UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Prevalencia y factores asociados a la infección de *Ehrlichia spp.* en perros de la Subregión Centro, Tabasco, México.

Tesis

Que para obtener el Título de

LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Presenta:

Roberto Robles González.

Director:

Dr. Oswaldo M. Torres Chablé.

Co-Director:

M.C. Guadalupe Arjona Jiménez.

Villahermosa, Tabasco, marzo de 2021.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Asunto: Autorización de impresión de Trabajo Recepcional.
Fecha: 22 de febrero de 2021.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo a usted que con base en el artículo 86 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** al (la) **C. Roberto Robles González**, con **matrícula 132C13121**, egresado(a) de la Licenciatura de **Médico Veterinario Zootecnista** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su Trabajo Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, titulado: ***"Prevalencia y factores asociados a la infección de Ehrlichia spp. en perros de la subregión, Centro, Tabasco, México"***.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Ph.D. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA
D I R E C T O R

C.c.p.- Expediente Alumno.
Archivo
Ph.D.RACG/MC/MRJ

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Km 25, Carret. Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 358-15-85 y 142-9150
Correos electrónicos: direccion.daca@ujat.mx, daca.direccion@gmail.com

CARTA DE AUTORIZACION

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada *"Prevalencia y factores asociados a la infección de Ehrlichia spp. en perros de la subregión Centro, Tabasco, México."*, de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 02 días del mes de marzo del año 2021.

AUTORIZÓ

Roberto Robles González
Pasante de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Dedicatoria:

A mis padres, por brindarme apoyo moral y económico para poder concluir mi carrera profesional, y por motivarme a seguir adelante con mis estudios y con mi proceso de titulación.

A mis asesores, Dr. Oswaldo M. Torres Chablé y M.C. Guadalupe Arjona Jiménez por la confianza depositada y la oportunidad de realizar este trabajo de tesis y apoyarme en las diferentes etapas del proceso de titulación.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Agradecimientos:

A mis asesores, Dr. Oswaldo M. Torres Chablé y M.C. Guadalupe Arjona Jiménez, por dedicar tiempo a la revisión de mi trabajo, por sus consejos y puntos de vista para que este trabajo pudiera concretarse de la manera correcta, y por haber dado seguimiento al proceso de titulación.

Al Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores DACA-UJAT por haberme brindado el material y equipo necesario para poder llevar a cabo la parte experimental de este trabajo de tesis.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por haber brindado la oportunidad de estudiar la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Índice

1.0.- INTRODUCCIÓN. 3

1.1.- JUSTIFICACIÓN. 4

1.2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 4

2.0.- OBJETIVO GENERAL. 5

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS. 5

3.0.- REVISIÓN DE LITERATURA. 6

3.1.- HISTORIA. 6

3.1.- GÉNERO *EHRLICHIA*. 6

3.1.1 Etiología. 6

3.1.2 Especies de Ehrlichia con capacidad patogénica. 7

3.1.2.2.- Epidemiología de E. canis. 8

3.1.2.3.- Especies afectadas por E. canis. 9

3.1.4 .- Vector transmisor de E. canis. 9

3.2.- PATOGÉNESIS. 10

4.0.- MATERIALES Y MÉTODOS. 12

4.1.- ÁREA DE ESTUDIO. 12

4.2.- TAMAÑO DE MUESTRA Y DISEÑO DEL MUESTREO. 12

4.3.- DETERMINACIONES A REALIZAR EN LOS PERROS. 12

4.3.1.- Toma de la muestra de sangre para la identificación de Ehrlichia spp. en perros. 12

4.3.2.- Extracción de ADN genómico para la identificación de Ehrlichia spp. 12

4.3.3.- Cebadores y reacción de PCR para identificar Ehrlichia spp. en ADN genómico procedente de sangre de perros. 13

4.3.4.- Determinación de la prevalencia de Ehrlichia spp. en los perros muestreados. 14

4.3.5.- Determinación de factores asociados a la infección de Ehrlichia spp. en perros. 15

4.3.6.- Análisis estadístico para identificar factores asociados a la infección de Ehrlichia spp. en los perros muestreados. 15

5.0.- RESULTADOS. 16

6.0.- DISCUSIÓN. 19

7.0.- CONCLUSIÓN. 21

8.0.- LITERATURA CITADA. 22

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Índice de cuadros

Pág.

Cuadro 1.- Datos generales de los cebadores y las reacciones de PCR empleados para realizar el diagnóstico de *Ehrlichia spp.* en los perros muestreados…….. 14

Cuadro 2. Características de la población y la presencia de *Ehrlichia canis* en perros de la Subregión Centro, Tabasco…… 16

Cuadro 3. Factores asociados con *Ehrlichia canis* en perros de la Subregión Centro, Tabasco…… 18

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

1.0.- Introducción.

Las bacterias del género *Ehrlichia spp.* se caracterizan por ser microorganismos intracelulares obligados que se transmiten por garrapatas a animales mamíferos (Starkey et al., 2015). Los perros domésticos que se infestan con garrapatas pueden adquirir la infección y posteriormente desarrollar Ehrlichiosis. La infección puede pasar de inadvertida hasta una enfermedad grave y mortal, dependiendo de la especie de la cual el perro haya sido infectado (Rar y Golovljova, 2011).

Las especies de *Ehrlichia spp.* que han sido reportadas en perros de los Estados Unidos son *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, Panola Mountain *Ehrlichia sp*., y *E. muris* (Beall et al., 2012; Hegarty et al., 2012; Qurollo et al., 2013). Las infecciones causadas por *E. canis* y *E. ewingii* son consideradas las de mayor patogenicidad en perros. La primera se caracteriza por causar anorexia o hiporexia, fiebre, hemorragias (dentro de las cuales se destaca la epistaxis debido a la trombocitopenia) y en ocasiones puede causar la muerte (Rar y Golovljova, 2011). La segunda se caracteriza por causar además de los signos antes mencionados poliartritis y afecciones en el sistema nervioso central (Starkey et al., 2015).

Además de las afecciones que ocasiona la infección por *Ehrlichia spp.* en perros domésticos, es de suma importancia destacar que *E. chaffeensis*, *E. canis* y *E. ewingii* son capaces de infectar a personas expuestas a infestaciones por garrapatas infectadas, causando diversas afecciones que en algunos casos han conducido a la muerte de personas infectadas (Buller et al., 1999; Martin et al., 1999; Norman et al., 2015; Perez et al., 2006).

La distribución de las infecciones causadas por *Ehrlichia spp.* en perros es considerada cosmopolita. En Europa han sido encontradas en perros de Portugal, Rumania, Rusia, España, Suiza y Turquía (Sainz et al., 2015). En el continente Americano, las infecciones ocasionadas por *Ehrlichia spp.* en perros han sido reportadas en Estados Unidos, México, Colombia, Costa Rica, Brasil y Argentina (Bowman et al., 2009; Eiras et al., 2013; Movilla et al., 2016; Santos et al., 2009; Scorza et al., 2011; Vargas-Hernández et al., 2012).

