

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“DIAGNÓSTICO DE *Ehrlichia canis* EN HUMANOS
POR LA TÉCNICA INMUNOENSAYO LIGADO A
ENZIMAS (ELISA), EN LA CIUDAD
DE TORREÓN, COAH.”**

TESIS

POR

MARÍA LUISA DÍAZ VICUÑA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2003

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“DIAGNÓSTICO DE *Ehrlichia canis* EN HUMANOS POR
LA TÉCNICA INMUNOENSAYO LIGADO A ENZIMAS
(ELISA), EN LA CIUDAD DE TORREÓN, COAH.”**

**TESIS
POR
MARÍA LUISA DÍAZ VICUÑA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**ASESOR:
M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA**

**COLABORADORES:
M.V.Z. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELIAS
M.V.Z. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO
M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ
M.V.Z. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO**

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2003

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**“DIAGNÓSTICO DE *Ehrlichia canis* EN HUMANOS
POR LA TÉCNICA INMUNOENSAYO LIGADO A
ENZIMAS (ELISA), EN LA CIUDAD
DE TORREÓN, COAH.”**

TESIS

APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO

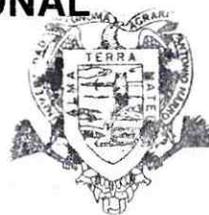


M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**



M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
UAAAN - UL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**“DIAGNÓSTICO DE *Ehrlichia canis* EN HUMANOS
POR LA TÉCNICA INMUNOENSAYO LIGADO A
ENZIMAS (ELISA), EN LA CIUDAD
DE TORREÓN, COAH.”**



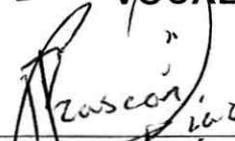
**M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA
PRESIDENTE**



**M.V.Z. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO
VOCAL**



**M.V.Z. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS
VOCAL**



**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ
VOCAL SUPLENTE**

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por haberme dado este regalo tan maravilloso de estar aquí, y tener la oportunidad de ahora terminar mi carrera.

A mi **ALMA MATER** por haberme abierto las puertas y darme la oportunidad de llegar a formarme como profesionista.

A **MIS PADRES** por la confianza, consejos y ejemplos a los que no tengo con que pagarles tanto sacrificio y esfuerzo para que pudiera alcanzar a realizarme como profesionista. **LOS AMO**

A **MIS HERMANOS** por todo su cariño y apoyo a lo largo de mi carrera. Los Quiero Mucho.

A **MIS TIOS** (Poncho y Nena, Quica y Luis, Rosa y Mateo, Lucy y Fernando, Lula y Oscar, Elida y Arturo), por haber estado al pendiente de mi el tiempo que estuve aquí en Torreón y por su apoyo. **MUCHAS GRACIAS.**

A **MI NOVIO** (Francisco Loya Olguín), por estar conmigo en todo momento en el cual lo he necesitado y por ayudarme en todo. **TE AMO**

A **MIS MAESTROS** por compartir experiencias en el salón de clases y así poder alcanzar mi formación profesional.

Al **M.V.Z. Carlos Raúl Rascón Díaz** por todo su apoyo en la realización de esta tesis y su amistad. Gracias.

A **MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS** con los cuales he compartido 5 años de mi vida y he vivido experiencias inolvidables, nunca los voy a olvidar.

DEDICATORIA

A DIOS:

Por haberme permitido terminar satisfactoriamente mi carrera y estar conmigo siempre que lo necesito, en los momentos difíciles y en los momentos gratos.

Gracias por todo Señor.

A MIS PADRES:

Por ser siempre mi ejemplo de fortaleza, tenacidad y fuerza para salir adelante. Agradezco a Dios que me ha dado unos padres como ustedes, creo que no me pudo haber escogido a unos mejores. Dios los Bendiga. Los Amo con todo mi

Corazón.

A MIS HERMANOS:

Por siempre apoyarme y estar conmigo, gracias por todo.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
I. OBJETIVO.....	4
II. JUSTIFICACIÓN.....	4
III. ANTECEDENTES.....	5
IV. ETIOLOGÍA.....	6
V. EPIDEMIOLOGÍA.....	9
5.1.- Ciclo Biológico de <i>Amblyomma americanum</i>	9
VI. PATOGENIA.....	12
VII. SEMIOLOGÍA.....	14
VIII. LESIONES.....	15
IX. DIAGNÓSTICO.....	16
9.1.- Serología.....	16
9.2.- Hematología.....	17
9.3.- Frotis.....	17
9.4.- Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).....	18
9.5.- Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA).....	18
X. TRATAMIENTO.....	19
XI. MEDIDAS PREVENTIVAS.....	20

11.1.- Control de Garrapatas	21
11.1.1.- Métodos para desparasitar externamente.....	22
▪ Aspersión.....	22
▪ Vía sistémica.....	22
▪ Tópico.....	22
▪ Inmersión.....	22
▪ Compuestos más empleados.....	23
XII. MATERIALES Y MÉTODOS	24
12.1.- Contenido del Kit.....	24
12.2.- Procedimiento.....	25
XIII.- RESULTADOS	27
XIV.- CONCLUSIÓN	28
XV.- LITERATURA CITADA	29

RESUMEN

La Ehrlichiosis es una enfermedad zoonótica transmitida a los humanos a través de la mordedura de garrapatas infectadas, por lo cual su estudio es importante tanto para la Medicina Veterinaria como para la Salud Pública.

En el presente trabajo se tomaron 60 muestras de sangre para realizar un monitoreo serológico en colonias aledañas a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN-UL) en las cuales se ha presentado una alta incidencia y prevalencia de Erlichiosis canina.

Dicho trabajo se realizó con alumnos de la UAAAN-UL de VIII y X semestre de Medicina Veterinaria y Zootecnia que han vivido en las colonias Valle Verde y Fidel Velázquez, así como en el internado de la misma por más de 3 años, ya que como les mencionamos, se ha presentado un alto porcentaje de incidencia de Erlichiosis canina (63%) y se cree que ellos al tener más tiempo en contacto con perros infestados con garrapatas que pueden presentar evidencia serológica.

INTRODUCCIÓN

Los objetivos del Médico Veterinario Zootecnista, en el área de la Salud Pública, no se limitan a ayudar a la producción y el abasto de alimento de origen animal, de óptima calidad y en abundancia, sino que también a otras actividades como son:

- Proteger a la humanidad de enfermedades, parásitos, virus, bacterias, rickettsias y hongos que pueden transmitirse al hombre.
- Proteger de infecciones la fuente de provisión de alimentos de origen animal y tener en cuenta la inocuidad alimentaria.

Éstas enfermedades repercuten en los aspectos social y económico, en el Social por las vidas humanas que estos padecimientos cobran año con año, procedentes de los animales; y en el aspecto económico, por las pérdidas horas-hombre, que se derivan de la inactividad inherente; a este tipo de enfermedades se les denomina Enfermedades Zoonóticas por afectar al hombre.

Hasta la actualidad, la Ciencia Médica, tanto Veterinaria como Humana, ha descrito muchas enfermedades Zoonóticas y el número va en ascenso, a medida que se incrementan los conocimientos que aportan las diferentes disciplinas Médico Biológicas.

