticas como herramientas definitivas en la prevención de futuros contagios de la enfermedad.

De esta forma, se evidencia la importancia del diagnóstico, basado en las manifestaciones clínicas, alteraciones hematológicas y las pruebas diagnósticas, como una herramienta definitiva y de valor absoluto en la prevención de futuros contagios, así como también el tratamiento oportuno y adecuado para los animales ya contagiados.

En cuanto a lo relevante para este trabajo, los hallazgos hematológicos más comunes y consistentes en la *E. canis*, son la trombocitopenia, la anemia no regenerativa y la pancitopenia (10).

En la fase aguda es común la leucopenia y la anemia moderada; en la fase subclínica, la trombocitopenia es moderada pero es un hallazgo significativo para el diagnóstico de la enfermedad. Durante la fase crónica, se evidencia trombocitopenia severa, leucopenia y

anemia no regenerativa, sin embargo en esta fase, la pancitopenia severa ocurre como resultado de una médula ósea hipocelular suprimida (10).

Todo lo presentado en este documento permite inferir que existe la necesidad mejorar en técnicas diagnósticas que permitan atender oportunamente a los pacientes y evitar, así, su propagación a otros animales y humanos.

14. Conclusiones y recomendaciones

En los documentos consultados mediante el análisis bibliográfico, se encuentra que la *E. canis*, es una enfermedad de distribución mundial y reemergente (6), que afecta a la mayor parte de mamíferos y se convirtió en una enfermedad zoonótica que puede afectar a los humanos (30), que cuenta con muchos procedimientos diagnósticos pero estos son limitados e impiden el diagnóstico oportuno de la enfermedad. Por lo cual, el rol de los profesionales en Bacteriología es trascendental, al vincularlo directamente con el apoyo diagnóstico mediado por el trabajo interdisciplinario; entendiendo que las técnicas utilizadas para la confirmación de la *E. canis* posibilitan el tratamiento de esta y evitan, a su vez, la propagación de la infección.

En esta revisión sistemática de literatura se encontró que la presencia de la infección en las muestras de sangre, es la prueba de la alta prevalencia de estos agentes, entendiendo que autores como Mc Cown, Ettinger y Fieldman, López, *et al.*, y otros argumentaron como inespecíficos los signos clínicos de la enfermedad, especialmente en la fase aguda; además se asumen la *E. canis* como una enfermedad de alta propagación a otros animales y humanos, para lo cual, se deben tener parámetros que frenen su alcance e impidan la infección en humanos y que disminuyan así su riesgo potencial para la salud pública.

De acuerdo con los resultados de los documentos consultados, se concluye que el diagnóstico de la *E. canis* debe hacerse a través de métodos diagnósticos específicos y sus respectivos hallazgos hematológicos, serológicos y/o moleculares, y no únicamente basado en la descripción de los signos clínicos evidentes, puesto que su inespecificidad posibilita que esta sea confundida con otras enfermedades o infecciones semejantes, por ello, su diagnóstico correcto debe basarse en un correcto y detallado análisis de la anamnesis y la interpretación de pruebas sanguíneas para un correcto diagnóstico (21).

En este trabajo de revisión sistemática de literatura se logra evidenciar vacíos en términos de diagnóstico de la enfermedad, por lo cual es evidente la necesidad de fortalecer las investigaciones y nuevos avances que permitan la caracterización de la *E. canis* de forma más rápida, impidiendo que sus efectos y propagación aumenten de forma considerable, así

como la mitigación de las zoonosis, enfermedades Rickettsiales y demás asociados desde el quehacer de profesionales en Bacteriología (96). De igual manera se encuentra coincidencia en que se debe recalcar la importancia de generar mayores estudios que posibiliten fortalecer los conocimientos sobre la *E. canis*, una enfermedad que día a día se propaga con más facilidad debido a factores asociados a la vida humana, económica, agropecuaria y habitacional y con ello, fortalecer el interés de los bacteriólogos por promover los análisis clínicos veterinarios para responder oportunamente a esta amenaza emergente (102).

En cuanto a la relación de la enfermedad y su carácter reemergente, con esta revisión sistemática se cumple con el objetivo general del trabajo, sobre desarrollar una revisión orientada al diagnóstico de laboratorio de la *E. canis*, a través del cumplimiento de los objetivos específicos. Ya que el trabajo articulado permitió hacer una conceptualización de lo que es la enfermedad, sus agentes, vectores, formas originales y redistribución de esta, incluidos sus factores detonantes, para después, ultimar sobre los criterios diferenciales de la enfermedad tanto en signos clínicos como en hallazgos hematológicos, serológicos y moleculares, al concebir que su diagnóstico se limita por la incapacidad diagnóstica.

De acuerdo con la información científica hallada, el diagnóstico y sus deficiencias, ha sido el detonante para que se confunda la *E. canis* con otras infecciones similares y no se le dé el tratamiento adecuado, además de acelerar su distribución, lo que ha derivado en un problema de salud pública (69).

El estudio de los textos consultados para su posterior análisis, permite recomendar a los profesionales en Bacteriología dar mayor trascendencia a los procesos diagnósticos de enfermedades con carácter zoonótico como la *E. canis*, ya que pueden llegar a afectar la salud humana y animal debido al desconocimiento de su diagnóstico de forma rápida. En este sentido un diagnóstico oportuno se convierte en un mecanismo para frenar sus posibilidades de propagación, asumiendo que el vector tiene gran adaptabilidad a condiciones geográficas que no le son propias, por ello, su carácter reemergente.