En México, han sido detectados perros domésticos con infecciones por *E. canis* en estados como Yucatán (Díaz-Medina et al., 2016), Coahuila (Almazan et al., 2016) y

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Sinaloa (Sosa-Gutiérrez et al., 2016). Además, una amplia cantidad de perros que se presentan en clínicas veterinarias de México, principalmente aquellos con signología de padecer enfermedades transmitidas por vectores han resultado con títulos elevados de anticuerpos en contra de *E. canis* (Movilla et al., 2016). Sin embargo, de manera particular en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, no existen evidencias científicas que sustenten la prevalencia actual de *E. canis* o alguna otra especie de *Ehrlichia spp.* en perros o garrapatas y los factores asociados a estas infecciones. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue identificar molecularmente la presencia de *Ehrlichia spp.* en sangre de perros y garrapatas colectadas directamente de perros domésticos, determinar la prevalencia y algunos factores asociados a estas infecciones.

1.1.- Justificación.

Las infecciones causadas por *Ehrlichia spp.* en perros domésticos ocasionan diversas afecciones sistémicas que demeritan su salud y ponen en riesgo su vida. El perro doméstico es el hospedador de diversas especies de garrapatas y funciona como vector mecánico para transportar a estos artrópodos a zonas residenciales en donde la convivencia directa de los perros con las personas puede ocasionar que los artrópodos vectores puedan infestar a personas y transmitirles esta bacteria zoonótica. Así, los seres humanos pueden adquirir esta infección poco común que pone en riesgo su vida, debido al escaso conocimiento sobre esta zoonosis y a la falta de técnicas que permitan un diagnóstico rápido y eficaz, que conduzca, al establecimiento del tratamiento adecuado.

1.2.- Planteamiento del problema.

Las bacterias del género *Ehrlichia spp.* afectan la salud y el bienestar de caninos domésticos y de personas. En la ciudad de Villahermosa, Tabasco se desconocen las especies de este género de bacterias que pudieran estar afectando a los perros. Así también, se desconocen datos como su prevalencia, vectores implicados en su transmisión y los factores asociados a las infecciones en los perros.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.0.- Objetivo general.

Determinar la prevalencia y los factores asociados a la infección de bacterias del género *Ehrlichia spp.* en perros con dueño de la subregión Centro, Tabasco, México.

2.1. Objetivos específicos.

- ✓ Determinar la prevalencia de *Ehrlichia spp.* en los perros estudiados.
- ✓ Identificar molecularmente las especies de *Ehrlichia spp.* que infectan la sangre de perros con dueño de la subregión, Centro, Tabasco.
- ✓ Identificar los factores asociados a la infección de *Ehrlichia spp.* en perros con dueño de la de la subregión, Centro, Tabasco.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

3.0.- Revisión de literatura.

3.1.- Historia.

De acuerdo a la literatura existen dos momentos importantes en el estudio y descubrimiento de *Ehrlichia canis*, en Europa fue identificada por primera vez en 1935 en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard. Esta primera identificación surgió posterior a observar infestaciones de garrapatas en perros alojados en sus instalaciones. Los perros desarrollaron un proceso febril agudo que cursaba con anemia similar a lo reportado en la actualidad en perros infectados por *Ehrlichia spp* (Jiménez-Avendaño et al., 2017; Starkey et al., 2015). Así, los investigadores observaron en extensiones sanguíneas de dichos animales, pequeños microorganismos en el interior de los monocitos, creyendo en un principio que podría tratarse de alguna especie de rickettsia (Jiménez-Avendaño et al., 2017).

En 1945, la Ehrlichiosis canina fue reconocida y nombrada así en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich (Ogden et al., 1998). En 1960 la Ehrlichiosis canina fue reportada en Singapur y Vietnam, y en 1963 en el Estado de Oklahoma, EE.UU. en el cuartel militar de Nueva Jersey y luego en otros Estados de América del Norte (Zhang et al., 2008). Recientemente, ha sido confirmado como zoonosis, aunque no hay evidencia de transmisión directa de los perros al hombre. En 2008, se reportaron un total de 46 casos de infecciones ocasionadas por *Ehrlichia canis* en personas (Zhang et al., 2008). En la actualidad, *Ehrlichia canis* tiene una reconocida distribución mundial ya que ha sido reportada en países de África, Europa, Asia y a lo largo del continente americano (Santos et al., 2009; Vargas-Hernández et al., 2012; Zhang et al., 2008).

3.1.- Género *Ehrlichia*.

3.1.1 Etiología.

Ehrlichia canis es el agente etiológico de la ehrlichiosis monocítica canina, también conocida como EMC. Se trata de una enfermedad multisistémica grave y a veces fatal que afecta a miembros de la familia *Canidae*, la cual incluye a los perros, lobos, coyotes y zorros. Actualmente, es considerada predominante en perros domésticos y es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus s. l.* (Ferrolho et al., 2016). El agente etiológico de la Ehrlichiosis canina es la *E. canis*, especie perteneciente al género

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Ehrlichia, familia *Anaplasmataceae,* orden *Rickettsiales*, y *Philum* Proteobacteria (Ferrolho et al., 2016). La enfermedad producida por *Ehrlichia canis* en perros, recibe diferentes acepciones que dependen de la ubicación geográfica e historia de descubrimiento en cada entidad. Sin embargo, actualmente, y posterior al estudio de la evolución se sabe que es una enfermedad bien diferenciada de las causadas por otros agentes de la misma familia (Ferrolho et al., 2016).

Al ser un agente parasitario, se observa que las células hospedadoras son los monocitos y al afectar al huésped produce un cuadro patogénico caracterizado por: síndromes febriles, trombocitopenia, organomegalia uveítis anterior, artritis, meningitis, falla renal e incluso la muerte (McBride y Walker, 2011). *E. canis*, al igual que el resto de las especies de *Ehrlichia spp.*, es una bacteria cocoide pleomorfa Gram negativa de aproximadamente 0.5µm de diámetro, que se comporta como un parásito intracelular obligado que infecta principalmente leucocitos (monocitos, macrófagos y granulocitos) formando racimos de organismos conocidos como mórulas (McBride y Walker, 2011).

3.1.2 Especies de *Ehrlichia* con capacidad patogénica.

Las bacterias del género *Ehrlichia* infectan diferentes células hematopoyéticas, nombrándose a las enfermedades, según las células sanguíneas infectadas. *E. canis* y *E. chaffeensis* afectan monocitos y linfocitos, mientras que *E. ewingii* tiene especial tropismo por granulocitos (Dolz et al., 2013).

