

**Ehrlichiosis Monocítica Canina. Revisión de su estado del arte.
Canine Monocytic Ehrlichiosis. Review of your state of the art.**

Jaime Andrés Viteri Flórez

**Trabajo de grado para optar al título de:
Especialista en medicina de pequeñas especies animales.**

Especialización en Medicina de Pequeñas Especies Animales

Universidad de Antioquia

Octubre 2016

Resumen

Las enfermedades transmitidas por garrapatas (*Tick-born diseases*, o TBD) son comunes en la consulta clínica canina en nuestro medio, a pesar de no disponer de estudios epidemiológicos que den cuenta de su incidencia o prevalencia. El conocimiento y diferenciación de los diferentes agentes infecciosos implicados en las entidades que pueden estar involucradas en el desarrollo de un proceso patológico es muy importante, si se tiene en cuenta el riesgo zoonótico que conllevan. Los perros (y los gatos) son susceptibles a la infección con varios de los patógenos transmitidos por garrapatas, y los veterinarios deberían ser conscientes de las similitudes y diferencias entre *E. canis* e infecciones relacionadas. A pesar del considerable progreso en el campo de la Ehrlichiosis, aún queda mucho por aprender acerca de los mecanismos que contribuyen a la patogénesis, modalidades de tratamiento eficaces, y las estrategias de prevención que protejan mejor la salud del animal doméstico. Las mascotas con signos clínicos y anomalías de laboratorio sugerentes de infección por Ehrlichia, pueden comenzar con doxiciclina en espera de pruebas diagnósticas específicas. El veterinario que practica en las zonas endémicas debe entender las implicaciones y limitaciones de las diferentes pruebas serológicas y moleculares para confirmar un diagnóstico. Para los animales de las zonas endémicas, la prevención de la exposición a los vectores puede disminuir el riesgo de enfermedad y podría disminuir el potencial para que los animales se conviertan en portadores de la enfermedad para sus compañeros humanos.

Tabla de Contenido

1. Introducción	4
2. Objetivos	6
3. Ehrlichiosis canina	7
3.1 Etiología.....	7
3.2 Epidemiología.....	9
3.3 Patogénesis.....	10
3.4 Sintomatología.....	13
3.5 Diagnostico.....	14
3.5.1 Patología clínica.....	15
3.5.1.1 Hematología.....	15
3.5.1.2 Identificación por Examinación directa de Frotis Sanguíneo.....	15
3.5.1.3 Diagnóstico serológico.....	16
3.5.1.4 Diagnóstico Molecular.....	17
3.6 Tratamiento.....	18
3.7 Prevención y Control.....	19
4. Discusión	21
5. Conclusiones	23

1. Introducción.

Los patógenos asociados a las enfermedades transmitidas por garrapatas, pueden ser diversos y estar asociados a diferentes estados de enfermedad, así como también a diversos cambios hematológicos, incluyendo trombocitopenia, anemias con posible hipoxia y daños en órganos y leucopenia (26). La garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*, está asociada como vector de algunos agentes como *Anaplasma platys*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, (13) algunas especies de *Rickettsia* (8) y *Hepatozoon canis* (por ingestión directa de la garrapata infectada) del cual ya se tienen reportes de caracterización en el país (38, 39), así como también diferentes lugares en Suramérica y áreas urbanas de Brasil (16).

En Colombia además se ha comprobado la presencia por medio de detección molecular de *E. canis* y *B. vogeli* (38), los cuales tienen importancia no solamente por la enfermedad relacionada con los caninos sino también con su potencial zoonótico (8). Estas enfermedades cursan en su estado agudo con signos clínicos similares como fiebre, decaimiento, anorexia, pérdida de peso, pero también podemos encontrar casos de infecciones crónicas en los cuales no se muestran signos clínicos evidentes, pero si cambios hematológicos, como trombocitopenia moderada o severa, leucopenia por linfopenia y en algunos casos anemia marcada (23).

La detección molecular por medio de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es la prueba de elección para determinar la presencia de uno u otro, o varios patógenos en el proceso de enfermedad en los caninos por encima de la evaluación serológica por medio de detección de anticuerpos (26); sin embargo, la sintomatología del paciente y los hallazgos hematológicos nos pueden sugerir la presencia de enfermedades producidas por hemoparásitos, y la evaluación serológica está al alcance de muchos centros veterinarios así que se convierte en una ayuda diagnóstica importante.

Dentro de los medicamentos utilizados en el tratamiento de estos patógenos encontramos que la Doxiciclina a dosis de 10 mg/Kg/día, vía oral, o 5 mg/Kg BID, ambas durante cuatro semanas ha mostrado eficacia contra *E. canis*, pero una eficacia moderada a baja contra *Babesia spp* (23); sin embargo, la combinación con Dipropionato de Imidocarb a dosis de 5 - 7 mg/Kg, vía intramuscular, dos veces al día, durante 14 días (9), ha demostrado ser efectiva contra *Babesia spp* y también en los casos donde se encuentran infecciones concomitantes de los dos patógenos (5, 6).

En este caso enfocaremos nuestra atención al estudio de la *Ehrlichiosis canina*, por ser uno de los agentes que presentan una creciente causa de consulta, no obstante aún no disponemos de estudios sobre su epidemiología en Colombia, y por su posible potencial zoonótico.

