

Hallazgos serológicos de *Ehrlichia* spp. en caninos de la ciudad de Talca, Chile.

Serologic findings of *Ehrlichia* spp in dogs in Talca, Chile.

Romy Weinborn¹ MV Esp Dip; **Ignacio Toro²** MV; **Michel Leporati³** MV DMV; **Daniela Castillo⁴** MV

Recibido : 01 Junio 2012.
Aceptado: 08 Junio 2012.

Resumen

La Ehrlichiosis es una enfermedad infecciosa emergente de carácter zoonótico, causada por *Ehrlichia* spp., más específicamente por *Ehrlichia canis*, bacteria Gram negativa, intracelular obligada, con tropismo definido por monocitos y polimorfonucleares. Debido a la escasa información referente a la presencia de la enfermedad en la ciudad de Talca, es que se procede durante el período de mayo a septiembre del año 2011 a muestrear 36 caninos del Hospital Clínico Veterinario Docente (HCVD) de la Universidad Santo Tomás-Talca, a los cuales se les realizó el test de ELISA ImmunoComb (Biogal Galed. Labs), el cual detecta anticuerpos tipo IgG contra *E. canis*, considerándose como positivo, aquel animal que presentase un título $\geq 1:80$ equivalente dentro de la escala del test a S3. Se logró evidenciar la presencia de *Ehrlichia canis*, en pacientes caninos de la ciudad de Talca, lo cual quedó demostrado por el 16,6% de prevalencia obtenido, sin obtener diferencia estadística significativa entre las variables sexo, edad y raza.

Palabras claves: Ehrlichiosis, ImmunoComb, prevalencia, *Ehrlichia canis*.

Summary

Ehrlichiosis is an emerging infectious disease of zoonotic nature, caused by *Ehrlichia* spp., more specifically by *E. canis*. Gram negative bacteria, obligate intracellular, with tropism for monocytes and polymorphonuclear cells. Due to the limited information concerning the presence of disease in the city of Talca, is that it comes during the period from May to September of 2011 to sample 36 Canine Veterinary Teaching Hospital (HCVD) from St. Thomas University Talca, which was performed the ELISA test ImmunoComb (Biogal Galed. Labs), which detects IgG antibodies against *E. canis*, considered as positive, that animal to submit an equivalent titer $\geq 1:80$ in the scale of the test to S3. The results showed the presence of *E. canis* in patients of Clinical Teaching Veterinary Hospital (HCVD) Universidad Santo Tomás-Talca, which is evidenced by the 16,6% prevalence obtained, without statistically significant of the sex, age or breed.

Keywords: Ehrlichiosis, ImmunoComb, prevalence, *Ehrlichia canis*.

Introducción.

La Ehrlichiosis es una enfermedad bacteriana rickettsial de carácter agudo a crónico, causada por microorganismos del género *Ehrlichia*,¹ más específicamente *Ehrlichia canis*.

En la actualidad presenta una distribución mundial, lo cual se atribuye a que el vector *Rhipicephalus sanguineus*, es la especie de

garrapata más ampliamente distribuida en el mundo, con excepción de la Antártica.² La Ehrlichiosis es reconocida como una enfermedad importante y potencialmente fatal de los perros y otros miembros de la familia *Canidae*,^{3,4} cuya sintomatología es muy inespecífica, llegando a identificarse más de 50 signos clínicos diferentes.

¹ Coordinadora Centros de práctica y Directora de Hospital Veterinario Docente Universidad Santo Tomás Sede Talca. rweinborn@santotomas.cl.

² Jefe de Carrera Medicina Veterinaria Universidad Santo Tomás Sede Concepción. ignaciotoroncoso@santotomas.cl.

³ Director de Escuela Universidad Santo Tomás Sede Talca michelleporati@santotomas.cl.

⁴ Programa de Pasantía del Hospital Clínico Veterinario Docente. Escuela Medicina Veterinaria. Universidad Santo Tomás, Talca, Chile. danycastillovet@gmail.com.

