Evidencia clínica y serológica de rickettsiosis canina en Chile

Javier López Del P., Katia Abarca V. y Teresa Azócar A.

Clinical and serological evidence of canine rickettsiosis in Chile

Rickettsial infections in pets have not been documented in Chile. Some of those infections have relevant zoonotic potential. **Objectives:** To report two serologically confirmed cases of canine rickettsiosis. To determine seroprevalence to *Rickettsia* sp in a group of dogs. **Methods:** IgG antibodies anti-*R. conorii* and anti-*A. phagocitophilum* by IFI in two dogs with clinical rickettsiosis. IgG antibodies anti-*R. conorii* in a group of 77 dogs. **Results:** Clinical cases: a dog presented with fever, myalgias and melena, another dog with bleeding and neurological involvement. Seroprevalence: 35% of the dogs had antibodies against *Rickettsia*. **Discussion:** This is the first evidence of canine rickettsiosis in Chile, both clinical and serological. Coinfection with two tickborne agents: *Rickettsia* and *Anaplasma*, is documented. Molecular studies are needed to confirm the rickettsial species present in Chile. The zoonotic role of these infections must be also studied.

Key words: *Rickettsia*, *Anaplasma*, canine diseases, zoonoses, ehrlichiosis, pets.

Palabras claves: *Rickettsia*, *Anaplasma*, caninos, zoonosis, ehrlichiosis, mascotas.

Clínica Veterinaria Alcántara,
Santiago, Chile (JLDel P)
Pontificia Universidad Católica
de Chile

Centro de Investigaciones Médicas
Laboratorio de Infectología y
Virología Molecular (KAV, TAA)

Recibido: 21 julio 2006

Aceptado: 22 enero 2007

Correspondencia a:

Javier López Del P.

javieret@entelchile.net

Introducción

El género *Rickettsia* comprende bacterias gram-negativas intracelulares obligadas, pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae*. Se clasifican en tres grupos de acuerdo con sus características genéticas: grupo ancestral compuesto por *R. bellii* y *R. canadensis*, grupo tifus compuesto por *R. prowasekii* y *R. typhi*, y grupo de las fiebres manchadas. Este último grupo incluye más de veinte especies transmitidas por garrapatas, entre ellas *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. sibirica*, *R. japonica*, y dos especies transmitidas por vectores distintos de garrapatas: *R. akari* (transmitida por un ácaro del ratón) y *R. felis* (por pulgas).

Rickettsia rickettsii es el principal agente de las fiebres manchadas en el continente americano; se han reportado casos en E.U.A., Canadá, México, Costa Rica, Panamá, Colombia, Brasil y Argentina¹⁻⁵. No se ha comprobado su presencia en otros continentes. La infección se caracteriza por fiebre elevada, calofríos, dolores musculares, articulares y óseos, cefalea, molestias gastrointestinales, seguidos de un exantema máculo-papular. Dado lo variado de las manifestaciones clínicas y la limitación de los exámenes diagnósticos en la etapa aguda, se estima que existe un importante subdiagnóstico de estas infecciones⁵⁻⁶. Se transmite por garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Amblyomma* y *Rhipicephalus*^{1,7}. La forma habitual de

adquisición es a través de mordeduras por garrapatas de pequeños mamíferos; también se ha asociado a la extracción manual de garrapatas de caninos^{7,8}. En estos últimos, produce fiebre, mialgias, manifestaciones neurológicas, oculares, edema, hemorragias y síntomas respiratorios, entre otros^{9,10,12}. Los síntomas pueden ser similares a los de la ehrlichiosis canina⁹. El diagnóstico de infección por *R. rickettsii* en caninos se realiza, generalmente, mediante detección de anticuerpos séricos por inmunofluorescencia indirecta (IFI), requiriéndose para un diagnóstico de certeza una seroconversión o elevación en cuatro veces de los títulos de anticuerpos, en muestras pareadas¹⁰. Alternativamente, un título único mayor de 1: 1.024 también se considera diagnóstico¹⁰.