2. Objetivos.

- Realizar una revisión de la literatura disponible sobre la epidemiología y clínica de la Ehrlichiosis monocítica canina.
- Revisar los aspectos relacionados con la etiología y patogenia de los agentes involucrados en la Ehrlichiosis monocítica canina.
- Conocer las pautas definidas para diferenciar los signos clínicos asociados a los diferentes agente etiológicos.
- Identificar los diferentes métodos profilácticos y los tratamiento disponibles para el control de esta enfermedad.
- Conocer la importancia que tiene esta enfermedad en salud pública, tanto por su incidencia así como también por su potencial zoonótico.

3. Ehrlichiosis canina

Ehrlichia canis se identificó por primera vez en Argelia en 1935. La Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) llamó la atención en la guerra de Vietnam cuando muchos perros militares de la raza Pastor alemán, murieron a causa de la enfermedad. Posteriormente, ante la sospecha de ser el agente causal de infecciones en el hombre, su estudio se intensificó, pero al identificar que la causa de la Ehrlichiosis monocítica humana era la *E. chaffeensis*, el estudio de la EMC disminuyó (6).

3.1 Etiología

La EMC se conoce también como Rickettsiosis canina, Fiebre hemorrágica canina, Enfermedad del perro rastreador, Tifus de la garrapata canina, Desorden hemorrágico de Nairobi, Síndrome Hemorrágico Idiopático y Pancitopenia tropical canina, nombres que a su vez pueden representar diferentes aspectos de la enfermedad (5, 6). El agente etiológico de la Ehrlichiosis canina es la *E. canis*, especie perteneciente al género *Ehrlichia*, familia *Anaplasmataceae*, orden *Rickettsiales*, y Filum *Proteobacteria*.

E. canis, al igual que el resto de las especies de *Ehrlichia*, es una bacteria cocoide pleomorfa Gram negativa de aproximadamente 0.5 µm 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 (6).

Las Ehrlichiosis, son causadas por organismos del género *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia*. No obstante, la infección por agentes de los dos últimos géneros se está comenzando a llamar anaplasmosis y neorickettsiosis, respectivamente. (3,

14). Con respecto a la clasificación actual de estos agentes basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, las especies anteriormente incluidas en los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se reorganizarían en cuatro grupos genéticos, así (6):

1. Grupo 1: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma caudatum*, *Ehrlichia phagocytophila* (hoy *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (actualmente *Anaplasma bovis*) y *Ehrlichia platys* (hoy *Anaplasma platys*).
2. Grupo 2: *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *E. Ewingii*, *E. muris* y *Cowdria ruminantium* (ahora *Ehrlichia ruminantium*).
3. Grupo 3: *Neorickettsia helminthoeca*, *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (que pasan a denominarse *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente).
4. Grupo 4: La especie *Wolbachia pipientis* será el único miembro del género *Wolbachia*.

Además la especie actualmente denominada *Anaplasma phagocytophilum* engloba a las especies anteriormente denominadas *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* y el agente de la Ehrlichiosis granulocítica humana (EGH). En perros se ha descrito la infección con *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. Ewingii*, *E. ruminantium*, *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *N. sennetsu* y *N. risticii*, sin embargo tan sólo *E. canis* se ha descrito como un patógeno de distribución mundial. Esta distribución está estrechamente relacionada con la distribución del vector *Rhipicephalus sanguineus* y es así como se ha descrito su ocurrencia en cuatro continentes incluyendo Asia, África, Europa y América (6).

Diferentes especies de canidos salvajes también pueden ser hospedadores de este microorganismo y en estos la enfermedad se presenta de un modo benigno.

Por esto se debe tener en cuenta la implicación de estas especies en la transmisión de la Ehrlichiosis canina. Las infecciones con *E. canis* pueden coexistir con *Babesia canis* y *Hepatozoon canis* (ambos protozoarios transmitidos por garrapatas) o con *Bartonella vinsonii*, lo que sugiere la transmisión simultánea de los organismos por las garrapatas vectores y aunque no se ha logrado aislar el agente causal en gatos, se ha detectado anticuerpos contra *E. canis* y *E. risticii*.

3.2 Epidemiología.

No hay predisposición de raza, edad o sexo a presentar la Ehrlichiosis, donde la respuesta inmune de cada paciente juega un papel importante en la patogenia. 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 respuesta inmune del paciente, sepa del agente causal y raza del perro afectado. Los perros de la raza Pastor alemán han reportado tener cursos mucho más agresivos de la enfermedad que otras razas (5).

Los animales con buena respuesta celular pueden superar la infección sin necesidad de ser tratados; sin embargo, en la mayoría de los casos la enfermedad progresa a una fase crónica cuya severidad es variable, la cual depende del grado de afección de algunos órganos vitales (32, 34).

E. canis ha sido aislado de un humano en Venezuela, lo que abre la inquietud sobre el riesgo zoonótico que representa (37).

