

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 863**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

**G01N 33/569** (2006.01)

**G01N 33/543** (2006.01)

**C07K 14/29** (2006.01)

**C07K 17/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.10.2013 PCT/US2013/064536**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.04.2014 WO14059274**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2013 E 13844762 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2906950**

54 Título: **Péptidos, dispositivos y métodos para la detección de anticuerpos de Ehrlichia**

30 Prioridad:

**11.10.2012 US 201261712578 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**22.05.2018**

73 Titular/es:

**ABAXIS, INC. (100.0%)  
3240 Whipple Road  
Union City, CA 94587, US**

72 Inventor/es:

**MEHRA, RAJESH K.;  
ARON, KENNETH P.;  
BLEILE, DENNIS M.;  
FORSYTH, TIMOTHY P.;  
WALKER, JEREMY D. y  
CUESICO, CRISTINA R.**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 668 863 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Péptidos, dispositivos y métodos para la detección de anticuerpos de Ehrlichia

Antecedentes de la invención

5 Las bacterias *Ehrlichia* son patógenos intracelulares obligados que infectan linfocitos circulantes en huéspedes mamíferos. *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* son miembros del mismo grupo de subgénero que infectan caninos y humanos y causan ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y ehrlichiosis monocítica humana (EMH), respectivamente. Otra especie de *Ehrlichia* conocida como *Ehrlichia ewingii* tiene tropismo por granulocitos y causa ehrlichiosis granulocítica. La enfermedad canina se caracteriza por fiebre, epilepsia, descoordinación, letargo, episodios de sangrado, linfadenopatía, pérdida de peso y pancitopenia. En los humanos, la enfermedad se  
10 caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, mialgia y leucopenia. La detección temprana y el tratamiento son importantes para tratar la ehrlichiosis canina y humana.

15 Los ensayos de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y los ensayos de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) se han usado típicamente en el diagnóstico de estas enfermedades. Estos ensayos miden o detectan de otro modo la unión de anticuerpos *anti-Ehrlichia* de la sangre, plasma o suero de un sujeto a células infectadas, lisados celulares o proteínas de *Ehrlichia* completas parcialmente purificadas. Sin embargo, los ensayos actualmente conocidos para detectar anticuerpos *anti-Ehrlichia* o fragmentos de los mismos están severamente limitados en utilidad debido a problemas de sensibilidad y especificidad directamente relacionados con la naturaleza impura del antígeno(s) de *Ehrlichia* usado en estas pruebas. Es decir, los ensayos actualmente conocidos usan mezclas de muchos antígenos de *Ehrlichia* completos o antígenos que no son específicos de la especie.

20 El documento US2011-0124125 proporciona composiciones (por ejemplo, composiciones peptídicas) útiles para la detección de anticuerpos que se unen a antígenos de *Ehrlichia*. Las composiciones peptídicas comprenden secuencias polipeptídicas basadas en un fragmento inmunogénico de la proteína de Ehrlichia Proteína Externa a la Membrana 1 (OMP-1).

25 De acuerdo con esto, sigue existiendo la necesidad en la técnica de ensayos adicionales para detectar antígenos de *Ehrlichia* y serodiagnóstico de ehrlichiosis monocítica y ehrlichiosis granulocítica.

Resumen de la invención

30 La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que ciertas variantes de secuencia en un fragmento de las proteínas de *Ehrlichia* Proteína Externa a la Membrana 1 (OMP-1) proporcionan una detección robusta de una respuesta de anticuerpos contra un rango de especies de *Ehrlichia*. De acuerdo con esto, la invención proporciona poblaciones de péptidos, métodos y kits, como se cita en las reivindicaciones adjuntas, que son útiles para la detección de anticuerpos que se unen a antígenos de *Ehrlichia* y el diagnóstico de ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.

En un aspecto, la invención proporciona una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en la que cada péptido en la población comprende una secuencia de:

35 (i) S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-E-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-L-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 72),

40 donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido, o

45 (ii) S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-X<sub>41</sub>-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-X<sub>48</sub>-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3),

50 donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido

seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>41</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>48</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido, o

(iii) F-S-A-K-E-E-X<sub>7</sub>-A-E-T-R-X<sub>12</sub>-T-F-G-L-X<sub>17</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>24</sub>-I-X<sub>26</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 71), donde X<sub>7</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>12</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>17</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>24</sub> es cualquier aminoácido, y X<sub>26</sub> es cualquier aminoácido.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden al menos 70, 75, 80 u 85 aminoácidos. Los péptidos de la invención son péptidos aislados (por ejemplo, sintéticos y/o purificados). En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se conjugan con un ligando. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los péptidos están biotinilados. En otras realizaciones, los péptidos están conjugados a estreptavidina, avidina o neutravidina. En otras realizaciones, los péptidos se conjugan con una proteína transportadora (por ejemplo, albúmina sérica, hemocianina de lapa californiana (KLH), o un dominio Fc de la inmunoglobulina). En aún otras realizaciones, los péptidos están conjugados con un dendrímero y/o son parte de un sistema de péptidos antigénicos múltiples (MAPS).

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se unen o inmovilizan en un soporte sólido. En una realización, los péptidos de la invención están unidos a un soporte sólido a través de una nanocapa metálica. En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una partícula coloidal, nanopartícula metálica o nanocubierta, perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral (por ejemplo, una membrana porosa), una inmunoprecipitación (Inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o inmunoprecipitación de punto), una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, o un tubo o pozo (por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA).

En otro aspecto, la invención proporciona un método para detectar en una muestra un anticuerpo para un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*, comprendiendo el método poner en contacto una muestra con la población de péptidos aislados de la invención; y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho uno o más péptidos en la población, donde la formación de dicho complejo es indicativa de la presencia de un anticuerpo contra un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia* en dicha muestra.

En ciertas realizaciones, el antígeno de *Ehrlichia* procede de una especie infecciosa de *Ehrlichia*, tal como *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, o *Ehrlichia muris*. En algunas realizaciones, los métodos proporcionan la detección de anticuerpos contra antígenos de múltiples especies de *Ehrlichia* (por ejemplo, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, y *Ehrlichia muris*) simultáneamente en una muestra.

El péptido o cada péptido en la mezcla es un péptido aislado (por ejemplo, sintético y/o purificado). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla o población de péptidos se une o se inmoviliza sobre un soporte sólido. En una realización, el péptido o mezcla o población de péptidos se une al soporte sólido a través de una nanocapa metálica (por ejemplo, oro). En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla o una pluralidad de perlas (por ejemplo, una partícula coloidal, una nanopartícula metálica o nanocubierta, una perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral (por ejemplo, una membrana porosa), una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, una inmunoprecipitación (Inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o inmunoprecipitación de punto), o un tubo o un pozo (por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA). En ciertas realizaciones, el soporte sólido comprende metal, vidrio, un material a base de celulosa (por ejemplo, nitrocelulosa) o un polímero (por ejemplo, poliestireno, polietileno, polipropileno, poliéster, nylon, polisulfona, etc.). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla o población de diferentes péptidos se une a un dendrímero y/o se incorpora a un sistema MAPS. En ciertas otras realizaciones, el péptido o mezcla o población de diferentes péptidos se une a BSA.

En ciertas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de ELISA. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un inmunoensayo de flujo lateral. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de aglutinación. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende hacer girar la muestra en un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende analizar la muestra usando una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o una inmunoprecipitación de punto. En otras realizaciones más, la etapa de detección comprende analizar la muestra con un sensor electroquímico, un sensor óptico o un sensor optoelectrónico. En ciertas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda.

En ciertas realizaciones, la muestra es un fluido corporal, tal como sangre, suero, plasma, fluido espinal cerebral, orina, moco o saliva. En otras realizaciones, la muestra es un tejido (por ejemplo, un homogeneizado de tejido) o un lisado celular. En ciertas realizaciones, la muestra es de un animal salvaje (por ejemplo, un ciervo o un roedor, tal como un ratón, ardilla listada, ardilla, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal de laboratorio (por ejemplo, un ratón, rata, cobaya, conejo, mono, primate, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal domesticado o asilvestrado (por ejemplo, un perro, un gato, un caballo). En otras realizaciones más, la muestra es de un ser humano.

