

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

Prevalencia y factores de riesgo asociados a la presencia de *Ehrlichia* spp. en caninos procedentes de propietarios con antecedentes a rickettsiosis en Culiacán, Sinaloa, México.

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

José Mario Atondo Pacheco

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Nohemí Castro del Campo

CODIRECTORA DE TESIS:

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

ASESORES:

Dr. Rosalino Flores Rocha

Dra. María de Jesús López López

Dra. Idalia Enríquez Verdugo

Culiacán, Sinaloa, México; agosto de 2024



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



U N I V E R S I D A D A U T Ó N O M A D E S I N A L O A

Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buena

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **JOSÉ MARIO ATONDO PACHECO**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA

DRA. NOHEMÍ CASTRO DEL CAMPO

CO-DIRECTORA

DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO

ASESOR

DR. ROSALINO FLORES ROCHA

ASESORA

DRA. MARIA DE JESÚS LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR

DRA. IDALIA ENRIQUEZ VERDUGO

CULIACÁN ROSALES, SINALOA, MÉXICO, AGOSTO 2024.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo con mucho cariño a mi familia por ser un pilar importante, especialmente a mi madre Ana Bertha Pacheco, por estar siempre presente y apoyarme en cada proyecto que tengo y ser mi soporte para realizar tanto mi vida académica como personal, por enseñarme a siempre sobrellevar cualquier circunstancia que se presente. A mi abuela Rosaura Medina y tía Blanca Pacheco por darme los ánimos necesarios desde siempre para seguir en la marcha.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mi familia, amigos, maestros y compañeros, por el apoyo recibido durante este proyecto.

A mi Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por todo el conocimiento que adquirí y por permitir estudiar la Maestría en Ciencias Agropecuarias, a CONAHCYT por el apoyo que me proporciono para estudiar este posgrado.

En especial a la Dra. Nohemí Castro del Campo, quien confió y creyó en mí, desde un inicio en este camino, por su sabiduría, consejos y su escuela, por ser una guía en lo académico y de la investigación, siempre muy agradecido con usted, por la confianza, sus consejos y su apoyo.

Mi agradecimiento a la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho, por toda su experiencia en la investigación y ser una fuente de inspiración y motivación, agradecido también por la confianza que me brindo. Al MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra por darme la oportunidad de seguir creciendo en esta facultad.

Dr. Rosalino Flores Rocha por creer en el proyecto desde el momento en que le platique, por su apoyo su dedicación y por enseñar una buena escuela en el área de la salud pública. Dra. María de Jesús López López, gracias por su dedicación hacia este proyecto, por compartir su conocimiento y siempre estar allí. Dra. Idalia Enríquez Verdugo gracias por la confianza y por su dedicación de siempre estar y aclarar dudas que se presentaban. MC. Daniel Eduardo Zatarain por su colaboración y disposición de ayudar en los análisis estadísticos.

MC. Daniel Solis y MC. Sandra Medina, por su amistad, compañerismo y ser un soporte importante en este camino, por sus consejos, conocimiento y apoyo que me brindaron en este trabajo. Dr. Ramón Castro por su apoyo brindado en los muestreos, así también a los alumnos Cruz Cárdenas y Fernando Figueroa por su apoyo en este proyecto. Gracias en general a todas las personas que estuvieron involucradas en este trabajo de investigación.

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCIÓN | 01 |
| II. ANTECEDENTES | 03 |
| 2.1. Generalidades de las Rickettsias..... | 03 |
| 2.2 Epidemiología de las Rickettsias..... | 03 |
| 2.3. Generalidades del vector <i>Rhipicephalus sanguineus</i> | 04 |
| 2.3.1 Enfermedades transmitidas por <i>Rhipicephalus sanguineus</i> | 05 |
| 2.4. Respuesta inmune de las Rickettsias | 05 |
| 2.5. Generalidades de la <i>Ehrlichia</i> spp..... | 06 |
| 2.6. Patogénesis de <i>Rickettsia</i> | 07 |
| 2.7. Signos clínicos en humanos..... | 07 |
| 2.8. Signos clínicos en caninos | 08 |
| 2.9. Prevalencias reportadas en caninos para <i>Ehrlichia</i> spp..... | 09 |
| 2.10. Prevalencia en humanos para <i>Rickettsia</i> | 11 |
| 2.11. Factores de riesgo asociados a <i>Ehrlichia</i> spp..... | 12 |
| 2.11.1. Localización de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en el hogar..... | 12 |
| III. HIPOTESIS | 14 |
| IV. OBJETIVOS | 15 |
| 4.1. Objetivo general..... | 15 |
| 4.2. Objetivos específicos | 15 |
| V. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 16 |
| 5.1. Localización | 16 |
| 5.2. Tipo de estudio | 17 |
| 5.3. Tipo de muestreo y tamaño de la muestra | 17 |
| 5.4. Identificación morfológica por frotis sanguíneo | 18 |
| 5.5. Kit de Extracción de ADN en perros..... | 19 |
| 5.6. Oligonucleótidos usados para <i>Ehrlichia</i> spp..... | 19 |
| 5.7. Cuantificación de ADN | 20 |
| 5.8. Metodología de la reacción en cadena de la polimerasa para (PCR).... | 20 |
| 5.9. Análisis Estadísticos | 20 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 22 |

| | |
|---|-----------|
| 6.1. Resultados para frotis sanguíneos..... | 22 |
| 6.2. Resultados por niveles celulares de los caninos | 24 |
| VII. CONCLUSIONES..... | 34 |
| VIII. LITERATURA CITADA | 35 |
| IX. ANEXOS | 41 |

ÍNDICE DE CUADROS

| CUADRO | TÍTULO | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1 | Prevalencia de <i>Ehrlichia</i> spp., reportadas con climas semejantes a la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México. | 11 |
| 2 | Resultados de frotis sanguíneos como método de diagnóstico. | 23 |
| 3 | Relación positivos vs negativos con porcentaje de hematocrito y plaquetas. | 24 |
| 4 | Análisis de resultados de la técnica de frotis sanguíneo con las variables de interés aplicando Ji-cuadrada, con significancia de $P < 0.05$. | 27 |
| 5 | <i>Odds ratios</i> de frotis sanguíneo para los factores de riesgo asociados a donde duerme el canino y acceso libre a la calle. | 28 |
| 6 | Análisis de resultados con la técnica de PCR de las variables de interés aplicando Ji-cuadrada, donde se observa asociación en las variables: tipo de suelo donde habita el canino, Desechos en el exterior de la vivienda. | 30 |
| 7 | <i>Odds ratio</i> de PCR para los factores de riesgo asociados al tipo de suelo e higiene en el hogar en muestras de caninos en Culiacán Sinaloa. | 31 |
| 8 | <i>Odd ratio</i> de PCR para los factores de riesgo asociados al estado de salud del canino y conocimiento de las enfermedades que transmite el vector. | 32 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| FIGURA | TÍTULO | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1 | Modelo conceptual del riesgo de fiebre manchada por <i>Rickettsia rickettsii</i> . | 13 |
| 2 | Mapa del municipio de Culiacán, Sinaloa con sindicaturas. | 16 |
| 3 | Zonas del muestro en el Municipio de Culiacán, Sinaloa. | 17 |
| 4 | Mórulas de <i>Ehrlichia</i> spp en monocitos. | 23 |
| 5 | Gel de agarosa, carril 1 marcador 100 pares de base (pb), carril 2, control negativo, carriles 2-13 muestras y carril 14, control positivo. | 29 |
| 6 | Condiciones de las viviendas, consideradas factores de riesgos. | 33 |

RESUMEN

Prevalencia y Factores de Riesgo Asociados a la Presencia de *Ehrlichia* spp. en Caninos Procedentes de Sectores con Antecedentes a Rickettsiosis en Culiacán, Sinaloa, México.

José Mario Atondo Pacheco

La ehrlichiosis es una infección bacteriana transmitida por garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, que afecta tanto a animales como a humanos. Sus síntomas incluyen fiebre, dolor articular, decaimiento, entre otros, tanto a perros como a sus propietarios. El objetivo es determinar la presencia de *Ehrlichia* spp. en caninos de hogares con propietarios que presentaron anticuerpos positivos a *Rickettsia* en Culiacán, Sinaloa, México y relacionar los factores de riesgo asociados a la bacteria. Este estudio se llevó a cabo en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México, considerando tanto áreas urbanas como rurales. Se realizaron 10 muestreos (105 muestras sanguíneas) de caninos, procedentes de domicilios de personas con diagnóstico de rickettsiosis según la base de datos de la Secretaría de Salud de Sinaloa entre los años 2021 y 2023. Los datos fueron analizados mediante pruebas de Ji cuadrada ($P < 0.05$) para evaluar asociaciones y cálculos de *odds ratio* para identificar factores de riesgo. Se realizó un estudio morfológico mediante frotis sanguíneo con una prevalencia de 33.33% (35/105) para esta investigación. Posteriormente se realizó extracción de ADN, se midió la cuantificación de ADN con NAnoDrop™ One, donde el motivo de exclusión fue la cuantificación de ADN < 16 ng/ μ L. Al realizar el PCR se encontró que 32 de 73 muestras óptimas amplificaron un fragmento de 480 pb del gen 16S rRNA de *Ehrlichia* spp., teniendo una prevalencia de 43.89% en PCR. Los factores de riesgo que demostraron una correlación epidemiológica fueron las condiciones de higiene de los hogares, el acceso libre a la calle de los caninos y la falta de información de los vectores no solo afecta a las mascotas, sino también a sus propietarios.

Palabras clave: Zoonosis, rickettsiosis, *Ehrlichia*, caninos, salud pública, factores de riesgo.

ABSTRAC

Prevalence and Risk Factors Associated with the Presence of Ehrlichia spp. in Canines from Areas with a History of Rickettsiosis in Culiacán, Sinaloa, Mexico.

José Mario Atondo Pacheco

Ehrlichiosis is a bacterial infection transmitted by the tick *Rhipicephalus sanguineus*, which affects both animals and humans. Its symptoms include fever, joint pain, weakness, among others, both in dogs and their owners. The objective is to determine the presence of *Ehrlichia* spp. in canines from homes with owners who presented positive antibodies to Rickettsia in Culiacán, Sinaloa, Mexico and to relate the risk factors associated with the bacteria. This study was carried out in the city of Culiacán, Sinaloa, Mexico, considering both urban and rural areas. Ten samples (105 blood samples) were taken from canines, from the homes of people diagnosed with rickettsiosis according to the database of the Sinaloa Health Secretariat between the years 2021 and 2023. The data were analyzed using Chi-square tests ($P < 0.05$) to evaluate associations and odds ratio calculations to identify risk factors. A morphological study was carried out using a blood smear with a prevalence of 33.33% (35/105) for this research. Subsequently, DNA extraction was performed, and DNA quantification was measured with NANOdrop™ One, where the reason for exclusion was DNA quantification < 16 ng/ μ L. When performing the PCR, it was found that 32 of 73 optimal samples amplified a 480 bp fragment of the 16S rRNA gene of *Ehrlichia* spp., having a prevalence of 43.89% in PCR. The risk factors that demonstrated an epidemiological correlation were the hygiene conditions of the homes, the free access of dogs to the street and the lack of information about the vectors not only affects the pets, but also their owners.