BILIOGRAFÍA

1. López,J; Abarca, K; Mundaca, M; Caballero, C, Valiente, F. Identificación molecular de Erlichia Canis en un canino de la ciudad de Arica [Internet]. 2012; Revista Chilena Infectol. 29 (5): 527-530.
2. Benavides J., Ramírez G. Ehrlichiosis canina. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias [Internet]. 2003,16 (3), 268-274.
3. Lopez,j.; Castillo, A.; Muñoz,M.; Hildrebranat,S. Hallazgo de Ehrlichia canisen Chile, Informe preliminar [Internet]. 1999; Arch.med.vet. 31 (2):211-214.
4. Ministerio de salud. Perfiles y competencias de los profesionales en salud. Perspectiva de las profesiones, un aporte al cuidado de la salud, las personas, familias y comunidades [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Perfiles-profesionales-salud.pdf>.
5. McCown, M.; Monterroso, V.; Cardona, W. Monitoreo de Erhlichia Canis,Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, y Dirofilaria immitis en perros detres ciudades en Colombia [Internet]. 2015; Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 10 (2):224-231.
6. Barcat, J. A. El calentamiento global, las garrapatas y la Ehrlichiosis. Medicina [Internet]. 2006; Buenos Aires, Argentina. (66):489-491.
7. Cortes, J.A. Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global [Internet]. 2010; Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 57 (1) 48- 58.
8. León, A; Demedio, J; Márquez, M; Castillo, E; Perera, A; Zuaznaba, O; Caníbal, J; Gonzalez, B; Reynaldo, L; Vega, N; Blanco, D; Ronda, M; Peña, A; Seija, V. Diagnosis of canine Ehrlichiosis in Havana city [Internet]. 2008; Revista electrónica de clínica veterinaria. 3 (5):1-18.
9. Leal, M. Presencia de anticuerpos contra Erlichia Canis en perros sospechosos, en el municipio de Cajeme, por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta

- [Internet]. 2004; Tesis de grado. Médico Veterinario Zootecnista. Ciudad de Obregón.
10. Waner T., Strenger C., Keysary A. Comparison of a Clinic-Based ELISA Test Kit with the Immunofluorescence Test for the Assay of *Ehrlichia canis* Antibodies in Dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2000,12(3), 240–244. Disponible en doi:10.1177/104063870001200307.
 11. Ramsey, L. K.; Tennant, B. J. Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales [Internet]. 2012; España. Ediciones.
 12. Sainz Á., Amusatogui I., Tesouro M.A. *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest.* 1999; 11(4):382–384. Disponible en: doi: 10.1177/104063879901100419.
 13. Guglielmone A., Robbins R., Apanaskevich D., Petney T. N., Estrada-Peña A., Horak I. Individual Species Accounts. En Guglielmone, A., Robbins, R., Apanaskevich, D., Petney, T.N., Estrada-Peña, A., & Horak, I., editores. *The Hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae)*. (Ed.) Springer, 2014; 379.
 14. Nava S., Beati L., Venzal J.M., Labruna M.B., Szabó P.J., Petney T., Saracho-Bottero M., Tarragona E., Dantas-Torres F., Silva M., Mangold A.J., Guglielmone A., Estrada-Peña A. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization *Ticks and tick-borne diseases*, ISSN: 1877-9603, 2018 Vol: 9, Issue: 6.
 15. Beall M.J., Alleman A.R., Breitschwerdt E.B., Cohn L.A., Couto C.G., Dryden M.W., Yabsley M. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. *Parasites & Vectors*, 2012, 5(1), 29. Disponible en: doi:10.1186/1756-3305-5-29.
 16. Dantas-Torres F., Latrofa M.S., Annoscia G., Giannelli A., Parisi A., Otranto D. Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato from the New and Old Worlds. *Parasites & Vectors* 2013 6:213.
 17. Guglielmone A., Mangold A., Barros-Battesti D., Martins J., Keirans J. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (*Acari: Ixodidae*):

- hosts, distribution and 16S rDNA sequences. *Veterinary parasitology* [Internet]. 2003.
18. Barker, S.C., Murrell, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 2004; 129 Suppl: S15– S36.19.
 19. Orjuela J.A., García G.F., Imbachi J.G. Análisis epidemiológico de la presentación de *Ehrlichia* spp. en caninos de Florencia Caquetá, Colombia [Internet]. 2012; 16 (6): 1-10.
 20. Cartagena L.M., Ríos L.A., Cardona J.A. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín [Internet]. 2015; *Rev. Med. Vet.* (29): 51-62. Disponible en: <https://doi.org/10.19052/mv.3446>.
 21. Ettinger, S. y Feldman, E. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del Perro y del Gato [Internet]. 2007; Sexta Edición. Elsevier Saunders, Madrid (España).
 22. Cohn LA, Breitschwerdt EB. Spotlight on Ehrlichia ewingii [Internet]. 2012; IDEXX Laboratories, Inc. Disponible en: <https://identify.us.com/idmybug/ticks/tick-docs/spotlight-onehrlichia.pdf>
 23. Craig EG. Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis, and Wolbachia Infection. *Infectious Diseases of the Dog and Cat* [Internet] 2001; p1–58.
 24. Davitkov, D; Vucicevic, M; Stevanovic, J; Krstic, V; Slijepcevic, D; Glavinic, U & Stanimirovic, Z. Molecular detection and prevalence of Theileria equi and Babesia caballi in horses of central Balkan *Acta Parasitologica* [Internet]. 2016, Disponible en: <https://doi.org/10.1515/ap-2016-004425>.
 25. Cadavid, V.A; Franco, Y.M; Morales, L.M; Frecuencia de presentación de Ehrlichiosis canina en la clínica de pequeñas especies en la Universidad de Antioquia, en el periodo comprendido entre enero a junio de 2011 [Internet]. 2012; Disponible en: <http://marthanellymesag.weebly.com/uploads/6/5/6/5/6565796/ehrlichiosis.pdf>.
 26. Ramsey, L. K.; Tennant, B. J. Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales [Internet]. 2012; España. Ediciones S.