Una de las Enfermedades Zoonóticas con reportes recientes es la Erlichiosis, que es transmitida por la mordedura de garrapatas infectadas. La primera infección Ehrlichial humana reconocida fue descrita en Japón en 1954 como fiebre Sennetsu. El primer caso de Erlichiosis humana en Estados Unidos se detectó en 1986 y se reportó en 1987 (Walker *et al.*, 1996; Rigby *et al.*, 1999). En Estados Unidos más de 400 casos de Erlichiosis se han documentado desde 1996. En México en Febrero de 1997 se evaluó un paciente de 41 años de edad de sexo masculino proveniente de Mérida, Yucatán; el cual tenía Erlichiosis (Renán *et al.*, 1999).

La Ehrlichiosis es causada por bacterias gram negativas intracelulares del género *Ehrlichia*. Las bacterias pueden encontrarse en los monocitos y granulocitos de sangre periférica (McDade, 1990; Walker *et al.*, 1996; Renán, 1999; Rigby *et al.*, 1999). La Erlichiosis monocítica humana es causada por *E. chaffensis* y la Erlichiosis granulocítica humana es causada por *E. equi* o *E. phagocytophila*, la cual se reconoció por vez primera en 1994 (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996; Renán *et al.*, 1999).

El aspecto clínico de esta enfermedad es similar al de otros padecimientos febriles, sin tratamiento adecuado y oportuno, aproximadamente 5% de los pacientes mueren (Renán *et al.*, 1999).

I. OBJETIVO

El objetivo de esta tesis es identificar la presencia de la Erlichiosis humana en las colonias Valle Verde, Fidel Velázquez e internado de la UAAAN-UL de la Cd. Torreón, Coah., mediante el Kit Snap* Filaria/ Lyme/ E. Canis. Que se determinó mediante un muestreo sanguíneo con alumnos de la Universidad que han vivido en estas colonias y en las cuales los perros han mostrado seropositividad a *Ehrlichia canis* por la prueba de Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA).

Con este trabajo se pretende iniciar una línea de investigación que resulte en una colaboración entre la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", unidad laguna y el Sector Salud.

II. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo puede contribuir a conocer, la presencia de *Erlichiosis* humana en la población bajo estudio

Considerando que toda enfermedad es prevenible, en la medida que se conoce su etiología y los factores predisponentes que la producen.

Una de las formas para averiguar la presencia de agentes infecciosos en las poblaciones es realizar estudios serológicos orientados a la identificación de anticuerpos contra tales agentes.

Ya que la *Erlichiosis* canina es una zoonosis, su identificación es una población humana justifica el monitoreo serológico de la misma para determinar la presencia o ausencia de dicho agente.

Dicho trabajo se realizó con sesenta (60) alumnos de la UAAAN-UL que viven en las colonias Valle Verde y Fidel Velázquez así como en el internado de dicha Universidad de la Ciudad de Torreón, Coah., que cursan los semestres VIII y X de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia y se pretende realizarlo en un lapso no mayor de 3 meses (Diciembre, Enero y Febrero).

III. ANTECEDENTES

La *Ehrlichia* fue descubierta por Donatien y Lestoquard en 1935 y siendo la *Ehrlichia canis* en un perro Pastor Alemán en Argelia, denominándola *Rickettsia canis* por haber sido aislada de perros. En 1945 Mashkovski propone el término de *Ehrlichia canis* en honor de Paul Ehrlich (McDade, 1990; Dumler *et al.*, 1998).

A mediados de los años 50 se identificó una rickettsia, *R. Sennetsu*, en un individuo que padecía fiebre, linfadenopatía, malestar, anorexia, incremento de las células mononucleares y linfocitos atípicos (McDade, 1990).

Años más tarde, estudiando la morfología de las rickettsias y su ciclo de crecimiento en cultivo de monocitos, se llegó a la conclusión de que era un microorganismo similar a *Ehrlichia canis*. En 1984 se clasificó dentro del género *Ehrlichia*, como *E. sennetsu*, en función de sus características morfológicas, de cultivo y antigénicas, y era la primera vez que una especie de *Ehrlichia* se incluía como causante de enfermedad en la especie humana (McDade, 1990). La fiebre de Sennetsu, se ha denunciado únicamente en Japón y Malasia (McDade, 1990; Renán *et al.*, 1999).

El primer caso de Erlichiosis humana en Estados Unidos se detectó en 1986 y se reportó en 1987 (Walker y Dumler, 1996; Renán *et al.*, 1999). Hasta 1991 se creía que la especie que afectaba al hombre era la *Ehrlichia monocítica*, *E. canis* debido a que los pacientes presentaban anticuerpos frente a este agente. Más tarde se demostró que fue causada por una nueva especie, *Ehrlichia chaffensis* (Walker y Dumler, 1996).

En febrero de 1997 se evaluó a un paciente masculino de 41 años de edad proveniente de Mérida, Yucatán, México. El cual se había expuesto a garrapatas durante una actividad. Una muestra sérica dio una reacción positiva por inmunofluorescencia indirecta contra *E. chaffeensis*. Este caso indico la existencia de Erlichiosis humana en México (Renán *et al.*, 1999). Las manifestaciones clínicas incluyeron hipertermia frecuente, mialgia, dolor de cabeza, anorexia, fatiga y tos. No se detectaron anticuerpos contra rickettsia, virus de dengue, parvovirus B-19 o VIH (Renán *et al.*, 1999).

IV. ETIOLOGÍA

La Erlichiosis Monocítica Humana es una enfermedad zoonótica considerada como emergente, cuyo agente etiológico es la *Ehrlichia*, que es una bacteria gram negativa, intracelular obligada, pleomórfica, que parasitan leucocitos circulantes de hospedadores (Huxsoll: 1990; McDade, 1990; Neer: 1995; Schaffner *et al.*, 1996; Talarico *et al.*, 1997; Renán *et al.*, 1999; Weaver *et al.*, 1999; Lantos *et al.*, 2002; Paddock, *et al.*, 2003).

Pertenece al orden *Rickettsiales* familia *Rickettsiaceae*, la cual incluye tres tribus *Rickettsieae*, *Wolbachieae* y *Ehrlichieae* (McDade, 1990).

Taxonómicamente, las Ehrlichias se encuentran clasificadas dentro de la familia *Rickettsiaceae* pero difieren del resto de los organismos de este grupo en algunos aspectos como: su replicación dentro de los fagosomas de la célula hospedadora, ultraestructura, tropismo por los leucocitos circulantes,

composición antigénica y transmisión exclusiva, en la mayoría de las especies, por mordedura de garrapata (McDade, 1990; Dumler *et al.*, 1998; CDC, 2000).

La tribu *Ehrlichieae* comprende tres géneros entre los cuales se encuentra *Ehrlichia* la cual posee siete especies que infectan mamíferos incluyendo al hombre. Dependiendo del leucocito infectado el género *Ehrlichia* se ha dividido en dos grupos:

- El grupo monocítico en el cual se agrupan cuatro especies que son *E. chaffeensis* y *E. sennetsu* que tiene como huésped natural el hombre. *E. Canis* cuyos huéspedes naturales son los cánidos y *E. risticii* que tiene al caballo como huésped (McDade 1990; Dumler *et al.*, 1998; CDC, 2000).