La enfermedad presenta un período de incubación que va desde nueve a 14 días, distinguiéndose tres fases: aguda, subclínica y crónica, las cuales no siempre es posible diferenciarlas, debido a la superposición de la sintomatología.^{3, 5} La aparición de cuadros hemorrágicos como epistaxis, petequias, melena, hematuria, hifema, hacen aún más probable la inclusión de la Ehrlichiosis en un listado de prediagnósticos, sin embargo, esta sintomatología se presenta en menos del 50% de los pacientes afectados.⁵ Por esto las técnicas serológicas son las herramientas más usadas para detectar una infección por *Ehrlichia*. Estas técnicas no detectan el organismo causal, sino anticuerpos producidos frente a éste, es por esto, que son llamados indirectos, siendo los más empleados: la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y las técnicas de enzimoinmunoensayo (ELISA).⁶ Dentro de estas últimas, destaca el ImmunoComb (Biogal Galed. Labs), una prueba comercial cualitativa, que detecta anticuerpos tipo IgG contra *Ehrlichia canis*, y presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad de un 94,1%.⁷

En nuestro país la Ehrlichiosis es una enfermedad subdiagnosticada, a pesar de que la presencia de *Rhipicephalus sanguineus* en Chile se conoce desde 1974, cuando se detectó por primera vez en la comuna de la Granja, Región Metropolitana,⁸ mientras que en Octubre de 1998 se detectaron serológicamente los primeros casos de Ehrlichiosis canina, en perros que provenían del sur de Santiago. En la Región del Maule no existen antecedentes de la enfermedad, lo cual motiva la realización de este estudio epidemiológico de Ehrlichiosis, el cual busca recabar antecedentes de la seroprevalencia de la enfermedad y ver su asociación con variables como edad, sexo y raza; esperando encontrar serología positiva para Ehrlichiosis en caninos de la ciudad de Talca.

Materiales y Método.

Tamaño y toma de muestra

El presente estudio fue realizado en el Hospital Veterinario Docente de la Universidad Santo Tomás ubicado en la ciudad de Talca, contando para ello con un total de 36 caninos (*Canis lupus familiaris*), con antecedentes previos de infestación con garrapatas. Los individuos fueron escogidos al azar independiente de su edad, sexo o raza contando para ello con el consentimiento previo de sus propietarios. La muestra analizada fue de sangre entera, la cual se obtuvo mediante venopunción de la vena cefálica, para posteriormente ser depositada en un tubo con EDTA (ácido etilendiamino tetra acético) hasta por seis horas, para luego realizar el test ELISA.

Análisis de las muestras:

Para la detección de anticuerpos específicos, se utilizó una prueba comercial cualitativa, que detecta anticuerpos tipo IgG contra *Ehrlichia canis*, que presenta una sensibilidad del 100% y una especificidad de un 94,1%, siguiendo las indicaciones del fabricante y, considerándose como positivo, todo aquel animal que presentase un título $\geq 1:80$.⁶

Distribución por sexo, edad, raza y presencia de ectoparásitos:

Para el análisis de los resultados, se procedió a dividir a los animales en grupos según las siguientes variables:

Sexo: "macho y hembra".

Edad: se constituyeron dos grupos etarios: el primero para individuos entre cuatro meses y cinco años y el segundo para aquellos mayores de cinco años.

Raza: se establecieron dos grupos, "pacientes de raza" y mestizos".

Presencia de ectoparásitos: se establecieron dos grupos, en los cuales se consideró la infestación de *Rhipicephalus sanguineus* al momento de tomar la muestra de sangre como: "presencia o ausencia".

Análisis estadístico

Considerando que el estudio fue de tipo descriptivo y transversal, se utilizó la estadística descriptiva, considerando para esto la frecuencia de presentación como porcentaje. Para determinar si existían diferencias significativas entre individuos de diferente edad, sexo y raza, se aplicó el test de Fischer, con un nivel de significancia del 95% y un margen de error del 5%. Además, se utilizó la correlación de Spearman, para establecer la relación entre edad y seroprevalencia de la enfermedad. Ambos test estadísticos fueron calculados con el software Infostat (versión 2010e).

Resultados

Del total de 36 pacientes caninos que ingresaron al Hospital Clínico Veterinario Docente, seis de ellos resultaron positivos al test de ELISA ImmunoComb, lo cual equivale a una seroprevalencia para *Ehrlichia canis* del 16,6%. Si bien con la prueba de ELISA ImmunoComb se consideran como positivos los animales que presentan títulos igual o mayores de 1:80,

correspondiendo a S3 en la escala (Figura 1), también es importante señalar que se encontró una alta cantidad de animales que no resultaron positivos según este límite, pero que sí tuvieron una reacción al test, lo que nos indica que, una mayor cantidad de animales, estuvo expuesto a *E. canis*. Como anteriormente se mencionó, de un número total de 30 animales, sin contar a los pacientes positivos, 19 (63,3%) presentaron una reacción leve a *Ehrlichia canis*, que se caracterizan como S1 o S2 (Título 1:20-1:40) según las instrucciones del kit (Figura 2).