27. de Castro MB, Machado RZ, de Aquino LPCT, Alessi AC, Costa MT. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Vet. Parasitol* [Internet]. 2004; 119(1):73-86.
28. Nelson, R.; Couto, G. Hiperplasia Quística Endometrial (HQE) / Piómetra. En: *Medicina interna de animales pequeños* [Internet]. 2000; 2.ed. Buenos Aires, República Argentina: Intermedica.
29. Vieira R.F.C., Biondo A.W., Guimarães A.M.S., Santos A.P., Santos R.P., Dutra L.H., et al. Ehrlichiosis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 1-12. PMID:21439224. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000100002>.
30. Nicholson W.L., Allen K.E., McQuiston J.H., Breitschwerdt E.B., Little, S.E. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends in parasitology* [Internet]. 2010; 26(4).
31. Starkey L.A., Barrett A.W., Beall M.J., Chandrashekar R., Thatcher B., Tyrrell P., Little, S.E. Persistent *Ehrlichia ewingii* infection in dogs after natural tick infestation. *Journal of veterinary internal medicine* [Internet]. 2015; 29(2).
32. Shaw S.E., Day M.J., Birtles R.J., Breitschwerdt E.B. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends in Parasitology*. 2001,17(2). Disponible en: doi:10.1016/s1471-4922(00)01856-0.
33. Little S.E. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* [Internet], 2010; 40(6), 1121-1140.
34. Olano J.P., Walker D. Human ehrlichioses. *Medical Clinics* [Internet] 2002; 86(2), 375-392.t.
35. Smith K., Leyden J.J. Safety of doxycycline and minocycline: A systematic review. *Clin Ther*. 1972; 27(9):1329-42.
36. Cordero del Campillo, M. The history of veterinary parasitology in Spain [Internet]. 1989; Vol:33 (1): 93-116. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(89\)90094-0](https://doi.org/10.1016/0304-4017(89)90094-0).
37. Hoskins I. fle brown dog tick. *Veterinary Clinics of North America* [Internet]. 1991; 21, 99- 101.

38. Bustos, B. Identificación de las garrapatas de perros en las colonias del suroeste del municipio de Torreón, Coahuila, y su asociación con la fiebre manchada [Internet] 2015; Universidad autónoma agraria Antonio Narro, ciudad de Torreón, Coahuila, México.
39. ESSCAP (Consejo Europeo para el control de las parasitosis de los animales de compañía). Ectoparásitos Control de insectos y garrapatas que parasitan a perros y gatos [Internet]. 2010; Disponible en: http://www.esccap.org/uploads/docs/22hejwfj_esguian3_ectoparasitos_altausb.pdf
40. Hajdušek O, Šíma R, Ayllón N, Jalovecká M, Perner J, de la Fuente J, Kopáček P. Interaction of the tick immune system with transmitted pathogens. *Front. Cell. Infect. Microbiol* [Internet] 2013; 3(26): 1-15.
41. Paddock C & Childs J. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin. Microbiol* [Internet]. 2003; 16(1).
42. Marcondes, C. *Arthropod Borne Diseases*. Switzerland: Springer International Publishing [Internet]. 2017; 205 – 213.
43. Couto, N. *Medicina interna en pequeños animales* 2da edición. 2000; Intermedica editorial.
44. McBride J.W. Identification and Functional Analysis of an Immunoreactive DsbA-Like Thio-Disulfide Oxidoreductase of *Ehrlichia* spp. *Infection and Immunity* [Internet]. 2002; 70:5, 2700–2703. Disponible en: doi:10.1128/iai.70.5.2700-2703.2002.
45. Rebar, A. Interpretación del Hemograma canino y felino [Internet]. 2003; Clinical Handbook series, Argentina.
46. León A., Demedio J., Márquez M., Castillo E., Perera A., Zuaznaba O., Caníbal J., González B., Reynaldo L., Vega N., Blanco D., Ronda M., Peña A., Seija V. Diagnóstico de Ehrlichiosis en caninos en la ciudad de La Habana [Internet]. 2008; Revista Electrónica de Clínica Veterinaria REDVET. 3 (5): 1 -22.
47. Gallo, C.; *Manual de Diagnóstico con Énfasis en Laboratorio Clínico*. Trabajo de Graduación. Médico Veterinario. Universidad Nacional Agraria. Managua. [Internet] 2014; 42-118.