- 5 En otro aspecto, la invención proporciona un método para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica en un sujeto. El método comprende poner en contacto una muestra del sujeto con la población de péptidos aislados de la invención y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho uno o más péptidos en la población, donde la formación de dicho complejo es indicativa de que el sujeto tiene Ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.
- 10 En otro aspecto más, la invención proporciona kits. El kit comprende la población de péptidos aislados de la invención y un reactivo de marcaje capaz de unirse a un anticuerpo que reconoce un epítipo de dicho uno o más péptidos en la población. En ciertas realizaciones, los péptidos se unen o inmovilizan sobre un soporte sólido opcionalmente a través de una nanocapa metálica. En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una partícula coloidal, una nanopartícula metálica o nanocubierta, una perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, una trayectoria de flujo en un rotor analítica o centrífuga, o un tubo o un pozo (por ejemplo, en un plato). En ciertas realizaciones, el péptido o péptidos se unen a un dendrímero y/o se incorporan en un sistema MAPS. En ciertas otras realizaciones, el péptido o mezcla de diferentes péptidos se une a BSA.
- 15 En ciertas realizaciones, los kits comprenden además una población de perlas o una placa (por ejemplo, una placa adecuada para un ensayo ELISA). En otras realizaciones, los kits comprenden además un dispositivo, tal como un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, un rotor analítico o centrífugo, una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de punto, una inmunoprecipitación de ranura, un sensor electroquímico, un sensor óptico o un sensor optoelectrónico. En ciertas realizaciones, la población de perlas, la placa o el dispositivo es útil para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la población de perlas, la placa o el dispositivo es útil para detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende un anticuerpo de una muestra y un péptido de la invención. En ciertas realizaciones, un péptido o una mezcla de diferentes péptidos de la invención se une o se inmoviliza sobre las perlas, la placa o el dispositivo.
- 20 En ciertas realizaciones, los kits comprenden además una instrucción. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los kits comprenden una instrucción que indica cómo usar un péptido de la invención para detectar un anticuerpo contra un antígeno de *Ehrlichia* o para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. En ciertas realizaciones, los kits comprenden una instrucción que indica cómo usar una población de perlas, una placa o un dispositivo (por ejemplo, que comprende un péptido o una mezcla de diferentes péptidos de la invención) para detectar un anticuerpo contra uno o más antígenos de *Ehrlichia* o para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.
- 25 A partir de la descripción detallada que sigue serán evidentes aspectos y realizaciones adicionales de la invención.
- 30 En otro aspecto, la invención proporciona ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica un péptido de la invención. Además, la invención proporciona vectores que comprenden tales ácidos nucleicos, y células huésped que comprenden tales vectores. En ciertas realizaciones, el vector es un vector lanzadera. En otras realizaciones, el vector es un vector de expresión (por ejemplo, un vector de expresión bacteriano o eucariótico). En ciertas realizaciones, la célula huésped es una célula bacteriana. En otras realizaciones, la célula huésped es una célula eucariótica.
- 35 En otro aspecto, la invención proporciona dispositivos. En ciertas realizaciones, los dispositivos son útiles para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral. En otras realizaciones, el dispositivo es un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, el dispositivo es un tubo o un pozo, por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA. En otras formas de realización más, el dispositivo es un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico.
- 40 En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende un péptido de la invención. En otras realizaciones, el dispositivo comprende una mezcla de diferentes péptidos de la invención. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el dispositivo comprende dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención. En ciertas realizaciones, el péptido o cada péptido en la mezcla comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, o SEQ ID NO: 86. En ciertas realizaciones, los péptidos se unen o se inmovilizan sobre el dispositivo.
- 45 En otro aspecto, la invención proporciona métodos para detectar en una muestra un anticuerpo para un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto una muestra con un péptido de la invención y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho péptido, donde la formación de dicho complejo es indicativa de la presencia de un anticuerpo contra un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia* en dicha muestra. En ciertas realizaciones, el antígeno de *Ehrlichia* procede de una especie infecciosa de *Ehrlichia*, tal como *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, o *Ehrlichia muris*. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de diferentes péptidos de la invención (es decir, una mezcla de dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención). En algunas realizaciones, los métodos proporcionan la detección de anticuerpos contra antígenos de múltiples especies de *Ehrlichia* (por ejemplo, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, y *Ehrlichia muris*) simultáneamente en una muestra.
- 50
- 55

En ciertas realizaciones, el péptido o cada péptido en la mezcla es un péptido aislado (por ejemplo, sintético y/o purificado). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla o población de péptidos se une o se inmoviliza sobre un soporte sólido. En una realización, el péptido o mezcla o población de péptidos se une al soporte sólido a través de una nanocapa metálica (por ejemplo, oro). En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla o una pluralidad de perlas (por ejemplo, una partícula coloidal, una nanopartícula metálica o nanocubierta, una perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral (por ejemplo, una membrana porosa), una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, una inmunoprecipitación (Inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o inmunoprecipitación de punto), o un tubo o un pozo (por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA). En ciertas realizaciones, el soporte sólido comprende metal, vidrio, un material a base de celulosa (por ejemplo, nitrocelulosa) o un polímero (por ejemplo, poliestireno, polietileno, polipropileno, poliéster, nylon, polisulfona, etc.). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla o población de diferentes péptidos se une a un dendrímero y/o se incorpora a un sistema MAPS. En ciertas otras realizaciones, el péptido o mezcla o población de diferentes péptidos se une a BSA.

En ciertas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de ELISA. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un inmunoensayo de flujo lateral. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de aglutinación. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende hacer girar la muestra en un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende analizar la muestra usando una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o una inmunoprecipitación de punto. En otras realizaciones más, la etapa de detección comprende analizar la muestra con un sensor electroquímico, un sensor óptico o un sensor optoelectrónico. En ciertas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda.

En ciertas realizaciones, la muestra es un fluido corporal, tal como sangre, suero, plasma, fluido espinal cerebral, orina, moco o saliva. En otras realizaciones, la muestra es un tejido (por ejemplo, un homogeneizado de tejido) o un lisado celular. En ciertas realizaciones, la muestra es de un animal salvaje (por ejemplo, un ciervo o un roedor, tal como un ratón, ardilla listada, ardilla, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal de laboratorio (por ejemplo, un ratón, rata, cobaya, conejo, mono, primate, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal domesticado o asilvestrado (por ejemplo, un perro, un gato, un caballo). En otras realizaciones más, la muestra es de un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica en un sujeto. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto una muestra del sujeto con un péptido de la invención y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho péptido, donde la formación de dicho complejo es indicativa de que el sujeto tiene ehrlichiosis monocítica y granulocítica. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de diferentes péptidos de la invención (es decir, una mezcla de dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención).

En otro aspecto más, la invención proporciona kits. En ciertas realizaciones, los kits comprenden un péptido de la invención. En ciertas realizaciones, los kits comprenden dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención. Los péptidos pueden comprender una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, o SEQ ID NO: 86. En ciertas realizaciones, los péptidos se unen o se inmovilizan en un soporte sólido opcionalmente a través de una nanocapa metálica. En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una partícula coloidal, una nanopartícula metálica o nanocubierta, una perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, una trayectoria de flujo en un rotor analítica o centrífuga, o un tubo o un pozo (por ejemplo, en un plato). En ciertas realizaciones, el péptido o péptidos se unen a un dendrímero y/o se incorporan en un sistema MAPS. En ciertas otras realizaciones, el péptido o mezcla de diferentes péptidos se une a BSA.

En ciertas realizaciones, los kits comprenden además una población de perlas o una placa (por ejemplo, una placa adecuada para un ensayo ELISA). En otras realizaciones, los kits comprenden además un dispositivo, tal como un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, un rotor analítico o centrífugo, una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de punto, una inmunoprecipitación de ranura, un sensor electroquímico, un sensor óptico o un dispositivo optoelectrónico. En ciertas realizaciones, la población de perlas, la placa o el dispositivo es útil para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la población de perlas, la placa o el dispositivo es útil para detectar la formación de un anticuerpo-péptido.

#### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de un ensayo en sándwich de doble antígeno que puede usarse para detectar anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia*. En esta realización, los péptidos de la invención se inmovilizan en un sustrato adecuado (por ejemplo, membrana de nitrocelulosa, pozo de una placa de ELISA) en un sitio de prueba. Los anticuerpos contra los antígenos de *Ehrlichia* en una muestra de prueba se unen mediante los péptidos inmovilizados de la invención. Los anticuerpos de muestra de ensayo para antígenos de *Ehrlichia* apropiados se unirán a un segundo conjunto de péptidos de la invención que están conjugados con una etiqueta detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal), peroxidasa de rábano picante (HRP),

fosfatasa alcalina (ALP), fluoróforo, partícula de látex coloreada), que detecta la presencia de los anticuerpos unidos al primer conjunto de péptidos inmovilizados en el sitio de prueba. En ciertas realizaciones, para amplificar la señal de detección, las moléculas de proteína A y/o proteína G conjugadas a un marcador detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal), HRP, ALP, fluoróforo, partículas de látex coloreadas) pueden aplicarse al sitio de prueba donde se unirán a la región Fc de cualquier anticuerpo contra antígenos de *Ehrlichia* capturados por los péptidos inmovilizados de la invención.

La Figura 2 es un diagrama de un tipo de ensayo en sándwich indirecto que se puede usar para detectar anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia*. En esta realización, los anticuerpos IgG/IgM anti-humanos, IgG/IgM anti-perro o IgG/IgM anti-gato se inmovilizan en un sustrato adecuado (por ejemplo, membrana de nitrocelulosa, pozo de una placa de ELISA) en un sitio de prueba. Los anticuerpos contra los antígenos de *Ehrlichia* en una muestra de prueba se unen a los anticuerpos inmovilizados. Los anticuerpos de muestra de prueba para antígenos de *Ehrlichia* apropiados se unirán luego a los péptidos de la invención que están conjugados con un marcador detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal), HRP, ALP, fluoróforo, partículas de látex coloreadas).

La Figura 3 es un diagrama de otro tipo de ensayo en sándwich indirecto que puede usarse para detectar anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia*. En esta realización, los péptidos de la invención se pueden inmovilizar en un sustrato (por ejemplo, membrana de nitrocelulosa, pozo de una placa de ELISA) para capturar anticuerpos anti-*Ehrlichia* en una muestra de prueba. Se puede usar IgG/IgM anti-humano, IgG/IgM anti-perro o anticuerpos IgG/IgM anti-gato conjugados a una etiqueta detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal), HRP, ALP, fluoróforo, partículas de látex coloreadas) para detectar la presencia de anticuerpos unidos a los péptidos inmovilizados en el sitio de prueba.