Rickettsia conorii es el agente causal de la fiebre mediterránea, presente, principalmente, en Europa y África. Fue descrita en las primeras décadas del siglo XIX, en Europa, recibiendo también los nombres de fiebre botonosa, fiebre exantemática del Mediterráneo y fiebre de Marsella. Se caracteriza por fiebre, rash y, en la mayoría de los casos, una mancha negra en el sitio de inoculación que se conoce como "tache noir"^{11,11}. Se han descrito, con baja frecuencia, compromiso encefálico y alteraciones oculares. Se transmite por todos los estados de la garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*)¹¹. En los caninos, la infección es asintomática¹².

En Latinoamérica, además de las infecciones por *R. rickettsii* mencionadas anteriormente, existen evidencias de infecciones por otras especies de rickettsias, en humanos y vectores. En Uruguay, se reportaron los primeros casos de rickettsiosis humana en 1990, atribuidos a *R. conorii* por estudios serológicos; sin embargo, recientes estudios moleculares han demostrado que la especie presente en ese país, corresponde a *R. parkeri*, encontrada en garrapatas *Amblyomma triste*^{13,14}. En Perú, el tífus exantemático es endémico en zonas como el Cuzco¹⁵; recientemente se ha comunicado la existencia de infecciones en humanos por rickettsias del grupo de las fiebres manchadas^{16,17}. Se ha reportado el hallazgo de *R. felis* en pulgas del gato en Brasil y Perú^{18,19}, agente que, recientemente, se ha encontrado en *R. sanguineus*²⁰. Finalmente, se ha comunicado el hallazgo de *R. massiliae* en *R. sanguineus* en la ciudad de Buenos Aires, Argentina²¹.

La mayoría de las infecciones rickettsiales en perros cursan en forma asintomática: *R. conorii*, *R. belli*, *R. riphicephali* y *R. montanensis*, siendo *R. rickettsii* la única especie causal de cuadros clínicos en forma natural y experimental¹⁰. Estudios serológicos han encontrado anticuerpos anti-*R. rickettsii* en 5 a 15% de los caninos en E.U.A.^{9,22} y 4 a 31% en Brasil^{23,24}. Algunos investigadores han sugerido que el perro puede ser considerado centinela de esta zoonosis, puesto que la seroprevalencia canina a *R. rickettsii*, en determinadas zonas geográficas, se aproxima a la humana²². Además, existen reportes de casos de infección canina y humana simultáneos en un hogar^{5,25,26}. Para *R. conorii*, se ha encontrado seropositividad en 14% de los perros estudiados en España²⁷ y 15 a 35% en Italia²⁸⁻²⁹, países donde la fiebre botonosa es endémica en humanos.

En Chile, la presencia de *R. sanguineus* se conoce desde el año 1974, cuando se detectó por primera vez en la comuna de La Granja, Región Metropolitana³⁰. Este vector está, hoy en día, ampliamente distribuido en casi todo el país, alcanzando niveles muy altos en las zonas urbanas; casi 50% de las viviendas de varias comunas están infestadas en los meses de primavera y verano³¹. En la última década se ha reconocido en nuestro país la presencia de ehrlichiosis canina, enfermedad transmitida por *R. sanguineus* y, recientemente, se ha identificado a *Anaplasma platys* como agente causal³². Dado este primer hallazgo de un agente transmitido por garrapatas en Chile, es razonable plantear que también puedan estar presentes en nuestro país otros agentes transmitidos por este vector, tales como especies de los géneros *Rickettsia*, *Babesia* y *Bartonella*, entre otros^{33,34}.

El objetivo del presente estudio es reportar los dos primeros casos de rickettsiosis canina con confirma-

ción serológica en Chile, determinar la seroprevalencia de *Rickettsia* sp y compararla con la seroprevalencia de *Anaplasma* sp en un grupo de caninos.