- El grupo granulocítico comprende tres especies: *E. phagocytophila* que tiene como huéspedes carneros, cabras, vacas y bisontes, *E. equi* que afecta al caballo y *E. ewingii* que afecta a cánidos (McDade, 1990; Dumler *et al.*, 1998; CDC, 2000).

Dependiendo de la afinidad con otras *Ehrlichias* se dividen en 3 grupos:

ESPECIE	HOSPEDADOR NATURAL	CÉLULAS INFECTADAS <i>in vivo</i>	VECTOR INVERTEBRADO
Grupo de <i>E. Canis</i>			
<i>E. chaffeensis</i>	Humana, ciervo	Monocitos/macrófagos	<i>Amblyoma americanum</i>
<i>E. canis</i>	cánidos	Monocitos/macrófagos	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>E. muris</i>	roedores	Monocitos/macrófagos	Desconocido
<i>E. ewingi</i>	cánidos	granulocitos	<i>Amblyoma americanum</i>
<i>C. ruminantum</i>	rumiantes	Células endoteliales	<i>Amblyomma sp.</i>
Grupo de <i>E. phagocytophila</i>			
<i>E. equi</i>	équidos	granulocitos	<i>Ixodes pacificus</i>
<i>E. phagocytophila</i>	rumiantes	granulocitos	<i>Ixodes ricinus</i>
HGE	humana	granulocitos	<i>Ixodes scapularis</i>
<i>E. platys</i>	cánidos	plaquetas	Desconocido
<i>E. bovis</i> , <i>E. ovina</i>	rumiantes	Monocitos/macrófagos	<i>Hyalomma</i> , <i>Rhipicephalus</i>
<i>A. marginale</i>	vacuno	eritrocitos	Varias especies
Grupo de <i>N. Helminthoeca</i>			
<i>E. sennetsu</i>	humana	Monocitos/macrófagos	Desconocido
<i>E. risticii</i>	équidos	Monocitos/macrófagos	Desconocido
<i>N. helminthoeca</i>	cánidos	macrófagos	Tremátodo

Tabla 1. (Dumler *et al.*, 1995).

V. EPIDEMIOLOGÍA

La Erlichiosis monocítica humana es una infección causada por la mordedura de una garrapata, la cual introduce una bacteria del género Ehrlichia (*E. chaffeensis*). Los huéspedes naturales son los perros, cabras. El vector artrópodo de la Ehrlichia chaffeensis es la garrapata del perro *Amblyomma americanum* (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996; Góngora-Biachi *et al.*, 1997; Dumler *et al.*, 1998; Steiert *et al.*, 2002).

5.1.- Ciclo Biológico de *Amblyomma americanum*.

Consiste de tres hospedadores (Fig. 1). La hembra repleta de huevecillos realiza una puesta aproximada de 2,000 a 4,000 huevos, tras un período de preoviposición variable de 3 a 83 días, en lugares protegidos de la luz (Bowman, 1995; Castella, 1999).

Las larvas eclosionan entre los 8-67 días (período de incubación) y después de un período de maduración, están capacitadas para fijarse a un primer hospedador; esta fase presenta un período de supervivencia que, en condiciones favorables, pueden sobrepasar los 253 días (Bowman, 1995; Castella, 1999).

Entre los 3 y los 7 días posfilación la larva se suelta una vez repleta o alimentada, y busca un lugar para realiza su primera muda (Bowman, 1995; Castella, 1999).

Las ninfas aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva repleta y, casi de forma inmediata, están preparadas para subir a un segundo hospedador con el fin de volver a alimentarse (Fig. 1). El tiempo que necesita para saciarse varía entre 4 a 9 días (Bowman, 1995; Castella, 1999).

Pasando los días la ninfa repleta se suelta de su hospedador, cae al suelo para realizar la segunda muda a partir de la cual emergerán los adultos entre los 12-129 días después de la caída de la ninfa repleta; pueden sobrevivir más de 568 días en espera de un hospedador. Tanto los machos como las hembras se fijarán en un tercer hospedador para realizar la ingestión de sangre (Bowman, 1995; Castella, 1999) (Fig. 1).

Las hembras solo se fijan y succionan sangre una vez, mientras que los machos se alimentan de forma intermitente y persisten más tiempo sobre el hospedador, esto les ayuda para llevar a cabo la fecundación. Las hembras, una vez alimentadas (6-50 días), caen al suelo para realizar la puesta de huevecillos (Bowman, 1995; Castella, 1999).

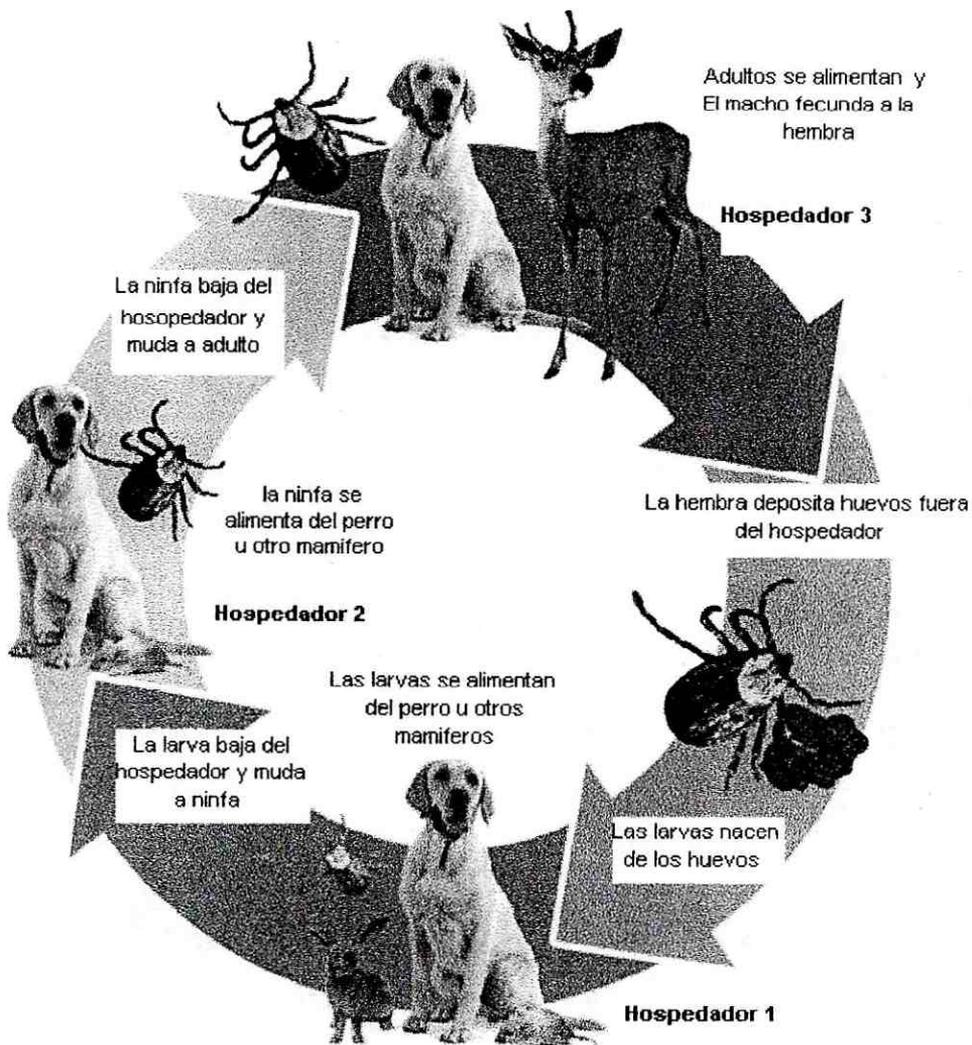


Fig. 1:Ciclo biológico de garrapata *Amblyomma americanum* (Bayer, 2000).