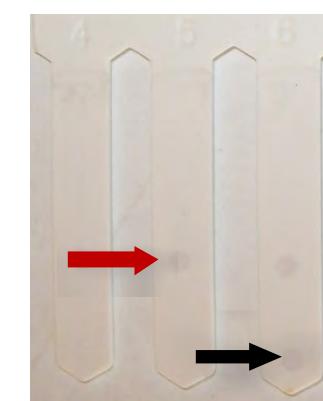


Figura 1. Resultados obtenidos al realizar el Kit ImmunoComb. Animal seronegativo (flecha roja), animal seropositivo (flecha negra). (Dra. MV. Daniela Castillo, Hospital Clínico Veterinario Docente)

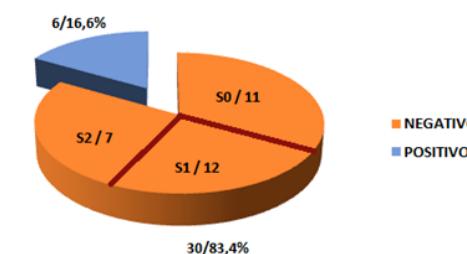


Figura 2: Pacientes negativos que reaccionaron al test ImmunoComb.

La muestra estuvo conformada por 14 machos y 22 hembras, que corresponden al 44,4% y 55,6% respectivamente. Todos los individuos seropositivos pertenecían al grupo de las hembras, presentando una seroprevalencia de 27,2% intragrupo; mientras que en el grupo de los machos se obtuvo una prevalencia del 0% (Figura 3), no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.062$).

En base a la edad, se evidenció que los animales pertenecientes al primer grupo alcanzaron un número de 21 pacientes dentro de los cuales se pesquisaron tres pacientes seropositivos, lo que equivale al 14,2%. El segundo grupo estaba conformado por 15 pacientes, de los cuales tres resultaron positivos al test ImmunoComb, que corresponden al 20% (Figura 4), sin ser la diferencia entre ambos grupos estadísticamente significativa ($p = 0.67$).



Figura 3: Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de acuerdo a la edad.

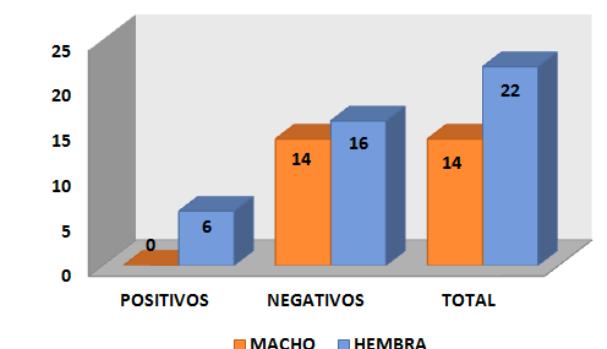


Figura 4: Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de acuerdo al sexo.

En lo que respecta a la variable raza, la seroprevalencia obtenida en los dos grupos fue de 10,5% (2/19) para los individuos de raza y de un 23,5% (4/17) para los mestizos (Figura 5), sin ser estadísticamente significativa esta diferencia ($p = 0.39$). Además, se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman, el cual no evidenció relación ($r=0$) entre las variables de edad y seropositividad, lo cual indica que la edad no tiene relación con la seroprevalencia de los individuos en el estudio, siendo los individuos susceptibles a esta enfermedad a toda edad.

De los 36 pacientes, todos habían tenido alguna vez contacto con *Rhipicephalus sanguineus*, pero al momento de tomar las muestras, solo tres de ellos presentaban infestación con garrapatas, lo que corresponde al 8% de los pacientes. Todos ellos resultaron negativos al test ImmunoComb (Figura 6), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0001$).



Figura 5: Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de acuerdo a la raza.

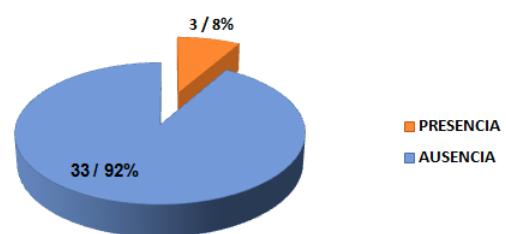


Figura 6: Pacientes con presencia o ausencia de garrapatas al momento de la muestra sanguínea.