El tamaño del genoma de las especies de *Ehrlichia* es relativamente pequeño (0.8 a 2.5Mb). Los progresos en tecnología molecular han permitido avances en el desarrollo de análisis genéticos, indicando la verdadera posición filogenética de la mayoría de organismos del orden *Rickettsiales*, de tal manera que *E. canis, E. chaffeensis, E. ewingii*, *E. ruminantium* y *E. muris* han sido ubicadas dentro de un mismo género, por presentar una similitud de al menos 97.7% en su secuencia genética del segmento 16S de ARNr (ribosomal), mientras que A*. platys, A. phagocytophilum y Anaplasma bovis*, anteriormente reconocidos como miembros del género *Ehrlichia* (*E. platys, E. phagocytophila* y *E. bovis*), pasaron a formar parte del género Anaplasma por presentar similitudes de al menos 96.1% en sus secuencias genéticas del gen 16S de ARNr (Dolz et al., 2013).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Las especies de *Ehrlichia* que son considerados patogénicas en la actualidad son: *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia muris* y *Ehrlichia ruminantium* (Esemu et al., 2011). En humanos y perros se han reportado infecciones emergentes con *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. canis* y *E. muris* (Diep et al., 2015; Hegarty et al., 2012).

3.1.2.1. *Ehrlichia canis*.

Ehrlichia canis es una bacteria intracelular transmitida mediante mecanismo de parasitario, es el agente causal de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (Díaz-Medina et al., 2016). Otras sinonimias que se le otorgan a la Ehrlichiosis canina son fiebre hemorrágica canina, tifus canino, enfermedad del perro rastreador y pancitopenia tropical canina (Dubie et al., 2014).

En la actualidad, este patógeno ha sido reportado como agente infeccioso en caninos domésticos y salvajes, y en el ser humano en prácticamente todo el mundo (Dubie et al., 2014).

La enfermedad fue descrita por primera vez en Argelia en 1935 (Dubie et al., 2014). En los Estados Unidos de Norte América fue reportada por primera vez en 1963 (Magnarelli et al., 1990) y desde entonces ha sido encontrado con una amplia distribución en caninos domésticos de estados en Estados unidos de Norteamérica, Centroamérica y en otras regiones del sur del continente americano, con un numero de reportes que al parecer va en creciente aumento (Beall et al., 2012; Magnarelli et al., 1990). Aunque, como se menciona, aparece primariamente en perros, *Ehrlichia canis* también ha sido documentada en felinos y humanos, hacia donde es trasmitido principalmente por medio de la garrapata marrón del perro denominada *Rhipicephalus sanguineus s.l.*

3.1.2.2.- Epidemiología de *E. canis.*

E. canis como se ha mencionado con anterioridad tiene una distribución mundial aunque se atribuye una mayor prevalencia en áreas tropicales y subtropicales, donde el vector es abundante (Beall et al., 2012; Bowman et al., 2009). Algunos estudios han considerado que los perros adultos tienen un mayor riesgo de adquirir la infección lo cual puede a la vez estar correlacionado con una mayor frecuencia de exposición a garrapatas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

a lo largo de la vida del perro (Huerto-Medina y Dámaso-Mata, 2015). Ha sido reportada una mayor prevalencia en perros de raza Pastor Alemán, aunque otros estudios no revelan diferencias entre razas ó género (Ansari-Mood et al., 2015). Otros factores asociados positivamente con la infección de *E. canis* son un mayor número de perros por casa, ser infestado por garrapatas más de una ocasión, permanecer afuera de la casa, pudiendo manifestar una actitud depresiva y fiebre (Barrantes-Gonzalez et al., 2016). Se ha reportado que la enfermedad puede desarrollar varias fases: aguda, subclínica y crónica; así como también signos clínicos variables y en algunos casos inespecíficos, los cuales dependerán de múltiples factores como la ya mencionada respuesta inmune, además de otros factores como la cepa del agente causal (Ansari-Mood et al., 2015).

3.1.2.3.- Especies afectadas por *E. canis.*

E. canis afecta principalmente al perro doméstico. Sin embargo, se ha reportado como un agente capaz de infectar a una gran variedad de cánidos salvajes como: lobos (*Canis lupus*), coyotes (*Canis latrans*) y perros salvajes (*Lycaon pictus*), zorros grises (*Urocyomi cinereoargemiteus*), zorros rojos (*Vubpes fulsa*) y chacales (*Canis mesomelas*) (Amyx and Huxsoll, 1973; Price and Karstad, 1980). En el hombre la infección por *E. canis* fue descubierta por primera vez en 1986 mediante observación morfológica de mórulas y estudios serológicos (Maeda et al., 1987).

3.1.4 .- Vector transmisor de *E. canis.*

Rhipicephalus sanguineus s.l. conocida comúnmente como la garrapata café o marrón del perro ha sido reportada como el vector con mayor eficiencia para transmitir la infección de *E. canis* (Groves et al., 1975). Las garrapatas de esta especie pueden mantener la infección de *E. canis* de manera transestadial (de larva a ninfa ó de ninfa a garrapata adulta en el mismo individuo). Sin embargo, la infección de garrapatas de manera transovárica no se lleva a cabo en esta especie de garrapata (Groves et al., 1975). La transmisión de *E. canis* a perros domésticos ha sido evaluada y se ha encontrado que la infección puede llevarse a partir de las primeras ocho horas posteriores a la primera alimentación de la garrapata en el perro (Fourie et al., 2013). Otras especies de garrapatas que se han encontrado infectadas por *E. canis* son *Dermacentor variabilis* y

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Haemaphysalis leporis-palustris (Johnson et al., 1998; Sosa-Gutiérrez et al., 2016), aunque su capacidad vectorial no ha sido actualmente evaluada.

3.2.- Patogénesis.

La patogenia de la Ehrlichiosis canina consiste en un período de incubación de 8 a 20 días, seguido secuencialmente por fases agudas, subclínicas y, en algunos casos, crónicas. La enfermedad puede manifestarse por una amplia variedad de signos clínicos, de los cuales las más comunes son depresión, letargo, pérdida de peso, anorexia, pirexia, linfadenomegalia, esplenomegalia y hemorragias principalmente por epistaxis (Harrus et al., 1999). Las principales anomalías hematológicas incluyen trombocitopenia, anemia y leucopenia leves durante la etapa aguda, trombocitopenia leve en la etapa subclínica y pancitopenia en la etapa crónica grave. Las principales anomalías bioquímicas incluyen hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia (Harrus et al., 1999).

Se considera que la trombocitopenia es la anomalía hematológica más común y constante de los perros infectados natural o experimentalmente con *E. canis* (Waner et al., 1995). La trombocitopenia en CME se atribuye a diferentes mecanismos en las diferentes etapas de la enfermedad. Los mecanismos que se cree están involucrados en la patogénesis de la trombocitopenia en la fase aguda de la enfermedad incluyen un aumento del consumo de plaquetas debido a cambios inflamatorios en el endotelio de los vasos sanguíneos, un aumento del secuestro esplénico de las plaquetas y una destrucción o lesión inmunológica que resulta en una disminución significativa de la vida de las plaquetas (Smith et al., 1975). Los estudios que utilizan radioisótopos han demostrado que el tiempo de supervivencia de las plaquetas disminuyó de una media de 9 días a 4 días, 2 a 4 días después de la infección con *E. canis* (Waner et al., 1995).