La distribución de la enfermedad está directamente relacionada con la distribución del vector *Rhipicephalus sanguineus*, así la *Ehrlichiosis* ha sido descrita en cuatro continentes, incluyendo Asia, América, África y Europa. En Colombia se ha

demostrado su presencia por pruebas de Inmunofluorescencia indirecta y PCR (38, 39). Vale la pena precisar que los perros que viven en regiones consideradas endémicas y los que viajan hacia estas regiones o desde estas regiones a sitios considerados libres de la enfermedad se deben considerar como potenciales portadores de la enfermedad.

3.3 Patogénesis

Ehrlichia canis es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* (8, 28) y se ha reportado su transmisión por la garrapata *Dermacentor variabilis* (22). La infección de los estados inmaduros de *R. sanguineus* ocurre cuando se alimentan de un perro infectado, a partir de cuándo la garrapata se infecta durante todos los estadios de desarrollo, lo que le permite transmitir la bacteria cuando la garrapata se alimente de nuevo, ya sea en su forma juvenil como ninfa o como adulto (25). Las garrapatas adultas pueden transmitir *E. canis* entre cada estadio de su desarrollo (larva, ninfa y adulto), lo que se convierte en una ruta importante para la aparición de brotes de la enfermedad, porque las garrapatas macho se mueven entre los perros y se alimentan de forma intermitente mientras se aparean. Debido a que las poblaciones de *R. sanguineus* se establecen y sobreviven en los hogares y las perreras que no tienen control de garrapatas adecuados, el ciclo de mantenimiento de *E. canis* permanece como una fuente constante de la infección a los perros (25). Es así como el ADN de *E. canis* se ha detectado en la sangre de perros infectados clínicamente sanos, 34 meses después de la infección experimental (18) y varios meses después de la infección natural (30).

En países estacionales las garrapatas son más activas en primavera y verano y por tanto se esperaría que los perros sean más propensos a la infección en estas dos estaciones del año, con brotes de la enfermedad en meses cálidos que

coinciden con la mayor actividad del vector. No obstante, en países tropicales los perros infectados con *E. canis* se diagnostican a lo largo de todo el año, ya que *R. sanguineus* puede sobrevivir en el interior de viviendas o perreras y podría ser activa en cualquier época del año. Por lo anterior, ni la época del año ni la ausencia de garrapatas en el ambiente de vivienda del perro, son considerados para eliminar la sospecha de Ehrlichiosis canina (25).

Al igual que lo establecido para otras enfermedades transmitidas por garrapatas, no se conoce el tiempo mínimo requerido de fijación de las garrapatas en el hospedador para la transmisión de *E. canis* (6). La transmisión de la bacteria es mecánica y no biológica, así que la contaminación también se puede presentar por transfusiones sanguíneas (27).

Una vez se ha inoculado en el paciente *E. canis* necesita de un periodo de incubación de ocho a 20 días, el cual puede anteceder a una fase aguda, subclínica o crónica. En la fase aguda, el parásito ingresa al torrente sanguíneo y linfático y puede localizarse en los macrófagos del bazo, hígado y linfonodos, en donde comienza su replicación por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, pueden diseminar el parásito hacia otros órganos del cuerpo (19, 21). Esta fase dura de dos a cuatro semanas, cursa con síndrome febril, secreción oculonasal, anorexia, depresión, petequias, equimosis, linfadenomegalia y esplenomegalia. Los síntomas pueden ser inespecíficos e incluir cuadros febriles y decaimiento. Los hallazgos de patología clínica incluyen trombocitopenia, leucopenia leve y anemia leve. La mayoría de perros en esta fase se pueden recuperar bajo tratamiento adecuado, pero los perros no tratados o con tratamiento inadecuado cursan hacia la fase subclínica.

Durante la fase subclínica de la Ehrlichiosis, los síntomas clínicos desaparecen y se resuelve el síndrome febril; los perros están aparentemente sanos pero presentan trombocitopenia persistente. En este caso, los pacientes son portadores

asintomáticos durante periodos largos (6). Asimismo, la bacteria puede experimentar recombinaciones repetidas de genes que codifican por proteínas de membrana, generando variaciones en los epitopes de la proteína, que se traducen en variaciones e inmunogénicos y le permiten a la bacteria evadir la respuesta inmune del hospedero. Es así como el ADN de *E. canis* se aisló de aspirados esplénicos obtenidos de cuatro perros portadores, 34 meses después de infección experimental (18). De lo anterior se deduce que los perros que no sean capaces de eliminar la bacteria de manera eficiente, se convertirán en infectados crónicos, por la capacidad de los macrófagos esplénicos de sostener la permanencia de la bacteria por largos periodos.

La fase crónica de la Ehrlichiosis puede cursar con una enfermedad severa, caracterizada por pancitopenia como resultado de la alteración en la producción de células sanguíneas en la médula ósea. El pronóstico para los perros en esta fase es grave, ya que pueden sufrir infecciones secundarias, hemorragias incontrolables, o ambos, que desencadenan en la muerte del paciente (6). Por lo tanto, identificar la enfermedad antes de que se desarrolle su fase crónica es de suma importancia para el paciente y el control de la enfermedad.