48. Hii, S.F.; Traub, R.J., Thompson, M.F.; Henning, J.; Burleigh, A.; McMahon, S.; Rees, R.L.; Koop, S.R. Canine tick-borne pathogens and associated risk factors in dogs presenting with and without clinical signs consistent with tick-borne diseases in northern Australia. *Australian Veterinary Journal* [Internet]. 2015;93 (3) :58-66.
49. Rivera, L. y Motta, P. Reporte de caso clínico de Ehrlichiosis equina en el municipio de Florencia (Colombia) [Internet]. 2013; *Revista Electrónica de Veterinaria*. 14(1):1-9.
50. Parnell, N. Ehrlichiosis canina. En Morgan, RV, ed. *Clínica de Pequeños Animales. El SEVIER*. España. 2013; 1122-1124.
51. Neer T.M., Breitschwerdt E.B., Greene R.T., Lappin M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *J Vet Intern Med* 2002 May-Jun; 16(3):309-15.
52. Sainz Á., Amusatogui I., Tesouro M.A. *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest* [Internet]. 1999; 11(4):382–384. Disponible en: doi: 10.1177/104063879901100419.
53. González H., Loaiza J. Medición de la concordancia en el diagnóstico entre la prueba de ELISA y el cuadro hemático mediante un estudio paraclínico-epidemiológico de la *Ehrlichia canis* [Internet]. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 2012; 5 (1): 47-51.
54. Chávez, C. *Ehrlichia canis* en caninos y el tratamiento con doxiciclina [Internet]. 2014; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/13672/Chavez_Calderon_Cesar_Daniel_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y
55. Harrus S., Waner P., Neer T. *Ehrlichia* and *Anaplasma* Infections in Greene. En: *Infectious diseases of the dog and cat*. Fourth edition. 2012, 228.
56. Parrado, M.; Vargas, F.; Hernandez, G.; Vergara, H. Asociación de los resultados de una prueba serológica (ELISA) y frotis sanguíneo en caninos con sintomatología compatible a ehrlichiosis. *Revista Orinoquia* [Internet]. 2003; 7 (1) 6-11.
57. Grispon, S. El estudio del Frotis de Sangre Periférica. *Revista Médica Hondur* [Internet]. 1985; 53 : 282-283.

58. Salazar H., Buriticá E., Barbosa I. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y su relación con algunos parámetros clínicos y hematológicos en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué (Colombia) Revista Colombiana de Ciencia Animal [Internet]. 2014; 7 (1): 56-63.
59. Orjuela J.A., García G.F., Imbachi J.G. Análisis epidemiológico de la presentación de *Ehrlichia* spp. en caninos de Florencia Caquetá, Colombia [Internet]. 2015; 16 (6): 1-10.
60. Dolz G., Ábrego L., Romero L., Campos L., Bouza L., Jiménez A. Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. Acta Med Costarric [Internet]. 2013;55(Supplement 1):34–40. Disponible en:http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022013000400008&nrm=iso.
61. Meyer, J.; Harvey, J. Medicina Laboratorial Veterinaria: Interpretación y Diagnóstico [Internet]. 2007; Multimedia Ediciones Veterinarias. Madrid. P. 320-340.
62. Carrillo L., Betancur S., Roldán D., Pérez J., Galeano D., Loaiza E., Giraldo C. Implementación de un método basado en PCR, para el diagnóstico de *Ehrlichia* spp., en caninos de Medellín (Colombia). CES Medicina Veterinaria y Zootecnia [Internet]. 2012; 7 (2), 38-46.
63. Hildebrandt P.K., Conroy J.D., McKee A.E., Nyindo M.B., Huxsoll D.L. Ultrastructure of *Ehrlichia canis*. Infect Immun. 1973; (2):265–271.
64. Birchard S., Sherding R. Enfermedades por Rickettsias. En: Manual clínico de Pequeñas especies. Mc.Graw Hill(Ed). 1994,146:150.
65. Dumler J.S., Madigan J.E., Pusterla N., Bakken J.S. Ehrlichioses in Humans: Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment. Clinical Infectious Diseases. 2007, 45(Supplement 1), S45–S51. Disponible en: doi:10.1086/518146.
66. Waner T., Harrus S., Bark H., Bogin E., Avidar Y., Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected Beagle dogs. Vet Parasitol [Internet]. 1997; 69:307–317.36. Ristiic M., Huxsoll D.L., Tachibana N., Rapmund G. Evidence of a serologic relationship between *Ehrlichia canis* and

- Rickettsia sennetsu*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1981, 30:6, 1324-1328.
67. Alonso, C.; Bartolome, R.; Dominguez, J.; Matas, L.; Rabella, N. Técnicas rápidas de detección de antígeno. 2015. Disponible en:<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia19.pdf>
68. McBride J.W. Identification and Functional Analysis of an Immunoreactive DsbA-Like Thio-Disulfide Oxidoreductase of *Ehrlichia* spp. Infection and Immunity [Internet]. 2002; 70:5,2700–2703. Disponible en: doi:10.1128/iai.70.5.2700-2703.2002.
69. Iqbal Z., Chaichana S., Rikihisa Y. Comparison of PCR with other test for early diagnosis of Canine Ehrlichiosis. Journal of Clinical Microbiology, 1994, 32, 1658-1662.
70. Neer T.M., Breitschwerdt E.B., Greene R.T., Lappin M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. J Vet Intern Med 2002; 16(3):309-15.
71. Macieira D. de B., Messick J.B., Cerqueira A. de M.F., Freire I.M.A., Linhares G.F., Almeida N.K.O., Almosny N.R.P. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. Veterinary Clinical Pathology. 2005,34(1), 44–48.
72. Labruna M.B., McBride J.W., Camargo L.M.A., Aguiar D.M., Yabsley M.J., Davidson W.R., Walker D.H. A preliminary investigation of *Ehrlichia* species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil. Veterinary Parasitology.2007, 143(2), 189–195.Disponible en: doi:10.1016/j.vetpar.2006.08.005.
73. Tami, I.; Martínez, J.; Tami, M.; Redondo, M.; Finol, H. y Simonovis, N. Identificación of Ehrlichia species in blood smear. J. Infect. Dist [Internet]. 1996, 5: 19-23.
74. Rojas A., Rueda A., Díaz D., Mesa N.C., Benavides J., Imbachi K., et al. Identificación de *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard) Moshkovski mediante PCR anidada. Vet y Zootec. 2013;7(1):37–48.