Material y Método

Casos clínicos. Se determinó la presencia de anticuerpos séricos anti-*Rickettsia* en muestras sucesivas (período agudo, 4 semanas y 8-16 semanas) de dos perros con síntomas sugerentes de rickettsiosis, mediante IFI, utilizando un kit comercial de Fühler Lab, que emplea como antígeno *R. conorii*. Según las instrucciones del fabricante, se consideraron positivas las muestras con título $\geq 1:64$. Se utilizaron controles positivos y negativos en cada determinación. Además se realizó detección de anticuerpos anti-*A. phagocytophilum* mediante IFI comercial del mismo laboratorio, considerando positivas las muestras con títulos $\geq 1:64$. Se determinaron los títulos de anticuerpos para ambos agentes en todas las muestras.

Estudio de seroprevalencia. Población: Se analizaron los sueros de 77 caninos de zonas urbanas de Santiago, con antecedentes de infestación por garrapatas, provenientes de dos estudios de ehrlichiosis realizados con anterioridad^{32,35}. En estos estudios se determinaron anticuerpos anti-*A. phagocytophilum* mediante técnica de IFI (Fühler Lab). De los 77 caninos estudiados, 31 eran sintomáticos y 46 asintomáticos, 69% tenían anticuerpos anti-*A. phagocytophilum*.

Técnicas de laboratorio. Se determinaron anticuerpos séricos IgG anti-*R. conorii* mediante técnica de IFI, con el kit comercial de Fühler Lab mencionado anteriormente.

Método estadístico. La comparación de prevalencias se realizó mediante prueba de Fisher.

Resultados

Casos clínicos

Caso 1: Canino hembra de raza labrador, con cinco años de edad. Consultó por cuadro de decaimiento, inapetencia, quejido y melena. Al examen clínico destacaba dolor lumbar y linfadenomegalia. Los exámenes de laboratorio demostraron anemia normocítica normocrómica (hematocrito 32%, normal 37-50%), leucocitosis leve ($16.400/\text{mm}^3$) con neutrofilia (91%) y linfopenia (6%), aumento leve de GPT (94 U/L, normal < 68), GOT y GGT normales, hipoproteinemia e hipoglobulinemia. Recibió terapia con doxiciclina experimentando mejoría clínica. La serología para *Rickettsia* fue inicialmente negativa, con la segunda muestra positiva en título de 1:64 y la tercera positiva

a título de 1: 128. Serología de *Anaplasma* negativa, tanto en la fase aguda como cuatro semanas después.

Caso 2: Canino macho mestizo, con siete años de edad. Consultó por cuadro de decaimiento, inapetencia, quejidos, paresia de extremidades posteriores, hematemesis y melena. Al examen clínico destacaba una linfadenomegalia, escasas petequias en las mucosas y en la pared abdominal, dolor lumbar, paresia de miembros posteriores y conjuntivitis. Los exámenes de laboratorio demostraron severa anemia normocítica normocrómica (hematocrito 12%), leucocitosis leve ($17.300/\text{mm}^3$) con neutrofilia (60%), linfopenia (28%) y eosinofilia (9%), elevación de fosfatasas alcalinas (2.478 U/L , normal < 160), y de enzimas hepáticas (GPT 292 U/L , normal < 68 , GOT 299 U/L , normal < 55 , GGT 17 U/L , normal < 10), hipoalbuminemia e hipoglobulinemia. Recibió transfusión sanguínea y terapia con doxiciclina durante 21 días, con rápida mejoría de los síntomas. A las ocho semanas se encontraba asintomático; sin embargo, el hemograma mostraba trombocitopenia marcada (< 50.000 plaquetas/ mm^3). Se le indicó un segundo curso de doxiciclina, constatándose, posteriormente, recuperación de la trombocitopenia. La serología para *Rickettsia* fue positiva a títulos de 1: 128, 1: 512 y 1: 2.048 a las 0, 4 y 8 semanas, respectivamente. La serología para *Anaplasma* fue también positiva a títulos de 1: 64, 1: 128 y 1: 1.024. La Figura 1 muestra la presencia de anticuerpos anti-*R. conorii* séricos por IFI.