El perro de la raza pastor ovejero alemán tiende a desarrollar la fase crónica mucho más frecuentemente que otras razas, esta variación en la susceptibilidad de la raza se puede atribuir a diferencias en la capacidad de generar respuesta inmune celular y humoral, adecuadas. Al comparar la respuesta inmune celular a la infección por *E. canis* en estos perros con perros Beagle, se encontró que los ovejeros alemanes tienen una respuesta más baja que los Beagle, mientras que no se registraron diferencias significativas en la respuesta humoral entre las dos razas (6).

Recientemente se han encontrado evidencias crecientes sobre la intervención de mecanismos inmunológicos en la patogénesis de la enfermedad. Dentro de estas

encontramos pruebas de Coombs y de autoaglutinación positivas en animales infectados y la demostración de anticuerpos anti plaquetas (APA) en perros infectados experimentalmente con *E. canis* (42). En la sangre de perros infectados circulan plaquetas con anticuerpos ligadas a estas (APA), por lo que dichos anticuerpos parecen jugar un papel importante en la patogénesis de la trombocitopenia y la trombocitopatía (20, 35).

3.4 Sintomatología

La sintomatología de la Ehrlichiosis canina es muy variada. Durante la fase aguda es común encontrar sintomatología inespecífica, lo cual dificulta el diagnóstico. Muchos factores están involucrados en la variación de los signos clínicos, como la patogenicidad de las cepas, diferencias entre razas, estado inmune y enfermedades concomitantes (23). Si la enfermedad no se diagnostica y trata en la fase aguda esta progresará a la fase subclínica en donde encontraremos pacientes asintomáticos y alteraciones solamente presentes en pruebas de laboratorio.

El cuadro clínico que encontramos con mayor frecuencia muestra fiebre, anorexia y pérdida de peso los cuales pueden estar acompañados por mialgia, tendencia al sangrado, lesiones oculares y alteraciones neurológicas. Epistaxis, petequias o hemorragias equimóticas, hifema, hemorragia retiniana, y hematuria pueden estar presentes; uveítis anterior con cambios a nivel de retina se pueden encontrar. En perros con infección de tipo experimental, se ha hallado uveítis y meningitis (25) y alteraciones articulares (36).

En este sentido, parece que la deposición de complejos inmunes en las articulaciones se asocian con signos locomotores, especialmente claudicaciones intermitentes, casos en los que se ha detectado cuerpos de inclusión de *Ehrlichia*

en líquido sinovial, sin embargo otro estudio sugiere que la infección por *E. canis* no es una causa común de artritis (36). Asimismo, otros autores han sugerido que las claudicaciones pueden estar asociadas a la inactividad del perro asociada con mialgias (25).

Los signos neurológicos pueden ocurrir tanto en la enfermedad aguda como crónica y pueden estar relacionados con hemorragias, infiltración celular extensa y compresión peri vascular de las meninges (1). Cuadros que cursan con fiebre, ataxia, estupor y síndrome de neurona motora superior o inferior, deben ser sospechosos de Ehrlichiosis. Algunos perros pueden desarrollar inclinación de la cabeza, nistagmos y convulsiones pero al parecer solo están presentes en una minoría de los caninos con Ehrlichiosis clínica (25). Por lo general la respuesta al tratamiento en estos pacientes es buena y recuperan por completo la funcionalidad neurológica.

En la fase crónica de la enfermedad además podemos encontrar el desarrollo de glomerulonefritis y síndrome de hiperviscosidad (5), que pueden conducir a una insuficiencia renal. La sintomatología cutánea predominante es de tipo hemorrágico.

3.5 Diagnostico

El diagnóstico de Ehrlichiosis se hace generalmente basado en una combinación de signos clínicos, alteraciones hematológicas, trombocitopenias y hallazgos serológicos (21). La prueba de PCR y las técnicas de inmunotransferencia son las pruebas de elección para el diagnóstico (35).

3.5.1 Patología clínica.

3.5.1.1 Hematología.

Los cambios hematológicos que ocurren durante la Ehrlichiosis son la trombocitopenia (5, 25), y en algunos casos el aumento del volumen plaquetario medio. En la fase aguda de la enfermedad además es común la leucopenia por neutropenia y la anemia moderada la cual usualmente es normocítica, normocrómica, no regenerativa. Durante la fase subclínica de la enfermedad podemos encontrar trombocitopenia moderada como único cambio dentro del cuadro hemático. Durante la fase crónica de la enfermedad podemos encontrar trombocitopenias severas, leucopenia y anemias. Es posible observar pancitopenia severa como característica de una fase crónica grave, la cual ocurre como resultado de la supresión de la medula ósea (31). Estos hallazgos son más frecuentes en la raza Pastor Alemán (5, 25).

3.5.1.2 Identificación por Examinación directa de Frotis Sanguíneo.

La confirmación directa del diagnóstico de Ehrlichiosis se basa en la identificación directa de las mórulas dentro de las células infectadas por la bacteria, pero tiene como limitante el hecho que las mórulas no están presentes en muchos animales infectados. Esto se puede resolver al realizar extendidos a partir de aspirados de medula ósea, pero tiene la limitante de su ausencia en los perros en fase crónica de la enfermedad. El reconocimiento morfológico de los diferentes agentes no es posible, pero el origen geográfico y el conocimiento del vector predominante en la región pueden sugerir el posible agente responsable de la afección (5), si no se cuenta con la posibilidad del diagnóstico confirmatorio.