Keywords: Zoonosis, rickettsiosis, Ehrlichia, canines, public health, risk fa

I. INTRODUCCIÓN

Las rickettsiosis son ocasionadas por bacterias intracelulares estrictas Gram negativas, pertenecientes al género *Rickettsia*, familia Rickettsiaceae, orden Rickettsiales (Raoult, 1997), que se consideran un problema emergente de salud pública, principalmente en países de América Latina (Milagres *et al.*, 2013). El riesgo de enfermedades zoonóticas transmitidas a través de vectores, como es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, puede variar; está comprobado científicamente que las garrapatas en altas temperaturas, se unen y se alimentan de los seres humanos con mayor rapidez, lo que sugiere que el riesgo de parasitismo humano por *Rhipicephalus sanguineus* podría aumentar en zonas con veranos cálidos, tales como el que se encuentra en el estado de Sinaloa, México (Rubio *et al.*, 2015). La rickettsiosis se clasifica según el espectro de manifestaciones clínicas que se presentan, en fiebre manchada y tifus. Ambos grupos son transmitidos por vectores artrópodos como garrapatas, pulgas y piojos a diversos vertebrados domésticos y silvestres, incluido el ser humano (Álvarez *et al.*, 2015). La ehrlichiosis canina entra en el grupo de las fiebres manchadas y puede ser causada por diferentes especies de *Ehrlichia*, las cuales atacan diferentes grupos de células sanguíneas, sin embargo, el caso más común está dado por *Ehrlichia canis* que está diagnosticado con especial afinidad por monocitos; dicho proceso infeccioso es denominado ehrlichiosis canina monocítica; usualmente la enfermedad tiene un curso asintomático y se presenta en forma aguda, subclínica y crónica (Jiménez *et al.*, 2017). *Ehrlichia canis* (*E. canis*) es una rickettsia intracelular obligada, altamente pleomórfica, Gram negativa, que infecta monocitos y macrófagos (Ristic y Huxsoll 1984). *E. canis* es el agente etiológico de la Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) mencionada anteriormente, también conocida como pancitopenia tropical canina, tifus canino, enfermedad del perro rastreador, síndrome hemorrágico idiopático, entre otras denominaciones; es una enfermedad cosmopolita e infecciosa que afecta principalmente a los perros domésticos, con

valores de prevalencia superiores al 50% (Ramos *et al.*, 2009; Faria *et al.*, 2010), y ha sido diagnosticada en otros miembros de la familia Canidae (Ebani *et al.*, 2017). Los factores de riesgo se ven en el aumento de prácticas recreativas al aire libre como el campismo, el excursionismo y la acelerada urbanización; esto favorece el asentamiento de vecindarios humanos en suburbios o espacios previamente silvestres, así como las prácticas culturales o incluso sociopolíticas, que han aumentado la convivencia estrecha con huéspedes competentes de las garrapatas como los perros, hospederos comunes de *Rhipicephalus sanguineus*; cambios ecológicos o climáticos, como el calentamiento global, han modificado los comportamientos de alimentación y reproducción de las garrapatas, lo que por un lado ha incrementado los ataques a humanos y por otro, ha promovido una mayor densidad vectorial tanto en áreas endémicas, como en otras en las que previamente no se había documentado la presencia de estas (Álvarez *et al.*, 2015).

II. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de las Rickettsias

Las rickettsias son bacilos Gram negativos de crecimiento intracelular obligado y multiplicación en el citoplasma de las células endoteliales (Raoult, 2020) y (Merhei, 2014). Se clasifican en cuatro grupos: el grupo de las fiebres manchadas (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia ambliommatys*, *Rickettsia africae* y *Rickettsia conorii*, entre otras), el grupo del tifus (*Rickettsia prowazekii* y *Rickettsia typhi*), el grupo ancestral (*Rickettsia bellii* y *Rickettsia canadensis*) y el grupo transicional (*Rickettsia felis*, *Rickettsia akari* y *Rickettsia australis*) (Merhei, 2014).

La fiebre de las montañas rocosas, potencialmente mortal en humanos y perros, está causada por *Rickettsia rickettsii* y se encuentra distribuida por América; las rickettsiosis fueron reconocidas en México desde mediados de 1930, principalmente en los estados fronterizos del norte, con persistencia de diversos brotes en los estados de Sinaloa, Sonora, Durango y Coahuila. En 1945, Bustamante, Ortiz Mariotte y Varela identificaron como vector a la garrapata del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, en Sinaloa (De Lara *et al.*, 2008).

2.2 Epidemiología de las Rickettsias

Las rickettsias utilizan como vectores a insectos de tipo artrópodos hematófagos como garrapatas, pulgas y piojos, el hombre suele ser huésped accidental (Walker *et al.*, 1998). Las rickettsiosis son llamadas patologías que están desatendidas, desconocidas o que se confunden con otras patologías de la región sobre todo en climas subtropicales y tropicales a la hora de ser diagnosticadas (Miranda *et al.*, 2017). Las bacterias se comportan como parásitos comensales en los vectores, es decir, viven a expensas del vector, pero no le causan daño, excepto en el caso del piojo del cuerpo humano (*Pediculus humanus*), que funciona como vector para *Rickettsia prowazekii* (tifo epidémico); el piojo muere semanas después de ser infectado por una obstrucción en su propio tubo digestivo. A pesar de que el ciclo de bacteremia en el vector es muy corto, y de que en muchas garrapatas se logra completar el ciclo de vida de la bacteria, las rickettsias logran infectar al ser humano cuando éste sufre una picadura por una garrapata previamente infectada; la

infección se logra cuando la hemolinfa del insecto entra en contacto con alguna solución de continuidad de la piel humana (Walker *et al.*, 1998).

En México, los reportes de casos de fiebres manchadas se habían restringido a *Rickettsia rickettsii* y *proWasekii*, sin embargo, en el año 2006 en Nuevo León se hizo un estudio que determinó la presencia de anticuerpos contra rickettsias del grupo tifo, 16% de los cuales pertenecieron a la especie *Rickettsia parkerii* a partir de 345 sueros de pacientes con un síndrome semejante al dengue; la caracterización del ADN identificó *Rickettsia proWasekii* como agente causal (Peniche *et al.*, 2015) y (Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística de México, 1889).

2.3. Generalidades del vector *Rhipicephalus sanguineus*

Las altas temperaturas favorecen la presencia del vector (principalmente *Rhipicephalus sanguineus*), siendo un factor de riesgo para la presencia de la enfermedad por *Rickettsia* spp. en caninos y humanos, lo que podría aumentar su incidencia en zonas con veranos cálidos (Rubio *et al.*, 2015). También, el aumento de prácticas recreativas al aire libre como el campismo y el excursionismo se han convertido en factores de riesgo; además de la acelerada urbanización, que favorecen el asentamiento de vecindarios humanos en suburbios o espacios previamente silvestres, así como también las prácticas culturales o incluso sociopolíticas, que han aumentado la convivencia estrecha con los perros, hospederos comunes de *Rhipicephalus sanguineus*; así como, los cambios ecológicos o climáticos, como el calentamiento global, han modificado los comportamientos de alimentación y reproducción de las garrapatas, lo que por un lado ha incrementado los ataques a humanos y por otro, ha promovido una mayor densidad vectorial tanto en áreas endémicas como en otras en las que previamente no se había documentado antes de su presencia (Álvarez *et al.*, 2015).

2.3.1 Enfermedades transmitidas por *Rhipicephalus sanguineus*

Las garrapatas son vectores potenciales en la transmisión de diversos patógenos tanto en animales como en humanos (Almazán *et al.*, 2016), un ejemplo de ello son las infecciones por ehrlichiosis y anaplasmosis, causadas por alfa proteobacterias Gram negativas de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*, de la familia Anaplasmataceae, del orden Rickettsiales (Dumler, 2013). Son parásitos intracitoplasmáticos estrictos, pleomórficos, capaces de parasitar células sanguíneas como glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas, ocasionando su destrucción (Ismail *et al.*, 2010). Una característica en común es que ambos géneros producen mórulas dentro de las células infectadas (Dumler, 2013).

2.4. Respuesta inmune de las Rickettsias

En la respuesta inmune celular en pacientes con rickettsiosis, se puede observar una clara modificación en las células mononucleares periféricas con una baja en las células T circulantes, en caso particular las CD4+, y CD45+; estas modificaciones pueden estar relacionadas con la adhesión celular al endotelio vascular, seguido por su internalización a los sitios de inflamación (Zavala *et al.*, 2004).

En la fase aguda se observa una ligera disminución de los otros subgrupos celulares, como TCD8+, NK CD16+, B CD20+ y un aumento significativo de los monocitos CD14+/HLA-DR+; todos los subgrupos celulares regresan a sus niveles normales posterior a un tratamiento exitoso, excepto los monocitos clase CD14+/HLA-DR+, que persisten con un nivel elevado después de la recuperación del paciente, aparentemente de manera directa con los altos niveles del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α); la respuesta inmune humoral del paciente se altera profundamente durante la enfermedad, teniendo en la fase aguda un incremento en suero de IFN-g, interleucina-10 (IL-10), IL-6 y TNF α en comparación con los controles sanos; para posteriormente, durante la segunda semana después de la infección, los niveles de IFN-g disminuyen con rapidez, en tanto que los valores de IL-6, IL-10 y TNF α declinan gradualmente, hasta llegar a valores que se encuentren en un rango normal en la etapa de convalecencia (Ciliari *et al.*, 1996).

La fuente principal de protección contra las rickettsias la proveen los linfocitos T CD8, al participar en la activación de los linfocitos citotóxicos, los cuales constituyen

el mecanismo potencial de eliminación de células infectadas por rickettsias, como lo evidencia la infección con *Rickettsia conorii* de ratones que carecen de linfocitos T CD8; si el efecto de los linfocitos citotóxicos sobre las células infectadas es la inducción de apoptosis, los cuerpos apoptóticos con un contenido de rickettsias podrían hipotéticamente ser fagocitados rápidamente por células adyacentes (por ejemplo, los macrófagos perivasculares) y degradados en sus fagolisosomas (Feng *et al.*, 1997).

2.5. Generalidades de la *Ehrlichia* spp.

Ehrlichia spp. es un conjunto de bacterias Gram negativas, pleomórficas, intracelulares obligadas, de la familia Anaplasmataceae, dentro del orden Rickettsiales; de acuerdo con la nueva reclasificación de la familia Anaplasmataceae podemos distinguir dos tipos de ehrlichiosis canina: la ehrlichiosis granulocítica, causada por *Ehrlichia ewingii*; y la ehrlichiosis monocítica, cuyo agente etiológico es *Ehrlichia canis* y, en ocasiones, *Ehrlichia chaffeensis*; esta enfermedad producida por estos patógenos, se conoce también como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina o tifus canino (Fernández, 2013); entre estas bacterias se considera la *Ehrlichia canis* como la de mayor importancia desde un punto de vista clínico (Demma *et al.*, 2005). En el año de 1935 en el instituto Pasteur de Argelia, Donatien y Lestoquard visualizaron en monocitos de perros febriles y con anemia, organismos semejantes a rickettsias, por lo que en un inicio fueron clasificados como *Rickettsia canis*; pero en el año 1945, Moshovski la clasifico como *Ehrlichia canis* en honor a Paul Ehrlich; *Ehrlichia canis* es el agente etiológico de la ehrlichiosis monocítica canina (EMC), la cual es descrita como una enfermedad multisistémica grave y a veces fatal por los daños que ocasiona en los organismos y que afecta a miembros de la familia *Canidae*, la cual incluye a los perros, lobos, coyotes y zorros; predominantemente a los perros y accidentalmente en el hombre, la cual es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Gutierrez *et al.*, 2016).

En 1996, en el estado de Lara Venezuela, se reportó la primera infección humana con *Ehrlichia canis*, donde se logró el aislar en cultivo celular y la caracterización

genética a partir de una persona aparentemente asintomático que presentaba una infección crónica, a esta cepa la llamarón *Ehrlichia* humana venezolana (Pérez *et al*, 1996).

2.6. Patogénesis de *Rickettsia*

El ciclo de estas bacterias involucra a hospederos vertebrados e invertebrados, la *Rickettsia* se establece en garrapatas infestadas mediante una transmisión transvarial y transestadial; los huevos de las garrapatas hembras infectados con *Rickettsia* desarrollan larvas infectadas, las cuales se alimentan de pequeños roedores a los cuales infectara de *Rickettsia* por medio de la saliva; por otro, lado las larvas no infectadas que proceden de huevos no infectados, se pueden alimentar de un animal infectado, y al consumir su sangre infectada es cuando sucederá la infección por *Rickettsia* (Barba, 2009).

Las principales células que infecta son los monocitos y algunos tipos de linfocitos; la patogénesis dura aproximadamente de 8 a 20 días; estas bacterias permanecen y pueden detectarse mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en órganos hematopoyéticos y medula ósea (Harrus *et al.*, 1998).

Ehrlichia canis se multiplica en células mononucleares circulantes, las células infectadas son transportadas vía sanguínea a otros órganos, especialmente pulmones, riñones y meninges; las células infectadas se adhieren al endotelio vascular, produciendo una vasculitis y una infección en el tejido subendotelial; la trombocitopenia que se observa en los animales infectados se debería a un mayor consumo, secuestro y destrucción de plaquetas; la anemia que se observa en algunos casos a una supresión en la producción de eritrocitos y mayor destrucción de éstos, siendo variable el número de leucocitos (Breitschwerdt *et al.*, 1998).