Huésped intermediario de *E. chaffeensis*.

VI. PATOGENIA

La infección del huésped vertebrado ocurre cuando una garrapata infectada ingiere sangre de un hospedador y las secreciones salivales de la garrapata contaminan al hospedador. El microorganismo también se transmite por transfusiones sanguíneas de donadores infectados a donadores sanos. Fig. 3 (McDade, 1990).

En su ciclo biológico las Ehrlichias se introducen en el animal hospedador como “cuerpos elementales” y una vez en el torrente sanguíneo y dependiendo de la especie de que se trate, buscan la célula diana (en este caso monocitos), se introducen en ella por endocitosis mediada por un receptor o por fagocitosis, se multiplican por fisión binaria pasando a cuerpos iniciales y posteriormente a mórulas. Las mórulas se disgregan en cuerpos elementales una vez que la célula infectada se rompe, e invaden nuevas células hasta instaurar la parasitemia (McDade, 1990).

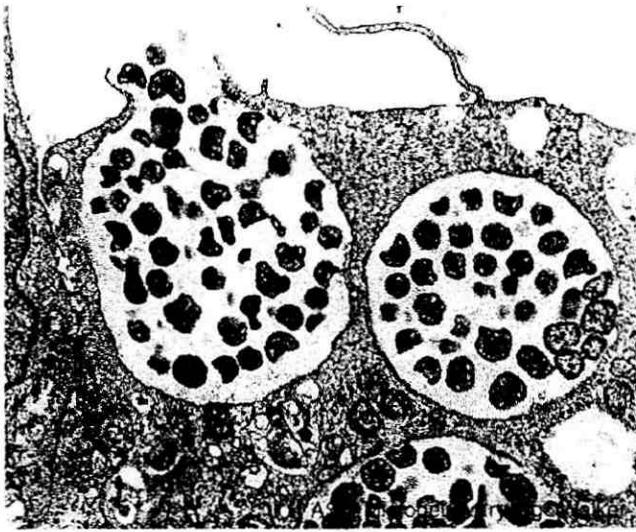


Fig. 2: Imagen de *E. chaffeensis* por medio de microscopio electrónico, saliendo de célula huésped seguida de la ruptura de la membrana citoplasmática. Ahora puede infectar otras células y realizar la parasitemia (CDC, 2000).

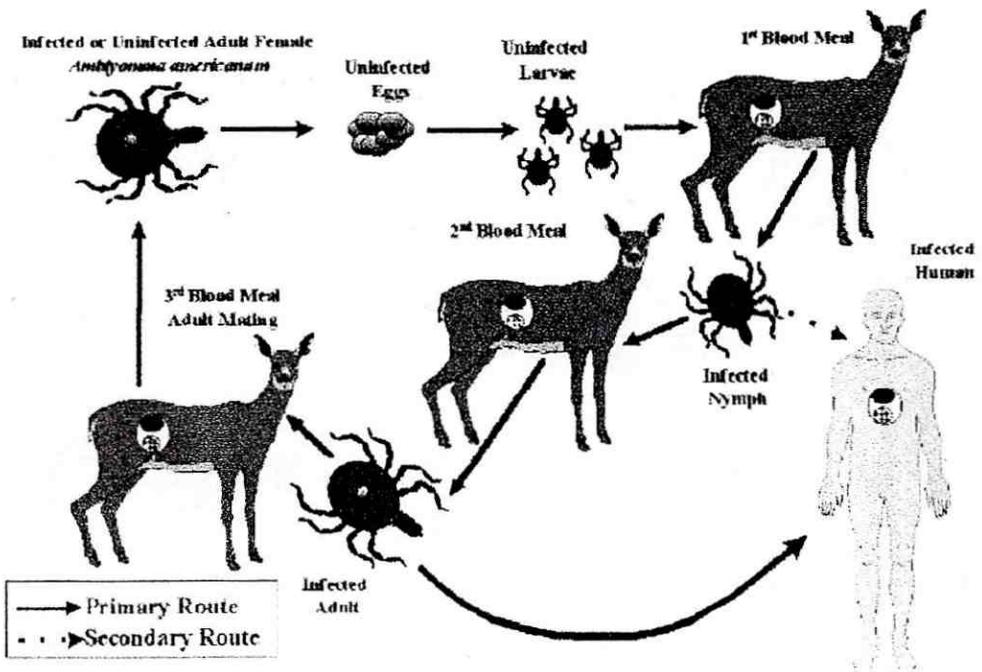


Fig. 3: Ciclo biológico de *Ehrlichia chaffeensis* (CDC, 2000).

VII. SEMIOLOGÍA

La presentación más frecuente de la enfermedad causada por *E. chaffeensis* es una fiebre indiferente una o dos semanas después de la exposición a la mordedura de garrapatas (Fishbein *et al.*, 1994). La mayoría de los pacientes residen en regiones rurales y una edad promedio de 44 años. Los síntomas específicos encontrados incluyen dolor de cabeza, mialgia, anorexia, náuseas, vómitos, escalofríos en la mayoría. Otros de los síntomas se refieren a los sistemas gastrointestinal, respiratorio y nervioso central ocurren en menos del 40% de los casos. Se ha reportado comezón en 60% de los pacientes infantiles infectados con *E. chaffeensis* (Rikihisa 1991; Chen *et al.*, 1994; Dumler *et al.*, 1995; Popov *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996; Dumler *et al.*, 1998; Renán *et al.*, 1999; Weaver *et al.*, 1999; CDC, 2000; Williams., 2001).

En contraste con la Fiebre de las Montañas Rocosas, la comezón no es común en pacientes adultos con Ehrlichiosis monocítica humana (CDC, 2000).

La Erlichiosis puede ser una enfermedad severa, especialmente si no se trata, y aproximadamente la mitad de los pacientes requieren hospitalización (Walker *et al.*, 1996; Dumler *et al.*, 1998; CDC, 2000).

Esta estimado que el 2% al 3% de los pacientes mueren por la infección. Evidencias preliminares sugieren que la infección por *E. chaffeensis* puede ser más severa que otra infección por cualquiera de las Ehrlichias (CDC., 2000).