La Figura 4 es un diagrama de un dispositivo de inmunoensayo que puede usarse para detectar anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia*. En esta realización de un dispositivo de inmunoensayo, los péptidos de la invención se inmovilizan en un sustrato adecuado (por ejemplo, membrana de nitrocelulosa, pozo de una placa de ELISA) en un sitio de prueba. Los anticuerpos anti-*Ehrlichia* en una muestra de prueba se unen mediante los péptidos inmovilizados de la invención. Proteína A, Proteína G o una proteína de fusión Proteína A/G conjugada a una etiqueta detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal), HRP, ALP, fluoróforo, partículas de látex de color) se agrega al sistema y se une a la porción Fc del anticuerpo anti-*Ehrlichia* capturado, produciendo de ese modo una señal positiva. En esta realización, el dispositivo puede comprender además un sitio de control en el que se inmovilizan los asociados de unión que reconocen la proteína detectable A conjugada detectable, la proteína G detectable con marcador detectable y/o la fusión proteína A conjugada detectable con marcador. Dichos asociados de unión pueden incluir, pero no se limitan a, anti-proteína A, anti-proteína G, IgG de ratón, y/u otras moléculas de IgG similares.

La Figura 5 representa un ejemplo de un dispositivo de ensayo de flujo lateral que puede usarse para detectar anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia*. Los péptidos de la invención están unidos a una proteína transportadora (por ejemplo, albúmina de suero bovino) y los conjugados de BSA-péptido resultantes se inmovilizan en una membrana de nitrocelulosa (NC) en un sitio de prueba (T). Los mismos conjugados de BSA-péptido se conjugan con una etiqueta detectable (por ejemplo, oro coloidal) y se depositan en una almohadilla de conjugado situada corriente arriba del sitio de prueba. La proteína A conjugada con oro y la proteína G conjugada con oro (es decir, el amplificador) se añaden a la almohadilla de conjugado para potenciar la señal uniéndose a la porción Fc del anticuerpo anti-*Ehrlichia* capturado. El dispositivo comprende además un sitio de control (C) en el que se inmovilizan los asociados de unión que reconocen la proteína A conjugada con oro y/o la proteína G conjugada con oro.

#### Descripción detallada

Como se usa en el presente documento, los siguientes términos tendrán los siguientes significados:

El término "antígeno", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula capaz de ser reconocida por un anticuerpo. Un antígeno puede ser, por ejemplo, un péptido o una forma modificada del mismo. Un antígeno puede comprender uno o más epítopos.

El término "epítipo", como se usa en este documento, es una porción de un antígeno que se reconoce específicamente por un anticuerpo. Un epítipo, por ejemplo, puede comprender o consistir en una porción de un péptido (por ejemplo, un péptido de la invención). Un epítipo puede ser un epítipo lineal, un epítipo secuencial o un epítipo conformacional. En ciertas realizaciones, los epítopos pueden comprender regiones no contiguas.

El término "proteína OMP-1" se refiere a cualquiera de los parálogos de proteína 1 de membrana externa de *Ehrlichia*, que incluyen, pero no se limitan a, *E. canis* P-30, *E. canis* P30-1, *E. chaffeensis* P28, *E. chaffeensis* OMP-1C, *E. chaffeensis* OMP-1D, *E. chaffeensis* OMP-1E y *E. chaffeensis* OMP-1F.

Los términos "ácido nucleico", "oligonucleótido" y "polinucleótido" se usan indistintamente en este documento y abarcan ADN, ARN, ADNc, ya sea monocatenarios o bicatenarios, así como sus modificaciones químicas.

Las abreviaturas de aminoácidos de una sola letra usadas aquí tienen su significado estándar en la técnica, y todas las secuencias peptídicas descritas en la presente memoria se escriben de acuerdo con la convención, con el extremo N-terminal a la izquierda y el extremo C-terminal a la derecha.

Se definirán términos adicionales, según sea necesario, en la descripción detallada que sigue.

## 5 Composiciones y dispositivos

La presente invención, como se define en las reivindicaciones adjuntas, se basa, en parte, en el descubrimiento de que ciertas variantes de secuencia en un fragmento de las proteínas *Ehrlichia* OMP-1 proporcionan una detección robusta de una respuesta de anticuerpos contra un rango de especies de *Ehrlichia*, incluyendo *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*. Por consiguiente, en la presente memoria se proporcionan péptidos capaces de unirse a anticuerpos que reconocen antígenos de *Ehrlichia*.

Los péptidos de la divulgación comprenden una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-E-D-K-Q-T-T-X<sub>10</sub>-X<sub>n</sub>-I-W-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-P-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub>-X<sub>31</sub>-X<sub>32</sub>-X<sub>33</sub>-X<sub>34</sub>-X<sub>35</sub>-X<sub>36</sub>-X<sub>37</sub>-X<sub>38</sub>-X<sub>39</sub>-C (SEQ ID NO: 1), o un fragmento de la misma, en el que SEQ ID NO: 1, tal como se utiliza a lo largo de la especificación a menos que se especifique más, tiene las siguientes características: X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V; X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V; X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A; X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y Q; X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N; X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V; X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y I; X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P; X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K; X<sub>27</sub> es cualquier aminoácido excepto H, N, S o A; X<sub>28</sub> es cualquier aminoácido excepto A, S o P; X<sub>29</sub> es cualquier aminoácido excepto D, P, N o S; X<sub>30</sub> es cualquier aminoácido excepto A, E, D o S; X<sub>31</sub> es cualquier aminoácido excepto D, N, V o H; X<sub>32</sub> es cualquier aminoácido excepto F o T; X<sub>33</sub> es cualquier aminoácido excepto N, F o I; X<sub>34</sub> es cualquier aminoácido excepto N, T o D; X<sub>35</sub> es cualquier aminoácido excepto K, V o P; X<sub>36</sub> es cualquier aminoácido excepto G, P o S; X<sub>37</sub> es cualquier aminoácido excepto Y, N o T; X<sub>38</sub> es cualquier aminoácido excepto S, Y o I; y X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido excepto F o S.

Los péptidos de la divulgación comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 1, en donde X<sub>2</sub> es V y X<sub>10</sub> es T. En algunas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 1, en donde X<sub>10</sub> es T y X<sub>26</sub> se selecciona de el grupo que consiste en S y N. En otras realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 1, en donde X<sub>24</sub> es A, X<sub>25</sub> se selecciona del grupo que consiste en T y P, y X<sub>26</sub> se selecciona del grupo que consiste en S y N. En aún otras realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 1, en donde X<sub>26</sub> se selecciona del grupo que consiste en S y N y X<sub>31</sub> es cualquier aminoácido excepto D, N, V, R, o H. En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 1, en la que X<sub>27</sub>-X<sub>39</sub> tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO: 74), M-V-E-F-E-E-L-Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO: 75), M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO: 76), y Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO: 77).

Los péptidos de la divulgación comprenden una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-E-D-K-Q-T-T-X<sub>11</sub>-I-W-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-D-G-X<sub>22</sub>-P-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub>-X<sub>31</sub>-X<sub>32</sub>-X<sub>33</sub>-X<sub>34</sub>-X<sub>35</sub>-X<sub>36</sub>-X<sub>37</sub>-X<sub>38</sub>-X<sub>39</sub>-C (SEQ ID NO: 83), o un fragmento del mismo, en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y Q, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y N, X<sub>27</sub> es cualquier aminoácido excepto H, N, S o A, X<sub>28</sub> es cualquier aminoácido excepto A, S o P, X<sub>29</sub> es cualquier aminoácido excepto D, P, N o S, X<sub>30</sub> es cualquier aminoácido excepto A, E, D o S, X<sub>31</sub> es cualquier aminoácido excepto D, N, V o R, X<sub>32</sub> es cualquier aminoácido excepto F o T, X<sub>33</sub> es cualquier aminoácido excepto N, F o I, X<sub>34</sub> es cualquier aminoácido excepto N, T o D, X<sub>35</sub> es cualquier aminoácido excepto K, V o P, X<sub>36</sub> es cualquier aminoácido excepto G, P o S, X<sub>37</sub> es cualquier aminoácido excepto Y, N o T, X<sub>38</sub> es cualquier aminoácido excepto S, Y o I, y X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido excepto F o S. Los péptidos de la divulgación comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 83, en donde X<sub>27</sub>-X<sub>39</sub> tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO: 74), M-V-E-F-E-E-L-Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO: 75), M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO: 76), y Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO: 77).

En ciertas otras realizaciones de la invención, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-X<sub>41</sub>-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-X<sub>48</sub>-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3) o un fragmento del mismo, en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido

seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>41</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>48</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en V y A, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido.

5

Los péptidos de la divulgación comprenden una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-X<sub>40</sub>-A-D-T-R-X<sub>45</sub>-T-F-G-L-X<sub>50</sub>-K-Q-T-D-G-A-X<sub>57</sub>-I-X<sub>59</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 85) o un fragmento del mismo, en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo consistente A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>40</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>45</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>50</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>57</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>59</sub> es cualquier aminoácido.

10

15

20

25

30

En realizaciones particulares, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-EX<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-E-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-L-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 72) o un fragmento del mismo, en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido. En una realización particular, los péptidos que comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 72 permiten la detección de anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia* de múltiples especies (por ejemplo, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*) simultáneamente.