75. Eberts, M.; Vissotto, P.; Beall, M.; Stillman, B.; Chandrashekar, R.; Breitschwerdt, E. American Animal Hospital Association [Internet]. 2011; 47 (6):86-94.
76. Lanza-Perea M, et al. Intraoperative bleeding in dogs from Grenada seroreactive to *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*. *J Vet Intern Med* 2014;28:1702–1707.
77. Zweggarth E., Cabezas-Cruz A., Josemans A.I., Oosthuizen M.C., Matjila P.T., Lis K., Passos L.M.F. In vitro culture and structural differences in the major immunoreactive protein gp36 of geographically distant *Ehrlichia canis* isolates. *Ticks and Tick-Borne Diseases*. 2014,5(4), 423–431.
78. Dawson J.E., Stallknecht D.E., Howerth E.W., Warner C., Biggie K., et al. Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, the etiologic agent of human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1994; 32(11):2725-8.
79. Hegarty, B.; Vissoto, P.; Bradley, J.; Breitschwerdt, E.; Ehrlichiosis screening using SNAP 3 Dx. *Journal of the American Hospital Association* [Internet]. 2009; 45:118-123.
80. McCown M.E., Alleman A., Sayler K.A., Chandrashekar R., Thatcher B., Tyrrell P., et al. Point prevalence survey for tick-borne pathogens in military working dogs, shelter animals, and pet populations in northern Colombia. *J Spec Oper Med* 2014; 14(4):81-5.
81. Rodriguez-Vivas, R., Albronz, G. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatán, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology* [internet]. 2004.
82. Felek, A., Greene, R., Ricihisa, Y. Transcriptional Analysis of p30 Major Membrane Protein Genes of *Ehrlichia canis* in Naturally Infected Ticks and Sequence Analysis of p30-10 of *E. canis* from Diverse Geographic Regions. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003. 41:886-888.
83. Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2009, 15, 62-69.

84. Notomi T., Okayama H., Masubuchi T., Yonekawa K., Watanabe N., Amino T.
Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*. 2000, 28, E63.
85. Aparecida F., Salvador A., Lima J., Buso B., Brum M., Silva M., Vieira E., Fachin A., França S., Marins M. Loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of *Ehrlichia canis* DNA in blood samples from dogs. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 2013,45. 197-201. Disponible en: doi: 10.4067/S0301-732X2013000200012.
86. Zavala, C., Ruz, J., Zavala, V. Las rickettsias del grupo de las fiebres manchadas: respuesta inmune y sus proteínas inmunodominantes. *Rev Med. Chile*. 2004. 132:381-387.
87. Knowles, T., Alleman, H., Sorenson D., Marciana, E., Breitschwerdt, S., Harrus, A., Barbet and Bélanger, M. Characterization of Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia chaffeensis* and Its Application for Serodiagnosis of Ehrlichiosis. *J. Clinic and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2003. 10:520-524.
88. Unver, A., Pérez, N., Orellana, H., Huang and Rikihisa, Y. Molecular and antigenic comparison of *Ehrlichia canis* isolates from dogs, ticks, and a human in Venezuela. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001. 39:2788-2793.
89. Alleman, A., Barbet, M., Bowie, H., Sorenson, S and Bélanger, M. Expression of a gene encoding the major antigenic protein 2 homologue of *Ehrlichia chaffeensis* and potential application for serodiagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000. 38:3705-3709.
90. Aysul, N.; Ural, K.; Cetincaya, H.; Kuskucu, M.; Toros, G.; Eren , H.; Durum , C. Doxycycline-Chloroquine Combination for the Treatment of Canine Monocytic Ehrlichiosis. *Acta scientiae veterinariae* [Internet]. 2012; 40 (2):1-4.
91. Restrepo, I. *Terapéutica Veterinaria*. Colombia. Corporación para Investigaciones Biológicas [Internet]. 2013;P.111-138).
92. Osorio M., Miranda J., González M., Mattar, S. (*Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. And *Rickettsia* sp. in Ticks: A High Risk for Public Health in Ibagué, Colombia [Internet]. 2018; Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 4(6).

93. Máttar S., Parra M. Detección de anticuerpos contra *Anaplasma*, Bartonella y Coxiella en habitantes rurales de un área del caribe colombiano [Internet]. Revista MVZ Córdoba. 2006; 11(2).
94. Tsiodras, S; Spanakis N., Spanakos G., Pervanidou D., Georgakopoulou T., Campos, E., Kontos V. Fatal human anaplasmosis associated with macrophage activation syndrome in Greece and the Public Health response. Journal of infection and public health [Internet]. 2017; 10(6), 819-823.
95. Barrios, L.; Li, O.; Suarez, F.; Manchego, A.; Hoyos, L. Evidencia hematológica y serológica de Ehrlichia spp. En propietarios de caninos domestico con antecedente de Erlichiosis en Lima Metropolitana. Rev. INVET Perú [Internet]. 2003; 24 (1): 64-71.
96. Betancur H., Betancourt E., Giraldo R. Importance of ticks in the transmission of zoonotic agents. Revista MVZ Córdoba [Internet]. 2015; 20, 5053
97. Ramirez-Barrios R.A., Chacin E., Barboza G., Fernandez G.V.Z, Villalobos A.A-C.F. Garrapatas (*Acari: Ixodidae*) recolectadas de caninos bajo asistencia veterinaria en Maracaibo, Venezuela. Rev Cient (Maracaibo) [Internet]. 2008; 18(3):267:270.
98. Sykes J.E. Canine and Feline Infectious Diseases e-book. Chapter 28 – Ehrlichiosis Elsevier Health Sciences [Internet]. 2014; Pages 278-289.
99. Ybañez, P. P. First molecular detection of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in ticks from dogs in Cebu, Philippines. . Elsevier [Internet]. 2012; Volume 3 , 5–6.
100. Botero A.H., Ramírez F.M., Miranda J.V. Primer caso de ehrlichiosis monocítica humana reportado en Colombia. Infectio, 2014; 18(4), 162-166.
101. Oliveira A.C., Luz M.F., Granada S., Vilhena H., Nachum-Biala Y., Lopes A.P., Baneth G. Molecular detection of *Anaplasma bovis*, Ehrlichia canis and *Hepatozoon felis* in cats from Luanda, Angola. Parasites & Vectors. 2018, 11, 167. Disponible en: <http://doi.org/10.1186/s13071-018-2767-y>
102. Gutierrez C.N., Pérez Yabarra L. Ehrlichiosis canina. Saber; 2016; 28(4), 641-665.