El examen del frotis sanguíneo también permite identificar infecciones concomitantes con otros agentes transmitidos por la picadura de las garrapatas como son *Babesia canis* y *Hepatozoon canis*, paso de gran importancia para

establecer el esquema terapéutico más adecuado (16, 38). Los hallazgos de linfocitosis marcada con un gran número de linfocitos granulados, pueden presentarse en estadios avanzados de la enfermedad, y pueden confundirse con una Leucemia linfocítica (5, 16).

3.5.1.3 Diagnóstico serológico.

Las técnicas de serología son las pruebas más utilizadas por los clínicos para confirmar el diagnóstico de infección previa por *Ehrlichiosis*. Los títulos positivos en un perro de un área endémica no confirman que la enfermedad sea causada por la *Ehrlichia*, pero indica que hubo exposición previa, razón por la cual se enfrentará a una fase subclínica o crónica. No se debe confiar en que un título negativo está asociado con ausencia previa del microorganismo (5), porque puede haber mucha variación individual en la dinámica de producción de anticuerpos o por variaciones en la capacidad de respuesta del paciente afectado.

Entre las pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de la Ehrlichiosis se incluye la inmunofluorescencia indirecta (IIF) y la prueba ELISA. Los primeros son los más utilizados para la confirmación del diagnóstico de Ehrlichiosis, por usar anticuerpos dirigidos contra antígenos de la Ehrlichia. A pesar de todo esto los test IFA que miden anticuerpos como IgG son considerados la prueba estándar para identificar la exposición a *E. canis* (40). Todos estos test pueden identificar anticuerpos en suero desde el día 7 post infección, sin embargo algunos perros pueden no mostrar seropositividad hasta 28 días después de comenzada la infección. Por tanto cuando un perro es sospechoso de infección pero presenta resultados negativos, se recomienda realizar un nuevo test dentro de 2 a 3 semanas, o en su defecto realizar test para otros agentes. Es importante tener en cuenta que el pico de anticuerpos en suero de perros a los cuales no ha sido posible administrar un tratamiento puede aparecer 80 días después de la infección (5).

Las reacciones cruzadas también se han descrito para estas pruebas, las cuales no solamente se pueden presentar entre diferentes especies de *Ehrlichia*, sino también, entre diferentes especies como neorickettsias y anaplasmas (24, 25).

Las pruebas de ELISA tienen una sensibilidad del 95% y especificidad de 99% (2), contra una sensibilidad de 71% y especificidad de 100% de las pruebas de IFA (17). El valor predictivo es más importante que la sensibilidad o especificidad, pero depende de ambos, y de la prevalencia de la enfermedad (29). Por lo tanto, una prueba de detección positiva en un área endémica será más probable un verdadero positivo que una detección positiva en una región con menor prevalencia de la enfermedad. Del mismo modo que la pruebas de IFA, cualquier resultado positivo debe interpretarse con prudencia ya que puede resultar de la infección en el momento de la prueba, un proceso resuelto o simplemente la exposición al agente (5).

Finalmente, las pruebas tipo Snap se han convertido en una importante herramienta de diagnóstico en el sitio de consulta, por su sensibilidad, uso práctico y rapidez para obtener el resultado (29)

3.5.1.4 Diagnóstico Molecular.

Aunque en nuestro medio aun es difícil el acceso a pruebas de este tipo, La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se encuentra dentro de las pruebas de elección para la detección y diagnóstico de *Ehrlichiosis*. La PCR utiliza sondas que contienen pequeños segmentos de nucleótidos de las áreas conservadas del ADN del organismo (llamadas cebadores), para amplificar una porción de ADN del organismo. Los más utilizados actualmente son los genes *16S rRNA* y el *p30* de los cuales el *p30* muestra mayor sensibilidad (35). Si un paciente presenta un resultado positivo, se interpreta que tiene el microorganismo; pero un resultado negativo no excluye necesariamente la presencia del agente. Los cebadores usados para detectar organismos de *Ehrlichia* pueden ser genéricos o específicos:

los primeros, detectan los organismos de un género relacionado; mientras que los segundos, se usan para identificar una especie particular.

En general el diagnóstico de la enfermedad se basa en la anamnesis, ubicación geográfica del perro, persistencia de los títulos de anticuerpos contra *E. canis*, trombocitopenia moderada e hiper-gamaglobulinemia (21, 25). El diagnóstico temprano implica un pronóstico bueno, porque si el perro prosigue hacia la fase subclínica no tendrá signos que ayuden a su identificación y desarrollará la fase crónica más fácilmente, con un pronóstico es grave. La enfermedad crónica es el estadio final del proceso de enfermedad y el diagnóstico se basa en la anamnesis, la típica pancitopenia severa, la presencia de títulos de anticuerpos contra *E. canis*, hiper-gamaglobulinemia sérica y falta de respuesta al tratamiento. Este estado es generalmente más fácil de diagnosticar (41).

3.6 Tratamiento

Las tetraciclinas han sido el antibiótico de elección para las infecciones por *Ehrlichia*, entre las cuales la Doxiciclina es la preferida. La dosis recomendada por la ACVIM (*American College of Veterinary Internal Medicine*) es de 10 mg/Kg vía oral cada 24 horas durante 28 días (11, 14, 25). Los efectos secundarios del tratamiento son los comunes para las tetraciclinas, cambios de color a nivel dental, perdida del esmalte, sin embargo la doxiciclina ha mostrado tener menores efectos secundarios, además de mostrar una mejor absorción gastrointestinal incluso en presencia de alimento.