Estudio de seroprevalencia. Del total de muestras analizadas, se encontraron anticuerpos anti-*R. conorii* en 27/77 (35%). Se encontraron 18 perros (23,4%) con serología positiva para *R. conorii* y *A. phagocytophilum*, simultáneamente. No se observó diferencia en

Tabla 1. Frecuencia de anticuerpos anti-*R. conorii* en 77 caninos según presencia o ausencia de anticuerpos anti-*A. phagocytophilum*

Anticuerpos anti- <i>A. phagocytophilum</i>	n	Anticuerpos anti- <i>R. conorii</i> positivos	%
Negativos	24	9	37,5
Positivos	53	18	33,9
Total	77	27	35,1

Tabla 2. Frecuencia de anticuerpos anti-*R. conorii* en 77 caninos según presencia o ausencia de síntomas compatibles con ehrlichiosis

Síntomas de ehrlichiosis	n	Anticuerpos anti- <i>R. conorii</i> positivos	%
Sintomáticos	31	8	25,8
Asintomáticos	46	19	41,3
Total	77	27	35,0

la seropositividad para *R. conorii* entre perros seropositivos y seronegativos para *A. phagocytophilum* (Tabla 1) ($p = 0,76$). Tampoco se observó diferencia en la seropositividad para *R. conorii* entre perros con y sin síntomas compatibles con ehrlichiosis (Tabla 2) ($p = 0,16$).

Discusión

El presente artículo documenta, por primera vez en Chile, dos casos de rickettsiosis canina con confirmación serológica: uno con seroconversión y otro con aumento, en más de cuatro veces, los títulos en fase aguda y convaleciente. Es decir, ambos casos cumplen los criterios considerados diagnósticos para la enfermedad¹⁰. Además se trata del primer estudio de seroprevalencia canina a rickettsias, encontrándose la presencia de anticuerpos en más de un tercio de los animales estudiados. Estos hallazgos indican la presencia de un agente del grupo de las fiebres manchadas en nuestro país, lo cual no había sido documentado anteriormente.

El diagnóstico de infecciones por rickettsias suele hacerse mediante determinación de anticuerpos, siendo la IF el método de referencia. Sin embargo, debe tenerse presente que la serología no permite hacer diagnóstico de certeza de la especie de *Rickettsia* involucrada, dada la existencia de antigenicidad cruzada entre especies del mismo género y entre géneros³⁵. Por tanto, si bien en este estudio se utilizó como antígeno *R. conorii*, no es posible afirmar que sea ésta la especie presente en nuestro país; más aún, si se considera que la infección por *R. conorii* es asin-

Figura 1. Suero canino (caso 2) positivo para anticuerpos anti-*R. conorii* por IFI (dilución 1/512).

tomática en perros, que esta especie no ha sido descrita en el continente americano y que dentro del grupo de las fiebres manchadas, la única especie patógena para caninos es *R. rickettsii*¹⁰. Así, es posible plantear la hipótesis que podría ser *R. rickettsii*, u otra especie relacionada, el agente presente en nuestro país.

Esto queda graficado con la experiencia de Uruguay, donde se reportó la existencia de infecciones por *R. conorii* en humanos, basado en exámenes serológicos¹³ y posteriormente se determinó, por técnicas moleculares, que la especie presente en dicho país correspondía a *R. parkeri*¹⁴.

Por ello, se hace necesario confirmar mediante técnicas de biología molecular la especie de *Rickettsia* involucrada en nuestro país.

La presencia de serología positiva para *Rickettsia* sp y *Anaplasma* sp en forma simultánea en uno de los casos, incluso con ascenso de los títulos de anticuerpos para ambos agentes, es fuertemente indicativa de co-infección; lo que también fue observado en el estudio de seroprevalencia, afectando a cerca de la cuarta parte de los perros estudiados.

La co-infección es un fenómeno ampliamente conocido en las enfermedades transmitidas por garrapatas y se ha documentado tanto en animales como en humanos^{9,10,22,34}. Como ejemplos, se ha reportado co-infección por *E. canis* y *R. rickettsii* en seis de 25 perros en un estudio¹⁰ y co-infección por especies de los géneros *Babesia*, *Ehrlichia* y *Rickettsia* en 14 de 25, en otro³⁴.