2.7. Signos clínicos en humanos

Las fiebres manchadas pueden ser descritas como una enfermedad sistémica aguda caracterizada por una extensa vasculitis, la cual es causante del exantema, la cefalea, las mialgias y los síntomas gastrointestinales asociados, evento que puede resultar, además, en otras condiciones que ponen en peligro la vida del paciente, entre las que se incluyen la hemorragia pulmonar, la meningoencefalitis y

la miocarditis (Walker, 1995; Sessler *et al.*, 1995). Rodríguez *et al.* (2019) manifiestan que al principio aparecen la fiebre, cefalea y malestar general, y al segundo a cuarto día puede aparecer un exantema maculopapular en tobillos y muñecas, que posteriormente evoluciona a purpúrico y petequiral; siempre afecta las palmas y plantas y suele ser el dato clínico que orienta el diagnóstico.

Carreón *et al.* (2023) en un hospital pediátrico de Sinaloa, reportaron el caso de un infante de cinco años, el cual se reportó con padecimiento de 10 días de evolución, con fiebre, cefalea, exantema maculopapular generalizado y petequias en extremidades superiores e inferiores con extensión a tórax; a la exploración física presentaba irritabilidad, deshidratación moderada, adenopatía generalizada, dermatosis maculopapular, petequias y equimosis por vasculitis, hepatomegalia y esplenomegalia.

Por otro Rodríguez *et al.* (2022) reportaron el caso de un masculino de 14 años con un cuadro de 10 días de evolución, caracterizado por fiebre de alto grado cuantificada de 39.5 a 40 °C, malestar general, mialgias, artralgias, cefalea y dolor retroocular.

2.8. Signos clínicos en caninos

Muñoz y Galán (2021) mencionan que la ehrlichiosis canina posee un cuadro clínico que cambia conforme pasan los días de adquirida la infección, donde el canino puede llegar a presentar alteraciones considerables sin tener signos evidentes, se presentan 3 fases clínicas para esta enfermedad. Fase aguda, la cual se presenta después de la incubación entre ocho a veinte días, pudiendo asociarse a la presencia de trombocitopenia, leucopenia y anemia (Bastidas y Ali, 2020). Los signos característicos de esta fase son la presencia de fiebre, letargia, depresión, anorexia, linfadenopatía y esplenomegalia, usualmente caracterizada por la presencia de síntomas donde se ve comprometido el sistema de coagulación, provocando petequias, equimosis, epistaxis, vasculitis, edema y coagulación intravascular diseminada; a veces es posible observar uveítis anterior, vómito, diarrea, cojera, ataxia y disnea; la fase subclínica es de especial importancia por la ausencia de signos o síntomas evidenciables en el canino; así mismo, presenta

alteraciones hematológicas clave, como trombocitopenia moderada a severa, leucopenia y anemia; debido a la ausencia de síntomas, esta puede pasar inadvertida por meses, incluso años, antes de entrar a la fase crónica (Muñoz y Galán, 2021). La fase crónica es la más severa de todas, en esta los síntomas agudos reaparecen con gran intensidad; viene luego de la fase subclínica y se puede presentar con debilidad, depresión, anorexia, palidez de mucosas, fiebre, marcada pancitopenia, hemorragias, edema en extremidades, fallo renal, artritis, poliartritis y uveítis (Bastidas y Ali, 2020). Algunos signos poco frecuentes comprometen el sistema nervioso central provocando ataxia, nistagmos y convulsiones; en aparato reproductor ocasiona abortos o muerte neonatal y, finalmente, hipoplasia medular. La condición en esta fase es de difícil tratamiento y el pronóstico es malo (Muñoz y Galán, 2021).

2.9. Prevalencias reportadas en caninos para *Ehrlichia* spp.

Anaya *et al.* (2017) encontraron una prevalencia en Perú para *Ehrlichia* de 3.7%, y 7.8% a *Rickettsia* para casos recientes, así como para casos pasados con 19.0% para *Ehrlichia* y 23.3% para *Rickettsia*; concluyendo que existe una mayor prevalencia para contacto o infección pasada a *Rickettsia* y *Ehrlichia* en poblaciones fronterizas de cuatro regiones del territorio peruano, lo cual evidencia el comportamiento endémico de ambos agentes infecciosos en dichas áreas geográficas con características ecoepidemiológicas de zonas periurbanas y rurales. Por otro lado, Pérez *et al.* (2021) en un estudio que abarcó los años 2016 al 2019, observaron una seroprevalencia determinada por títulos de IgG de 60% para *Rickettsia rickettsii*, 47.9% para *Rickettsia typhi* y 24 % para *Rickettsia felis*. En Yucatán fue reportado el primer diagnóstico molecular de *Ehrlichia canis* en perros capturados por personal del centro de control animal con una prevalencia del 45% (Pat-Nah *et al.*, 2015). Así mismo, en un estudio realizado en los estados de Coahuila y Durango se detectó mediante la técnica de PCR un 31% de perros positivos a *Anaplasma platys* y un 10% a *Ehrlichia* spp. (Almazán *et al.*, 2016). Badillo *et al.* (2017) en Barranquilla, Colombia, determinaron la prevalencia para *Ehrlichia canis* y *Anaplasma* spp en 34% (63/184) caninos, la seropositividad en el caso de *Ehrlichia canis* fue del 28% (52/184) en caninos. En otro trabajo por Huerto

y Dámaso (2015), encontraron una prevalencia de *Ehrlichia canis* del 51.3% en perros infestados con garrapatas en la provincia de Huánuc, Perú. Quijada *et al.* (2012) por su parte, analizaron 92 muestras de sangre y suero de caninos de cuatro estados de Venezuela, se observó una prevalencia de *Ehrlichia canis* 34.78% seguido de *Anaplasma platys* 11.96%. Escárcega *et al.* (2018) en Ciudad Juárez, Chihuahua, México, hicieron un análisis molecular en muestra sanguínea obtenidas en perros, donde se obtuvo una prevalencia a rickettsiosis del 43.3%, 40% para *Ehrlichia* spp. y un 27% para *Anaplasma phagocytophilum*. En la ciudad de Tepic, Nayarit, González *et al.* (2017) encontraron en seis clínicas, una prevalencia total de 13.11% para *Ehrlichia* spp. Jiménez *et al.* (2009) dieron una prevalencia de 8.7% y 8.1% en muestras de perros callejeros en Yucatán México, en este mismo estado Díaz *et al.*, en el 2016 estudiaron 200 perros donde se encontraron prevalencia para *Ehrlichia canis* de 69.2%. Por su parte, en Sinaloa Gaxiola *et al.* (2009) encontraron una prevalencia de 71.13% de *Ehrlichia* en caninos de clínicas veterinarias y en otro estudio en el mismo estado Sosa *et al.* (2013) a partir de 152 muestras colectadas en clínicas veterinarias se encontró una seroprevalencia de *Ehrlichia canis* del 74.3%. *Rhipicephalus sanguineus* se encuentra ampliamente distribuida en México, con mayor afinidad en zonas tropicales y subtropicales; Estudios llevados a cabo en Baja California, Nuevo León, Coahuila y Ciudad de México, indican que la prevalencia e incidencia de *Ehrlichia* spp. y *Anaplasma phagocytophilum* en el vector ha ido aumentando gradualmente (Sosa *et al.*, 2016). Por otra parte López *et al.* (2024) encontraron una prevalencia para *Ehrlichia* spp. de 4.79% de un total de 5469 caninos, realizaron frotis sanguíneos y pruebas de Elisa en tres laboratorios de las ciudades de Mexicali y de Tijuana Baja California, México; ellos comentan que el pico con mayor contagio fue en el mes de septiembre, y que el principal vector es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (cuadro1).

Cuadro 1. Prevalencia de *Ehrlichia* spp., reportadas con climas semejantes a la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México.

| Autor | Año | País | Prevalencia Ehrlichia spp. | n |
|------------------------|------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------|
| Álvarez <i>et al</i> | 2017 | Barranquilla, Colombia | 34.00% | 184 |
| Huerto y Damaso | 2015 | Huánuco, Perú | 51.30% | 150 |
| Quijada <i>et al</i> | 2012 | Centro Norte Costeros de Venezuela | 34.78% | 92 |
| Escárcega <i>et al</i> | 2018 | Cd. Juárez, México | 40.00% | 30 |
| Nah <i>et al</i> | 2015 | Yucatán, México | 45.00% | 50 |
| Díaz <i>et al</i> | 2016 | Yucatán, México | 69.20% | 200 |
| Gaxiola <i>et al</i> | 2009 | Sinaloa, México | 71.13% | / |
| Sosa <i>et al</i> | 2013 | Sinaloa, México | 74.30% | 152 |
| Sosa <i>et al</i> | 2016 | Sinaloa, México | 23.20% | 139 |
| López <i>et al</i> | 2020 | Sinaloa, México | 10.11% | 168 |
| López <i>et al</i> | 2021 | Cajeme, Sonora, México | 54.00% | 170 |
| López <i>et al</i> | 2024 | Baja California | 4.79% | 5,469 |

2.10. Prevalencia en humanos para *Rickettsia*

La prevalencia de rickettsiosis en humanos se ha reportado a nivel nacional, en el año 2009 se emitió una alerta epidemiológica por brote de rickettsiosis en Baja California, con un total de 1,471 casos sospechosos en todo el año. El 24 de abril de 2015, el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE) del Ministerio de Salud de México emitió una Declaración de Emergencia Epidemiológica para la FMMR en las regiones del norte de México, particularmente en los estados de Baja California y Sonora (Álvarez *et al* 2017).

En México, los estados del norte son los más afectados por esta enfermedad, entre los que se incluyen Baja California, Sonora y la Comarca Lagunera (entre Coahuila

y Durango), donde se reportan tasas de letalidad entre 17 y 55 % (De lara *et al.*, 2008; Álvarez *et al.*, 2015; Zavala *et al.*, 2008 y Zazueta *et al.*, 2021).

En la República mexicana, entre 2018 y 2019 se ha visto un incremento del 69% de casos por año; los cinco estados con mayor incidencia durante el 2019 fueron Veracruz con 49 casos, seguido de Chihuahua con un total de 39; y un número menor en Sonora, Nuevo León e Hidalgo. En cuanto a la mortalidad, para el 2017 se reportaron 97 defunciones por fiebre manchada de las montañas rocosas (FMMR) a nivel nacional; el estado con mayor número de defunciones fue Sonora con 47, seguido de Baja California con 22, Chihuahua con 19, Coahuila y Durango con 2. (DGE, 2018, 2019).

Rodríguez *et al.*, 2023 concluyen que iniciar el tratamiento adecuado después de 72 horas del inicio de la fiebre podría ser un factor de riesgo importante de mortalidad. La rickettsiosis de fiebre manchada es un problema de salud pública en diferentes regiones de México, ya que el retraso en el diagnóstico y el manejo inadecuado del paciente, a pesar de contar un antibiótico efectivo, contribuyen a las altas tasas de letalidad, presentando un 57.6 % de mortalidad.

2.11. Factores de riesgo asociados a *Ehrlichia* spp.

La distribución de las garrapatas y las enfermedades que transmiten han incrementado en los últimos años, debido a los cambios climáticos y a la adaptación del vector, son factores de riesgo importantes para que el vector este presente (Almazán *et al.*, 2016). El proceso de incubación de los huevos de *Rhipicephalus sanguineus* depende principalmente de la temperatura y humedad ambiental, estas condiciones climáticas hacen que la reproducción de la garrapata sea mayor, sumado a las condiciones de saneamiento de las viviendas rurales, la condición del estilo de vida del perro con acceso a la calle, son un factor de riesgo para padecer *Ehrlichia canis*, esto se debe a que cuando un animal se encuentra fuera de su hogar, entra en contacto con perros en condición de calle, que por lo general están parasitados por garrapatas, aumentando el riesgo de infestación; los criterios epidemiológicos como la vida en medio rural, contacto con algún perro parasitado, incidencia estacional de julio a septiembre, zonas endémicas y ser un varón joven,

son algunos de los factores de riesgo para esta infección (Olagorta *et al.* 2012). Álvarez *et al.* (2015) mencionan tres modelos a considerar para factores de riesgo, la amenaza del vector, la vulnerabilidad de los propietarios y la exposición de los animales con el vector (figura 1).



Figura 1. Modelo conceptual del riesgo de fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* (Álvarez *et al.*, 2015).