VIII. LESIONES

La enfermedad tiene un curso agudo de seis días a tres semanas de evolución con una media de 23 días. Las lesiones pueden ser infiltrado neumónico así como también meningitis. En los casos graves se presenta choque de tipo séptico o tóxico (Walker *et al.*, 1996). Las manifestaciones severas incluye coagulación intravascular diseminada, meningoencefalitis, síndrome respiratorio adulto o coma (CDC, 2000; Williams, 2001).

Los datos de laboratorio más sobresalientes son: leucopenia, trombocitopenia y una marcada elevación de las enzimas hepáticas específicamente las alanina de transferasa y aspartato (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996). También se puede presentar pancitopenia, falla renal, shock y disfunción neurológica (Safdar *et al.*, 2002).

Los cambios patológicos incluyen la evidencia de la activación de macrófagos e hiperplasia en el bazo, medula ósea, linfonódulos e hígado (Dumler, *et al.*, 1993; Marty *et al.*, 1995; Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1997; Paddock *et al.*, 1997; Williams, 2001; Smith *et al.*, 2002). Las lesiones en el intestino incluye solo infiltrados perivasculares en la submucosa, mucosa, serosa y adventicia (Smith *et al.*, 2002).

En mujeres embarazadas se puede encontrar apendicitis (Smith, 2002)

La Erlichiosis severa o fatal es asociada con infecciones oportunistas secundarias y fallo en la terapia (Dumler *et al.*, 1995).

IX. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se realiza a través del examen clínico que debe ser acompañado de exámenes hematológicos y exámenes serológicos para obtener un diagnóstico etiológico definitivo (Neer, 2000).

9.1.- Serología.

El diagnóstico es basado más comúnmente en la demostración de respuesta serológica o seroconversión de antígenos de *E. chaffeensis* en el contexto de una consistente enfermedad clínica (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996).

Los anticuerpos reactivos con alguna especie de *Ehrlichia* pueden tener reacción cruzada con otras especies de *Ehrlichia*. Es posible que algunos casos serológicamente confirmados como infección por *E. chaffeensis* pueda ser causada por otro agente antigénicamente relacionado con otras especies de *Ehrlichia* (Bakken *et al.*, 1996; Dumler *et al.*, 1998; CDC, 2000).

El diagnóstico suele basarse en los resultados positivos de la prueba de fluorescencia indirecta de anticuerpos. Este estudio detecta anticuerpos séricos tempranos como a los siete días del comienzo de la infección, aunque algunas pruebas no se tornen seropositivos hasta 28 días después del comienzo de la infección. En pacientes no tratados, las concentraciones séricas de anticuerpos llegan al máximo a los 80 días después de la infección (Dumler *et al.*, 1995; Wen *et al.*, 1997; CDC., 2000; Neer., 2000; Smith *et al.*, 2002).

Muchos pacientes demuestran incremento en los títulos de IgM o IgG desde la segunda semana de haber sido expuestos a la enfermedad (CDC, 2000)

Sin embargo, el diagnóstico de pacientes pueden carecer de títulos de anticuerpos IgG en los primeros 7 días. El periodo en el cual persisten anticuerpos contra *Ehrlichia* aún no se sabe con precisión. Por ejemplo: en algunas personas los títulos altos de anticuerpos persisten tanto como 2 años y medio después de la enfermedad aguda (Dumler *et al.*, 1995; CDC, 2000).

9.2.- Hematología.

Los datos de laboratorio más sobresalientes son: leucopenia, trombocitopenia y una marcada elevación de las enzimas hepáticas específicamente las alanina transferasa y aspartato (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996; ALDF, 2002).

9.3.- Frotis.

Es posible establecer un diagnóstico cuando se demuestran mórulas en monocitos de frotis sanguíneos (Fig 4). Es difícil y requiere tiempo encontrar mórulas, pero se logra óptimamente examinando frotis sanguíneos delgados obtenidos de capilares periféricos (Neer, 2000; Lantos *et al.*, 2002).

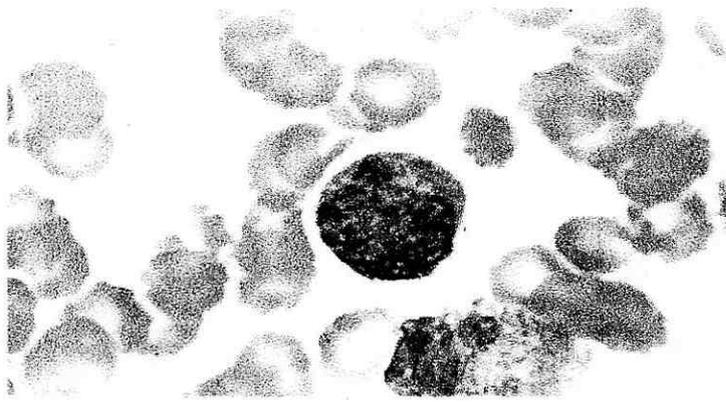


Fig. 4. Cuerpo de *Ehrlichia chaffeensis* en monocito humano (Glynn *et al.*, 1996).

9.4.- Reacción en Cadena de Polimerasa.

Después de los métodos serológicos, la amplificación del DNA Ehrlichial es el método más frecuentemente usado para detectar la infección. En personas infectadas con *E. chaffeensis*, el DNA Ehrlichial ha sido detectado por PCR es pacientes febriles no tratados a lo largo de 7 semanas dentro de la enfermedad (CDC, 2000; ALDF, 2002).

9.5.- Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA).

La técnica de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) es un procedimiento cuyo nombre resulta de la asociación de las iniciales de su denominación inglesa (enzyme linked inmuno sorbent assay). Como todo ensayo inmunoenzimático, la prueba recurre al empleo de inmunógenos, haptenos o anticuerpos marcados con biológicos. De un modo general se procede a la fijación de uno de los componentes de la reacción inmunológica (antígeno (Ag) o anticuerpo (Ac)), a un soporte sólido, poniendo luego ese sistema en contacto con una fase fluida que contiene el reactivo complementario (Alleman *et al.*, 2001).

El complejo inmunológico formado es superficial, marcadas con una enzima (peroxidasa de rábano picante); agregándose posteriormente un sustrato cromogénico de la enzima marcadora. La existencia de una reacción inmunológica se demuestra midiendo espectrofotométricamente la cantidad de producto enzimático resultante y se cuantifica (Alleman *et al.*, 2001).

X. TRATAMIENTO

Si los síndromes de las enfermedades son reconocidos en su etapa temprana y se inicia el tratamiento, las complicaciones se reducen significativamente (Donovan , 2002); las tetraciclinas son fármacos de elección para el tratamiento de esta enfermedad (Talarico *et al.*, 1997; Donovan *et al.*, 2002). Sin embargo, hay relativas contraindicaciones para el uso de tetraciclinas y sus derivados durante el embarazo porque son desarrolladores potenciales de anomalías óseas y coloración amarillenta permanente en los dientes del feto (Smith *et al.*, 2002); la doxiciclina es el tratamiento preferente para todos los tipos de Erlichiosis en humanos, por su menor frecuencia de administración y menor incidencia de efectos adversos (Dumler *et al.*, 1995; Walker *et al.*, 1996; Talarico *et al.*, 1997; Williams , 2001; Donovan *et al.*, 2002; Lantos *et al.*, 2002).