Se ha planteado que las co-infecciones pudieran potenciar la enfermedad clínica causada por cualquiera de los agentes involucrados³⁶. También se ha reportado que en caninos co-infectados puede observarse una evolución clínica diferente para cada una de las especies infectantes. En esta línea, algunos autores indican que la evolución adversa en algunos caninos con ehrlichiosis podría deberse a co-infecciones, no diagnosticadas, por otros agentes como *Babesia* sp, *Bartonella* sp u otros¹⁰.

Los síntomas clínicos descritos en la literatura para las infecciones naturales o experimentales con *R. rickettsii* en caninos suelen ser más graves que los descritos para las infecciones con *A. platys*. En las rickettsiosis, es frecuente el compromiso neurológico

con alteraciones vestibulares, cerebrales y medulares, mientras que en las infecciones por *A. platys*, predominan los signos hemorrágicos de piel y mucosas derivados de una marcada trombocitopenia³⁶.

Concordante con esto, el canino con co-infección por los dos agentes estudiados presentó un cuadro clínico grave, con importante compromiso sistémico y síntomas neurológicos iniciales más compatibles con rickettsiosis. Después de una recuperación de los síntomas generales y neurológicos, presentó trombocitopenia grave mantenida, lo cual es compatible con infección por *A. platys*, agente cuya presencia los autores han determinado recientemente en Chile.

La seroprevalencia para *Rickettsia* en la muestra estudiada coincide bastante con estudios realizados en Italia y Brasil, usando pruebas para *R. conorii* y *R. rickettsii*^{23,24,28,29}. Es destacable que en estos países las fiebres manchadas son endémicas en humanos. Por lo tanto, nuestros hallazgos deben motivar la realización de estudios de infecciones causadas por rickettsias en humanos.

Resumen

En Chile, no se han documentado infecciones por *Rickettsias* en mascotas; algunas de ellas tienen importante potencial zoonótico. **Objetivos:** Reportar dos casos de rickettsiosis canina con confirmación serológica y determinar seroprevalencia de *Rickettsia* sp un grupo de caninos. **Métodos:** IgG anti-*Rickettsia conorii* y anti-*Anaplasma phagocitophilum* por IFI en dos caninos con cuadro clínico sugerente de rickettsiosis. Determinación de IgG anti-*R. conorii* en 77 caninos. **Resultados:** Como casos clínicos hubo un canino con fiebre, mialgias y melena y otro con manifestaciones hemorrágicas y compromiso neurológico. Seroprevalencia: 35% de los caninos presentaban IgG anti-*Rickettsia*. **Discusión:** Se reporta por primera vez en Chile la presencia de rickettsiosis canina, tanto clínica como serológica. Se documenta co-infección por *Rickettsia* y *Anaplasma*, dos agentes transmitidos por garrapatas. Es necesario realizar estudios de biología molecular para confirmar la especie de rickettsia presente en Chile. Además, debe estudiarse el rol zoonótico de estas infecciones en nuestro medio.

Referencias

- 1.- Walker D H, Raoult D. *Rickettsia rickettsii* and other Spotted Fever Group *Rickettsiae* (Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fevers). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, eds. Sixth edition, 2005. Philadelphia, Churchill Livingstone. pp 2287-94.
- 2.- Dalton M J, Clarke M J, Colman R C, Krebs J W, Fishbein D B, Olson J G, et al. National surveillance for Rocky Mountain Spotted Fever, 1981-1992: Epidemiologic summary and evaluation of risk factors for fatal outcome. Am J Trop Med Hyg 1995; 52: 405-13.
- 3.- Ripoll C M, Remondegui C E, Ordonez G, Arazamendi R, Fusaro H, Hyman M J, et al. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a Subtropical territory of Jujuy, Argentina. Am J Trop Med Hyg 1999; 61: 350-4.