2.11.1 Localización de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en el hogar

Como se ha mencionado, el hábitat de la garrapata es peridoméstica, lo cual sugiere que el riesgo aumente al tener malas condiciones de higiene alrededor de las casas, aunque también se pueden localizar dentro de las casas en alfombras, cortinas y muebles (Dantas *et al.*, 2006), lo cual aumenta el riesgo de exposición a los humanos y con ello la posibilidad de adquirir patógenos transmitidos por estas mismas (Demma *et al.*, 2005).

III. HIPOTESIS

La presencia de *Ehrlichia* spp. en caninos en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México, está asociada a la presencia del vector, nivel socioeconómico y sanitario de los hogares de sectores con antecedente de rickettsiosis.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar la presencia de *Ehrlichia* spp. en caninos de hogares con propietarios que presentaron anticuerpos positivos a *Rickettsia* en Culiacán, Sinaloa, México y relacionar los factores de riesgo asociados a la bacteria.

4.2. Objetivos específicos

1. Determinar la prevalencia a *Ehrlichia* spp. en perros domésticos mediante identificación morfológica y molecular.
2. Determinar si la temperatura ambiental, humedad relativa, aspectos socioeconómicos y sanitarios de los hogares son un factor de riesgo para el contagio de esta bacteria.
3. Determinar si existe una asociación entre los propietarios que presentaron antecedentes a rickettsiosis y sus mascotas.
4. Determinar la relación de la bacteria con los niveles de células sanguíneas en los perros.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Localización

Se realizó toma de muestras a caninos en diversas colonias de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México (figura 2), localizada entre los paralelos $24^{\circ} 02'$ y $25^{\circ} 17'$ de latitud norte; los meridianos $106^{\circ} 52'$ y $107^{\circ} 49'$ de longitud oeste; altitud entre 0 y 1800m. Con rango de temperatura de $18-26^{\circ}\text{C}$ y rango de precipitación de 400-1100 mm., con clima seco muy cálido y cálido (37.40%), (INEGI, 2019).



Figura 2. Mapa del municipio de Culiacán, Sinaloa, con sindicaturas.

5.2. Tipo de estudio

Observacional, transversal.

5.3. Tipo de muestreo y tamaño de la muestra

Se realizó toma de muestra de sangre a perros en sectores de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, dividiéndola en zona norte y zona sur, correspondientes a la parte urbana con las siguientes colonias: San Benito, 5 de Febrero, Renato Vega, Barrancos y Valle Alto. Y en la parte rural de esta misma con las siguientes sindicaturas: Colonia Cañitas, Constituyentes, Renato Vega sindicatura de Costa Rica, Sindicatura Campo Gobierno II y Sindicatura Adolfo Sánchez Celis. (Figura 3).

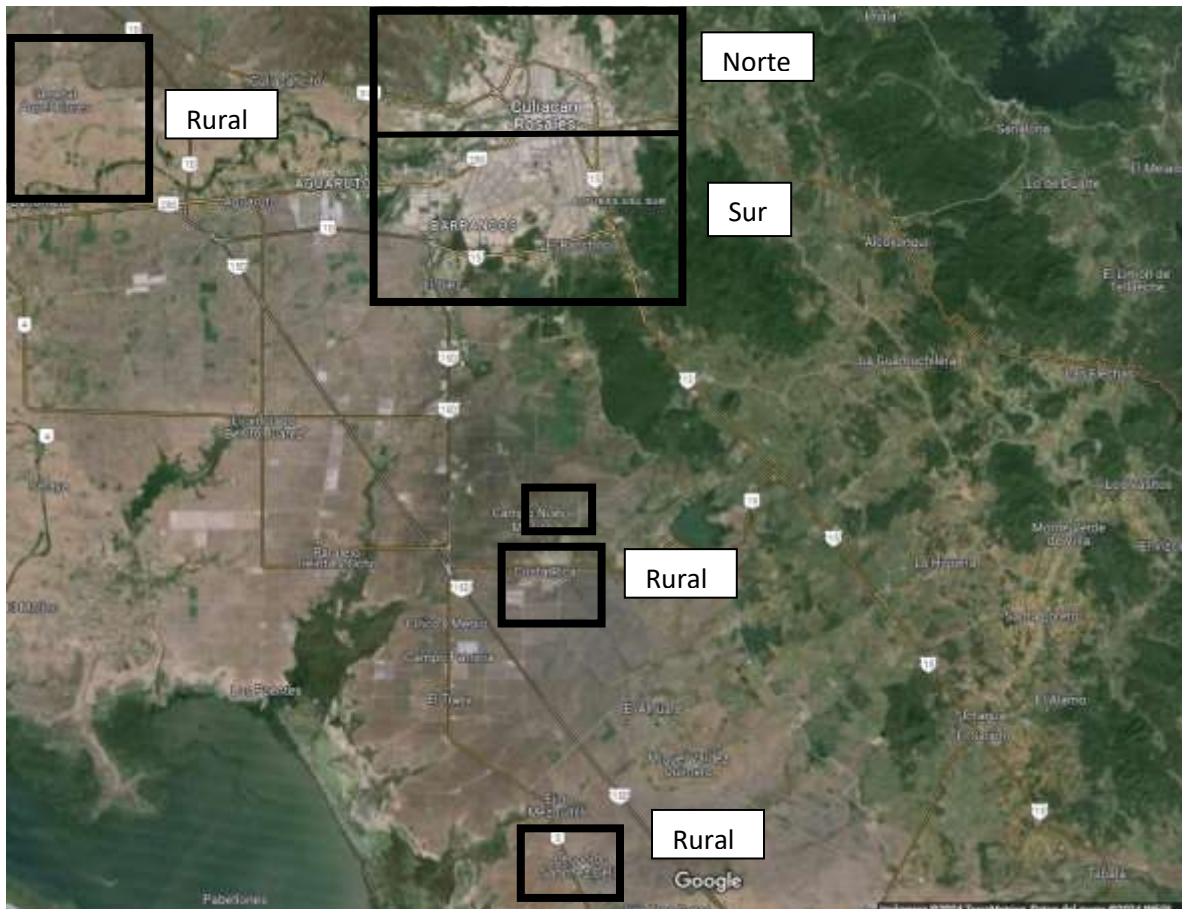


Figura 3. Zonas del muestro en el Municipio de Culiacán, Sinaloa (INEGI, 2024).

Estos domicilios se dividieron en la parte urbana de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México en zona sur y norte, así como su parte rural, donde están marcados pacientes humanos con diagnóstico de rickettsiosis acorde a la base de datos que la Secretaría de Salud del estado de Sinaloa proporcionó, para así obtener muestras sanguíneas en sectores localizados; tomando muestra de sangre a perros de la misma calle de estos domicilios, y de preferencia a los que presentaron garrapatas en el mismo sector, en condiciones no adecuadas consideradas factores de riesgo o con signos clínicos sospechosos provocados por *Ehrlichia* spp.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante la vena cefálica o yugular de cada canino. Se recolectó de 3 a 5 ml de sangre en tubos al vacío con anticoagulante EDTA; posteriormente se colocaron las muestras en un contenedor a temperatura de 4 °C para su traslado, las muestras se analizaron en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en Boulevard San Ángel S/N Fraccionamiento San Benito, Predio Las Coloradas, Culiacán, Sinaloa, México. Estas fueron procesadas con extendido para su diagnóstico morfológico y se aplicó biometría hemática completa a las muestras positivas, posterior a eso fueron congeladas en refrigeradores a temperatura -20 °C hasta ser procesadas para la extracción de ADN, para finalmente procesar por prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

El tamaño de la muestra fue a conveniencia con 105 muestras, todas ellas con punto de referencia de personas con diagnóstico de rickettsiosis, por la Secretaría de Salud de Sinaloa en su base de datos de los años 2021, 2022 y 2023.

5.4. Identificación morfológica por frotis sanguíneo

Una vez colocada la muestra de sangre en la laminilla, se realizó la extensión, se usó las indicaciones del fabricante de hemocolorante Hycel®, para que una vez secas las laminillas se pueda observar en microscopio óptico con 100x (González *et al.*, 2019). Para identificar las mórulas acorde a la morfología a *Ehrlichia* spp. en las células dianas que esta afecta. Para considerar resultados positivos de frotis

sanguíneos se consideró positivo aquella laminilla que tuviera al menos, una mórula de *Ehrlichia* spp.

5.5. Kit de Extracción de ADN en perros:

Para su identificación molecular el primer paso fue hacer extracción de ADN a las 105 muestras de sangre, el cual se llevó acabo con el siguiente kit: QIAGEN-Dneasy® Blood & Tissue Kit. Kit Quiagen siguiendo las instrucciones del proveedor para la extracción de ADN:

1. 100 µL de sangre no nucleada en tubo Eppendorf de 1.5 ml
2. 20 µl de proteinasa K (micropipetas .5-10 4 pipeteos).
3. Aforamos hasta 220 µl con PBS.
4. 200 µl de Buffer AL (micropipetas 100-1000).
5. Vortex 10 seg.
6. Termoblock durante 10 min 56°C.
7. 200 µl de etanol de 96 o 100% (Absoluto).
8. Vortex 10 seg.
9. La mezcla se pasa a las columnas.
10. Centrifugación 8,000 (80) durante 1 min.
11. Cambiamos el tubo colector.
12. 500 µl de Buffer AW1
13. Centrifugación 8,000 (80) durante 1 min
14. 500 µl de Buffer AW2
15. Centrifugación 13,000 (130) durante 3 min.
16. Cambiamos el tubo colector por tubo Eppendorf.
17. 50 µl Agua inyectable y dejar reposar por 5 min.
18. Centrifugación 8,000 (80) durante 1 min.
19. 50 µl Agua inyectable y dejar reposar por 5 min.
20. Centrifugación 8,000 (80) durante 1 min.
21. Pasar de nuevo la muestra para filtrar de nuevo.
22. Centrifugación 8,000 (80) durante 1 min.
23. Tapar y rotular.
24. Conservar membrana y tubo recolector.
25. Congelar -20°C hasta la preparación del gel de agarosa.

5.6. Oligonucleótidos usados para *Ehrlichia* spp.

ECC: 5´ AGA ACG AAC GCT GGC GGC AAG CC 3´

ECB: 5´ CGT ATT ACC GCG GCT GCT GGC 3´

5.7. Cuantificación de ADN

Se midió cuantificación de ADN con NANOdrop™ One, teniendo en cuenta motivo de exclusión la cuantificación de ADN <16 ng/μL.

5.8. Metodología de la reacción en cadena de la polimerasa para (PCR)

Una vez obtenido el ADN y su cuantificación se procedió a realizar el PCR con las siguientes especificaciones:

Oligonucleótidos “ECC”: 5’ AGA ACG AAC GCT GGC GGC AAG CC 3’ y “ECB”: 5’ CGT ATT ACC GCG GCT GCT GGC 3’ utilizando una mezcla de reacción a 25 μL (12.5 μL PCR Master Mix, 2 μL de cada oligonucleótido y 8.5 μL de ADN) esta fue llevada a cabo en el termociclador (T100™ Thermo cycler, Bio Rad Laboratories) bajo las siguientes condiciones de reacción: desnaturalización a 94°C por 1 minuto, seguida por 30 ciclos de alineación a 55°C por 2 minutos y la extensión a 72°C por 2 minutos; para observar el tamaño del fragmento amplificado a 480-pb aproximadamente para la bacteria *Ehrlichia* spp. respectivamente en cada corrida electroforética se incluyeron 16.5 μL del producto de PCR de cada muestra, los correspondientes controles positivos y un marcador de tamaño de 1kb.; los geles fueron observados en transiluminador de luz ultravioleta (UV) a 340 nm, para identificar las bandas de ADN compatibles en tamaño con el fragmento de los genes en estudio (Murphy et al., 1998; Huang *et al.*, 2010; RojasTriviño *et al.*, 2013).

5.9. Análisis Estadísticos

Para los resultados de frotis sanguíneos en la observación al microscopio se consideró positivo aquella laminilla que tuviera al menos, una mórula de *Ehrlichia* spp., así también los resultados a PCR, se resumieron en cuadros de contingencia por factor y se analizaron para detectar la asociación con la prueba de Ji cuadrada. Se consideró con diferencia estadística significativa a los factores con una $P < 0.05$.

Para determinar los factores de riesgo en los resultados se aplicó análisis de regresión logística univariada, utilizando el programa estadístico Rstudio 2024, usando el paquete estadístico EpiR.