Las dosis de la doxiciclina es de 100 mg dos veces al día en adultos o de 4.4 mg/kg de peso por día, dividido en dos dosis para niños de menos de 45.4 kg. La duración óptima de la terapia no ha sido establecida, pero los regímenes

recomiendan la continuación del tratamiento por lo menos 3 días después de que baje la fiebre y hasta que la evidencia clínica mejore, por un curso mínimo total de 5 a 7 días (Weaver *et al.*, 1999; CDC, 2000). La enfermedad severa o complicada puede requerir cursos de tratamiento largos (CDC, 2000).

El cloranfenicol ha sido asociado con una reducción en intervalos de fiebre y días de hospitalización en algunos pacientes con Erlichiosis monocítica humana (Dumler *et al.*, 1998).

XI. MEDIDAS PREVENTIVAS

La exposición limitada a las garrapatas reduce el contagio de alguna infección Ehrlichial. En personas que están expuestas a hábitat con infestación de garrapatas hay que tener métodos importantes para prevenir la enfermedad (CDC, 2000).

Por lo tanto las medidas de prevención pueden ayudar a las personas a su protección:

- Vestir ropa de colores claros, de tal manera que se puedan ver las garrapatas que estén en ella.
- Poner el pantalón por dentro de los calcetines de manera que las garrapatas no puedan entrar (Talarico *et al.*, 1997; CDC, 2000).

- Usar repelentes. Existen repelentes que pueden ser aplicados en ropa y botas y otros que pueden ser aplicados directamente en la piel. Al usar repelentes en piel y aplicarlos a niños hay que tener cuidado porque su uso en niños han reportado reacciones adversas (Talarico *et al.*, 1997; CDC, 2000).
- Al salir de áreas infestadas hay que checar la ropa y cuerpo de no tener ninguna garrapata, en caso de encontrar alguna hay que removerla usando unas pinzas y evitando tener contacto con la sangre de ésta (Fig. 6) (CDC, 2000).

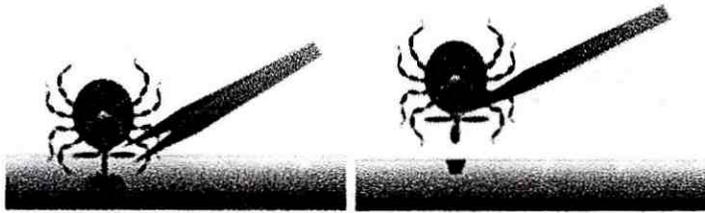


Fig. 6 (CDC, 2000).

11.1.- Control de Garrapatas

La estrategia para reducir la densidad de garrapatas, vectores de la Erlichiosis (*Amblyomma americanum*) dentro de un área es la aplicación de acaricidas (productos químicos que matan las garrapatas y ácaros) y el control del habitat de garrapatas han sido tratamientos efectivos en pequeña escala (CDC, 2000).

11.1.1.- Métodos para desparasitar externamente.

✱ **Aspersión:** Este método de aplicación se basa principalmente mediante una bomba aspersora portátil la cual puede ser accionada mediante un motor, sujetando al animal, o bien en un pasillo con tubos aspersores. El método en si consiste en la aplicación del garrapaticida mediante el rocío, utilizando para ello una presión que va de 5.5 a 7.0 kg (Sumano, 1996; Landeros *et al.*, 1999).

✱ **Vía Sistémica:** Existen en el mercado algunos productos que ingeridos en mezcla con el alimento o agua pueden ayudar al control de las garrapatas (Sumano, 1996; Landeros *et al.*, 1999).

✱ **Tópico:** Son insecticidas de contacto, no se requiere que el parásito muerda y chupe sangre para entrar en contacto con el ingrediente activo. La formulación de la permetrina causa irritación en las paras de los ectoparásitos, evitando de este modo que los parásitos muerdan o se adhieran (Sumano, 1996; Landeros *et al.*, 1999).

✱ **Inmersión:** Consta básicamente de tres secciones; a) acceso al baño, b) depósito o tanque, c) escurridero. El sistema de acceso está formado por un corral, una manga de entrada y la rampa de entrada.

La rampa de entrada debe de estar dispuesta de tal manera que el animal pueda retroceder o levantarse sobre sus patas traseras y sobre el piso inclinado hacia el baño (Landeros *et al.*, 1999).

* Compuestos más empleados en el control de las garrapatas del perro.

Nombre comercial	Tipo de compuesto	Grado de toxicidad	Método de aplicación
Asuntol	Organofosforado	Altamente tóxico	Inmersión/Aspersión
Bayticol baño	Piretroide	Ligeramente tóxico	Inmersión
Bayticol Pour On	Piretroide	Ligeramente tóxico	Pour on
Bovitraz	Organofosforado/Piretroide	Ligeramente tóxico	Inmersión/aspersión
Bravo	Piretroide	Ligeramente tóxico	Pour On
Dursban 24E	Organofosforado	Ligeramente tóxico	Inmersión/Aspersión
Ivomec	Ivermectina	Moderadamente tóxico	Inmersión/Aspersión
Neocidol	Organofosforado	Altamente tóxico	Pour On
Pulvex Exspot	Piretroide	Moderadamente tóxico	Pour On
Solfac	Piretroide	Ligeramente tóxico	Aspersión
Tactik	Organofosforado/Piretroide	Ligeramente tóxico	Aspersión
Toxafeno	Organofosforado	Altamente tóxico	Inmersión/Aspersión

(Rosentein, 1998)

XII. MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 60 muestras sanguíneas a jóvenes, alumnos de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad-Laguna que tuvieran mas de tres años viviendo en la Colonia Valle Verde, Fidel Velázquez e internado de la Universidad que fueran alumnos de 8vo. y 10mo semestre de la carrera de Medico Veterinario Zootecnista. A las cuales se les practicó la prueba de ELISA.

Dichas pruebas se realizaron en la Unidad de Diagnóstico veterinario de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad-Laguna. Todas las personas muestreadas convivían con perros que estuvieron expuestos a garrapatas.

12.1.- Contenido del Kit.

1.- KIT Snap* Filaria/ Lyme/ E.canis.

- Frasco de conjugado de peroxidasa de rábano picante (HRPO) anti-gusano del corazón/ ti-B. Burgdorfi/ to-E.canis.
- Dispositivos de prueba
Reactivos contenidos en cada dispositivo.
 - Solución de sustrato
 - Solución de lavado.
- Pipetas de transferencia.
- Tubos para muestra con anticoagulante(EDTA) o sin él.
- Soporte para reactivos.

2.- Muestra sanguínea.

3.- Vacutainer

4.- Hojas y plumas para la historia clínica.