103. Breitschwerdt E.B. Canine tick-borne infectious diseases: clinical and zoonotic implications. in sponsors of the 8th world congress of veterinary dermatology [Internet]. 2016; (p. 112).
104. Lambertini E., Buchanan R.L., Narrod C., Pradhan A.K. Transmission of bacterial zoonotic pathogens between pets and humans: The role of pet food. *Critical reviews in food science and nutrition* [Internet]. 2016; 56(3), 364-418
105. Fuxelius H.H., Darby A., Min C.K., Cho N.H., Andersson S.G.E. The genomic and metabolic diversity of *Rickettsia*. *Res Microbiol*. 2007;158(10):745–53.
106. Oteo J.A., Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. En: *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2012, 3 (5-6): 271-278. Disponible en: DOI: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.035.

Anexos

1. Tabla 1: Taxonomía de la *E. canis*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Rickettsiales</i>
Familia	<i>Anaplasmataceae</i>
Género	<i>Ehrlichia</i>
Especie	<i>Ehrlichia canis</i>

Fuente: Adaptación de NCBI Taxonomy, 2019

2. Tabla 2: Clasificación por géneros de la *Ehrlichia*.

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
<i>Anaplasma marginate.</i> <i>Anaplasma centrata.</i> <i>Anaplasma caudatum.</i> <i>Ehrlichis Phagocytiphila</i> (hoy <i>Anaplasma phagocytophilum</i>). <i>Ehrlichia Bovis</i> (Acutalmente <i>Anaplasma Bovis</i>). <i>Ehrlichia Platys</i> (Hoy <i>Anaplasma Platys</i>).	<i>E. canis.</i> <i>E. chaffensis.</i> <i>E. ewingii.</i> <i>E. muris.</i> <i>Cowdria Ruminantium</i> (Hoy <i>Ehrlichia ruminantium</i>).	<i>Neorickettsia Helminthoeca.</i> <i>Ehrlichia Risticii.</i> <i>Ehrlichia Sennetsu</i> (<i>N. Risticii</i> y <i>N. Sennetsu</i>).	La especie <i>Wolbachia Pipientis</i> será el único miembro del género <i>Wolbachia</i>

Fuente: Adaptación de la tesis expuesta por Craig (23).

3. Tabla 3: Epidemiología de la enfermedad en cada fase

FASE	EVIDENCIA TRAS CONTAGIO	DURACIÓN	SIGNOS CLÍNICOS

AGUDA	2 a 3 semanas tras el contagio	14 a 24 días	síntomas inespecíficos y transitorios <ul style="list-style-type: none"> • Anorexia • Petequias • Equimosis. • Linfadenopatía, • Secreción oculonasal • Disnea • Hepatomegalia • Meningoencefalitis
SUBCLÍNICA	6 a 8 semanas tras su contagio	De 1 a 4 meses e incluso hasta 5 años	Se agudizan los signos de la fase aguda y se presentan además: <ul style="list-style-type: none"> • Fiebre • Adenopatía generalizada • Leucopenia • Trombocitopenia
CRÓNICA	Es la última fase de la enfermedad y surge tras un empeoramiento en el sistema del paciente	Puede durar muchos años (sin precisión aún) e incluso llevar a la muerte.	Se deteriora la producción de elementos sanguíneos debido a hipoplasia de la médula ósea. <ul style="list-style-type: none"> • Trombocitopenia. • Hemorragias • Linfadenopatías. • Esplenomegalia • Signos neurológicos • Anemia no regenerativa • Debilidad, depresión y petequias

Fuente: Adaptación de la información recopilada en distintos autores: Duración (25). Signos clínicos (9).

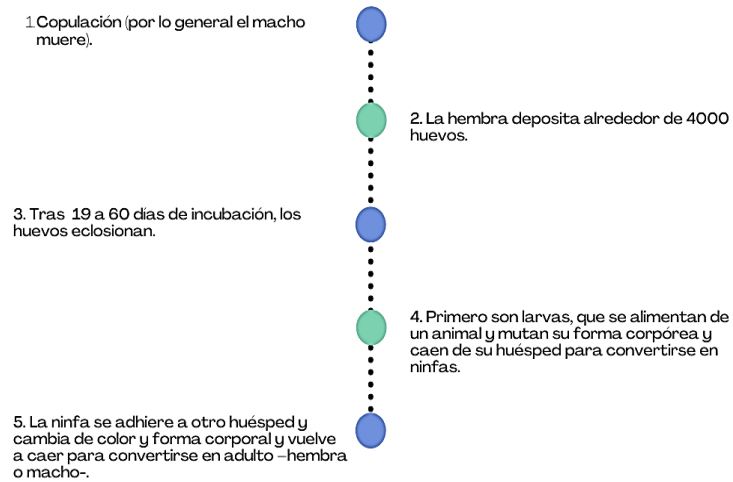
4. Tabla 4: Pruebas diagnósticas y hallazgos en las distintas fases de la enfermedad

FASE	SIGNOS CLÍNICOS	PRUEBA DIAGNÓSTICA	HALLAZGOS
AGUDA	Fiebre, anorexia, vómito y hemorragias tras 1 a 4 semanas del contagio.	Microscopía, IFA o PCR.	Anemia normocítica, leucopenia con desviación a la izquierda y trombocitopenia.
SUBCLÍNICA	Sangrado, debilidad, mucosas pálidas, anorexia, tras 6 a 9 semanas del contagio.	IFA, ELISA, PCR.	Anemia no regenerativa, leucopenia y trombocitopenia.