Los estudios revelan contradicciones sobre la efectividad del tratamiento de la Ehrlichiosis con tetraciclinas. Al parecer, estas diferencias están dadas por variaciones en la vía de infección inicial, la fase de la infección al momento del tratamiento, el curso de la infección y su duración antes del tratamiento, o la duración del tratamiento (14, 25).

Una alternativa al uso de Doxiciclina es el Dipropionato de Imidocarb, medicamento con un efecto similar a la Doxiciclina, que se administra a dosis de 5 mg/Kg por vía intramuscular, con repetición a los 15 días; como pre medicación se administra atropina para evitar los efectos adversos (12). Otros antibióticos probados incluyen al Cloranfenicol —el cual está asociado a diferentes efectos secundarios—Fluoroquinolonas (Enrofloxacina) con efectos sobre *Rickettsia rickettsii*, y *Anaplasma phagocytophilum*, pero no contra *E. canis*. Asimismo, la Rifampicina ha mostrado ser efectiva contra *E. canis* en perros.

Dado el compromiso de la respuesta inmune en la patogénesis de la enfermedad, se ha usado glucocorticoides en el tratamiento de la fase aguda de la Ehrlichiosis canina (4), que podría ayudar en el tratamiento de la poli artritis, vasculitis, o meningitis asociada con algunas infecciones de *Ehrlichia*. Otros tratamientos de apoyo podrían incluir la administración de cristaloides parenterales o coloides, transfusión de sangre si es indicado. Las complicaciones de la infección crónica como son glomerulonefritis o pancitopenia requieren la terapia de apoyo específico (5).

3.7 Prevención y Control

Por la carencia de una vacuna eficaz contra *E. canis* su prevención se basa en el control del vector *R. sanguineus* (15). Numerosos productos han sido utilizados en el control de las garrapatas, desde medicamentos que se aplican sobre el animal, hasta productos utilizados para la fumigación del medio en el que se desarrollan. Dentro de los más utilizados en nuestra practica se encuentran los preparados a base de Fipronil, el cual se ha mostrado como eficaz para el control de garrapatas si se usa cada 30 días (11), además también se ha evaluado la combinación de Imidacloprid y Permetrina, la cual también mostro un resultado positivo en el control de la infestación por garrapatas y por consiguiente en la prevención de la infección por *E. canis* siendo usado una vez por mes (33).

En áreas endémicas para Ehrlichiosis se sugiere administrar a los perros dosis bajas de oxitetraciclina (6,6 mg/kg) una vez al día ha sido sugerida como medida preventiva, también doxiciclina (3 mg/Kg) una vez al día en la temporada de garrapatas (5). Este método de quimio prevención ha sido utilizado por la Armada Francesa en perros Pastor belga enviados a zonas endémicas, donde los perros son tratados profilácticamente con 100 mg de doxiciclina oral por día, obteniendo buenos resultados (10). Aunque aún no ha sido reportado, se debe tener en consideración que el manejo de estas terapias puede estar relacionado con futuras resistencias de los parásitos a los medicamentos y así, hacer más difícil su control en el futuro.

4. Discusión

La importancia de las enfermedades producidas por garrapatas en nuestro medio radica no solamente por la cantidad de agentes involucrados en las mismas sino también por el potencial zoonótico que estos pueden tener, sin embargo, la posibilidad de acceder a pruebas específicas para determinar el tipo de patógeno involucrado en cada caso es difícil en nuestro medio si tenemos en cuenta que la prueba de elección es el análisis por PCR, por los costos o escasa disponibilidad de la prueba.

Así pues, el control de la Ehrlichiosis canina, y demás enfermedades transmitidas por garrapatas, se maneja con base en la presencia o contacto previo con el vector, la sintomatología común en estas enfermedades y la presencia de trombocitopenia. Los signos clínicos incluyen síndrome febril —depresión, anorexia y temperatura elevada ($> 39.5^{\circ}\text{C}$) —, en la mayoría de los casos, que coinciden con la fase aguda de la enfermedad (23). Además, los pacientes asintomáticos pueden tener una fase subclínica de la enfermedad y se diagnostican en pacientes que se presentan a la consulta por motivos diferentes.

El tratamiento de elección en nuestro medio es la Doxiciclina (10 mg/Kg cada 24 horas durante 30 días), sola o en combinación con Dipropionato de Imidocarb (5 mg/Kg en inyección subcutánea con repetición 15 días después), con el fin de abarcar otros patógenos que puedan estar involucrados como *Babesia spp* (38). En la mayoría de los pacientes no es necesario recurrir a otro tipo de terapia, demostrando así la efectividad del tratamiento, a pesar de que muchas veces no se tiene la evidencia de que tipo de patógeno o patógenos actuaron en cada caso. En el caso de los pacientes con enfermedad crónica la respuesta al tratamiento no fue la mejor, por lo que se requieren más estudios para determinar la presencia de otros patógenos que también son transmitidos por garrapatas.