La hipoalbuminemia, la hiperglobulinemia y la hipergammaglobulinemia son las anomalías bioquímicas predominantes encontradas en perros infectados con *E. canis* (Harrus et al., 1999). La hipoalbuminemia observada en la ehrlichiosis canina puede ser la consecuencia de la pérdida periférica de albúmina a los líquidos inflamatorios edematosos como resultado del aumento de la permeabilidad vascular, la pérdida de sangre o la disminución de la producción de proteínas debido a una enfermedad hepática leve concurrente, o puede ser por glomerulopatía de cambio mínimo (Harrus et al., 1999).

Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

Como la síntesis de albúmina está regulada por la presión oncótica, la disminución de las concentraciones de albúmina puede actuar como un mecanismo compensatorio para el estado hiperglobulinémico, manteniendo así la presión oncótica y evitando un aumento de la viscosidad de la sangre (Harrus et al., 1999).

Los cambios en la patogenia a partir de que la infección ha alcanzado la infección de las células sanguíneas, puede ser modificada dependiendo de la condición general del perro, la existencia de otras patologías concomitantes, la instauración de un tratamiento adecuado o bien desencadenar en múltiples complicaciones hematológicas y en órganos del animal que ocasionan la muerte por fallas multisistémicas (Esemu et al., 2011; Harrus et al., 1999).

3.3.- Diagnóstico de la infección por *Ehrlichia canis.*

En el diagnóstico definitivo de CME se pueden utilizar diferentes tipos de pruebas diagnósticas como la visualización de mórulas en monocitos mediante citología, la detección anticuerpos en suero, test de anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta, Western blot y reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) (Dubie et al., 2014).

En la citología, *E. canis* se tiñe de azul oscuro a púrpura con tinciones tipo Romanowsky. Las mórulas son bien definidas, redondas a ovales, aparecen como cuerpos de inclusión basofílicos a eosinofílicos con una membrana bien delineada dentro de las células mononucleares del hospedador (Dubie et al., 2014). Sin embargo, la evaluación mediante frotis proporciona una sensibilidad máxima de un 66% lo cual, lo coloca en desventajas al comparase con técnicas serológicas o moleculares (Dubie et al., 2014; Vargas-Hernández et al., 2012).

En perros infectados experimentalmente con *E. canis*, la prueba de inmunofluorescencia indirecta ha detectado anticuerpos séricos tan pronto como siete días después de la Infección inicial. Aunque algunos perros no se convierten en seropositivos hasta 28 días después de la infección. Por tanto, ha sido considerado que si los signos clínicos indican Ehrlichiosis canina en un perro seronegativo, la serología debe repetirse en 2-3 semanas. En el pasado, se han considerado títulos de anticuerpos IgG de > 1:80 como perros positivos a la infección, pero la mayoría de las investigaciones recientes

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

indican que los títulos <1:80 deben ser considerados como sospechosos y la serología debe repetirse en 2-3 semanas, o bien una PCR o Western blot deben ser considerados (Dubie et al., 2014; Movilla et al., 2016; Santos et al., 2009).

La PCR es un método que tiene alta sensibilidad y especificidad, para detectar la infección por *E. canis*. Actualmente es una herramienta que permite identificar infecciones tempranas, lo cual es imperativo para realizar tratamientos exitosos. Es considerado que esta técnica es capaz de detectar infecciones de *E. canis* aún después de haberse iniciado el tratamiento, por lo cual ha sido empleada para evaluar reinfecciones y la eficacia del tratamiento instaurado (Dubie et al., 2014; McBride y Walker, 2011; Nasiri et al., 2005; Vargas-Hernández et al., 2012).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

4.0.- Materiales y métodos.

4.1.- Área de estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en la Subregión Centro del estado de Tabasco, ubicada a 17° 99' latitud Norte y 92° 95' longitud oeste. En la Subregión Centro se incluye la ciudad de Villahermosa capital del estado de Tabasco, en el sureste de México. La temperatura anual promedio es de 26°C y presenta precipitación pluvial todo el año (INEGI, 2018).

4.2.- Tamaño de muestra y diseño del muestreo.

Se realizó un muestreo al azar simple, para recolectar un tamaño de muestra de n=132 animales por conveniencia, dichas muestras fueron recolectadas de julio - septiembre de 2019.

4.3.- Determinaciones a realizar en los perros.

4.3.1.- Toma de la muestra de sangre para la identificación de *Ehrlichia spp.* en perros.

Las muestras de sangre de los perros se obtuvieron de la vena cefálica utilizando aguja Vacutainer® y depositadas en tubos de 4 ml con EDTA. Posteriormente, las muestras fueron identificadas utilizando números consecutivos y conservadas en refrigeración durante su transporte al Laboratorio de Investigación de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, en donde fueron almacenadas a -20ºC hasta su procesamiento.

4.3.2.- Extracción de ADN genómico para la identificación de *Ehrlichia spp.*

Para llevar a cabo la extracción 100µl de sangre anti-coagulada se resuspendió en 180µl de solución de lisis de eritrocitos (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, Triton X - 100 al 1% y sacarosa al 11%), la mezcla se incubó cinco minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla fue centrifugada a 18,000 x g durante cinco minutos y se decantó el sobrenadante, este paso fue repetido tres veces para lisar por completo células sanguíneas y eliminar la hemoglobina.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Después, 60µl de solución de lisis de leucocitos (Tris-HCl 10 mM pH 8.0, NaCl 400 mM y EDTA 2 mM), 10µl de solución de proteinasa K (proteinasa K 1 mg / ml, SDS al 1% y EDTA 2 mM) y 2µl de SDS al 20% fueron añadidos a la muestra. La mezcla se incubó 65°C por una hora. Posteriormente, se le adicionó 30µl de acetato de potasio e incubados en hielo húmedo durante 30 minutos. Terminada la incubación, la mezcla fue centrifugada a 18,000 x g durante quince minutos y el sobrenadante se recuperó y se colocado en un nuevo tubo de serología (Eppendorf® de 1.5ml). Posteriormente, se agregaron 200µl de isopropanol absoluto y dejar precipitar el ADN durante toda la noche.

Al día siguiente, la muestra fue centrifugada a 18,000 x g durante 15 minutos y se descantó el isopropanol sobrenadante. Después se adicionaron 200µl de etanol al 70% y posteriormente, la muestra fue centrifugada a 18,000 x g durante 5 minutos y el etanol desechado. El ADN obtenido se secó durante 30 minutos y posteriormente, fue resuspendido usando 50µl de solución de TE (10 mM Tris-HCl, EDTA 1 mM, pH 8.0) este método de extracción fue estandarizado tomando como base diferentes literaturas basadas en extracción de ADN mediante la técnica de Salting-out (Ausubel et al., 2002; Nasiri et al., 2005; Sambrook y Russell, 2001).

4.3.3.- Cebadores y reacción de PCR para identificar *Ehrlichia spp*. en ADN genómico procedente de sangre de perros.