CRÓNICA	Epistaxis y petequias tras meses o años del contagio Meses o incluso años	PCR o ELISA	Pancitopenia.
----------------	--	-------------	---------------

Fuente: Elaboración propia. Signos clínicos (9, 21). Pruebas diagnósticas (33). Hallazgos (34)

5. Ilustración 1: Ciclo de las garrapatas.



Fuente: Adaptación tesis de Leal (9) y Bustos (38)

6. Tabla 5: Características de los métodos diagnósticos

MÉTODO	DETECCIÓN	SENSIBILIDAD/ESPECIFICIDAD
MICROSCOPIA	Presencia del agente	Sensibilidad: 70,1% Especificidad: 51%
ELISA	Valoración de los estímulos y las respuestas inmunitarias, exposición del vector	Sensibilidad: 96,2% Especificidad: 97,7%

IFA	Detección de anticuerpos IgG y confirmación de la exposición del patógeno	Sensibilidad: 90-100% Especificidad: 80%
PCR	Presencia del agente, es decir, detecta la infección activa y los microorganismos existentes/Análisis del gen 16S Rrna.	Sensibilidad: 33,3% Especificidad: 100%

Fuente: Adaptación información recopilado sensibilidad y especificidad (44, 61, 62, 71, 78).

7. Ilustración de métodos diagnósticos

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Ehrlichia Canis

Para el diagnóstico de la enfermedad es necesario contar tanto con las pruebas serológicas, como con las pruebas de diagnóstico directo que posibilitan la identificación y diferenciación de especies de Ehrlichia

01 Hemograma

Se realiza extracción de sangre de la vena cefálica anterior y se almacena en viales EDTA al 10% con anticoagulante, llenado en 2/3 partes y se homogeniza invirtiéndolo ligeramente entre 5 a 10 veces y procesada 20 minutos después, o ser refrigerada por 24 horas a una temperatura de 4°C.



02 Bioquímica Sanguínea

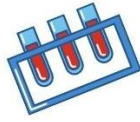
Se extrae sangre de la vena yugular o cefálica y se deposita en un tubo sin anticoagulante en 2/3 partes, se centrifuga a 3000 revoluciones durante 10 minutos para la obtención del suero; o se refrigera a 4°C, por no más de 24 horas.

03 Frotis sanguíneo

La muestra se toma obteniendo sangre fresca, en lo posible sin anticoagulante para no distorsionar las células y se procede a realizar la prueba que puede ser a través de dos métodos:

1. Método de portaobjetos.
2. Método cubreobjetos.





04 *microscopia directa*

La microscopia directa con tinción de Giemsa o Diff Quick se realiza mediante el examen de la capa leucocitaria tomada de una muestra de sangre periférica. O bien, a través del aspirado con aguja fina a partir de nódulos linfáticos y biopsia de nódulos linfáticos. (

05 *Inmunofluorescencia*

Puede ser directa o indirecta. La muestra se toma por venopunción de la vena cefálica y se deposita en un tubo de ensayo sin anticoagulante para ser procesada inmediatamente o congelada a -20°C.



06 *PCR*

La muestra se realiza extrayendo de 1 a 5 ml de sangre de la vena safena, cefálica o yugular con agujas desechables y se almacenan en tubos o envases vacutainer con anticoagulante EDTA y se refrigeran a 4°C hasta su procesamiento, no mayor a 24 horas.



07 *ELISA*

La muestra se obtiene por venopunción de la vena cefálica, extrayendo de 1 a 3 ml de sangre y se procesa según la prueba que se vaya a utilizar.
Sangre completa: en tubo sin anticoagulante para su procesamiento inmediato.
Sero: se obtiene sin anticoagulante y se deja coagular hasta la retracción del coágulo en posición de 30° por 30 a 60 minutos.
Plasma: obtenido por centrifugación de la muestra con anticoagulante a 3000 r.p.m durante 10 a 15 minutos o conservado a temperatura de 4°C entre 2 o 3 días y a temperatura de 20°C para mayor tiempo.
O bien, los kits de prueba rápida.