Para obtener la prevalencia de esta investigación en ambas técnicas diagnósticas se usó la fórmula:

$$\left(\frac{a}{a + b} \right) K$$

Donde:

a: La frecuencia con la que se ha presentado un evento durante algún periodo especificado.

a + b: El número de caninos expuesto al riesgo del evento durante el mismo periodo

K: Algún número, como 10, 100, 1000, 10000 y 1000000 (Wayne, 2013).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Resultados para frotis sanguíneos

Como primer estudio de las muestras sanguíneas, se realizó la técnica de frotis sanguíneo para la identificación morfológica de la bacteria *Ehrlichia* spp. obtenidas en las colonias del municipio de Culiacán, Sinaloa, México, tanto en la región urbana, así como en su zona rural (Cuadro 2). Donde se obtuvo un total de 105 muestras de sangre de caninos, los cuales se encontraban en domicilios cercanos de las casas con diagnóstico de rickettsiosis en humanos, resultando 35 muestras positivas en su diagnóstico morfológico de *Ehrlichia* spp. (Figura 4), encontrando una prevalencia para este estudio del 33.33%. Comparando con Álvarez *et al.* (2017) en Barranquilla, Colombia, encontraron una prevalencia similar a *Ehrlichia* con 33.00%, con un clima similar a la ciudad de Culiacán, Sinaloa; de igual manera Quijada *et al.* (2012), en Venezuela, observó una prevalencia de 34.78% para *Ehrlichia*, esos muestreos fueron en zonas con clima propicio para el desarrollo del vector *Rhipicephalus sanguineus*, por lo que se puede decir que en ambos trabajos el clima de las ciudades es similar, con condiciones cálidas, idóneas para la garrapata que es el vector para transmitir *Ehrlichia* spp.

Cuadro 2. Resultados de frotis sanguíneos como método de diagnóstico.

| Colonia | Localidad | Total de muestras | <i>Ehrlichia</i> spp. | <i>Babesia</i> spp. | <i>Mycoplasma</i> spp. | Filaria |
|---|----------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|------------------------|----------|
| San Benito | Culiacán | 8 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 5 de febrero | Culiacán | 13 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| Renato Vega | Culiacán | 10 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| Benito Juárez Norte, Cañitas y Constituyentes | Costa Rica, Culiacán | 7 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| Renato Vega | Costa Rica, Culiacán | 13 | 6 | 3 | 1 | 1 |
| Barrancos | Culiacán | 10 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| Valle Alto | Culiacán | 6 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Tamarindo | Culiacán | 12 | 3 | 4 | 0 | 0 |
| Campo Gobierno II | Culiacán | 13 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| Adolfo Sánchez Celis | Dorado, Culiacán | 13 | 6 | 7 | 0 | 2 |
| Total de muestras | | 105 | 35 | 23 | 1 | 3 |

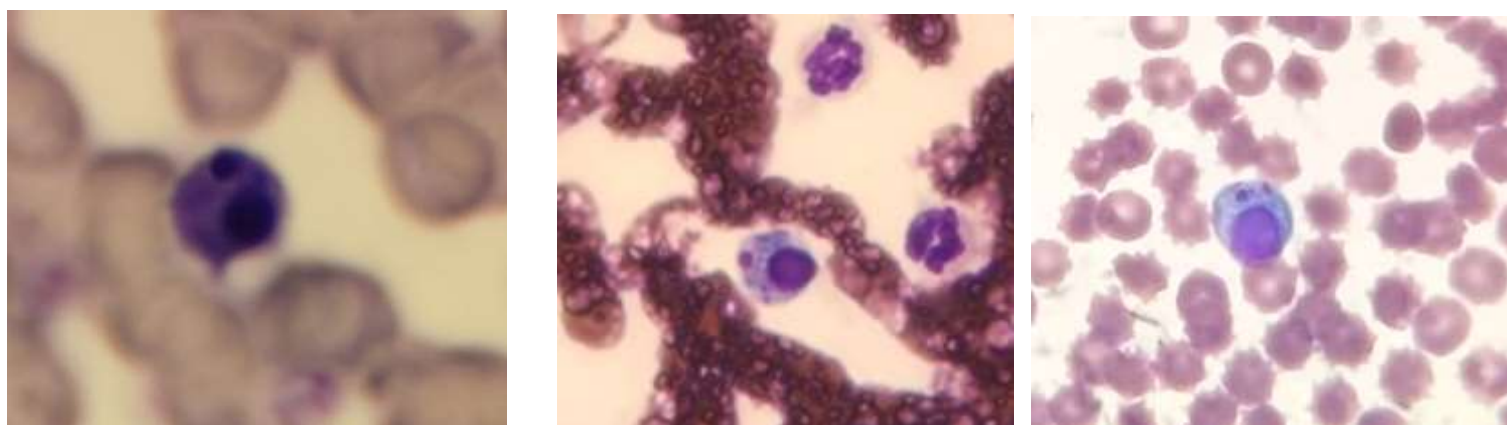


Figura 4. Mórulas de *Ehrlichia* spp. en monocitos.

Además de identificar morfológicamente a *Ehrlichia* spp. se encontró la presencia de *Babesia* spp. con 23/105 muestras positivas a este protozooario, con una prevalencia de 21.90% en este trabajo, así como el hallazgo de *Mycoplasma* spp. 1/105 y *Filaria* spp. 3/105. Dichos hallazgos también se asocian a los factores de riesgo, ya que estos son patógenos zoonóticos, y en el caso de *Babesia* spp., también encontramos como vector la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. El principal hallazgo referente a factores de riesgo, fue el mal estado de los caninos con una alta presencia de la garrapata, principal vector de *Ehrlichia* spp.

6.2. Resultados por niveles celulares de los caninos

En este punto se realizó el conteo de células sanguíneas, analizando el hematocrito de las 105 muestras, de las 35 positivas en frotis sanguíneo solo 11 de ellas salieron con este valor bajo. Posteriormente, se hizo biometría hemática completa al azar, buscando que el nivel de plaquetas fuera menor, resultaron 8 muestras bajas y así comprobar que la *Ehrlichia* spp. afecta a las plaquetas causando trombocitopenia (cuadro 3).

Cuadro 3. Relación positivos vs negativos con porcentaje de hematocrito y plaquetas.

| ID | Negativo-Positivo | Presencia de garrapatas | Hematocrito | Sexo | Plaquetas X10 ⁹ /L |
|----------|-------------------|-------------------------|---------------|--------------|-------------------------------|
| 1 | Negativo | No | 40.00% | Macho | |
| 2 | Negativo | Si | 27.60% | Macho | |
| 3 | Negativo | Si | 50.00% | Macho | |
| 4 | Positivo | Si | 44.00% | Macho | |
| 5 | Negativo | Si | 41.60% | Macho | |
| 6 | Negativo | No | 44.06% | Hembra | |
| 7 | Negativo | No | 44.40% | Macho | |
| 8 | Negativo | No | 36.00% | Macho | |
| 9 | Positivo | Si | 40.00% | Macho | |
| 10 | Negativo | No | 47.61% | Macho | |
| 11 | Negativo | No | 20.31% | Macho | |
| 12 | Negativo | Si | 32.30% | Hembra | |
| 13 | Negativo | No | 42.85% | Hembra | |
| 14 | Negativo | Si | 37.28% | Macho | |
| 15 | Negativo | No | 47.69% | Hembra | |
| 16 | Negativo | No | 34.37% | Hembra | |
| 17 | Negativo | No | 30.50% | Hembra | |

| | | | | | |
|-----------|-----------------|-----------|---------------|---------------|-----|
| 18 | Negativo | Si | 23.80% | Macho | |
| 19 | Negativo | Si | 40.62% | Macho | |
| 20 | Positivo | Si | 41.93% | Hembra | |
| 21 | Positivo | Si | 50.81% | Hembra | |
| 22 | Positivo | No | 39.78% | Hembra | |
| 23 | Positivo | Si | 38.14% | Hembra | |
| 24 | Negativo | Si | 45.00% | Macho | |
| 25 | Negativo | Si | 41.17% | Hembra | |
| 26 | Positivo | Si | 33.33% | Hembra | |
| 27 | Positivo | No | 42.85% | Macho | |
| 28 | Positivo | No | 38.40% | Macho | |
| 29 | Negativo | Si | 30.60% | Macho | |
| 30 | Negativo | No | 52.38% | Hembra | |
| 31 | Positivo | No | 65.67% | Hembra | |
| 32 | Negativo | No | 45.00% | Macho | |
| 33 | Negativo | Si | 37.09% | Macho | |
| 34 | Positivo | Si | 22.58% | Macho | 112 |
| 35 | Negativo | No | 37.93% | Hembra | |
| 36 | Positivo | No | 33.87% | Macho | |
| 37 | Negativo | No | 39.68% | Macho | |
| 38 | Positivo | No | 36.00% | Hembra | |
| 39 | Positivo | Si | 14.75% | Hembra | 80 |
| 40 | Negativo | Si | 37.28% | Macho | |
| 41 | Positivo | Si | 26.66% | Hembra | 100 |
| 42 | Positivo | Si | 38.70% | Macho | 140 |
| 43 | Negativo | No | 27.58% | Hembra | |
| 44 | Negativo | Si | 33.89% | Hembra | 104 |
| 45 | Positivo | Si | 16.39% | Hembra | 130 |
| 46 | Negativo | Si | 20.68% | Hembra | |
| 47 | Positivo | Si | 15.00% | Hembra | |
| 48 | Positivo | Si | 29.50% | Macho | 51 |
| 49 | Negativo | Si | 17.54% | Macho | |
| 50 | Negativo | Si | 33.59% | Hembra | 100 |
| 51 | Negativo | Si | 49.45% | Macho | |
| 52 | Positivo | Si | 52.36% | Hembra | 122 |
| 53 | Positivo | Si | 56.03% | Hembra | 134 |
| 54 | Positivo | Si | 52.30% | Macho | |
| 55 | Negativo | Si | 62.29% | Macho | |
| 56 | Negativo | No | 31.03% | Hembra | |
| 57 | Positivo | Si | 38.83% | Macho | |
| 58 | Negativo | Si | 30.50% | Macho | |
| 59 | Negativo | No | 49.00% | Hembra | |
| 60 | Negativo | No | 24.59% | Hembra | |
| 61 | Positivo | Si | 27.94% | Hembra | 94 |
| 62 | Negativo | No | 52.30% | Hembra | 166 |

| | | | | | |
|------------|-----------------|-----------|---------------|---------------|-----|
| 63 | Negativo | No | 53.30% | Macho | 257 |
| 64 | Negativo | Si | 52.70% | Macho | 205 |
| 65 | Positivo | Si | 38.18% | Macho | |
| 66 | Positivo | Si | 33.82% | Hembra | 304 |
| 67 | Negativo | Si | 38.88% | Macho | |
| 68 | Positivo | Si | 36.66% | Macho | 144 |
| 69 | Negativo | No | 30.64% | Macho | |
| 70 | Negativo | Si | 24.59% | Macho | 67 |
| 71 | Negativo | Si | 40.38% | Macho | |
| 72 | Negativo | No | 37.25% | Macho | |
| 73 | Negativo | Si | 34.92% | Macho | |
| 74 | Negativo | Si | 28.07% | Macho | 411 |
| 75 | Negativo | No | 41.17% | Macho | 144 |
| 76 | Negativo | No | 46.55% | Hembra | |
| 77 | Positivo | Si | 43.90% | Hembra | 122 |
| 78 | Negativo | Si | 34.90% | Macho | |
| 79 | Negativo | No | 39.50% | Macho | |
| 80 | Negativo | No | 33.33% | Macho | |
| 81 | Negativo | Si | 14.00% | Macho | 61 |
| 82 | Negativo | Si | 12.50% | Macho | 142 |
| 83 | Negativo | Si | 33.33% | Hembra | 161 |
| 84 | Negativo | No | 29.62% | Macho | |
| 85 | Positivo | No | 35.08% | Macho | |
| 86 | Negativo | No | 35.59% | Macho | 87 |
| 87 | Negativo | No | 37.28% | Macho | 133 |
| 88 | Negativo | No | 29.50% | Hembra | |
| 89 | Negativo | No | 44.64% | Macho | |
| 90 | Negativo | No | 35.59% | Macho | |
| 91 | Negativo | No | 42.62% | Hembra | |
| 92 | Negativo | No | 37.93% | Hembra | |
| 93 | Negativo | No | 35.48% | Macho | |
| 94 | Negativo | Si | 33.87% | Macho | |
| 95 | Negativo | Si | 61.11% | Hembra | |
| 96 | Negativo | No | 28.12% | Hembra | |
| 97 | Negativo | No | 38.70% | Macho | |
| 98 | Positivo | No | 44.26% | Hembra | 325 |
| 99 | Negativo | Si | 32.25% | Macho | 201 |
| 100 | Positivo | Si | 30.23% | Hembra | |
| 101 | Positivo | Si | 51.02% | Macho | 203 |
| 102 | Negativo | No | 23.43% | Macho | 92 |
| 103 | Positivo | No | 44.82% | Macho | 371 |
| 104 | Positivo | No | 29.68% | Hembra | |
| 105 | Negativo | No | 40.32% | Hembra | |