Discusión

Cabe destacar que en la región del Maule, específicamente en Talca, no existen estudios acerca de Ehrlichiosis; no obstante, en nuestro país se han realizado estudios de Ehrlichiosis canina, asociada a *E. canis* utilizando la técnica aplicada en este ensayo (ImmunoComb de Biogal), como el efectuado en el año 2001 por González en la comuna de la Pintana, Región Metropolitana, donde se analizaron un total de 64 animales, obteniendo una seroprevalencia del 68.75%.⁹ Resultado que concuerda con lo obtenido por Atria en la Región Metropolitana (2001),¹⁰ quien determinó que de un total de 25 perros, 17 resultaron positivos, lo que equivale a un 68% de seroprevalencia. Ambos resultados que no concuerdan con los del presente

estudio probablemente debido a que las muestras no fueron tomadas en la época primavera-verano, que es cuando existe mayor probabilidad de encontrar al agente,^{11,12} pero si coinciden en la capacidad de detectar el agente en nuestro país.

Respecto a la seropositividad del 16,6%, se debe considerar que la técnica de ELISA ImmunoComb tiene un 94% de correlación con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), prueba descrita como confirmatoria para la enfermedad, por lo cual, estos resultados serían representativos para establecer la presencia del agente en la población estudiada.¹³ Si bien ésta técnica considera como positivos a los animales que presentan títulos igual o mayores de 1:80, correspondiendo a S3 en la escala del test, es importante señalar que en nuestro estudio se encontró que una gran cantidad de animales que no resultaron positivos a la dilución S3, tuvieron una reacción al test, lo que nos indica estos animales estuvieron expuestos previamente a *E. canis*. Como anteriormente se mencionó, de un número total de 30 animales, sin contar a los pacientes positivos, 19 (63,3%) presentaron una reacción leve a *E. canis* que se caracteriza como S1 o S2 (Título 1:20-1:40).⁷

En los estudios previos realizados en nuestro país, la edad no ha sido una variable evaluada, por lo tanto, no se tiene una referencia a nivel nacional de cuál es el rango etario en que los caninos son más susceptibles a la infección por *E. canis*; sin embargo, hay diversos estudios que muestran una tendencia; es así, como Parrado en el 2003,¹⁴ encontró una mayor presentación de casos en pacientes con edades entre dos y cuatro años (42,8%), contando para su estudio de pacientes con edades de entre los siete meses hasta los 10 años. Resultado que concuerda con los datos recolectados por Hoyos (2007)¹⁵ y Contreras (2006);⁶ en el primero, de un total de 77 muestras de sangre, la mayor cantidad de animales seropositivos ($25/31 = 80,6\%$) se encontraba entre este mismo rango de edad; mientras que en el segundo, los perros mayores de dos años hasta los cuatro años de edad tuvieron un 12,2 % de mayor riesgo de presentar la enfermedad con respecto a perros menores de dos años de edad, encontrándose diferencias estadísticas significativas para las diferentes edades.⁶ Una explicación viable para la asociación con este grupo etario podría ser una mayor exposición de éstos al vector, en comparación con los animales menores, principalmente cachorros, lo cual se explica porque generalmente una vez que el animal completa sus vacunas y se considera que tiene menos riesgo de contraer enfermedades infecciosas, sale más a la calle, aumentando así su exposición con el vector.⁶ Contrario a lo

expresado por Gómez (2002),¹⁶ el cual encontró que los cachorros eran más susceptibles que los adultos con una positividad del 77% y 67% respectivamente.¹⁶ Estos antecedentes establecen una diferencia con nuestro estudio, ya que no se evidenció diferencia alguna entre los grupos de rangos etarios.

En lo que respecta a la variable sexo, no se evidenció diferencia estadísticamente significativa ($p: 0,05$), resultados que no coinciden con el estudio realizado por Contreras en Perú, en el cual, se evidenció la tendencia de un mayor riesgo de infectarse a las hembras y aquellos que pasan mayor tiempo del día fuera de sus hogares.⁶ Esta mayor susceptibilidad por parte de las hembras, se podría explicar porque éstas son sometidas a situaciones donde su sistema inmune puede verse disminuido, como ocurre al momento del celo, preñez y lactancia; sin embargo, no es posible afirmar esto hasta realizar más estudios sobre la enfermedad en nuestro medio y con un mayor número de animales.