- 4.- Guedes E, Leite R C, Prata M C A, Pacheco R C, Walker D H, Labruna M B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2005; 100: 841-5.
- 5.- Zavala-Castro J E, Zavala-Velázquez J E, Walker D H, Ruiz E E, Laviada-Molina H, Olano J P, et al. Fatal human Infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, México. Emerg Infect Dis 2006; 12: 672-4.
- 6.- Walker D H. Editorial: *Rickettsia rickettsii*: as virulent as ever. Am J Trop Med Hyg 2002; 66: 448-9.
- 7.- Demma L J, Traeger M, Nicholson W L, Paddock C D, Blau D M, Eremeeva M E, et al. Rocky Mountain Spotted Fever from an unexpected tick vector in Arizona. N Engl J Med 2005; 353: 587-94.
- 8.- Price W H. The epidemiology of Rocky Mountain Spotted Fever. Studies on the biological survival mechanism of *Rickettsia rickettsii*. Am J Hyg 1954; 60: 292-319.
- 9.- Greene C E, Breitschwerdt E B. Fiebre manchada de las montañas rocosas, fiebre Q y tifo. Greene. Enfermedades Infecciosas en perros y gatos. 2ª edición, Philadelphia, McGraw-Hill Interamericana 2000; p 170-8.
- 10.- Gasser A M, Birkenheuer A J, Breitschwerdt E B. Canine Rocky Mountain Spotted Fever: A retrospective study of 30 cases. J Amer Animal Hospital Assoc 2001; 37: 41-8.
- 11.- Cascio A, Dones P, Romano A, Titote L. Clinical and laboratory findings of boutonneuse fever in Sicilian children. Eur J Pediatr 1998; 157: 482-6.
- 12.- Acha P N, Szyfres B. Clamidiosis y rickettsiosis. Acha PN, Szyfres B (eds). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª edición. Washington: Organización Panamericana de la Salud 2003, p. 12-6.
- 13.- Conti-Díaz I. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella). Estado actual en Uruguay. Rev Med Uruguay 2001; 17: 119-24.
- 14.- Venzal J M, Portillo A, Estrada-Pena A, Castro O, Cabrera P A, Oteo J A. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. Emerg Infect Dis 2004; 10: 1493-5.
- 15.- Raoult D, Birtles R J, Montoya M, Pérez E, Tissot-Dupont H, Roux V, et al. Survey of three bacterial louse-associated diseases among rural Andean communities in Peru: prevalence of epidemic typhus, trench fever, and relapsing fever. Clin Infect Dis 1999; 29: 434-6.
- 16.- Blair P J, Schoeler G B, Moron C, Anaya E, Caceda R, Céspedes M, et al. Evidence of rickettsial and leptospira infections in Andean Northern Peru. Am J Trop Med Hyg 2004; 70: 357-63.
- 17.- Schoeler G B, Morón C, Richards A, Blair P J, Olson JG. Human Spotted Fever rickettsial infections. Emerg Infect Dis 2005; 11: 622-4.
- 18.- Oliveira R P, Galvão M A M, Mafra C L, Chamone C B, Calic S B, Silva S U, et al. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. Fleas, Brazil. Emerg Infect Dis 2002; 8: 317-9.
- 19.- Blair P J, Jiang J, Schoeler G B, Moron C, Anaya E, Céspedes M, et al. Characterization of Spotted Fever Group *Rickettsiae* in flea and tick specimens from Northern Peru. J Clin Microbiol 2004; 42: 4961-7.
- 20.- Cardoso L D, Freitas R N, Mafra C L, Boas C V, Bacellar F C, Labruna M B, et al. Characterization of *Rickettsia* spp circulating in a silent peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Cartinga, Minas Gerais, Brazil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro 2006; 12 (3): 495-501.
- 21.- Cicuttin G L, Rodríguez Vargas M, Jado I, Anda P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires. Resultados preliminares. Rev Argentina Zoonosis 2004; 1; 8-10.