Continuando con el análisis del diagnóstico morfológico mediante frotis sanguíneo, se midieron 13 variables de interés, considerados factores de riesgo, con el paquete estadístico R studio (2024). De las cuales, dos resultaron con asociación: Dónde duerme el canino y el canino tiene acceso libre a la calle (cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de resultados de la técnica de frotis sanguíneo con las variables de interés aplicando Ji-cuadrada, con significancia de $P < 0.05$

| Factor de riesgo | Valor de P |
|--|-------------------|
| Sexo del canino | 0.1078 |
| Presencia de garrapatas | 0.0827 |
| Dónde duerme el canino | 0.0032 |
| Tipo de suelo donde habita el canino | 0.445 |
| El canino tiene acceso a la calle | 0.030 |
| Desechos en el exterior de la vivienda | 1 |
| Estado de salud del canino | 0.1084 |
| Hay personas < de 18 años | 1 |
| Nivel socioeconómico | 0.3766 |
| Nivel académico del propietario | 0.4189 |
| Conocimiento del vector | 0.585 |
| Ocupación del propietario | 0.2325 |
| Se pasea el canino | 0.196 |

La clasificación de los factores de riesgo en el análisis de Ji cuadrada para su asociación, se ve reflejado en los resultados (Cuadro 5). Una vez obtenida la asociación se realizó un estudio de análisis de regresión logística univariado, mostrando como resultado un riesgo 4.89 veces mayor de que el canino tenga *Ehrlichia* spp. si tiene acceso libre a la calle. Así mismo, el factor de riesgo “dónde duerme el canino”, no marcó un riesgo, pero es similar al que sí marco como un

factor de riesgo, el cual fue dormir en un área de libre acceso para los vectores y otros caninos.

Cuadro 5. *Odds ratios* de frotis sanguíneo para los factores de riesgo asociados a donde duerme el canino y acceso libre a la calle.

| Factor de riesgo | Odd ratio | IC 95% | Valor de p |
|-------------------------------|-------------------|---------------|-------------------|
| Donde duerme el canino | | | |
| Casa | Referencia | | |
| Calle | 1.22 | 0.50-2.97 | 0.824 |
| Acceso libre a calle | | | |
| No | Referencia | | |
| Sí | 4.89 | 1.06-22.63 | 0.030 |

Este análisis coincide con un estudio realizado en la zona de la Comarca Lagunera de México por Zazueta *et al.* (2017), donde se identificó que los perros domésticos y habitantes de áreas peridomésticas con acceso libre a la calle, son una fuente significativa de garrapatas infectadas, representando riesgo tanto para los caninos como para sus propietarios.

Posteriormente para el análisis molecular, se obtuvieron 32 muestras amplificadas con el fragmento de 480 pb (Figura 5) consideradas como positivas, dando una prevalencia para esta investigación de 43.83% de *Ehrlichia* spp. en sangre de caninos con procedencia de propietarios con antecedente a rickettsiosis.

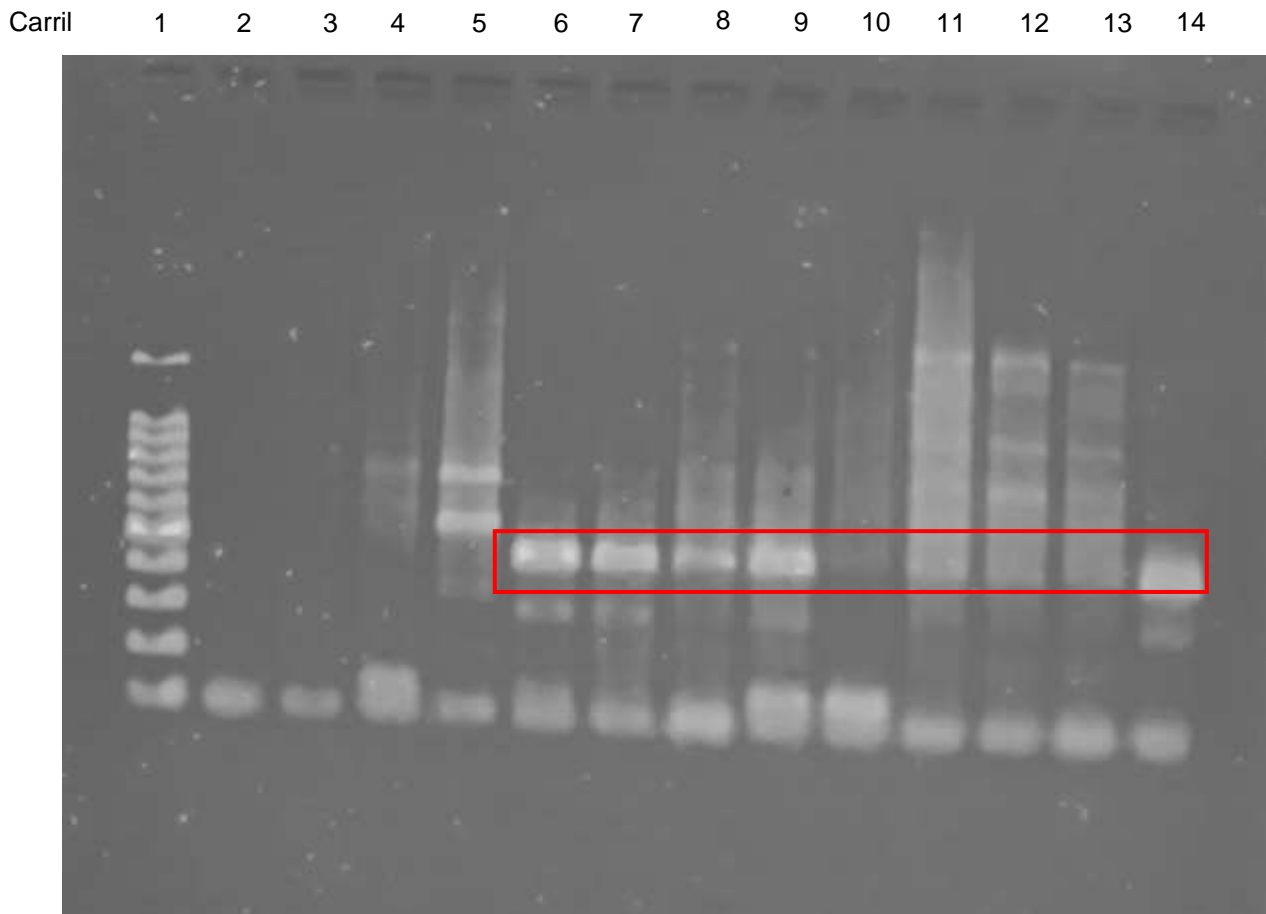


Figura 5. Gel de agarosa. Carril 1: marcador 100 pares de base (pb). Carril 2: control negativo. Carriles 3-13: muestras. Carril 14: control positivo.

Se realizó análisis de Ji cuadrada con las variables de interés para ver sus asociaciones considerando $P < 0.05$, las cuales fueron: tipo de suelo donde habita el canino con $P = 0.0334$, desechos en el exterior de la vivienda $P = 0.0058$, estado de salud del canino $P = 0.0106$ y conocimiento del vector $P = 0.0468$ (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de resultados con la técnica de PCR de las variables de interés aplicando Ji-cuadrada, donde se observa asociación en las variables: Tipo de suelo donde habita el canino y desechos en el exterior de la vivienda.

| Factor de riesgo | Valor de P |
|---|-------------------|
| Sexo del canino | 0.2802 |
| Presencia de garrapatas | 0.5456 |
| Dónde duerme el canino | 0.9812 |
| Tipo de suelo donde habita el canino | 0.0334 |
| El canino tiene acceso a la calle | 0.154 |
| Desechos en el exterior de la vivienda | 0.0058 |
| Estado de salud del canino | 0.0106 |
| Hay personas < de 18 años | 1 |
| Nivel socioeconómico | 0.1647 |
| Nivel académico del propietario | 0.0841 |
| Conocimiento del vector | 0.0468 |
| Ocupación del propietario | 0.2802 |
| Se pasea el canino | 0.644 |

Para seguir con el análisis se midieron los factores de riesgo dando como resultado que es 3.11 veces más probable que el canino adquiera la bacteria por el suelo de tierra donde habita; así como hay 4.67 veces más probabilidad de que se contagie con *Ehrlichia* spp. si hay desechos de basura en el exterior de las viviendas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Odds ratio de PCR para los factores de riesgo asociados al tipo de suelo e higiene en el hogar en muestras de caninos en Culiacán, Sinaloa.

| Factor de riesgo | Odd ratio | IC 95% | Valor de p |
|-----------------------------|-------------------|---------------|-------------------|
| Tipo de suelo | | | |
| Firme | Referencia | | |
| Tierra | 3.11 | 1.18-8.19 | 0.031 |
| Desechos en exterior | | | |
| No | Referencia | | |
| Sí | 4.67 | 1.65-13.21 | 0.003 |

Martínez y colaboradores (2019) analizaron garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de perros de comunidades rurales donde el tipo de suelo es principalmente para uso de actividades agropecuarias y para asentamientos urbanos, por lo cual los caninos tiene acceso libre al exterior; ellos encontraron un (25%, 3/12) garrapatas positivas para *Rickettsia* spp. con el diagnostico de PCR, mencionan también que los desperdicios orgánicos e inorgánicos y carencias en medidas de higiene en los hogares, son un factor para que este vector este presente, tales situaciones son semejantes a lo que se encontró en los resultados del presente estudio en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México, que el tipo de suelo y los desechos en el exterior de las viviendas son un factor de riesgo para que el vector *Rhipicephalus sanguineus* esté presente y transmita la infección, tanto para los caninos como para los habitantes humanos de esas zonas (Figura 6).

Así como se observó un *Odd ratio* de 1.25 veces más probable que el estado de salud del canino influya para tener presente la bacteria, aunque esta variable no representó un riesgo para contagiarse, el simple hecho de estar vulnerable o inmunocomprometido, se convierte en un potencial idóneo para que el vector entre en contacto con él y lo infecte.

Por otra parte, el desconocimiento acerca de las patologías que pueden transmitir los vectores tanto para sus mascotas, como para los propietarios mismos, aumenta 3.77 veces más, el riesgo de padecer *Ehrlichia* spp. (cuadro 8).

Cuadro 8. *Odd ratio* de PCR para los factores de riesgo asociados al estado de salud del canino y conocimiento de las enfermedades que transmite el vector.

| Factor de riesgo | Odd ratio | IC 95% | Valor de p |
|--------------------------------|-------------------|---------------|-------------------|
| Estado de salud del canino | | | |
| Bueno | Referencia | | |
| Malo | 1.25 | 0.49-3.16 | 0.0106 |
| Conocimiento acerca del vector | | | |
| Sí | Referencia | | |
| No | 3.77 | 1.15-12.35 | 0.044 |

Esta investigación coincide con Septfons *et al.* (2021), los cuales en su investigación demuestran que una mayor conciencia y conocimiento sobre las garrapatas y las enfermedades que transmiten pueden llevar a mejores medidas preventivas y afirman que la falta de información puede aumentar el riesgo de enfermedad. Sidhik *et al.* (2024), realizaron una encuesta a 499 miembros de una comunidad de área marginada de la India, donde el 65.7% de ellos están expuestos regularmente a picaduras de garrapatas y el 52.6% de ellos no tomaban precauciones al desconocer las consecuencias que podrían tener ser picados por una garrapata infectada. Beck *et al.* (2022), realizaron 2713 encuestas en el alto medio oeste de Estados Unidos de América, ellos encontraron que los participantes del estudio percibían que las enfermedades transmitidas por garrapatas eran muy comunes en sus comunidades y por lo tanto, tenían más probabilidades de realizar medidas preventivas contra garrapatas en comparación con los participantes que no consideraban comunes estas enfermedades con un OR de 2.5 IC del 95 %: (1,7-3,7).