35

40

En algunas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden o consisten en una secuencia de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72, en donde X<sub>39</sub> es K. En otras realizaciones, los péptidos de la invención comprenden o consisten en una secuencia de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72, en donde X<sub>44</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y R y X<sub>49</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D. En otras realizaciones más, péptidos de la invención comprende o consiste en una secuencia de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72, en la que X<sub>56</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y Q y X<sub>58</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y T.

45

Los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en una secuencia de S-V-K-X<sub>4</sub>-D-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-A-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 7), en donde X<sub>4</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y N, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en P y S, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y S, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y Q, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en P y T, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, y X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y N.

50

55

60

Un péptido de la divulgación comprende o consiste en la secuencia S-V-K-E-D-K-Q-P-TA-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 8); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 9); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 10); S-V-K-E-D-K-Q-P-TA-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 11); S-V-K-E-D-K-Q-P-TA-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 12); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 13); S-V-K-E-D-K-Q-P-TA-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 14); S-V-K-E-D-K-Q-P-TA-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 15); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 16); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 17); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-AT-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 18); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 19); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 20); S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 21); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C

(SEQ ID NO: 22); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 23); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 24); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 25); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 5 (SEQ ID NO: 26); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 27); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 28); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 29); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 30); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 10 (SEQ ID NO: 31); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 32); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 33); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 34); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 35); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 15 (SEQ ID NO: 36); S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 37); o S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 38).

En otras realizaciones, un péptido de la descripción o consiste en la secuencia S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-  
 Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 39); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-  
 20 N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 40); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-  
 W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 41); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-  
 E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 42); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-  
 G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 43); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-  
 P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 44); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-  
 25 S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 45); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-  
 A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 46); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-  
 T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 47); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-  
 Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 48); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-  
 V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 49); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-  
 30 E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 50); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-  
 V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 51); S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-N-Q-V-E-V-  
 E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 52); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-  
 W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 53); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-  
 Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 54); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-  
 35 Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 55); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-  
 R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 56); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-  
 G-W-G-G-C (SEQ ID NO: 57); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-  
 W-G-G-C (SEQ ID NO: 58); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-  
 G-G-C (SEQ ID NO: 59); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-  
 40 G-C (SEQ ID NO: 60); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 61); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 62); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 63); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 64); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 45 (SEQ ID NO: 65); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 66); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 67); S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 68); o S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C  
 (SEQ ID NO: 69).

En una realización particular de la divulgación, los péptidos comprenden o consisten en una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-D-  
 X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-X<sub>16</sub>-Q-X<sub>18</sub>-X<sub>19</sub>-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub>-X<sub>31</sub>-X<sub>32</sub>-X<sub>33</sub>-X<sub>34</sub>-X<sub>35</sub>-X<sub>36</sub>-X<sub>37</sub>-  
 X<sub>38</sub>-X<sub>39</sub>-C (SEQ ID NO: 70), en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un  
 aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste  
 55 en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en S, V y A, X<sub>11</sub> es un aminoácido  
 seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V,  
 X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y, F y W, X<sub>16</sub> es un aminoácido seleccionado del  
 grupo que consiste en K y R, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>19</sub> es un  
 aminoácido seleccionado del grupo que consiste en W y F, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que  
 consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido  
 60 seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y I,  
 X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo  
 que consiste en S, N y K, y cada uno de X<sub>27</sub>-X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido. En ciertas realizaciones, X<sub>27</sub>-X<sub>39</sub> tiene una  
 secuencia seleccionada del grupo que consiste en Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO: 74), M-V-E-F-E-E-L-  
 Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO: 75), M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO: 76), Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID

NO: 77), Q-R-K-N-D-P-S-E-T-S-P-G-Q (SEQ ID NO: 78), M-A-P-F-H-E-L-D-V-N-N-H-P (SEQ ID NO: 79), S-L-N-V-S-F-L-I-D-P-M-A-P (SEQ ID NO: 80), y Q-D-S-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO: 81).

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 3, o SEQ ID NO: 72 y una secuencia de péptido N-terminal adicional (por ejemplo, una extensión N-terminal). La secuencia peptídica N-terminal adicional puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 o más aminoácidos. En ciertas realizaciones, la secuencia del péptido N-terminal tiene una longitud de aproximadamente 5 a aproximadamente 10, aproximadamente 10 a aproximadamente 15, aproximadamente 15 a aproximadamente 20, aproximadamente 20 a aproximadamente 25, aproximadamente 25 a aproximadamente 30, aproximadamente 30 a aproximadamente 40, o aproximadamente 40 a aproximadamente 50 aminoácidos. En una realización, la secuencia del péptido N-terminal puede ser uno o más residuos de enlace (por ejemplo, uno o más residuos de glicina, cisteína o serina). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la unidad estructural de cisteína carboxilo terminal en cualquiera de las secuencias descritas en este documento puede localizarse en el extremo amino terminal. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los péptidos comprenden o consisten en una secuencia de C-S-X<sub>3</sub>-K-E-D-K-Q-T-T-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-I-W-G-L-K-Q-X<sub>19</sub>-W-X<sub>21</sub>-G-X<sub>23</sub>-P-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-X<sub>28</sub>-X<sub>29</sub>-X<sub>30</sub>-X<sub>31</sub>-X<sub>32</sub>-X<sub>33</sub>-X<sub>34</sub>-X<sub>35</sub>-X<sub>36</sub>-X<sub>37</sub>-X<sub>38</sub>-X<sub>39</sub>-X<sub>40</sub> (SEQ ID NO: 2), en donde X<sub>3</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en T y V, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>19</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y Q, X<sub>21</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>27</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>28</sub> es cualquier aminoácido excepto H, N, S o A, X<sub>29</sub> es cualquier aminoácido excepto A, S o P, X<sub>30</sub> es cualquier aminoácido, excepto D, P, N o S, X<sub>31</sub> es cualquier aminoácido excepto A, E, D o S, X<sub>32</sub> es cualquier aminoácido excepto D, N, V o H, X<sub>33</sub> es cualquier aminoácido excepto F o T, X<sub>34</sub> es cualquier aminoácido excepto N, F o I, X<sub>35</sub> es cualquier aminoácido excepto N, T o D, X<sub>36</sub> es cualquier aminoácido excepto K, V o P, X<sub>37</sub> es cualquier aminoácido excepto G, P o S, X<sub>38</sub> es cualquier aminoácido excepto Y, N o T, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido excepto S, Y o I, y X<sub>40</sub> es cualquier aminoácido excepto F o S. En otras formas de realización más, los péptidos comprenden o consisten en una secuencia de C-S-X<sub>3</sub>-K-E-X<sub>6</sub>-K-Q-X<sub>9</sub>-T-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-X<sub>14</sub>-G-L-K-Q-X<sub>19</sub>-W-X<sub>21</sub>-G-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>40</sub>-A-X<sub>42</sub>-T-R-X<sub>45</sub>-T-F-G-X<sub>49</sub>-X<sub>50</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>57</sub>-I-X<sub>59</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N (SEQ ID NO: 4), donde X<sub>3</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>6</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>9</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>14</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>19</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>21</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>27</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>40</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>42</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>45</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>49</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X<sub>50</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>57</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>59</sub> es cualquier aminoácido. En algunas realizaciones, los péptidos comprenden o consisten en una secuencia de C-S-X<sub>3</sub>-K-E-X<sub>6</sub>-K-Q-X<sub>9</sub>-T-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-X<sub>14</sub>-G-L-K-Q-X<sub>19</sub>-W-X<sub>21</sub>-G-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-X<sub>27</sub>-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>40</sub>-A-E-T-R-X<sub>45</sub>-T-F-G-L-X<sub>50</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>57</sub>-I-X<sub>59</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 73), en donde X<sub>3</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>6</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>9</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>14</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>19</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>21</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en de A, S y T, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>27</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>40</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>45</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>50</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>57</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>59</sub> es cualquier aminoácido.

La secuencia peptídica N-terminal adicional puede ser una secuencia nativa. Como se usa en este documento, una secuencia "nativa" es una secuencia peptídica de una secuencia de *Ehrlichia* OMP-1 de origen natural, o una variante de la misma. En ciertas realizaciones, la secuencia peptídica es un fragmento de una secuencia de *Ehrlichia* OMP-1 de origen natural. La secuencia peptídica puede ser, por ejemplo, de una región conservada o no conservada de OMP-1. La secuencia peptídica puede comprender, por ejemplo, un epítipo, tal como un epítipo inmunodominante o cualquier otro epítipo reconocible por un sistema inmunitario del huésped (por ejemplo, humano, perro, etc.). Las proteínas OMP-1 y sus péptidos se han descrito, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,544,517, 6,893,640, 6,923,963, 7,063,846 y 7,407,770, las Solicitudes de Patente de los Estados Unidos 2004/0265333 y 2009/0075368, y la Patente Europea No. 1026949, los contenidos de que se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

Los polipéptidos variantes son al menos aproximadamente 80, 85, 90, 95, 98 o 99% idénticos a un péptido mostrado en las SEQ ID NOs: 1-73 y 83-86. El porcentaje de identidad de secuencia tiene un significado reconocido en la técnica y existe una serie de métodos para medir la identidad entre dos secuencias polipeptídicas o de polinucleótidos. Véase, por ejemplo, Lesk, Ed., Computational Molecular Biology, Oxford University Press, Nueva York, (1988); Smith, Ed., Biocomputación: Informatics And Genome Projects, Academic Press, Nueva York, (1993); Griffin & Griffin, Eds., Computer Analysis Of Sequence Data, Part I, Humana Press, Nueva Jersey, (1994); von Heinje, Sequence Analysis in Molecular Biology, Academic Press, (1987); and Gribskov & Devereux, Eds., Sequence Analysis Primer, M Stockton Press, Nueva York, (1991). Los métodos para alinear polinucleótidos o polipéptidos se codifican en programas informáticos, que incluyen el paquete de programas GCG (Devereux et al., Nuc. Acids Res. 12: 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul et al., J. Molec. Biol. 215: 403 (1990)), y Bestfit program (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711) que usa el algoritmo de homología local de Smith and Waterman (Adv. App. Math., 2: 482-489 (1981)). Por ejemplo, se puede usar el programa ALIGN que emplea el algoritmo FASTA, con una búsqueda de brecha afín con una penalización abierta de brecha de -12 y una penalización de extensión de brecha de -2.