Para determinar la presencia de bacterias del género *Ehrlichia spp.* en ADN genómico procedente de la sangre de los perros muestreados se utilizaron un par cebadores generales para detectar el género *Ehrlichia spp*. Posteriormente, se realizó una segunda PCR utilizando cebadores específicos para identificar *E. canis.* El nombre de los cebadores, su secuencia, el sitio de origen, la masa molecular de sus productos de PCR y su reacción de PCR pueden ser observados en el Cuadro 1. La cantidad total de ADN de cada muestra extraída fue cuantificada empleando un NanoDrop (ThermoFisher Scientific, USA) y posteriormente homogenizada a una concentración de 100ng/µl para ser usada en la PCR.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 1.- Datos generales de los cebadores y las reacciones de PCR empleados para realizar el diagnóstico de *Ehrlichia spp.* en los perros muestreados.

Especie	Cebador	Secuencia	Origen	Producto	Reacción de PCR
Ehrlichia spp.	EHR16SD	Forward: 5´GGTACCYACAGAAGAAGTCC3´	16 s rRNA	345 pb	Desnaturalización: 95°C x 5 min 35 ciclos de: 94°C x 30s 55°C x 30s 72°C x 90s Extensión final: 72°C x 5 min
	EHR16SR	Reverse: 5´TAGCACTCATCGTTTACAGC3´			
Ehrlichia canis	CANIS	Forward: 5´CAA-TTA-TTT-ATA-GCC-TCT-GGC-TAT-AGG-A 3´	16 s rRNA	409 pb	Desnaturalización: 95°C x 5 min 40 ciclos de: 95°C x 30s 60°C x30s 72°C x 90s Extensión final: 72°C x 5 min
	GA1R	Reverse: 5´GAG-TTT-GCC-GGG-ACT-TCT-TCT3´			

Nazari *et al.* (2013).

4.3.4.- Determinación de la prevalencia de *Ehrlichia spp.* en los perros muestreados.

Para determinar la prevalencia de perros infectados por *Ehrlichia spp.,* se aplicó la fórmula general de prevalencia:

$$P_t = \frac{C_t}{N_t}$$

Donde P_t es la prevalencia estimada en el tiempo justo que se realizó el estudio, C_t es el número total de casos que resultaron positivos durante ese período y N_t es el número total de individuos estudiados durante ese período de tiempo (Thrusfield y Christley, 2018).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

4.3.5.- Determinación de factores asociados a la infección de *Ehrlichia spp.* en perros.

Para determinar los factores asociados a las infecciones de *Ehrlichia spp.* en perros se realizó una encuesta a los dueños, con el fin de obtener datos relacionados con sus mascotas (Anexo 1). Los datos fueron capturados inicialmente mediante la hoja de encuesta y posteriormente digitalizados en una hoja de cálculo de Excel para su posterior análisis estadístico.

4.3.6.- Análisis estadístico para identificar factores asociados a la infección de *Ehrlichia spp.* en los perros muestreados.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa IBM SPSS versión 22® (IBM Corporation, Armonk, NY). Con las variables consideradas posibles factores asociados a *Ehrlichia spp*. en perros, se realizó un modelo de regresión logística binomial, para explicar la presencia o ausencia de perros infectados.

Para seleccionar las variables a incluir en el modelo, inicialmente se realizó análisis de regresión logística univariada, para explorar la posible asociación entre cada una de las variables independientes y la presencia o ausencia de infecciones en los perros. Se consideraron significativas aquellas con valor de $P< 0.05$.

Una vez seleccionadas las variables independientes se realizaron diversos ensayos para elegir el método de entrada al programa estadístico (IBM SPSS versión 22) que más se adecuó. El nivel de confianza fue de 95%, se calcularon los Odds Ratio y se consideraron significativos los valores de $P< 0.05$.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

5.0.- Resultados.

Del total de perros muestreados 132 en la Subregión Centro del estado de Tabasco, se obtuvo una prevalencia de 11.3% (15/132), identificándose *Ehrlichia canis*; la clasificación y las variables medidas se describen en el (Cuadro 2) de las cuales se puede observar que la raza, condición corporal (CC) y la procedencia de zona rural fueron estadísticamente asociadas a la infección mediante el análisis univariado.

Cuadro 2. Características de la población y la presencia de *Ehrlichia canis* en perros de la Subregión Centro, Tabasco.

Características	**Total**		**Negativos**		**Positivos**		**Valor P**
	n	%	n	%	n	%	
Raza							
Pura	75	56.9	71	94.6	4	5.4	
No pura	57	43.1	46	80.8	11	19.2	*0.019
Función							
Mascota	118	89	104	88.2	14	11.8	0.60
Caza y pastoreo	14	11	13	92.9	1	7.1	
CC							
< 3	37	28	28	75.6	9	24.4	*0.006
≥ 3	95	72	89	93.6	6	6.4	
Edad							
< 2	40	30	33	82.5	7	17.5	0.15
≥ 2	92	70	84	91.3	8	8.7	
Sexo							
Machos	75	64	64	85	11	15	0.176
Hembras	57	53	53	93	4	7	
Talla							
Chica	53	40	49	92	4	8	0.26
Grande	79	60	68	86	11	14	
Pelaje							
Largo	39	30	35	90	4	10	0.79
Corto	93	70	82	88	11	12	
Color							
Claro	67	51	60	90	7	10	0.73
Oscuro	65	49	57	88	8	12	

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Alimentación							
Casera	4	3	4	100	0	0	0.99
Comercial	128	97	113	88	15	12	
Convivencia							
Si	112	85	98	87.5	14	12.5	0.34
No	20	15	19	95	1	5	
Procedencia							
Rural	53	40	40	75	13	25	*0.001
Urbana	79	60	77	97	2	3	
Lugar de permanencia							
Dentro	36	27	36	100	0	0	0.99
Fuera	96	73	81	84	15	16	
Garrapatas							
Si	98	74	86	88	12	12	0.59
No	34	26	31	91	3	9	
Pulgas							
Si	21	16	20	95	1	5	0.31
No	111	84	97	87	14	13	
Desparasitación							
Si	27	20.5	22	81.5	5	18.5	0.19
No	105	79.5	95	90.5	10	9.5	

*Variable P≤ 0.05.

De las variables evaluadas, para la asociación de factores de riesgo, el OR calculado fue el siguiente (Cuadro 3), donde se puede notar que la raza no pura, la CC <3, y la procedencia de los perros de las zonas rurales fueron estadísticamente significativos (P< 0.05 con IC al 95%).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 3. Factores asociados con *Ehrlichia canis* en perros de la Subregión Centro, Tabasco.