12.2.- Procedimiento

- Se trabajo con 60 muestras de sangre completa provenientes de 60 alumnos diferentes. El procedimiento fue de la siguiente manera: se tomo una muestra sanguínea en el tubo vacutainer con anticoagulante EDTA; utilizando una pipeta suministradora y se tomaron 2 gotas de muestra (sangre completa) al tubo para muestra (vial), se agregaron 5 gotas de conjugado (Ag/Ac) se colocaron en el tubo para muestre que contiene la sangre, manteniendo el frasco del conjugado en posición vertical para un goteo preciso, se tapo el tuvo de la muestra, se mezclo suavemente invirtiendolo de 3 a 5 veces (Fig. 7).



Fig. 7 (Idexx).

- Se coloco el dispositivo sobre una superficie plana, posteriormente se agrego el contenido completo del tubo al pozo para muestra, a continuación la muestra paso por la ventana de resultados y llego al círculo de activación en aproximadamente 30 segundos a 2 minutos, puede quedar un poco de muestra en el pozo para muestra, pero esto no altera el resultado (Fig. 8).

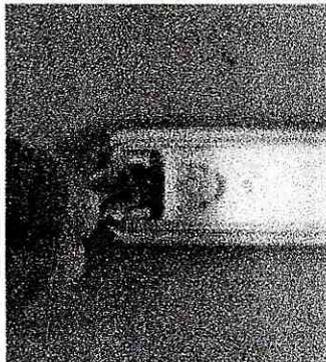


Fig. 8 (Idexx).

- Cuando aparece el color de la muestra por primera vez en el círculo de activación, se oprime firmemente el activador hasta que quede al ras con el cuerpo del dispositivo. Algunas muestras podrían no fluir al círculo de activación en 2 minutos y, por lo tanto, el círculo podría no tornarse de color en 2 minutos. En este caso se oprime el activador después de que la mezcla haya fluido por la ventana de resultados (Fig. 9).



Fig. 9 (Idexx).

- Por último se espera el resultado alrededor de un tiempo de 8 a 10 minutos y se interpretó el resultado final (Fig. 10). Comparándolo con la hoja de resultados que cita el proveedor del producto.

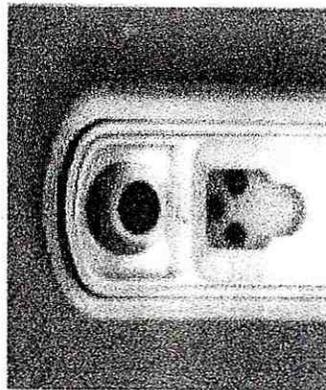


Fig. 10 (Idexx).

XIII. RESULTADOS

Se tomaron 60 muestras sanguíneas humanas para realizar la prueba de Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA), para detectar la presencia de anticuerpos de *Ehrlichia canis* en humanos.

El análisis estadístico determinó que existió diferencia significativa ($P > 0.001$) entre las muestras positivas y negativas.

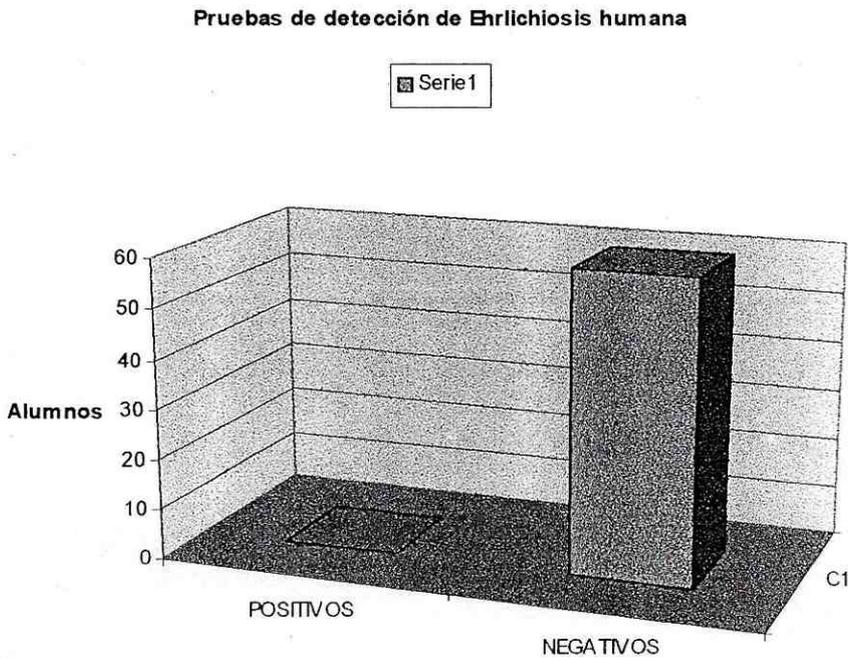


Tabla de resultados

XIV. CONCLUSIÓN

El hecho de que los resultados del estudio demuestren que ninguna muestra tuvo evidencia de seropositividad a los anticuerpos aportan datos de la ausencia de la Erlichiosis en la población de la Colonia Valle Verde, Fidel Velázquez e internado de la UAAAN-UL de la Cd. De Torreón, Coah. Sin embargo estos datos no son concluyentes dado que el universo al que se aplicó la prueba es pequeño.

Para poder descartar definitivamente la presencia de esta enfermedad, es necesario realizar otros trabajos que impliquen una mayor población bajo estudio.

Se debe capacitar al personal médico de la Región para poder identificar y diferenciar los cuadros clínicos compatibles con la *Erlichiosis* humana.

Se debe realizar la prueba en personas que viven en Colonias de la periferia, las cuales han tenido mayor tiempo en contacto con animales que tienen gran cantidad de parásitos externos (garrapatas).

Realizarle la prueba a personas que conviven con vacas de traspatio, ya que en un estudio realizado en años anteriores se vio una gran prevalencia de la garrapata *Amblyomma americanum*, la cual es el principal vector de la *Ehrlichia chaffeensis*.

Lo anterior expuesto tiene importancia para los campos de la Medicina Humana y Veterinaria ya que involucra acciones de medicina preventiva y control ambiental.

XV.- LITERATURA CITADA.

- 1) Alleman A., McSherry L., Barbet A., Breitschwerdt E., Sorenson H., Bowie M., y Bélanger M. 2001. Recombinant Major Antigenic protein 2 of *Ehrlichia canis*: a potential diagnostic Tool. J. Clin Microbiol. 39(7):2494-2499.
- 2) American Lyme Disease Fundation, Inc. (ALDF) 2002. Ehrlichiosis.
<http://www.aldf.com/Ehrlichiosis.asp#PARA4>
- 3) Bayer. 2000. Manual Bayer de la Garrapata.
www.sanidadanimal.com/manuales/garrapatas.htm
- 4) Bowman D. 1995. parasitology for veterinarians. 6ta ed. Saunders Company USA. P. 55-58.
- 5) Breitschwerdt, E., Hegarty, B. And Hancock, S. 1998. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. Journal of Clinical Microbiology. P. 2645-2651.
- 6) Castella J, 1999. Parasitosis cutánea. Parasitología veterinaria. Cordero del campillo. Edit. Mc Graw- Hill Interamericana de España. Cap. 38. p. 711-719.
- 7) Centres for disease control and prevention. (CDC) 2000. Human ehrlichiosis in the United States.
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/default.htm>