Cuando se utiliza cualquiera de los programas de alineamiento de secuencias para determinar si una secuencia particular es, por ejemplo, aproximadamente idéntica en un 95% a una secuencia de referencia, los parámetros se establecen de manera que el porcentaje de identidad se calcule sobre la longitud completa del polinucleótido de referencia y se permiten brechas en la identidad de hasta 5% del número total de nucleótidos en el polinucleótido de referencia.

Las variantes de las secuencias peptídicas pueden seleccionarse fácilmente por un experto en la técnica, basándose en parte en propiedades conocidas de la secuencia. Por ejemplo, un péptido variante puede incluir sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservativas) y/o eliminaciones (por ejemplo, eliminaciones de aminoácidos simples o pequeñas, o eliminaciones que abarcan 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, o más aminoácidos contiguos). Por lo tanto, en ciertas realizaciones, una variante de una secuencia peptídica nativa es una que difiere de una secuencia natural por (i) una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o más) sustituciones conservativas de aminoácidos, (ii) eliminación de 1 o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o más) aminoácidos, o (iii) una combinación de los mismos. Los aminoácidos eliminados pueden ser contiguos o no contiguos. Las sustituciones conservativas de aminoácidos son aquellas que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales y propiedades químicas. Estos incluyen, por ejemplo, (1) aminoácidos ácidos: aspartato, glutamato; (2) aminoácidos básicos: lisina, arginina, histidina; (3) aminoácidos no polares: alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; (4) aminoácidos polares no cargados: glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina; (5) aminoácidos alifáticos: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, con serina y treonina opcionalmente agrupadas por separado como hidroxilo alifático; (6) aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina, triptófano; (7) aminoácidos de amida: asparagina, glutamina; y (9) aminoácidos que contienen azufre: cisteína y metionina. Véase, por ejemplo, Biochemistry, 2nd ed., Ed. by L. Stryer, W H Freeman and Co.: 1981. Los métodos para confirmar que los péptidos variantes son adecuados son convencionales y rutinarios.

Las variantes de las secuencias peptídicas abarcan variaciones en secuencias peptídicas definidas previamente. Por ejemplo, una secuencia peptídica descrita anteriormente que comprende un epítipo conocido puede alargarse o acortarse, en uno o ambos extremos (por ejemplo, en aproximadamente 1-3 aminoácidos), y/o uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos pueden ser sustituidos por aminoácidos conservativos, etc. Además, si se ha identificado que una región de una proteína contiene un epítipo de interés, un investigador puede "desplazar" la región de interés (por ejemplo, por aproximadamente 5 aminoácidos en cualquier dirección) desde los puntos finales de la región rugosa original para optimizar la actividad.

En ciertas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal adicional puede comprender o consistir en otro péptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un péptido de la invención puede ser un multímero de secuencias que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85. En otras realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal es una secuencia peptídica OMP-1 nativa que es naturalmente adyacente al extremo N-terminal de una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85. En otras realizaciones, el péptido puede comprender una fusión de secuencias de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace. Por ejemplo, en una realización, el péptido puede comprender una secuencia de SEQ ID NO: 1 unida a SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 85 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace (por ejemplo residuos de glicina, serina o cisteína). En otra realización, el péptido puede comprender una secuencia de SEQ ID NO: 7 unida a SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 85 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace (por ejemplo, residuos de glicina, serina o cisteína). En otra realización, el péptido puede comprender una secuencia de SEQ ID NO: 83 unida a SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 85 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace (por ejemplo, residuos de glicina, serina o cisteína). En otra realización más, el péptido puede comprender una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 83 unida a SEQ ID NO: 72 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace (por ejemplo, glicina, serina, o residuos de cisteína). En otra realización más, el

péptido puede comprender una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 83 unida a SEQ ID NO: 71 opcionalmente a través de uno o más aminoácidos de enlace (por ejemplo, glicina, serina, o residuos de cisteína).

5 En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido N-terminal adicional es una secuencia no nativa. Como se usa en el presente documento, una secuencia "no nativa" es cualquier secuencia de proteína, ya sea de una proteína de *Ehrlichia* o de otra manera, que no sea una secuencia de péptido OMP-1 nativa. En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido N-terminal adicional comprende un epítipo de un antígeno de superficie de *Ehrlichia*. En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido N-terminal adicional comprende un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*, tal como p38, p43, p120, p140, p153, p156, p200, gp19, gp36, gp47, gp200, o HGE-3. Se han descrito  
10 secuencias de proteínas y péptidos correspondientes a antígenos de *Ehrlichia*. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,306,402, 6,355,777, 7,204,992 y 7,407,770, y el documento WO2006/138509. También pueden usarse polipéptidos o péptidos derivados de otros microorganismos.

15 En ciertas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal adicional es una combinación de secuencias. Por ejemplo, la secuencia peptídica N-terminal adicional puede comprender una secuencia nativa, una secuencia no nativa, o cualquier combinación de tales secuencias (por ejemplo, dos o más secuencias nativas, dos o más secuencias no nativas, o una o más secuencias nativas en combinación con una o más secuencias no nativas)

20 En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia definida por SEQ ID NO: 3, o SEQ ID NO: 72 y además comprenden una secuencia C-terminal adicional. La secuencia de péptido C-terminal adicional puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 o más aminoácidos. En ciertas realizaciones, la secuencia C-terminal adicional tiene una longitud de aproximadamente 5 a aproximadamente 10, aproximadamente 10 a aproximadamente 15, aproximadamente 15 a aproximadamente 20, aproximadamente 20 a aproximadamente 25, aproximadamente 25 a aproximadamente 30, aproximadamente 30 a aproximadamente 40, o aproximadamente 40 a aproximadamente 50 aminoácidos. La secuencia de péptido C-terminal adicional puede ser una secuencia de OMP-1 nativa. En ciertas realizaciones, la secuencia del péptido C-terminal es un fragmento de  
25 una secuencia de *Ehrlichia* OMP-1 de origen natural. La secuencia peptídica puede ser, por ejemplo, de una región conservada o no conservada de OMP-1. La secuencia peptídica puede comprender, por ejemplo, un epítipo, tal como un epítipo inmunodominante o cualquier otro epítipo reconocible por un sistema inmunitario del huésped (por ejemplo, humano, perro, etc.). En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido C-terminal adicional puede comprender o consistir en otro péptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un péptido de la invención puede ser un multímero de secuencias que tienen cada una una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85. En otras realizaciones, la secuencia nativa es una secuencia OMP-1 que es naturalmente adyacente al extremo C-terminal de una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID N° 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85 .

35 En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido C-terminal adicional es una secuencia no nativa. En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido C-terminal adicional comprende un epítipo de un antígeno de superficie de *Ehrlichia* distinto de OMP-1. En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido C-terminal adicional comprende un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*, tal como p38, p43, p120, p140, p153, p156, p200, gp19, gp36, gp47, gp200, o HGE-3. También pueden usarse polipéptidos o péptidos derivados de otros microorganismos.

40 En ciertas realizaciones, la secuencia de péptido C-terminal adicional es una combinación de secuencias. Por ejemplo, la secuencia de péptido C-terminal adicional puede comprender una secuencia nativa, no nativa, o cualquier combinación de tales secuencias (por ejemplo, dos o más secuencias nativas, dos o más secuencias no nativas, o una o más secuencias nativas en combinación con una o más secuencias no nativas).

45 En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden una secuencia definida por SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72 y además comprenden una secuencia de péptido N-terminal adicional y una secuencia de péptido C-terminal adicional. Las secuencias de péptidos N-terminales y C-terminales adicionales pueden ser como se describió anteriormente. En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención pueden comprender una proteína OMP-1 de longitud completa. En otras realizaciones, los péptidos de la invención no comprenden una proteína OMP-1 de longitud completa.

50 Un péptido de la invención que comprende una secuencia de péptido N-terminal y/o C-terminal adicional se puede diseñar para diagnosticar infecciones de *Ehrlichia* temprano después de la infección (por ejemplo, dentro de una a dos semanas después del inicio de la infección). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal y/o C-terminal adicional comprende un antígeno o epítipo asociado con etapas tempranas de infección por *Ehrlichia*.