Catacterísticas	Negativos	Positivos	OR	IC
Raza				
Pura	71	4	0.23	0.071-0.78
No pura	46	11	4.24	1.27-14.13
CC				
< 3	28	9	4.76	1.56-14.56
≥ 3	89	6	0.21	0.06-0.64
Procedencia				
Rural	40	13	12.51	2.69-5818
Urbano	77	2	0.080	0.017-0.37

Los resultados del análisis multivariado mostraron una asociación en forma independiente para las variables, raza no pura, CC <3, y los perros de zona rural. En los perros de razas no puras es 4.2 veces mayor la probabilidad de infección con *E. canis* en comparación con los perros de razas puras; la CC entre los <3 y ≥3, los <3 son 4.7 veces mayor la probabilidad de infección de *E. canis*; el lugar de procedencia zona rural entre urbana, la rural tienen 12.51 veces mayor probabiliad de infección *E. canis* en comparación con los perros de la zona urbana.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

6.0.- Discusión.

La prevalencia de *Ehrlichia canis* en la subregión Centro fue menor (11.3%), comparada con la reportada en otros países como la India 50% (Lakshmanan et al., 2007); Estados Unidos 56% (Kordick et al., 1999); y Sudán 87.2% (Inokuma et al., 2006). Sin embargo, a diferencia del presente estudio el reporte realizado en la India no clarifica la procedencia de las muestras colectadas y las características de la población canina muestreada. El reporte realizado en Sudán involucró perros callejeros, lo cual puede incidir directamente en el porcentaje de infección ya que a diferencia en el presente estudio solo se muestrearon perros domiciliados y no perros callejeros. Por el contrario, Ansari-Mood et al., (2015), reportaron muy baja prevalencia de *Ehrlichia spp.* en 250 perros del Noreste de Irán empleando la técnica de ELISA (0.8%). Esta diferencia en los porcentajes de infección también puede depender del tipo de prueba utilizada, su sensibilidad y especificidad. En general, las pruebas moleculares se han destacado por ser altamente sensibles y específicas para detectar este tipo de patógenos.

Un estudio realizado en Perú reportó una seroprevalencia de 51.3% en perros infestados por la garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus*. Dentro de los factores asociados a la infección por *E. canis*, el estudio reportó una pobre condición física, un elevado número de garrapatas y una mayor prevalencia en perros de edad adulta (Huerto-Medina y Dámaso-Mata, 2015). La prevalencia reportada en Perú fue mayor a la encontrada en el presente estudio. Sin embargo, es fácil notar que las poblaciones caninas estudiadas fueron diferentes, por lo que una comparación directa no sería razonable.

En Costa Rica se ha reportado una prevalencia de *E. canis* de 32% (Barrantes-Gónzalez et al., 2016). Sin embargo, se ha discutido anteriormente que las pruebas serólogicas son menos específicas que las pruebas de PCR debido a que detectan los anticuerpos circulantes que permanecen semanas después de haber adquirido e incluso eliminado la infección. De forma similar ha sucedido una muy baja prevalencia cuando se han empleado técnicas diagnósticas más básicas como son la evaluación de frotis sanguíneos (3.9%) y la evaluación de la capa leucoplaquetaria (76.9%) mediante microscopía (González- Navarrete et al., 2019).

En un análisis exploratorio de enfermedades Rickttsiales en perros de Ciudad Juárez Chihuahua, México se reportó una prevalencia de *Ehrlichia spp.* de 40%

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

(Escárcega-Ávila et al., 2018). Otro estudio realizado en 100 perros de La Comarca Lagunera, entre los estados del norte de Coahuila y Durango en México se reportó una prevalencia de *E. canis* de 10%, la cual es similar a la reportada en el presente estudio (Almazán et al., 2016). De igual forma estos autores reportaron a *Rhipicephalus sanguineus s.l.* como la principal especie de garrapata que infesta a los perros domésticos.

En un estudio realizado en una comunidad de Yucatán, México, se evaluaron 200 perros resultando en una prevalencia de *E. canis* de 69.2% empleando PCR anidada. Este estudio reportó que el 70% de los perros muestreados estaban infestados de garrapatas. Además, el estudio reportó que una mayor proporción de perros afectados perteneció a zonas rurales. Otros factores evaluados como el sexo, la edad, condición corporal, trombocitopenia o la presencia de garrapatas no fueron estadísticamente significativas (Díaz-Medina et al., 2016). De forma similar en el presente estudio la procedencia de los perros también fue un factor que influyó estadísticamente en la prevalencia de *E. canis.* Los perros de zonas rurales fueron significativamente (12 veces mas probable) asociados con la infección.

De las variables estudiadas en el presente trabajo, tres variables fueron significativamente asociadas a la infección: perros de raza no pura, condición corporal <3 y pertenecer a una zona rural. Este estudio no descarta la posibilidad de infecciones concomitantes o causadas por otros ectoparásitos diferentes a garrapatas, parásitos gastrointestinales u otros factores inherentes al manejo de las mascotas que no fueron considerados en el presente estudio. El medio rural se encuentra influenciado por otros factores como son la falta de servicios veterinarios (comparado con el medio urbano), el estatus económico de la población en estas zonas muchas veces es limitado, lo cual, no permite la adquisición de alimentos de buena calidad para sus mascotas, el uso de fármacos para controlar las infestaciones de endo y ectoparásitos, y en general, se carece de una educación enfocada al cuidado de la salud y el bienestar de las mascotas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

7.0.- Conclusión.

- La prevalencia de *Ehrlichia spp.* en perros de la Subregión Centro del estado de Tabasco, mediante PCR convencional fue de 11.3%.
- La única especie encontrada mediante el uso de cebadores específicos fue *Ehrlichia canis*.
- Los factores asociados a las infecciones de *E. canis* en la población canina evaluada fueron: ser perros de raza no pura, pertenecer a zonas rurales y tener una condición corporal <3.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

8.0.- Literatura citada.

Almazán, C., Gonzalez-Alvarez, V.H., Fernandez de Mera, I.G., Cabezas-Cruz, A., Rodriguez-Martinez, R., de la Fuente, J., 2016. Molecular identification and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs in Mexico. Ticks Tick Borne Dis 7, 276-283.

Amyx, H.L., Huxsoll, D.L., 1973. Red and gray foxes potential reservoir hosts for *Ehrlichia canis*. Journal of wildlife diseases 9, 47-50.

Ansari-Mood, M., Khoshnegah, J., Mohri, M., Rajaei, S.M., 2015. Seroprevalence and risk factors of *Ehrlichia canis* infection among companion dogs of mashhad, north east of Iran, 2009-2010. Journal of Arthropod-Borne Diseases 9, 184-194.

Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R., Moore, D., Seidman, J., Smith, J., Struhl, K., 2002. Short protocols in molecular biology, Vol 5th. Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, 1512 p.

Barrantes-Gonzalez, A.V., Jimenez-Rocha, A.E., Romero-Zuniga, J.J., Dolz, G., 2016. Serology, molecular detection and risk factors of *Ehrlichia canis* infection in dogs in Costa Rica. Ticks Tick Borne Dis 7, 1245-1251.

Beall, M.J., Alleman, A.R., Breitschwerdt, E.B., Cohn, L.A., Couto, C.G., Dryden, M.W., Guptill, L.C., Iazbik, C., Kania, S.A., Lathan, P., Little, S.E., Roy, A., Sayler, K.A., Stillman, B.A., Welles, E.G., Wolfson, W., Yabsley, M.J., 2012. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. Parasites & vectors 5, 29-29.