Figura 6. Condiciones de las viviendas, consideradas factores de riesgos.

VII. CONCLUSIONES

Las condiciones de vida en los hogares de las zonas urbanas y rurales de Culiacán, Sinaloa, México, reflejan problemas de salud que afectan a sus habitantes. En comunidades con antecedentes de personas diagnosticadas con rickettsiosis, se ven afectadas por problemas de sanidad. Se encontró una prevalencia en este estudio, del 33.33% del diagnóstico morfológico de *Ehrlichia* spp., mientras que el diagnóstico molecular arrojó una prevalencia de 43.83% para esta investigación. Esto demuestra la importancia de comprender cómo el entorno puede afectar la salud de las personas y sus mascotas.

El estudio revela que el acceso libre de los perros a la calle facilita que se parasiten de garrapatas, que son los vectores de la enfermedad. Además, la acumulación de basura y el tipo de suelo también aumentan el riesgo de infección. Conocer estos factores es crucial, ya que demuestra cómo la salud de los animales y de las personas está conectada.

Un punto muy importante que surgió en esta investigación, es el desconocimiento sobre las enfermedades que pueden transmitir estos vectores. Esta falta de información no solo afecta a las mascotas, sino también a sus dueños, por ello, es vital concientizar a la comunidad.

Se sugiere llevar a cabo campañas informativas en las colonias urbanas y rurales sobre las enfermedades que pueden ser causadas por garrapatas, especialmente *Rhipicephalus sanguineus*, que es la principal portadora de *Ehrlichia* spp., al aumentar el conocimiento sobre estos temas, podemos ayudar a prevenir la propagación de estas enfermedades y proteger la salud de los perros y de sus propietarios, aplicando el modelo de una sola salud.

VIII. LITERATURA CITADA

Almazán, C., González-Álvarez, V. H., de Mera, I. G., Cabezas-Cruz, A., Rodríguez-Martínez, R., & de la Fuente, J. 2016. Molecular identification and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs in Mexico. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7(2), 276-283. DOI: [10.1016/j.ttbdis.2015.11.002](https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.11.002)

Alvarez G, Roldan G, Milan R, Behravesh B, Paddock D. 2017. Rocky Mountain spotted fever in Mexico: past, present, and future. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17:e189-96.

Álvarez, G., Murillo, C., Candia, M., Moro, M., Badillo, M., Orozco, C., de Lavallo, R. 2017. Infección por *Ehrlichia canis* y *Anaplasma* sp. en caninos atendidos en clínicas veterinarias en Barranquilla, Colombia. *Rev. MVZ Córdoba* 22(Supl):6023-6033, 2017. ISSN: 0122-0268. DOI: 10.21897/rmvz.1072

Álvarez-Hernández G, Candia-Plata MC, Bolado-Martínez E, Delgado-de la Mora J, Soto-Guzmán A, López-Soto LF. 2015. Fiebre manchada por *Rickettsia rickettsii* en las Américas: un problema creciente de salud pública. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 2015; 47(3): 243-259. DOI: <http://dx.doi.org/10.18273/revsal.v47n3-2015001>

Anaya E, Palacios R, Mosquera P, Álvarez C, Peralta C, Gonzales R, & Sakuray, S. 2017. Prevalencia de anticuerpos a *Rickettsias* y *Ehrlichias* en cuatro departamentos fronterizos del Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 34(2), 268-272. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2017.342.1812>

Barba, J. 2009. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 56, Núm. 3, pp 193-208. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2009/pt093e.pdf>

Bastidas, G. y Ali, A. 2020. *Parasitology and Microbiology Research*. BoD. <https://books.google.com.pe/books?id=Dkv9DwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Beck A., Bjork J., Biggerstaff B., Eisen L., Eisen R., Foster E., Signs K., Tsao J., Kough E., Peterson M., Schiffman E., Muganda C., Osborn R., Wozniak R., Bron G., Phaneuf D., Smith D., Bartholomay L., Paskewitz S., Hinckley A. 2022. Knowledge, attitudes, and behaviors regarding tick-borne disease prevention in Lyme disease-endemic areas of the Upper Midwest, United States. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022 May;13(3):101925. doi: 10.1016/j.ttbdis.2022.101925.

Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística de México. 1989. "Ensayo de geografía médica y climatológica de la República Mexicana". Tercera parte, Libro I. Enfermedades enzimóticas y constitucionales. Capítulo II. "Enfermedades tifoideas". Coordinación de Publicaciones Digitales. Ciudad Universitaria. Datos recopilados por la oficina Tipográfica de la Secretaría de Fomento. Fondo Antiguo de la Facultad de Medicina de la UNAM.

- Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI. 1998. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *J. Clin. Microbiol.* 36(9):2645-2651.
- Carreón JM., Arce D., Macías S., Sánchez N., Reyes U., Quero A., Reyes K., Vargas M., Mercado C., González A. 2023. Fiebre manchada de montañas rocosas: experiencia en 5 años de vigilancia activa en un hospital pediátrico de segundo nivel en el noreste de México. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México. Med Hosp Infant Mex.* 2018; 75. DOI: Bol 10.24875/BMHIM.M18000034
- Cillari E, Milano S, D'Agostino P, Arcoleo F, Stassi G, Galluzo. 1996. Depression of CD4 T cell sub-sets and alteration in cytokine profile in boutonneuse fever. *J Infect Dis.* 174: 1051-7.
- Dantas, F., Figueredo, A., & Brandão, S. 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39(1), 64-67. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000100012>
- De Lara HJ, Cardenas R. 2008. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas en pediatría. *Revision clinica de una serie de 115 casos. Rev Enf Infec Pediatr.*
- Demma, L. J., Holman, R. C., McQuiston, J. H., Krebs, J. W., & Swerdlow, D. L. 2005. Epidemiology of human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2001-2002. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(2), 400-409. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.11.002>
- Díaz.M., Bolio, OC., Rodríguez,M.E., Gutiérrez,R.I., & Pérez, C. 2016. Molecular survey of *Ehrlichia canis* in dogs from Mexico: prevalence of infection and possible associated factors. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 3(8), 251-257
- Dirección General de Epidemiología. 2018. Vigilancia Epidemiológica Semana 52, 2018. *Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.* <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia-boletin-epidemiologico>
- Dirección General de Epidemiología. 2019. *Boletín Epidemiológico Semana 52 2019.* DGE, 2019. México. <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia-boletin-epidemiologico>.
- Dumler, S. 2013. Ehrlichiosis y anaplasmosis humanas en América. *Acta Médica Costarricense*, 55(suppl. 1), 29-33.
- Ebani, V. 2017. Serological Survey of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in Dogs from Central Italy. 10.3390/pathogens8010003. PMID: 30621134; PMCID: PMC6471581.

Escárcega M, Luna B, de la Mora A, & Jiménez F. 2018. Análisis exploratorio de enfermedades Rickettsiales transmitidas por garrapatas en perros de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1678>

Fariál, J.M., Dagnonell, A.S., Demarchi., T., Franchi., C.;Biscola., W.A., Zacarias., R. Tinucci.,M. 2010. Ehrlichia canis morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 19 (2). Disponible en: <https://doi.org/10.4322/rbpv.01902006>.

Feng H-M, Ppov VL, Yuoh G, Walker DH. 1997. Role of T-lymphocyte subsets in immunity to spotted fever group rickettsiae. J Immunol; 158: 5314-20.

Fernandez Isabl. 2013. Enfermedades causadas por Rickettsia y Ehrlichia. Enfermedades transmitidas por vectores. CVBD. Capitulo 4. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/282195/1/rickettehrlichia.pdf>

González, C., Cruz, O., Álvarez C., Borrayo, J.. 2017. Presencia de estructuras sugestivas de Ehrlichiosis en perros de la ciudad de Tepic Nayarit. Abanico vet [revista en la Internet. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322017000300072. <https://doi.org/10.21929/abavet2017.73.8>.

Gutierrez, C.N., Pérez Y.L., y Agrela, I.F. 2016. Ehrlichiosis Canina. Saber, 28(4), 641-665. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622016000400002&lng=es&tlng=es.

Harrus, S., Waner, T., Aizenberg, I., Foley, J., Poland, A., & Bark, H. 1998. Amplification of Ehrlichial DNA from dogs 34 months after infection with Ehrlichia canis. Journal of Clinical Microbiology, 56(6), 73-76.

Huang, Q., Baum, L., & Fu, W. L. 2010. Simple and practical staining of DNA with In a large metropolitan center, Mexico-United States border, 2009-2019.

Huerto, E., & Dámaso, B. 2015. Factores asociados a la infección por Ehrlichia canis en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 32(4), 756-760. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342015000400019&lng=es&tlng=es.

Ismail, N., Bloch, K. C., & McBride, J. W. 2010. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. Clinics in Laboratory Medicine, 30(1), 261-292.

Jimenez , L., Cala, F., Albarracin, J., & Beatriz D, L. 2017. La Ehrlichiosis canina: Ehrlichia canis (caso clínico). REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 18(8), 1-9.

Jiménez M, Pére C, Vado I, Rodrigue JC y Ortega A. 2009. Serological survey of Ehrlichia canis in stray Dogs from Yucatan, Mexico, using Two different diagnostic tests. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 9(2):209– 211 DOI: 10.1089/vbz.2008.0039

López, G., Meza, K.M., Haro, A.P., Trasviña, E., García, I.C., Herrera, J.C., Gómez, S.D. 2024. Prevalence, risk factors, and hematologic changes in dogs from Baja California with presence of Ehrlichia spp., and coinfection with Anaplasma spp. Austral J Vet Sci 56, e560206 (2024). <https://doi.org/10.4206/ajvs.562.06>

Martínez, Torres, M., López, K., Koyoc, E., & Manrique, P. 2019. Rickettsia spp. en garrapatas (Acari: Ixodidae) que infestan perros de una comunidad rural con antecedentes de rickettsiosis, Yucatán, México. Revista biomédica, 30(2), 43-50. Epub 06 de septiembre de 2019. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i2.650>

Milagres BS, Padilha AF, Padilha AF, Montandon CE, Freitas RN, Pacheco R. 2013 Spotted fever group rickettsia in small rodents from areas of low endemicity for Brazilian spotted fever in the eastern region of Minas Gerais State, Brazil. Am J Trop Med Hyg.;88:937-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.12-0609>

Muñoz, P. y Galán, A. 2021. Manual clínico del perro y el gato: Manuales clínicos de Veterinaria. Elsevier Health Sciences. <https://books.google.com.pe/books?id=SacxEAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false> Mediante PCR anidada. Veterinaria y Zootecnia. 7: 1 Pediatr. 2008,22:4-9.

Murphy et al., 1998. A molecular and serologic survey of Ehrlichia canis, E. chaffeensis, and E. ewingii in dogs and ticks from Oklahoma. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00179-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00179-4)

Olagorta S, Ciriano E, Belloc SJ, García J. 2012. Fallo multiorgánico secundario Rickettsia conorii. Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int 2012;26(3):166-170. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medcri/ti-2012/ti123g.pdf>

Pat-Nah, yo, Rhode Island Rodríguez-Vivas, A MÍ Bolio-González, SL Villegas-Pérez, y MI. Reyes-Novelo. 2015. Diagnóstico molecular de Ehrlichia canis en perros y garrapatas Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) en Yucatán, México. Revista Médica Entomológica. 52:101-104.

Peniche LG, Perez OC, Dzul RK, Zavala CJ. 2015. Rickettsiosis: Enfermedad Re-emergente en México. Ciencia y Humanismo en la salud; 2(2): 76-84.

Pérez JE, Estrada GI, Zapata Y, Hidalgo M, Serna CC, Castro DC, González C. 2021. Frecuencia de anticuerpos y seroconversión frente a Rickettsia spp. en pacientes atendidos en instituciones de salud del departamento de Caldas, Colombia, 2016-2019. Biomédica. 41(Supl.2):103-17. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5712>

Perez M, Rikihisa Y, Wen B. 1996. Ehrlichia canis-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. J Clin Microbiol. Sep;34(9):2133-9. doi: 10.1128/jcm.34.9.2133-2139.1996. PMID: 8862572; PMCID: PMC229204.