55 Además de las secuencias descritas anteriormente, las secuencias N-terminales y C-terminales adicionales pueden comprender o consistir en una secuencia flexible, diseñada para presentar mejor los péptidos de la invención para la detección en un inmunoensayo (por ejemplo, ensayo ELISA, inmunoensayo de flujo lateral, ensayo de aglutinación, etc.). Tales secuencias flexibles pueden ser identificadas fácilmente por los expertos en la técnica.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en 25 o más (por ejemplo, 26, 27, 28, 29 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en 30 o más (por ejemplo, 31, 32, 33, 34 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden o consisten en 35 o más (por ejemplo, 36, 37, 38, 39 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en 40 o más (por ejemplo, 41, 42, 43, 44 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en 45 o más (por ejemplo, 46, 47, 48, 49 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden o consisten en 50 o más (por ejemplo, 51, 52, 53, 54 o más) residuos de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención comprenden o consisten en 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más residuos de aminoácidos.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden un epítipo de una secuencia peptídica descrita en este documento. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los péptidos comprenden un epítipo de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-73 y 83-86.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la divulgación comprenden un fragmento de una secuencia peptídica descrita en este documento. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los péptidos comprenden un fragmento de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-73 y 83-86. El fragmento puede ser, por ejemplo, al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 o 44 aminoácidos de longitud. El fragmento puede ser contiguo o puede incluir una o más eliminaciones (por ejemplo, una eliminación de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más residuos de aminoácidos). Por ejemplo, en una realización, los péptidos comprenden un fragmento de SEQ ID NO: 1. Dichos fragmentos pueden comprender al menos 10, 15, 20, 25, 30 o 35 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, los fragmentos comprenden los aminoácidos 1 a 26 de SEQ ID NO: 1. Por lo tanto, en una realización, un péptido comprende o consiste en una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-E-D-K-Q-T-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-I-W-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-P-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub> (SEQ ID NO: 84), en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y Q, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado de el grupo que consiste en S y V, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, y X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K.

En una realización particular, los péptidos de la divulgación comprenden un fragmento de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72. Dichos fragmentos pueden comprender al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 aminoácidos contiguos de SEQ. ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, tales fragmentos pueden comprender los aminoácidos 1 a 26 de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72. Por lo tanto, en una realización, un péptido comprende o consiste en una secuencia de S-X<sub>2</sub>-K-EX<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub> (SEQ ID NO: 86), donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y d F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, y X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K. En otras realizaciones, los fragmentos pueden comprender los aminoácidos 33 a 71 de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72. Por lo tanto, en una realización, un péptido comprende o consiste en una secuencia de F-S-A-K-E-E-X<sub>7</sub>-A-X<sub>9</sub>-T-R-X<sub>12</sub>-T-F-G-X<sub>16</sub>-X<sub>17</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>24</sub>-I-X<sub>26</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 5), en donde X<sub>7</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>9</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>12</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>16</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X<sub>17</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>24</sub> es cualquier aminoácido, y X<sub>26</sub> es cualquier aminoácido. En otra realización, un péptido comprende una secuencia de C-F-S-A-K-E-E-X<sub>8</sub>-A-X<sub>10</sub>-T-R-X<sub>13</sub>-T-F-G-X<sub>17</sub>-X<sub>18</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>25</sub>-I-X<sub>27</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N (SEQ ID NO: 6), en donde X<sub>8</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>13</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>17</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X<sub>18</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>25</sub> es cualquier aminoácido, y X<sub>27</sub> es cualquier aminoácido. En otra realización más, un péptido comprende una secuencia de F-S-A-K-E-E-X<sub>7</sub>-A-E-T-R-X<sub>12</sub>-T-F-G-L-X<sub>17</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>24</sub>-I-X<sub>26</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 71), en donde X<sub>7</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>12</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>17</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>24</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>26</sub> es cualquier aminoácido.

En ciertas realizaciones, el fragmento comprende una secuencia expuesta en la Patente de los Estados Unidos No. 6,306,402, 6,355,777, 7,204,992, o 7,407,770, o en el documento WO2006/138509. En ciertas realizaciones, el fragmento no consiste en una secuencia expuesta en una o más de las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,306,402, 6,355,777, 7,204,992 y 7,407,770, y el documento WO2006/138509. Los péptidos de la descripción que comprenden un fragmento de una secuencia peptídica descrita en el presente documento pueden comprender adicionalmente una secuencia peptídica N-terminal adicional, una secuencia peptídica C-terminal adicional, o una

combinación de las mismas. Las secuencias de péptidos N-terminales y C-terminales adicionales pueden ser como se describió anteriormente.

Los péptidos de la invención que comprenden una secuencia de péptido N-terminal o C-terminal adicional pueden comprender además un conector que conecta el péptido (por ejemplo, un péptido de SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72) con el N-terminal adicional o secuencia de péptido C-terminal. El enlazante puede ser, por ejemplo, un espaciador peptídico. Dicho espaciador puede consistir, por ejemplo, entre aproximadamente uno y cinco (por ejemplo, aproximadamente tres) residuos de aminoácidos, preferiblemente aminoácidos no cargados, por ejemplo, residuos alifáticos tales como glicina o alanina. En una realización, el espaciador es un espaciador de glicina triplete. En otra realización, el espaciador es un espaciador de alanina triplete. En otra realización más, el espaciador comprende residuos de glicina y alanina. Alternativamente, el puede ser un enlazante químico (es decir, no peptídico).

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se producen por química sintética (es decir, un "péptido sintético"). En otras realizaciones, los péptidos de la invención se producen biológicamente (es decir, mediante maquinaria celular, tal como un ribosoma). En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se aíslan. Como se usa en este documento, un péptido "aislado" es un péptido que se ha producido sintéticamente o biológicamente y luego se purifica, al menos parcialmente, a partir de los productos químicos y/o la maquinaria celular utilizada para producir el péptido. En ciertas realizaciones, un péptido aislado de la invención está sustancialmente purificado. El término "sustancialmente purificado", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula, tal como un péptido, que está sustancialmente libre de material celular (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.), medio de cultivo, precursores químicos, productos químicos usados en la síntesis del péptido, o combinaciones de los mismos. Un péptido que está sustancialmente purificado tiene menos de aproximadamente 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 2%, 1% o menos del material celular, medio de cultivo, otros polipéptidos, producto químico precursores y/o productos químicos utilizados en la síntesis del péptido. Por consiguiente, una molécula sustancialmente pura, tal como un péptido, puede ser al menos aproximadamente 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99%, en peso seco, molécula de interés. Un péptido aislado de la invención puede estar en agua, en un regulador, o en una forma seca a la espera de la reconstitución, por ejemplo, como parte de un kit. Un péptido aislado de la presente invención puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Los ácidos y bases adecuados que son capaces de formar sales con los péptidos de la presente invención son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen ácidos y bases inorgánicos y orgánicos.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se purifican por afinidad. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se purifican por medio de su capacidad para unirse a anticuerpos anti-*Ehrlichia* (por ejemplo, anticuerpos contra proteínas OMP-1 y, opcionalmente, otros antígenos de *Ehrlichia*) poniendo en contacto dichos anticuerpos con los péptidos de la invención de manera que los complejos péptido-anticuerpo puedan formarse, lavando los complejos péptido-anticuerpo para eliminar impurezas, y luego eluyendo los péptidos de los anticuerpos. Los anticuerpos pueden estar, por ejemplo, unidos a un soporte sólido. Los métodos de purificación por afinidad son bien conocidos y rutinarios para los expertos en la técnica.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se modifican. Los péptidos de la invención se pueden modificar mediante una variedad de técnicas, tales como mediante desnaturalización con calor y/o un detergente (por ejemplo, SDS). Alternativamente, los péptidos de la invención se pueden modificar por asociación con una o más unidades estructurales adicionales. La asociación puede ser covalente o no covalente, y puede ser, por ejemplo, a través de un enlazante de aminoácido terminal, tal como lisina o cisteína, un agente de acoplamiento químico o un enlace peptídico. La unidad estructural adicional puede ser, por ejemplo, un ligando, un receptor de ligando, un asociado de fusión, un marcador detectable, una enzima o un sustrato que inmoviliza el péptido.

Los péptidos de la invención pueden conjugarse con un ligando, tal como biotina (por ejemplo, a través de un residuo de cisteína o lisina), una molécula lipídica (por ejemplo, a través de un residuo de cisteína) o una proteína transportadora (por ejemplo, albúmina sérica, dominio Fc de inmunoglobulina, hemocianina de lapa californiana (KLH) mediante, por ejemplo, un residuo de cisteína o lisina). La unión a ligandos, tales como biotina, puede ser útil para asociar el péptido con receptores de ligandos, tales como avidina, estreptavidina, estreptavidina polimérica (véase, por ejemplo, los documentos US 2010/0081125 y US 2010/0267166) o neutravidina. La avidina, la estreptavidina, la estreptavidina polimérica o la neutravidina, a su vez, se pueden unir a una unidad estructural de señalización (por ejemplo, una enzima, como la peroxidasa de rábano picante (HRP) o la fosfatasa alcalina (ALP) u otra unidad estructural que pueda visualizarse, tales como una nanopartícula metálica o nanocubierta (por ejemplo, oro coloidal) o una unidad estructural fluorescente) o un sustrato sólido (por ejemplo, una membrana Immobilon™ o de nitrocelulosa). Alternativamente, los péptidos de la invención pueden fusionarse o unirse a un receptor de ligando, tal como avidina, estreptavidina, estreptavidina polimérica o neutravidina, facilitando de este modo la asociación de los péptidos con el ligando correspondiente, tal como biotina y cualquier unidad estructural (por ejemplo, unidad estructural de señalización) o sustrato sólido unido a la misma. Ejemplos de otros pares de ligando-receptor son bien conocidos en la técnica y se pueden usar de manera similar.