- 8) Chen, S. M., Dumler, H. M. Feng & D. H. Walker, 1994. Identification of the antigenic constituents of *Ehrlichia chaffeensis*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 50: 52-58.
- 9) Dawson, J. E., B. E. Anderson, J. L. Fishbein, C. S. Goldsmith, K. H. Wilson and C. W. Duntley. 1991. Isolation and characterization of an Ehrlichia species from patient diagnosed with human ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 29: 2741-2745.
- 10) Dawson, J. E., K. L. Biggie, C. K. Warner, K. Cookson, S. Jenkins, J. Levine, and J. G. Olson. 1996. polymerase chain reaction, evidence of Ehrlichia cheffeensis, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. Am. J. Vet. Res. 57:1175-1179.
- 11) Donovan, B. J., D. J. Weber, J. C. Rubliein, and R. H. Raasch. 2002. Treatment of Tick-Borne Diseases. The annals of pharmacotherapy: Vol.36, No. 10, pp. 1590-1597.
- 12) Dumler, J. E., and J. S. Bakken. 1995. Ehrlichial disease of humans emerging tick-borne infections. Clin. Infect. Dis. 20: 1102-1110.
- 13) Dumler, J. E., and J. S. Bakken. 1998. HUMAN EHRLICHIOSES: Newly recognized infections transmitted by ticks. Annu. Rev. Med. 49: 201-213.
<http://www.AnnualReviews.org>.
- 14) Dumler, J. S., S. M. Chen, K. Asanovich, E. Trigiani, V. L. Popov, and D. H. Walker. 1995. Isolation and characterization of a new strain of Ehrlichia chaffeensis from patient with newly fatal monocytic ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 33: 1704-1711.

- 15) Dunn B. E., Monson T. P., Dumler J. S. 1992. Identification of Ehrlichia chaffeensis morulae in cerebrospinal fluid mononuclear cells. J. Clin. Microbiol. 30:2207-2210.
- 16) Fishbein, D. B., Bawson J. E., Robinson L. E. 1994. Human ehrlichiosis in the United States, 1985-1990. Ann. Intern. Med. 120: 736-743.
- 17) Glynn K., Krammer V., y Vugia D. 1996. Human ehrlichiosis: new emerging tick-borne diseases in California, in California Morbidity. Division of Communicable Disease Control. <http://www.ms mosquito.com/ehrlichi.html>.
- 18) Góngora-Biachi R. A., Castro-Sansores C., González-Martínez P., Zavala-Velázquez J. 1997. Erlichiosis: una enfermedad emergente de interés hematológico. En Memorias XXXVIII Jornada Anual Agrupación Mexicana para el estudio de hematología, A.C. León: AMEH, A.C. 42.
- 19) Huxsoll, D. L. 1990. The historical background and global importance of ehrlichiosis. En: Ehrlichiosis. J. C. Willians & I. Kakoma editors. Kluwer Academic Publishers, pp. 1-8.
- 20) Landeros J. 1999. Manual de garrapatas. Aspectos sobre su biología, morfología, taxonomía y transmisión. UAAAN-UL.
- 21) Lantos P., Krause P. J. 2002. Erlichiosis in children. Semin. Pediatr. Infect. Dis. 13(4): 249-256. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12491230&dopt=Abstract
- 22) McDade, J. E., 1990. Erlichiosis –disease of animals and humans. J. Infect. Dis., 161: 609-617.

- 23) Neer T, 2000. Ehrlichiosis monocítica y granulocítica canina .
Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Green C, and Harvey J.
2da. Edición. Editorial Mc-Graw Hill Interamericana México. Cap 28 p.
153-162.
- 24) Paddock C. D. And Childs J. E. 2003. Ehrlichia chaffeensis: a prototypical
emerging pathogen. Clinical Microbiology Reviews. P.37-64. Vol. 16 No.
1.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12525424&dopt=Abstract
- 25) Paddock, C. D., J. W. Summer, G. M. Shore, D. C. Bartley, R. C. Elie, J.
G. Mc Dade, C. R. Martin, C. S. Goldsmith, and J. E. Childs. 1997.
Isolation and characterization of Ehrlichia chaffeensis stains from
patients with fatal ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 35:2496-2502.
- 26) Popov V., J. Steven Dumler, and David H. Walker. University of Texas
Medical Branch at Galveston. Licensed for use by ASM Microbe Library
<http://www.microbelibrary.org>. Figura 2.
- 27) Popov, V.L., S. M. Chen, H. M. Feng & D. H. Walker, 1995.
Ultrastructural variation of cultured *Ehrlichia chaffeensis*. J. Med.
Microbiol., 43: 411-421.
- 28) Renán A., Góngora-Biachi, Zavala Velázquez J., Castro Sansores C. J.,
González Martínez P. 1999. Primer caso de Erlichiosis en México. Enf.
Infec. Y Microbiol. 19: 139.
- 29) Rikihisa, Y., 1991. The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. Clin.
Microbiol. Rev., 4: 286:308.

- 30) Safdar N., R. B. Love, and D. G. Maki. 2002. Severe Ehrlichia chaffeensis infection in a lung transplant recipient: a review of Ehrlichiosis in the immunocompromised patient. University of Wisconsin Medical School, Madison, Wisconsin, USA Current Issue. Vol 8, No 3.
- 31) Schaffner W., Standaert S. M. 1996. Erlichiosis. In pursuit of an emerging infection. N. Engl. J. Med. 334: 262-263.
- 32) Smith A. E., Sehdev P. S., Jacobs R., y Dumler J. S. 2002. Human monocytic ehrlichiosis presenting as acute appendicitis during pregnancy. Clin. Infect. Diseases. 35: 99-102.
- 33) Steiert J. G., Gilfoy F. 2002. Infection rates of Amblyomma americanum and Dermacentor variabilis by Ehrlichia chaffeensis and Ehrlichia ewingii in southwest Missouri. Vector Borne Zoonotic Dis. 2(2): 53-60.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12653298&dopt=Abstract
- 34) Sumano H. 1996. Farmacología clínica de bovinos. Ed. Trillas. Méx. Pp 155-170.
- 35) Talarico, J., D. O. Ackman, M. D. White, Ph. D., G. Birkhead, M. D., M. P. H. 1997. The emergence of human granulocytic ehrlichiosis in New York state. New York state department of health, Preventive Medicine Residency Program, NYSDOH.
- 36) Walker, D. H. & J. S. Dumler, 1996. Emergence of the ehrlichioses as human health problems. Emerg. Infect. Dis., 2: 18-29.
<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol2no1/walker1.htm>

- 37) Weaver R., Rose Ann. 1999. Epidemiología y control de la ehrlichiosis. Southern Medical Journal. Vol.92 Issue 3, p334,4p,1bw.
- 38) Wen B., Rikihisa Y., Mott J., Greene R., Kim H., Zhi N., Couto G., Unver A., and Bartsch R. 1997. Comparison of nested PCR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated whit doxycycline. J. Clin. Microbiol. 35(7): 1852-1855.
- 39) Williams Belinda. 2001. Species Jump: Human Ehrlichiosis- Mutant or Emergence?. <http://www.doofus.org/mercatroid/ehrlichia.html>.