El uso de medicamentos para el control de ectoparásitos genera dudas en cuanto a la efectividad de los productos, teniendo en cuenta que muchas veces estos productos son utilizados directamente por los propietarios, o los productos utilizados no son los más recomendados para dicho control, Actualmente uno de los más utilizados es el Fipronil en presentación spot-on y en spray (11, 26), así como la ivermectina en presentación oral a manera de comprimidos y en presentación inyectable, no obstante la presencia de la enfermedad sigue siendo elevada. Es posible que los medicamentos no estén siendo utilizados de la manera apropiada, pero cabe la posibilidad de que se estén generando resistencias a los diferentes productos existentes para el control de ectoparásitos. Se requieren estudios para diferenciar la causa real del problema. El desarrollo de nuevas opciones terapéuticas para el control de garrapatas, utilizando nuevas tecnologías (15) puede ser a largo plazo una solución que nos permita mejor control sobre este tipo de patologías.

5. Conclusiones

1. La Ehrlichiosis, en su forma monocítica y granulocítica es una enfermedad infecciosa causada por un parásito intracelular obligado perteneciente a la familia *Anaplasmataceae*, *Ehrlichia spp.*
2. La distribución de esta enfermedad depende de la diseminación de sus vectores las garrapatas, es por ello que el control de la enfermedad depende en gran medida de la eliminación y control de los vectores.
3. La Ehrlichiosis es una enfermedad zoonótica por lo que la importancia de esta enfermedad no solamente se centra en los pacientes caninos y felinos sino también en los propietarios de estos animales.
4. Un buen diagnóstico de la Ehrlichiosis va a depender en gran medida de animales que presenten un cuadro clínico compatible con las alteraciones que ya sabemos que produce *E. canis*, Historial de infestación por garrapatas, Área endémica de Ehrlichiosis, zonas de climas cálidos y húmedos.
5. El éxito del tratamiento dependerá de la capacidad del clínico de acertar en la fase aguda de la enfermedad, así como también de tener en cuenta la implicación de diferentes agentes transmitidos por garrapatas en el cuadro clínico que se está desarrollando.

Referencias

1. Baba K, Itamoto K, Amimoto A, Kitagawa K, Hiraoka H, Mizuno T, Sato H, Okuda M. Ehrlichia canis infection in two dogs that emigrated from endemic areas. J Vet Med Sci 2012; 74:775-778.
2. Bélanger M, Sorenson HL, France MK, Bowie MV, Barbet AF, Breitschwerdt EB, Alleman AR. Comparison of serological detection methods for diagnosis of Ehrlichia canis infections in dogs. J Clin Microbiol 2002; 40:3506-3508.
3. Beugnet F, Marié JL. Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. Vet Parasitol 2009; 163:298-305.
4. Bodié K, Gagne GD, Sramek MK, Desmond DJ, Abel SJ, Fagerland JA. Asymptomatic macrothrombocytopenia in a young pure-bred beagle dog: a case report. Toxicol Pathol 2011; 39:980-987.
5. Cohn LA. Ehrlichiosis and related infections. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2003; 33:863–884.
6. Craig EG. Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis, and Wolbachia Infection. Infectious Diseases of the Dog and Cat 2001; p1–58.
7. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus. Parasites Vectors, 2010; 3:26.
8. Dantas-Torres F. Canine vector-borne diseases in Brazil. Parasites Vectors 2008; 1:25.
9. Davitkov D, Vucicevic M, Stevanovic J, Krstic V, Tomanovic S, Glavinic U, Stanimirovic Z. Clinical babesiosis and molecular identification of Babesia canis and Babesia gibsoni infections in dogs from Serbia. Acta Vet Hung 2015; 63:199-208.

10. Davoust B, Keundjian A, Rous VMaurizi L, Parzy D. Validation of chemoprevention of canine monocytic ehrlichiosis with doxycycline. *Vet Microbiol* 2005; 107:279–283.
11. Davoust B, Marié JL, Mercier S, Boni M, Vandeweghe A, Parzy D, Beugnet F. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. *Vet Parasitol* 2003; 112:91–100.
12. Eddlestone SM, Neer TM, Gaunt SD, Corstvet R, Gill A, Hosgood G, Hegarty B, Breitschwerdt EB. Failure of imidocarb dipropionate to clear experimentally induced *Ehrlichia canis* infection in dogs. *J Vet Intern Med.* 2006; 20:840-844.
13. Foglia Manzillo V, Cappiello S, Oliva G. Tick-transmitted diseases in dogs: clinicopathological findings. *Parassitologia.* 2006; 48:135-136.
14. Fourie JJ, Horak I, Crafford D, Erasmus HL, Botha OJ. The efficacy of a generic doxycycline tablet in the treatment of canine monocytic ehrlichiosis. *J South African Vet Assoc* 2015; 86:1–10.
15. Ghosh S, Azhahianambi P, Yadav MP. Upcoming and future strategies of tick control: a review. *J Vector Borne Dis* 2007; 44:79–89.
16. Gomes PV, Mundim MJS, Mundim AV, De Ávila DF, Guimarães EC, Cury MC. Occurrence of *Hepatozoon* sp. in dogs in the urban area originating from a municipality in southeastern Brazil. *Vet Parasitol* 2010; 174:155–61.
17. Harrus S, Alleman AR, Bark H, Mahan SM, Waner T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Vet Microbiol.* 2002; 86:361-368.