Los péptidos de la invención se pueden fusionar a un asociado de fusión (por ejemplo, un péptido u otra unidad estructural) que se puede usar para mejorar la purificación, mejorar la expresión del péptido en una célula huésped, ayudar a la detección, estabilizar el péptido, etc. Ejemplos de compuestos adecuados para socios de fusión incluyen

proteínas transportadoras (por ejemplo, albúmina sérica, dominio Fc de inmunoglobulina, KLH), enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante (HRP), beta-galactosidasa, glutatión-S-transferasa, fosfatasa alcalina), etiqueta de histidina, etc. La fusión se puede lograr por medio de, por ejemplo, un enlace peptídico. Por ejemplo, los péptidos de la invención y los asociados de fusión pueden ser proteínas de fusión y pueden fusionarse directamente en el marco o pueden comprender un enlazante peptídico, como se discutió anteriormente en el contexto de secuencias peptídicas N-terminales y C-terminales adicionales. En ciertas realizaciones, una mezcla de péptidos de la invención se puede unir mediante un dendrímero, por ejemplo, como en una estructura de MAPS.

Además, los péptidos de la invención se pueden modificar para incluir cualquiera de una variedad de grupos químicos o moléculas conocidos. Tales modificaciones incluyen, pero no se limitan a, glicosilación, acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente a polietilenglicol (por ejemplo, PEGilación), unión covalente de flavina, unión covalente de una unidad estructural hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado lipídico, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de enlaces cruzados covalentes, formación de cistina, formación de piroglutamato, formilación, carboxilación gamma, glicosilación, anclaje GPI formación, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, ubiquitinación, modificaciones con ácidos grasos, inmunoprecipitación mediada por ARN de aminoácidos a proteínas tales como arginilación, etc. Análogos de un aminoácido (incluidos aminoácidos no naturales) y péptidos con enlaces sustituidos también están incluidos. Los péptidos de la invención que consisten en cualquiera de las secuencias discutidas en este documento pueden modificarse mediante cualquiera de las modificaciones discutidas. Tales péptidos todavía "consisten en" los aminoácidos.

Las modificaciones indicadas anteriormente son bien conocidas por los expertos en la técnica y se han descrito con gran detalle en la literatura científica. Varias modificaciones particularmente comunes, glicosilación, unión de lípidos, sulfatación, gamma-carboxilación de residuos de ácido glutámico, hidroxilación y ADP-ribosilación, por ejemplo, se describen en muchos textos básicos, tales como *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2nd ed., T.E. Creighton, W.H. Freeman and Company, Nueva York (1993). Muchas revisiones detalladas están disponibles sobre este tema, tales como por Wold, F., *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York 1-12 (1983); Seifter et al. (1990) *Meth. Enzymol.* 182: 626-646 and Rattan et al. (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 663: 48-62.

En ciertas realizaciones, los péptidos de la invención se unen o inmovilizan sobre un sustrato, tal como un soporte sólido o semisólido. La unión puede ser covalente o no covalente, y puede ser facilitada por una unidad estructural asociada con el péptido que permite la unión covalente o no covalente, tal como una unidad estructural que tiene una alta afinidad por un componente unido al portador, soporte o superficie. Por ejemplo, el péptido puede estar asociado con un ligando, tal como biotina, y el componente asociado con la superficie puede ser un receptor de ligando correspondiente, tal como avidina. En algunas realizaciones, el péptido puede asociarse con un asociado de fusión, por ejemplo, albúmina de suero bovino (BSA), que facilita la unión del péptido a un sustrato. En otras realizaciones, los péptidos de la invención se unen o inmovilizan en un sustrato a través de una nanocapa metálica. En una realización, la nanocapa metálica está compuesta de cadmio, zinc, mercurio o un metal noble, tal como oro, plata, cobre y platino. El péptido o mezcla de péptidos se puede unir o inmovilizar sobre el sustrato antes o después de la adición de una muestra que contiene anticuerpo durante un inmunoensayo.

En ciertas realizaciones, el sustrato es una perla, tal como una partícula coloidal (por ejemplo, una nanopartícula coloidal hecha de oro, plata, platino, cobre, cadmio, compuestos metálicos, otros metales blandos, partículas de estructura núcleo-corteza, o nanoesferas de oro huecas) u otro tipo de partículas (por ejemplo, una perla magnética o una partícula o nanopartícula que comprende sílice, látex, poliestireno, policarbonato, poliácido o PVDF). Tales partículas pueden comprender un marcador (por ejemplo, un marcador colorimétrico, quimioluminiscente o fluorescente) y pueden ser útiles para visualizar la ubicación de los péptidos durante los inmunoensayos. En ciertas realizaciones, se usa una cisteína terminal de un péptido de la invención para unir el péptido directamente a las nanopartículas hechas de oro, plata, platino, cobre, cadmio, compuestos de metal u otros metales blandos, o nanocubiertas metálicas (por ejemplo, esferas huecas de oro, nanocubiertas de sílice recubiertas de oro y cubiertas de oro recubiertas de sílice).

En ciertas realizaciones, el sustrato es una inmunoprecipitación de punto o una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral. Por ejemplo, los péptidos se pueden unir o inmovilizar en una membrana porosa, tal como una membrana de PVDF (por ejemplo, una membrana Immobilon™), una membrana de nitrocelulosa, membrana de polietileno, membrana de nylon o un tipo similar de membrana.

En ciertas realizaciones, el sustrato es una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, el sustrato es un tubo o un pozo, tal como un pozo en una placa (por ejemplo, una placa de microtitulación) adecuado para usar en un ensayo ELISA. Tales sustratos pueden comprender vidrio, materiales basados en celulosa, polímeros termoplásticos, tales como polietileno, polipropileno o poliéster, estructuras sinterizadas compuestas de materiales en partículas (por ejemplo, vidrio o diversos polímeros termoplásticos), o película de membrana moldeada compuesta de nitrocelulosa, nylon, polisulfona, o similar. Se puede sinterizar un sustrato, partículas finas de polietileno, conocidas comúnmente como polietileno poroso, por ejemplo, polietileno poroso de 0.2-15 micras de Chromex Corporation (Albuquerque, NM). Todos estos materiales de sustrato se pueden

usar en formas adecuadas, tales como películas, láminas o placas, o se pueden revestir sobre o unir o laminar a portadores inertes apropiados, tales como papel, vidrio, películas de plástico o telas. Los métodos adecuados para inmovilizar péptidos en fases sólidas incluyen interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes y similares.

5 De acuerdo con esto, en otro aspecto, la invención proporciona dispositivos. En ciertas realizaciones, los dispositivos son útiles para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral. En algunas realizaciones, el dispositivo es una diapositiva que comprende una pluralidad de perlas a las que se une un péptido o población de péptidos. En otras realizaciones, el dispositivo es un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, el dispositivo es una inmunoprecipitación de punto, inmunoprecipitación de ranura o Inmunoprecipitación Western. En otras realizaciones, el dispositivo es un tubo o un pozo, por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA. En otras formas de realización más, el dispositivo es un sensor electroquímico, un sensor óptico o un sensor optoelectrónico.

10 En ciertas realizaciones, el dispositivo comprende un péptido o población de péptidos de la invención. En otras realizaciones, el dispositivo comprende una mezcla de diferentes péptidos de la invención. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el dispositivo comprende dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención. En ciertas realizaciones de la divulgación, el péptido o cada péptido en la mezcla comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85 o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, el péptido o cada péptido en la mezcla comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 72, o un fragmento de la misma. En ciertas realizaciones de la invención, la mezcla o población de péptidos se une o se inmoviliza sobre el dispositivo opcionalmente a través de una nanocapa metálica.

15 Los dispositivos pueden usarse para detectar la presencia de anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia* de múltiples especies (por ejemplo, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*) simultáneamente en una muestra. En una realización, el dispositivo comprende una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEC ID N°: 72. En realizaciones relacionadas, la población de péptidos aislados comprende además péptidos que comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 3 y/o SEQ ID NO: 71. En otra realización, el dispositivo comprende una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3. En otra realización de la divulgación, el dispositivo comprende una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1. En otra realización más, el dispositivo comprende una población de péptidos aislados que comprenden tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 71. En otras realizaciones, el péptido o comprende una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85.

20 En otro aspecto, la divulgación proporciona composiciones que comprenden uno o más péptidos descritos aquí. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende un péptido que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, o mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, la composición comprende una mezcla de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 o más péptidos (por ejemplo, todos los péptidos posibles definidos por la SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, la presente divulgación proporciona una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en la que cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1. En ciertas realizaciones, los péptidos en la población o mezcla comprenden un N-terminal y/o la adición C-terminal, y/o están modificadas (por ejemplo, mediante asociación con una o más unidades estructurales adicionales), como se describe en este documento. En ciertas realizaciones, los péptidos comprenden las mismas adiciones N-terminal y/o C-terminal. En otras realizaciones, los péptidos comprenden diferentes adiciones N-terminales y/o C-terminales.