Bowman, D., Little, S.E., Lorentzen, L., Shields, J., Sullivan, M.P., Carlin, E.P., 2009. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States:

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Results of a national clinic-based serologic survey. Veterinary Parasitology 160, 138-148.

Buller, R.S., Arens, M., Hmiel, S.P., Paddock, C.D., Sumner, J.W., Rikhisa, Y., Unver, A., Gaudreault-Keener, M., Manian, F.A., Liddell, A.M., Schmulewitz, N., Storch, G.A., 1999. *Ehrlichia ewingii*, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. The New England Journal of Medicine 341, 148-155.

Chozo-Graus 2019. Prevalencia de Erliquiosis en perros atendidos en la clínica veterinaria zona animal, distrirto de chiclayo, septiembre 2015-septiembre 2017. Tesis licenciatura. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Peru. http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/5545

Dantas-Torres, F., 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus.* Parasites & Vector 3: 1-26.

Díaz-Medina, O.C., Bolio-González, M.E., Rodríguez-Vivas, R.I., Gutiérrez-Ruíz, E.J., Pérez-Osorio, C., 2016. Molecular survey of *Ehrlichia canis* in dogs from Mexico: prevalence of infection and possible associated factors. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 3, 251-257.

Diep, K.H.J., Elizabeth, S., Jeffrey, P.D., David, N., Lynne, M.S., William, L.N., Thomas, R.F., Christopher, R.S., Julie, A.R., Tracy, K.M., Michelle, A.F., Timothy, S.U., Joni, J.F., Amy, L.L., Alecia, K.D., Elitza, S.T., Bobbi, P., 2015. Human infection with ehrlichia muris–like pathogen, united states, 2007–2013. Emerging Infectious Disease Journal 21, 1794.

Dolz, G., Ábrego, L., Romero, L.E., Campos-Calderón, L., Bouza-Mora, L., Jiménez-Rocha, A.E., 2013. Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. Acta Médica Costarricense 55, 34-40.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Dubie, T., Mohammed, Y., Terefe, G., Yimer, M., Tesfaye, J., 2014. An insight review on canine ehrlichiosis with emphasis on its epidemiology and pathogenesity importance. Global Journal of Veterinary Medicine and Research, 2, 060-067.

Eiras, D.F., Craviotto, M.B., Vezzani, D., Eyal, O., Baneth, G., 2013. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 36, 169-173.

Esemu, S., Ndip, L., Ndip, R., 2011. Ehrlichia species, probable emerging human pathogens in sub-Saharan Africa: Environmental exacerbation, Vol 26, 269-279.

Escárcega-Ávila, A.M., Luna, F.B.S., De la Mora, C.A., Jiménez-Vega, F., 2018. Análisis exploratorio de enfermedades Rickettsiales trnasmitidas por garrapatas en perros de Ciudad Juarez, Chihuahua, México. Act.Uni Vol. 28 No. 3.

Ferrolho, J., Simpson, J., Hawes, P., Zweygarth, E., Bell-Sakyi, L., 2016. Growth of *Ehrlichia canis*, the causative agent of canine monocytic ehrlichiosis, in vector and non-vector ixodid tick cell lines. Ticks and tick-borne diseases 7, 631-637.

Fourie, J.J., Stanneck, D., Luus, H.G., Beugnet, F., Wijnveld, M., Jongejan, F., 2013. Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes. Veterinary Parasitology 197, 595-603.

González-Navarrete, M., Beczerra-Da Silva, C., Cuello, P.S., Rodríguez, A.M.B., Henrique-Da Fonseca, A., 2019. Diagnóstico de *Ehrlichia canis* en perros domiciliados de la Habana, Cuba. Rev. Salud Anim. Vol 41 N 2.

Groves, M.G., Dennis, G.L., Amyx, H.L., Huxsoll, D.L., 1975. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). American Journal of Veterinary Research 36, 937-940.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Harrus, S., Waner, T., Bark, H., Jongejan, F., Cornelissen, A.W., 1999. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. Journal of Clinical Microbiology 37, 2745-2749.

Hegarty, B.C., Maggi, R.G., Koskinen, P., Beall, M.J., Eberts, M., Chandrashekar, R., Breitschwerdt, E.B., 2012. *Ehrlichia muris* infection in a dog from Minnesota. J Vet Intern Med 26, 1217-1220.

Huerto-Medina, E., Dámaso-Mata, B., 2015. Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. 2015, 5.

INEGI 2018. Instituto Nacional De Estadistica Geografía e Informatica-INEGI. (Mexico).

Inokuma, H., Oyamada, M., Davoust, B., El Boni, M., Dereure, J., Bucheton, B., 2006. Epidemiological survey of *Ehrlichia canis* and related species infection in dogs in Eastern Sudan. Annals of the New York Academic Sciences 1071: 461-463.

Jiménez-Avendaño, L.P., Cala-Centeno, F.A., Albarracin-Navas, J.H., Beatriz-Duarte, L.S., 2017. La Ehrlichiosis canina: Ehrlichia canis (caso clínico). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 18, 1-9.

Johnson, E.M., Ewing, S.A., Barker, R.W., Fox, J.C., Crow, D.W., Kocan, K.M., 1998. Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol 74, 277-288.

Kordick, S.K., Breistchwerdt, E.B., Hegarty, B.C. , Southwick, K.L., Colitz, C.M. Hancock S.I., 1999. Co infection with multiple tick-born pathogens in walker hound kennel in North Carolina. Journal Clinical Microbiology 37: 2631-2638.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Lakshmanan, B., John, L., Gomathinayagam, S., Dhinakarraj, G., 2007. Molecular detection of Ehrlichia canis from blod of naturally infected dogs in India. Veterinarsky Arhiv. 77: 307-312.

Maeda, K., Markowitz, N., Hawley, R.C., Ristic, M., Cox, D., McDade, J.E., 1987. Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia. The New England Journal of Medicine 316, 853-856.

Magnarelli, L.A., Litwin, H.J., Holland, C.J., Anderson, J.F., Ristic, M., 1990. Canine ehrlichiosis in Connecticut. Journal of Clinical Microbiology 28, 366-367.

Martin, G.S., Christman, B.W., Standaert, S.M., 1999. Rapidly fatal infection with ehrlichia chaffeensis. New England Journal of Medicine 341, 763-764.

McBride, J.W., Walker, D.H., 2011. Molecular and cellular pathobiology of Ehrlichia infection: targets for new therapeutics and immunomodulation strategies. Expert reviews in molecular medicine 13, e3-e3.

Movilla, R., García, C., Siebert, S., Roura, X., 2016. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. Parasites & vectors 9, 421.

Nasiri, H., Forouzandeh, M., Rasaee, M.J., Rahbarizadeh, F., 2005. Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. Journal of clinical laboratory analysis 19, 229-232.