18. Harrus S, Waner T, Aizenberg I, Foley JE, Poland AM, Bark H. Amplification of ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia canis*. *J Clin Microbiol* 1998; 36:73-76.
19. Harrus S, Waner T, Keysary A, Aroch I, Voet H, Bark H. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998; 62:15-27.
20. Harrus S, Waner T, Weiss DJ, Keysary A, Bark H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol* 1996; 51:13-20.
21. Harrus S, Waner T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *Vet J* 2011; 187:292–296.
22. Hudman DA, Sargentini NJ. Detection of *Borrelia*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia* spp. in ticks in northeast Missouri. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7:915-921.
23. Irwin PJ. Canine babesiosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40:1141–56.
24. Krawczak Fda S, Reis IA, Silveira JA, Avelar DM, Marcelino AP, Werneck GL, Labruna MB, Paz GF. Leishmania, Babesia and Ehrlichia in urban pet dogs: co-infection or cross-reaction in serological methods? *Rev Soc Bras Med Trop* 2015; 48:64-68.
25. Little SE. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2010; 40:1121–1140.
26. Loftis AD, Kelly PJ, Freeman MD, Fitzharris S, Beeler-Marfisi J, Wang C. Tick-borne pathogens and disease in dogs on St. Kitts, West Indies. *Vet Parasitol* 2013; 196:44–49.

27. Maia C, Almeida B, Coimbra M, Fernandes MC, Cristóvão JM, Ramos C, Martins Â, Martinho F, Silva P, Neves N, Nunes M, Vieira ML, Cardoso L, Campino L. Bacterial and protozoal agents of canine vector-borne diseases in the blood of domestic and stray dogs from southern Portugal. *Parasit Vectors* 2015; 8:138.
28. Moraes-Filho J, Krawczak FS, Costa FB, Soares JF, Labruna MB. Comparative Evaluation of the Vector Competence of Four South American Populations of the *Rhipicephalus sanguineus* Group for the Bacterium *Ehrlichia canis*, the Agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. *PLoS One* 2015; 10:e0139386.
29. Movilla R, García C, Siebert S, Roura X. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* (sensu lato), *Dirofilaria immitis* and *Ehrlichia canis* in Mexico. *Parasit Vectors* 2016; 9:421.
30. Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Billinis CD, Leontides LS, Kontos VS. Chronic canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 19 natural cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40:174-184.
31. Mylonakis ME, Koutinas AF, Leontides LS. Bone marrow mastocytosis in dogs with myelosuppressive monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study. *Vet Clin Pathol.* 2006; 35:311-314.
32. Nandi B, Chatterjee M, Hogle K, McLaughlin M, MacNamara K, Racine R, Winslow GM. Antigen display, T-cell activation, and immune evasion during acute and chronic ehrlichiosis. *Infect Immun* 2009; 77:4643-4653
33. Otranto D, Paradies P, Testini G, Latrofa MS, Weigl S, Cantacessi C, Stanneck D. Application of 10% imidacloprid/50% permethrin to prevent *Ehrlichia canis* exposure in dogs under natural conditions. *Vet Parasitol* 2008; 153:320–328.

34. Rikihisa Y. Molecular events involved in cellular invasion by *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasitol*. 2010; 167:155-166.
35. Starkey LA, Barrett AW, Chandrashekar R, Stillman BA, Tyrrell P, Thatcher B, Little SE. Development of antibodies to and PCR detection of *Ehrlichia* spp. in dogs following natural tick exposure. *Vet Microbiol* 2014; 173:379–384.
36. Theodorou K, Leontides L, Siarkou VI, Petanides T, Tsafas K, Harrus S, Mylonakis ME. Synovial fluid cytology in experimental acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Vet Microbiol* 2015; 177:224–227.
37. Unver A, Perez M, Orellana N, Huang H, Rikihisa Y. Molecular and antigenic comparison of *Ehrlichia canis* isolates from dogs, ticks, and a human in Venezuela. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2788-2793.
38. Vargas-Hernández G, André MR, Faria JLM, Munhoz TD, Hernandez-Rodriguez, M, Machado RZ, Tinucci-Costa M. Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Vet Parasitol* 2012; 186:254–260.
39. Vargas-Hernandez G, André MR, Munhoz TD, Faria JML, Machado RZ, Tinucci-Costa M. Molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from Colombia. *Parasitol Res* 2012; 110:489–92.
40. Vieira RF, Vieira TS, Nascimento Ddo A, Martins TF, Krawczak FS, Labruna MB, Chandrashekar R, Marcondes M, Biondo AW, Vidotto O. Serological survey of *Ehrlichia* species in dogs, horses and humans: zoonotic scenery in a rural settlement from southern Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2013; 55:335-340.
41. Waner T, Harrus S, Jongejan F, Bark H, Keysary A, Cornelissen AW. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special

emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Vet Parasitol* 2001; 95:1-15.

42. Waner T, Harrus S, Weiss DJ, Bark H, Keysary A. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol* 1995; 48:177-182.