Quijada J, García M, Sánchez G, Bethencourt A, Medina O, Vivas I, Pérez A, García H. 2012 Rickettsias y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos de clínicas veterinarias de cuatro estados de Venezuela. REDVET. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63624429001.pdf>

R Core Team (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

Ramos, C., Ramos, R., Araújo, F., Guedes, J., Souza, I., Ono, T.. 2009. Comparison of nested-PCR with blood smear examination in detection of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in dogs. Rev Bras Parasitol Vet 2009; 18(S1): 58-62. PMID: 20040193. <http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.018e1011>

Raoult D, Roux V. 1997. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. Clin Microbiol Rev. 1997;10:694-719.

Raoult D. 2020. Introduction to rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmoses. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Ninth edition. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 2198-205.

Ristic M, Huxsoll d. 1984. Tribu II. Ehrlichiae. In: Krieg NR, Holt JC (Eds). Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. I. The William & Wilkins Co., Baltimore, pp. 704-709

Rodríguez AJ., Jiménez B.A., González LO., Santos JE., Contreras Coronado ., Tovar IF., Acosta CQ. 2022. Rickettsiosis en un adolescente del occidente de México, reporte de caso. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, vol. 42, núm. 4, octubre-diciembre 2022.

Rodríguez, L., Barrera, R., Sánchez, C., Solórzano-Santos, Fortino, A., López, D. 2023. Rickettsiosis de fiebre manchada. Estudio de casos notificados en un hospital pediátrico de segundo nivel en el noreste de México, 2012-2022. Gaceta médica de México, 159(2), 138-144. <https://doi.org/10.24875/gmm.22000354>

Rojas-Triviño A., Rueda-Hurtado A., Diaz Molano D.M., Mesa-Cobo N.C., Benavides-Montaña J.A., Imbachi-López K., Álvarez-Rios L., López-Bermudez R. 2013. Identificación de Ehrlichia canis (Donatien & Lestoquard) Moshokovski

Rubio, M., Gaxiola, S., Enríquez, I., Cota, S., Castro, N. 2015. Rhipicephalus sanguineus en caninos en Sinaloa, México. <i>xmlns="http://www.w3.org/1999/xhtml">REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria</i> [en línea]., 16(3), 1-10ISSN:. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63638740003>

Sessler C, Schwartz M, Windsor A, Fowler A. 1995. Increased serum cytokines and intercellular adhesion molecule-1 in fulminant Rocky Mountain spotted fever. Crit Care Med 1995; 2:973976.

Sidhik S., Santhosh S., Rathinam B., Knowledge. 2024. Attitudes, and Practices Regarding Ticks, Tick-Borne Diseases, and Ethnomedicine Among an at-Risk Population in Kerala. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2024 Feb;24(2):86-94. doi: 10.1089/vbz.2023.0040.

Sosa, C., Quintero, T., Vargas, M. and Gordillo, G. 2016. First phylogenetic analysis of *Ehrlichia canis* in dogs and ticks from Mexico. Preliminary study. *Rev.MVZ Cordoba* [online]. 2016, vol.21, n.3, pp.5569-5576. ISSN 0122-0268. <https://doi.org/10.21897/rmvz.831>.

Sosa,C., Quintero,M., Gaxiola. S, Cota,S., Esteve, M., Gordillo, M. 2013. Frequency and Clinical Epidemiology of Canine Monocytic Ehrlichiosis in Dogs Infested with Ticks from Sinaloa, Mexico. *J Vet Med.* 2013; 2013:797019. doi: 10.1155/2013/797019.

Stevenson M, Sergeant E (2024). *_epiR: Tools for the Analysis of Epidemiological Data_*. R package versión 2.0.75, <<https://CRAN.R-project.org/package=epiR>>.

Walker D, Raoult D, Brouqui P, Marrie T. 1998. Enfermedades por rickettsias. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Marin JB, Kasper DL, et al, editors. *Harrison. Principios de Medicina Interna. Vol I.* Madrid: McGraw-Hill. Interamericana.p. 1197-205

Walker DW. Rocky Mountain spotted fever: a seasonal alert. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1111–1117

Wayne, D. 2013. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.* 4ta Edición. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México. children from Sonora, Mexico. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:125-30.

Zavala C, Jorge, Ruiz S, Alfredo, & Zavala V, Jorge. 2004. Las Rickettsias del grupo de las fiebres manchadas: Respuesta inmune y sus proteínas inmunodominantes. *Revista médica de Chile* , 132 (3), 381-387. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872004000300015>

Zazueta OE, Armstrong PA, Márquez-Elguea A, Hernández Milán NS, Peterson AE, Ovalle-Marroquín DF, et al. 2021. Rocky Mountain spotted fever in a large metropolitan center, Mexico-United States border, 2009-2019. *Emerg Infect Dis.* 2021;27:1567-76.

Zazueta, O., Armstrong, P., Márquez, A., Hernández, N. Castillo, A., Cueto, S., Valdés, M., Sánchez, F., López, J., Hernández, S., & Ortega, A. 2017. Detección de *Rickettsia rickettsii* Brumpt (*Rickettsiales: Rickettsiaceae*) en la garrapata café del perro *Rhipicephalus sanguineus* Latreille (*Ixodida: Ixodidae*) en la Comarca Lagunera, zona reemergente de Fiebre Manchada en México. *Acta zoológica mexicana*, 33(2), 339-344. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372017000200339&lng=es&tlng=es.

IX. ANEXOS

Encuestas para medir factores de riesgo

Universidad Autónoma de Sinaloa
Maestría en Ciencias Agropecuarias
Encuesta para proyecto de investigación

HOJA DE REGISTRO

Fecha de solicitud:

Nombre del propietario:

Domicilio:

¿Oficio?

¿realiza actividades al aire libre? Sí No ¿Cuáles?

Nombre de la mascota: Raza: Sexo: Edad:

Cantidad de mascotas: caninos: ¿Han presentado garrapatas? Si No

¿Estado de salud del perro? Malo Bueno Excelente

¿Qué signos han desarrollado? Anorexia Caquexia Fiebre Epistaxis Depresión

¿Cuándo fue la última vez de un tx preventivo? 1 mes 3 meses 6 meses 1 año nunca

¿Se pasea? Si No ¿En dónde?

¿Tiene acceso a la calle? Si No

¿Dónde duerme? Patio Cochera Calle Dentro de casa

¿Tipo de suelo de donde habita el perro? Piso firme vitropiso tierra zacate

¿perros vecinos? Si no

| Hábitos de higiene | siempre | Casi siempre | Casi nunca | Nunca |
|----------------------|---------|--------------|------------|-------|
| Hogar limpio | | | | |
| Chatarra en exterior | | | | |
| Baña a sus perros | | | | |
| Los revisa | | | | |

¿Cuanta con servicio médico? Si No ¿Cuál? Imss isste s.popular privado SS. Farmacia comercial

¿han presentado otros síntomas los integrantes de la familia?

¿acude al médico? Si No

¿tomo tx? Si No Cual:

¿Nivel socioeconómico?

Exploración Canina

Membranas Mucosas Normal Ictericia Cianótica Hiperémica

Condición corporal Caquéxico Bajo de peso Normal Sobre peso Obeso

Estado de conciencia Alerta y responsivo Depresión Delirio Estupor Coma

Tiempo de llenado capilar (Ref. 1.5) _____

Turgencia cutánea 1segundo de 5 a 12segundos

Pulso Fuerte, lleno, correspondiente Débil

Temperatura (Ref. 38.5°C - 39°C)

Tos Si No **Debilidad** Si No **Cianosis** Si No **Intolerancia al ejercicio** Si No

Fatiga Si No **Síncope** Si No **Disnea** Si No

Muestra sanguínea tomada de Vena yugular Vena cefálica

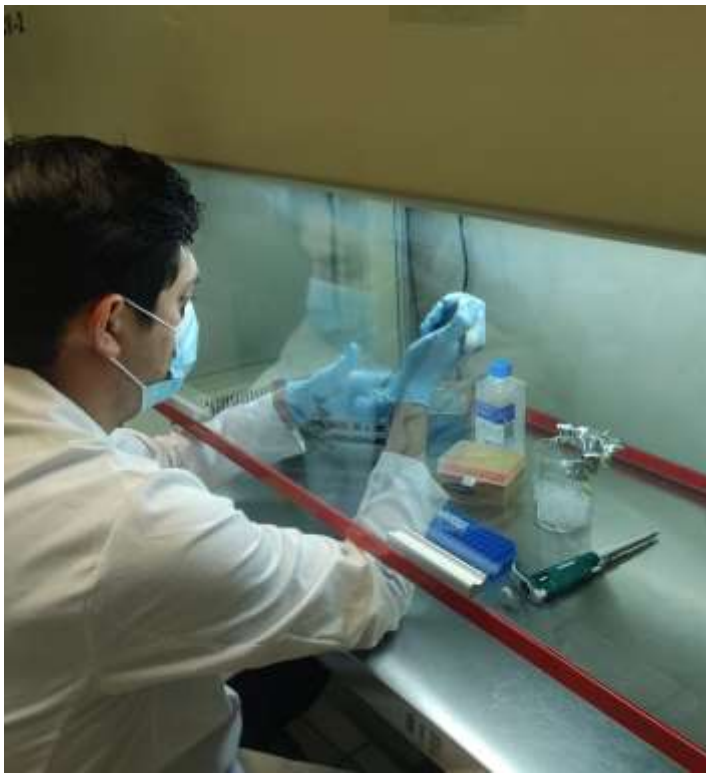
Notas:



Condiciones sanitarias de las viviendas y caninos con acceso libre



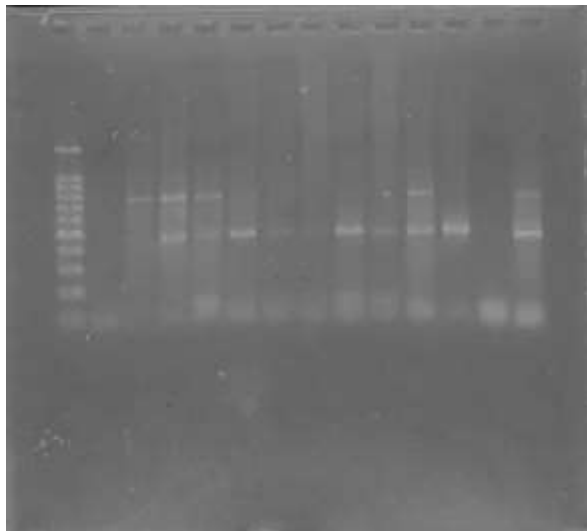
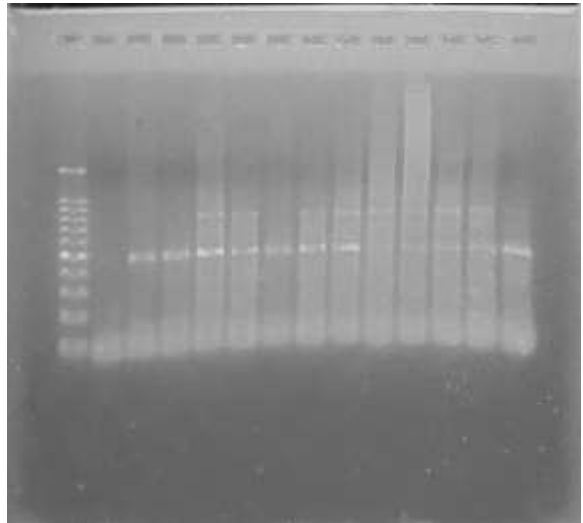
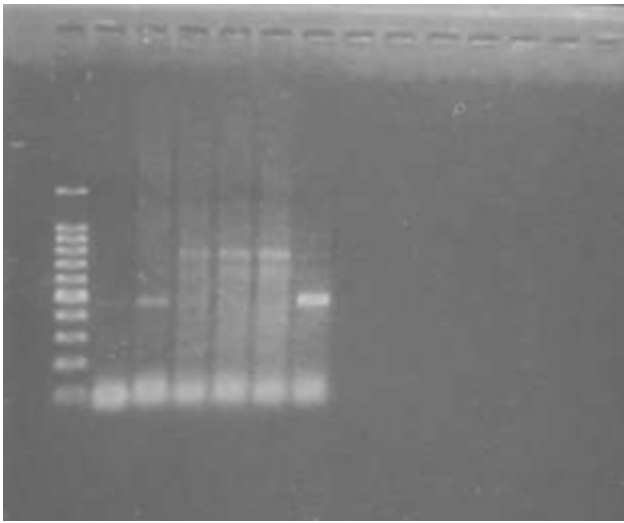
Frotis sanguíneos



Extracción ADN



Elaboración de PCR



Geles de agarosa con muestras positivas