- 22.- Breitschwerdt E B, Moncol D J, Corbett W T, MacCormack J N, Burgdorfer W, Ford R B, et al. Antibodies to spotted fever-group *Rickettsiae* in dogs in North Carolina. Am J Vet Res 1987; 48: 1436-40.
- 23.- Galvão M A M, Lamounier J A, Bonomo E, Tropia M S, Rezende E G, Calic S B, et al. Emerging and reemerging rickettsiosis in an endemic area of Minas Gerais State, Brazil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro 2002; 18: 1593-7.
- 24.- Horta M C, Labruna M B, Sangioni L A, Vianna M C B, Gennari S M, Galvão M A, et al. Prevalence of antibodies to spotted fever group *Rickettsiae* in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted Fever endemic area in the state of Sao Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. Am J Trop Med Hyg 2004; 71: 93-7.
- 25.- Paddock C D, Brenner O, Vain C, Boyd D B, Berg J M, Joseph R J, et al. Short report: concurrent Rocky Mountain Spotted Fever in a dog and its owner. Am J Trop Med Hyg 2002; 66: 197-9.
- 26.- Elchos B N, Goddard J. Implications of presumptive fatal Rocky Mountain Spotted Fever in two dogs and their owner. J Am Vet Med Assoc 2003; 223: 1450-4.
- 27.- Rojo-Vásquez J. Seroprevalencia de la infección por *Borrelia burgdorferi* y *Rickettsia conorii* en población humana y canina de la zona básica de salud de San Andrés de Rabanado (León, España). Rev Esp Salud Publica 1997; 71: 173-80.
- 28.- Manelli A, Mandola M L, Pedri P, Tripoli M, Nebbia P. Associations between dogs that were serologically positive for *Rickettsia conorii* relative to the residences of two human cases of Mediterranean spotted fever in Piemonte (Italy). Prev Vet Med 2003; 60: 13-26.
- 29.- Masoero L, Dadone R, Guercio A. *Rickettsia conorii*: indagine sierologia sulla popolazione canina di un comune del Cuneese, in seguito ad un focolaio di febbre botonosa. Il Nuovo Progresso Veterinario 1991; 21: 716-8.
- 30.- Tagle. Presencia accidental de *Rhipicephalus sanguineus* en un perro de Santiago de Chile. Agricultura Técnica 1976; 36: 137.
- 31.- Ibarra L M. Estudio demográfico de la población canina y felina del Gran Santiago, Región Metropolitana, informe estadístico, 1998, vol. 6. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago.
- 32.- Abarca K, López J, Perret C, Guerrero J, Godoy P, Veloz A, et al. Primera evidencia de *Anaplasma platys* en perros con ehrlichiosis en Chile. Libro de Resúmenes XXII Congreso Chileno de Infectología, Puerto Varas, 26-29 Octubre 2005. pag 51, resumen P15.
- 33.- López J, Rivera M, Concha J C, Gatica S, Loeffholz M, Barriga O. Ehrlichiosis humana en Chile, evidencia serológica. Rev Méd Chile 2003; 131: 67-70.
- 34.- Inokuma H, Yamamoto S, Morita C. Survey of tick-borne diseases in dogs infested with *Rhipicephalus sanguineus* at a Kennel in Okayama Prefecture, Japan. J Vet Med Sci 1998; 60: 761-3.
- 35.- López J, García P, Lepe P, Guerrero J. Seroprevalencia de ehrlichiosis canina en una población al sur de Santiago. Libro de Resúmenes XXI Congreso Chileno de Infectología. Viña del Mar, 13-16 de octubre 2004, pag 58 resumen CO34.
- 36.- Kordick S K, Breitschwerdt E B, Hegarty B C, South K L, Hancock S I, Bradley J M, et al. Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a walker hound kennel in North Carolina. J Clin Microbiol 1999; 37: 2631-8.
- 37.- Parola P, Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. Clin Infect Dis 2001; 32: 897-928.
- 38.- Harvey J. Ehrlichiosis trombocítica canina. Greene. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2ª edición, Philadelphia, McGraw-Hill Interamericana; 2000: 162-164.