8. Matriz de clasificación de fuentes bibliográficas

TESIS Y TRABAJOS\SISTEMATIZACION MARIANA.docx

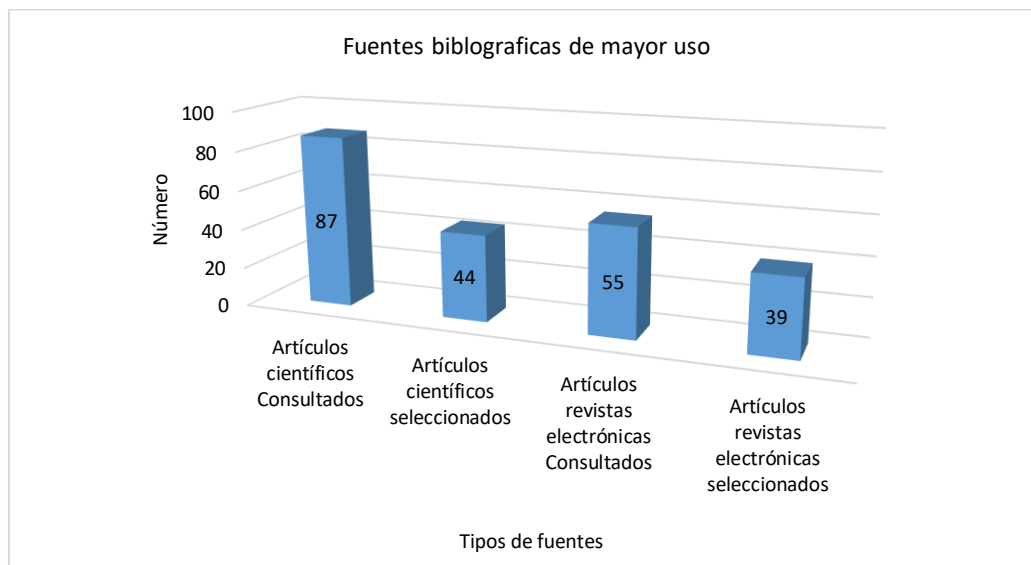
9. Gráficos

Fuentes consultadas vs Fuentes utilizadas



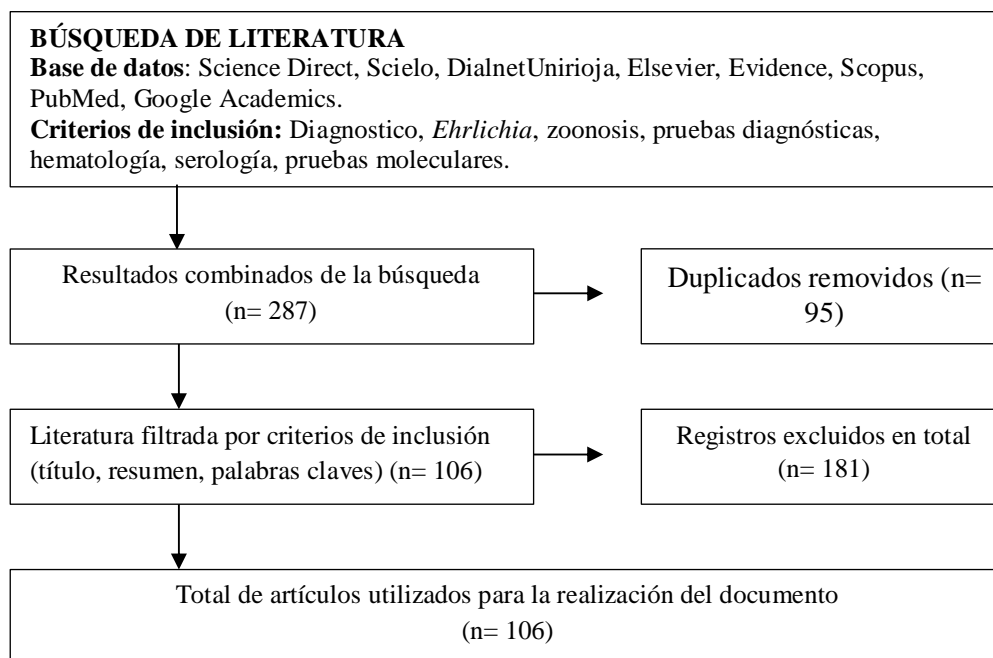
Fuente: Adaptación recopilada de la guía de normas prisma.

2: fuentes bibliográficas de mayor uso



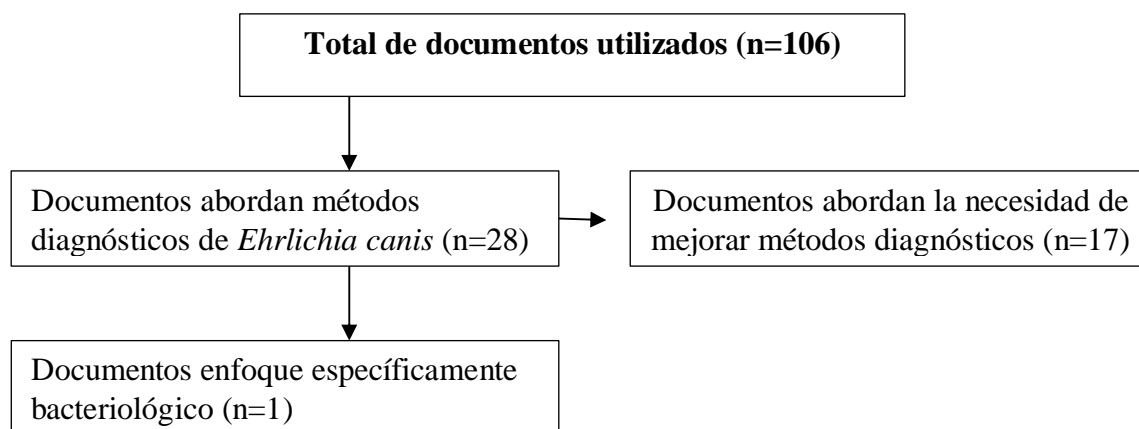
Fuente: Adaptación recopilada de la guía de normas prisma.

10. Ilustración 2: Diagrama de flujo de inclusión de artículos



Fuente: Adaptación diagrama de flujos guía de normas prisma 2009

11. Ilustración 3: Diagrama de documentos utilizados



Fuente: Elaboración propia.