Los resultados del estudio, no arrojaron diferencias significativas entre los grupos según raza, lo cual concuerda con lo dicho por Sainz y col (2000)¹⁷; los cuales expresan que no existe una raza que muestre una mayor o menor inmunidad a la enfermedad, existiendo una gran variedad de razas, incluyendo razas mixtas, que han contraído ehrlichiosis; es decir, racialmente los animales tienen la misma probabilidad de sufrir la infección por *E. canis*.¹⁵ Sin embargo, se ha establecido que tanto el Pastor Alemán como el Springer Spaniel pueden presentar cuadros clínicos más graves.¹⁷

Existen antecedentes que establecen diferencias con el presente estudio, como los otorgados por Parrado en el año 2003,¹⁴ en Colombia, quien determinó que de un total de 30 caninos, las razas mayormente afectadas fueron el Pastor Alemán (17,9%), al igual que Contreras en el 2006,⁶ quien encontró que el Pastor Alemán en comparación con las otras razas tuvo un riesgo 12.2 veces mayor de presentar la enfermedad, ambos datos ajustados por las variables sexo, edad y lugar de origen. Respecto a esta información, la literatura menciona que esta raza pudiera estar predisposta a presentar ehrlichiosis clínica, principalmente la fase crónica, lo cual probablemente esté asociado con una falla en la respuesta inmune.¹⁷ Otros autores como Stephenson y Ristic (1978); Van Heerden, (1982); Harrus *et al.* (1997),⁶ encontraron en sus estudios retrospectivos en 26 razas, que el pastor alemán fue la que obtuvo la mayor prevalencia (21%) en comparación con el 8% del resto de razas. La obtención de una seropositividad en este estudio sin diferencias

estadísticas significativas puede deberse a que dentro de nuestro campo muestreal se incluyeron a muchos caninos mestizos (52,7%), lo cual deja espacio a un número reducido para animales de raza, dentro del cual no se encontraba ningún ejemplar Pastor Alemán, motivo por el cual nos resulta imposible avalar o refutar la teoría de que haya una predisposición de alguna raza en particular para presentar la enfermedad.

El antecedente de contacto con artrópodos al momento de la muestra fue significativo, aunque de los pacientes analizados, solo tres (8%) presentaron infestación con garrapatas, pero ninguno de ellos obtuvo un resultado positivo frente a *E. canis*, mientras que los pacientes restantes todos tenían antecedentes de infestación previa, lo cual confirma el rol del ectoparásito como vector de la Ehrlichiosis canina, situación ampliamente reportada por otros autores.¹⁸ A pesar de que las muestras fueron tomadas en invierno en donde las garrapatas tienen una presentación mínima o nula, se obtuvo un porcentaje relativamente alto (16,6%) de animales seropositivos, suponiendo que si se hubiese muestreado los animales en la época del año adecuada, pudiesen ser aún mayores. El antecedente clínico de contacto con artrópodos en el estudio de Hoyos (2007),¹⁵ fue estadísticamente significativo en perros seropositivos, en el cual 82% de los animales presentó garrapatas, lo que confirma el rol del *Rhipicephalus sanguineus* como vector de agentes microbianos causantes de la Ehrlichiosis canina. Al igual que Contreras en el 2006,⁶ que indica que el antecedente de garrapatas fue un factor esencial en la presentación del agente *E. canis*, coincidiendo con nuestro estudio, en el que de los perros muestreados, el 100%, tuvieron alguna vez contacto previo con garrapatas.

Conclusiones:

Se comprobó la presencia de *Ehrlichia canis*, en pacientes caninos atendidos en el HCVD UST de la ciudad de Talca, lo cual queda demostrado por el 16,6% de seropositividad obtenido. Se estableció que la presencia de Ehrlichiosis canina en la ciudad de Talca se encuentra subdiagnosticada debido a que no presenta signos patognomónicos de la enfermedad, por lo que se hace necesario realizar un buen diagnóstico clínico, tomar en cuenta el antecedente de infestación por garrapatas, sumado a una prueba serológica que permita detectar el contacto del animal con el agente infeccioso, debido a la gran importancia que revierte esta patología para la salud pública por el potencial riesgo de zoonosis.¹⁹