Nazari, M., Lim, S.Y., Watanabe, M., Sharma, R.S.K., Cheng, Y. N. A. B.,Watanabe, M., 2013. Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs in Malaysia. Plos Neglected Tropical Diseases, 7, 1-4.

Norman, R., Daniela, C., Priscilla, M., 2015. Molecular detection of *Ehrlichia chaffeensis* in humans, costa rica. Emerging Infectious Disease journal 21, 532.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Ogden, N.H., Woldehiwet, Z., Hart, C.A., 1998. Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease? Journal of medical microbiology 47, 475-482.

Perez, M., Bodor, M., Zhang, C., Xiong, Q., Rikihisa, Y., 2006. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. Annals of the New York Academy of Sciences 1078, 110-117.

Price, J.E., Karstad, L.H., 1980. Free-living jackals (*canis mesomelas*) - potential reservoir hosts for *Ehrlichia canis* in kenya. Journal of wildlife diseases 16, 469-473.

Qurollo, B.A., Davenport, A.C., Sherbert, B.M., Grindem, C.B., Birkenheuer, A.J., Breitschwerdt, E.B., 2013. Infection with panola mountain *Ehrlichia* sp. In a dog with atypical lymphocytes and clonal t-cell expansion. J Vet Intern Med 27, 1251-1255.

Rar, V., Golovljova, I., 2011. Anaplasma, Ehrlichia, and "Candidatus Neoehrlichia" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases 11, 1842-1861.

Sainz, Á., Roura, X., Miró, G., Estrada-Peña, A., Kohn, B., Harrus, S., Solano-Gallego, L., 2015. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. Parasites & vectors 8, 75.

Sambrook, J., Russell, D., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Vol 1.

Santos, F., Coppede, J.S., Pereira, A.L.A., Oliveira, L.P., Roberto, P.G., Benedetti, R.B.R., Zucoloto, L.B., Lucas, F., Sobreira, L., Marins, M., 2009. Molecular evaluation of the incidence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. The Veterinary Journal 179, 145-148.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Scorza, A.V., Duncan, C., Miles, L., Lappin, M.R., 2011. Prevalence of selected zoonotic and vector-borne agents in dogs and cats in Costa Rica. Veterinary Parasitology 183, 178-183.

Smith, R.D., Ristic, M., Huxsoll, D.L., Baylor, R.A., 1975. Platelet kinetics in canine ehrlichiosis: evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia. Infect Immun 11, 1216-1221.

Sosa-Gutiérrez, C.G., Quintero-Martinez, T., Vargas-Sandoval, M., Gordillo-Pérez, G., 2016. First phylogenetic analysis of *Ehrlichia canis* in dogs and ticks from Mexico. Preliminary study. Revista MVZ Córdoba 21, 5569-5576.

Starkey, L.A., Barrett, A.W., Beall, M.J., Chandrashekar, R., Thatcher, B., Tyrrell, P., Little, S.E., 2015. Persistent *ehrlichia ewingii* infection in dogs after natural tick infestation. Journal of Veterinary Internal Medicine 29, 552-555.

Thrusfield, M., Christley, R., 2018. Veterinary Epidemiology, 4° Edición. Edition. Wiley-Blackwell, 888 p.

Vargas-Hernández, G., André, M.R., Faria, J.L.M., Munhoz, T.D., Hernandez-Rodriguez, M., Machado, R.Z., Tinucci-Costa, M., 2012. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. Veterinary Parasitology 186, 254-260.

Waner, T., Harrus, S., Weiss, D.J., Bark, H., Keysary, A., 1995. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. Veterinary immunology and immunopathology 48, 177-182.

Zhang, X., Luo, T., Keysary, A., Baneth, G., Miyashiro, S., Strenger, C., Waner, T., McBride, J.W., 2008. Genetic and antigenic diversities of major immunoreactive

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

proteins in globally distributed *Ehrlichia canis* strains. Clinical and Vaccine Immunology 15, 1080-1088.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ANEXO 1

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
División Académica de Ciencias Agropecuarias
Medicina Veterinaria y Zootecnia

"Proyecto: Identificación molecular, monitoreo y control de enfermedades zoonóticas transmitidas por vectores en personas y perros de Tabasco"

Fecha: Numero Folio: Lugar:

DATOS DEL PERRO			
NOMBRE:	RAZA:	CC(1-5):	Edad:
Procedencia: Urbana[ ] Rural [ ]	Actividad del perro: Pastoreo [ ] Caza [ ] Otro:		
Talla: CH[ ] M[ ] G[ ]	Pelaje: Corto [ ] Medio [ ] Largo [ ]		Color:
Visitas al Veterinario: Sí [ ] No [ ]	Vacunas Sí [ ] No [ ] ¿Cuáles?_____		Desparasitaciones: Sí [ ] No [ ] Ivermectina[ ] Otros [ ] ¿Cuál? _____
Alimentación: Comercial [ ] Comida Casera [ ] Restos [ ] Otro [ ] ¿Qué?_____	Convivencia con otros animales: Sí [ ] No [ ] Perro [ ] Gato [ ] Vaca [ ] Caballo [ ] Borrego [ ] Otro:		Presencia de Ectoparásitos: Sí [ ] No [ ] Garrapatas [ ] Pulgas [ ] Piojos [ ] Chinches [ ] Mosquitos [ ] Cucarachas [ ] Roedores [ ]
Dormitorio del perro: Dentro de casa [ ] Fuera de casa [ ] Ambos [ ]			

DATOS DEL LUGAR		
Municipio:	Colonia o poblado:	
Dirección:		
Número de Casa:	Georeferencia:	
Tipo de Zona: Rural [ ] Sub-urbana [ ] Urbana [ ]		
Tipo de material de construcción: Concreto [ ] Madera [ ] Lámina [ ] Otro:_____	Fuentes de agua cercanas: Sí [ ] No [ ] Río [ ] Lagunas [ ] Jagüey [ ] Otro:_____	Presencia de basura: Sí [ ] No [ ] Hojas [ ] Plásticos [ ] Llantas [ ] Cristales [ ] Otro:_____

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Prevalencia y factores asociados a la infección de Ehrlichia spp. en perros de la Subregión Centro, Tabasco, México.

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%
ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	ri.ujat.mx Internet	200 palabras — 3%
2	www.researchgate.net Internet	150 palabras — 2%
3	repositorio.unc.edu.pe Internet	145 palabras — 2%
4	bibliotecadigital.udea.edu.co Internet	101 palabras — 2%
5	core.ac.uk Internet	83 palabras — 1%
6	www.redalyc.org Internet	59 palabras — 1%
7	repositorio.uap.edu.pe Internet	36 palabras — 1%
8	repositorio.uaaan.mx Internet	31 palabras — < 1%
9	lookformedical.com Internet	27 palabras — < 1%
10	archivos.ujat.mx Internet	22 palabras — < 1%

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

EXCLUIR CITAS ACTIVADO
EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA ACTIVADO
EXCLUIR FUENTES DESACTIVADO
EXCLUIR COINCIDENCIAS < 20 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.