Referencias Bibiográficas

1. Texeira, B. M., Duarte, L. S., Rabelo, G.P. N., Crissiuma, A. L. Herdy, M.A. y Vasconcelos, T.C. Frecuencia de mórlulas de *Ehrlichia canis* en frotis sanguíneo de 1394 perros (*Canis familiaris*) atendidos en el Hospital de la Escuela de Medicina Veterinaria de Unigranrio, Río de Janeiro, Brasil y demás alteraciones hematológicas encontradas. Memorias del Latin American Veterinary Conference 2009. [6 al 19 de octubre. Lima, Perú.
2. Angulo, J. y Rodríguez, L. Diagnóstico situacional de cuatro hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del Distrito VI-2 de Managua. 2005. Tesis Médico Veterinario. Managua. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Ciencia Animal, Departamento de Medicina Veterinaria. 10-20p.
3. Waner, T. y Harrus, S.. Canine Monocytic Ehrlichiosis, En: Recent Advances in Canine Infectious Diseases, L. Carmichael. [en línea]. 2000. International Veterinary Information Service. New York, USA. (Fecha consulta: 24 de noviembre 2010). Disponible en: www.ivis.org/document/no.a0108.0400.
4. Sánchez Carmona, A., Sainz, Rodríguez, A. y Tesouro, Diez, M. Ehrlichiosis. *Canis et Felis*; 2001. 51: 8-48p.
5. Schaer M. Medicina Clínica del Perro y el Gato. Barcelona, Elsevier. España. 2006: 84-86p.
6. Contreras, Samanez, A. Estudio retrospectivo de caso control de Ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos: periodo 2002-2005. Tesis Médico Veterinario. Lima, Perú. Universidad Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria. 2006. 29-31p.
7. Biogal-Labs. Immunocomb® kits canine, feline & avian. 2012. (Fecha consulta: 25 de noviembre 2010). Disponible en <http://www.biogal.co.il/kits-for-canine-feline-avian>
8. López del P. J. Abarca, V. K. y Azócar, A. T. Evidencia clínica y serológica de Rickettsiosis Canina en Chile. Revista Chilena Infectología 2007: 24(3). 189-193p.
9. González, Clift, J. Detección de caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* en Posta Veterinaria del Municipio de la Pintana. 2001. Tesis Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Pecuarias. 65p.
10. Atria, E. Confirmación de Ehrlichiosis Canina mediante frotis sanguíneo en caninos con sintomatología clínica y seropositivos. Tesis Médico Veterinario. Santiago, Chile. Universidad Santo Tomás, Escuela Medicina Veterinaria, 2001. 8-22p.
11. Nelson, R. W. y Couto, G. C. Medicina Interna de Animales Pequeños. 3^a. ed. Buenos Aires, Argentina. Intermédica. 2000: 1365-1372p.
12. Barcat, J. A.. El Calentamiento Global, las Garrapatas y la Ehrlichiosis. 2006 [en línea]. Buenos Aires. 489- 490p. (Fecha de Consulta: 08 de octubre 2010). Disponible en: www.garrapatasy/ehrlichiosis.20928.org
13. Harrus, S. Alleman, R. Bark, H. Mahan, S. y Warner, T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. En: Veterinary Microbiology 2002; 86: 361-368.
14. Parrado, M. Vargas, F. Hernández, G. y Vergara, H. Asociación de los resultados de una prueba serológica (ELISA) y frotis sanguíneo en caninos con sintomatología compatible de Ehrlichiosis. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, Orinoquia. 2003: 7(1-2). 6-11p.
15. Hoyos, L. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. Rev. Inv. Vet. Perú. 2007: 18(2). 129-135p.
16. Gómez, Torres, F. A. Comparación de las técnicas IFA y frotis sanguíneo para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. Informe Final de Práctica Profesional (Médico Veterinario y Zootecnista). Universidad Cooperativa de Colombia Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Centro de Investigaciones en Ciencias Animales Bucaramanga. 2002. 11p.
17. Sainz, A., Amusategui, I., Rodríguez, F.y Tesouro, M. Las Ehrlichiosis en el perro: presente y futuro. Profesión Veterinaria. 2000: 12 (47): 8-22p.
18. Hoyos, L. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis Canina. Tesis Médico Veterinario. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria. 2005. 41-43p.
19. Ramírez, Ortega, M. A. Otras Zoonosis Transmitidas por Garrapatas: Babesiosis y Ehrlichiosis. 2001. [en línea] Lyme and related diseases Lymearduk First Tick-borne Diseases Conference The University of Hull 1st & 2nd September. Ávila, España. 1p. (Fecha de consulta: 22 de noviembre 2010). Disponible en: <http://www.lymeinfo.net/espanol/zoonis.pdf>.