25 En otras realizaciones más, la divulgación proporciona una composición que comprende un péptido que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, o mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, la composición comprende una mezcla de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 o más péptidos (por ejemplo, todos los péptidos posibles definidos por SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85). Por tanto, la invención proporciona una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en la que cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3. En otra realización, la invención proporciona una población de péptidos aislados que comprende tres o más diferentes péptidos, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 72. En otras realizaciones, la divulgación proporciona una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85. Los péptidos en la población o mezcla pueden comprender una adición N-terminal y/o C-terminal, y/o ser modificado (por ejemplo, por asociación con una o más unidades estructurales adicionales), como se describe en el presente documento.

30 En ciertas realizaciones, las composiciones comprenden uno o más péptidos (o una o más poblaciones de péptidos) de la invención y uno o más péptidos adicionales, tales como un péptido o antígeno de *Ehrlichia*, un péptido o antígeno de una o más especies infecciosas de *Ehrlichia*, o un péptido o antígeno de uno o más agentes causantes de ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. El péptido o antígeno de *Ehrlichia* puede ser cualquier péptido o

antígeno de superficie de *Ehrlichia*, o cualquier péptido o antígeno descrito en la presente (por ejemplo, cualquier péptido o antígeno de un OMP-1, proteína p38, p43, p120, p140, p153, p156, p200, gp19, gp36, gp47, gp200 o HGE-3, o cualquier fragmento o epítipo de la misma). La combinación puede comprender un cóctel (una mezcla simple) de péptidos o polipéptidos individuales, puede estar en forma de un péptido o polipéptido de fusión (por ejemplo, un péptido multimérico), o los péptidos pueden estar unidos por un dendrímero (por ejemplo, como en una estructura de MAPS) opcionalmente a través de un residuo de enlace (por ejemplo, lisina o residuo de cisteína). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, una composición comprende uno o más péptidos (por ejemplo, un péptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 83, o SEQ ID NO: 85) y uno o más péptidos antigénicos de *Ehrlichia* que tienen una secuencia de F-S-A-K-E-E-X<sub>7</sub>-A-E-T-R-X<sub>12</sub>-T-F-G-L-X<sub>17</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>24</sub>-I-X<sub>26</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 71) o un fragmento del mismo, donde X<sub>7</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>12</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>17</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>24</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>26</sub> es cualquier aminoácido. En algunas realizaciones, X<sub>7</sub> es K. En otras realizaciones, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y R, y X<sub>17</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D. En otras realizaciones más, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y Q, y X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y T.

En ciertas realizaciones, la mezcla o población de péptidos comprende uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En aún otras realizaciones, la mezcla o población de péptidos comprende uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 1 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En una realización, la mezcla o población de péptidos comprende uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72. En otra realización, la mezcla o población de péptidos comprende uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En una realización particular, la mezcla o población de péptidos comprende uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3, uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72, y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. Tales mezclas permiten la detección de anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia* de múltiples especies (por ejemplo, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*) simultáneamente en una muestra.

Un péptido de la invención se puede fusionar en su extremo N o extremo C con otro péptido adecuado. Dos o más copias de un péptido de la invención se pueden unir entre sí, solos o en combinación con uno o más péptidos adicionales. Se pueden usar combinaciones de péptidos o polipéptidos fusionados y no fusionados. En una realización, el(los) péptido(s) adicional(es) contienen epítopos de células B y/o células T de un péptido o antígeno de *Ehrlichia*, un péptido o antígeno de una especie infecciosa de *Ehrlichia*, o un péptido o antígeno de un agente causante de ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.

En otro aspecto, la descripción proporciona ácidos nucleicos que comprenden una secuencia que codifica un péptido de la invención. Los ácidos nucleicos de la divulgación contienen menos de un genoma microbiano completo y pueden ser monocatenarios o bicatenarios. Un ácido nucleico puede ser ARN, ADN, ADNc, ADN genómico, ARN o ADN sintetizados químicamente o combinaciones de los mismos. Los ácidos nucleicos pueden purificarse sin otros componentes, tales como proteínas, lípidos y otros polinucleótidos. Por ejemplo, los ácidos nucleicos pueden estar purificados en un 50%, 75%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%. Los ácidos nucleicos codifican los péptidos descritos en este documento. En ciertas realizaciones, los ácidos nucleicos codifican un péptido que tiene la secuencia de SEQ ID NOs: 1-73 y 83-86, o combinaciones de los mismos. Los ácidos nucleicos pueden comprender otras secuencias de nucleótidos, tales como secuencias que codifican ligadores, secuencias de señalización, secuencias de inmunoprecipitación de detención de TMR, dominios transmembrana o ligandos útiles en la purificación de proteínas tales como glutatión-S-transferasa, marca de histidina y proteína A estafilocócica.

Los ácidos nucleicos se pueden aislar. Un ácido nucleico "aislado" es uno que no es inmediatamente contiguo a una o ambas secuencias genómicas flanqueantes 5' y 3' con las que está asociado de forma natural. Un ácido nucleico aislado puede ser, por ejemplo, una molécula de ADN recombinante de cualquier longitud, con la condición de que las secuencias de ácido nucleico que se encuentran naturalmente que flanquean de manera inmediata la molécula de ADN recombinante en un genoma de origen natural se eliminen o estén ausentes. Los ácidos nucleicos aislados también incluyen moléculas de ácido nucleico no naturales. Los ácidos nucleicos también pueden comprender fragmentos que codifican péptidos inmunogénicos. Los ácidos nucleicos pueden codificar polipéptidos de longitud completa, fragmentos peptídicos y péptidos variantes o de fusión.

Los ácidos nucleicos se pueden aislar, al menos en parte, a partir de secuencias de ácido nucleico presentes en, por ejemplo, una muestra biológica, tal como sangre, suero, saliva o tejido de un individuo infectado. Los ácidos nucleicos también se pueden sintetizar en el laboratorio, por ejemplo, usando un sintetizador automático. Puede usarse un método de amplificación tal como PCR para amplificar ácidos nucleicos, al menos en parte, a partir de ADN genómico o ADNc que codifica los polipéptidos.

Los ácidos nucleicos pueden comprender secuencias codificantes para polipéptidos de origen natural o pueden codificar secuencias alteradas que no se producen en la naturaleza. Si se desea, los ácidos nucleicos se pueden clonar en un vector de expresión que comprende elementos de control de expresión, que incluyen, por ejemplo, orígenes de replicación, promotores, potenciadores u otros elementos reguladores que dirigen la expresión de los

- polinucleótidos de la invención en células huésped. Un vector de expresión puede ser, por ejemplo, un plásmido, tal como pBR322, pUC, o ColEI, o un vector de adenovirus, tal como un vector de tipo 2 de adenovirus o un vector de Tipo 5. Opcionalmente, se pueden usar otros vectores, que incluyen, pero no se limitan a virus Sindbis, virus simio 40, vectores alfavirus, vectores del virus de la viruela y vectores retrovirales y citomegalovirus, como el virus del sarcoma murino, el virus del tumor mamario de ratón, el virus de la leucemia murina Moloney y virus del sarcoma de Rous. también se puede utilizar minicromosomas como MC y MC1, bacteriófagos, fagémidos, cromosomas artificiales de levadura, cromosomas artificiales bacterianos, partículas virales, partículas similares a virus, cósmidos (plásmidos en los que se han insertado sitios de fago lambda cos) y replicones (elementos genéticos que son capaces de replicarse) bajo su propio control en una celda).
- 5 Los métodos para preparar polinucleótidos unidos operativamente a una secuencia de control de la expresión y expresarlos en una célula huésped son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 4,366,246. Un ácido nucleico está unido operativamente cuando está situado adyacente a o cerca de uno o más elementos de control de la expresión, que dirigen la transcripción y/o traducción del polinucleótido.
- 10 De este modo, por ejemplo, un péptido de la invención se puede producir de forma recombinante siguiendo técnicas de ingeniería genética convencionales. Para producir un péptido recombinante de la invención, se inserta un ácido nucleico que codifica el péptido en un sistema de expresión adecuado. En general, se construye una molécula o vector recombinante en el que la secuencia de polinucleótidos que codifica el péptido seleccionado se une operativamente a una secuencia de control de la expresión que permite la expresión del péptido. En la técnica se conocen numerosos tipos de vectores de expresión apropiados, que incluyen, por ejemplo, vectores que contienen sistemas de expresión bacterianos, virales, de levadura, fúngicos, de insectos o de mamífero. Los métodos para obtener y usar dichos vectores de expresión son bien conocidos. Para una guía en esta y otras técnicas de biología molecular usadas para composiciones o métodos de la invención, véase, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, edición actual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York; Miller et al., Genetic Engineering, 8: 277-298 (Plenum Press, edición actual), Wu et al., Methods in Gene Biotechnology (CRC Press, Nueva York, N.Y., edición actual), Recombinant Gene Expression Protocols, en Methods in Biología Molecular, vol. 62, (Tuan, ed., Humana Press, Totowa, N.J., edición actual), and Current Protocols in Molecular Biology, (Ausabel et al., Eds.), John Wiley & Sons, NY (edición actual), y referencias citadas en esto.
- 15 De acuerdo con esto, la divulgación también proporciona vectores que comprenden ácidos nucleicos de la divulgación, y células huésped que comprenden tales vectores. En ciertas realizaciones, el vector es un vector lanzadera. En otras realizaciones, el vector es un vector de expresión (por ejemplo, un vector de expresión bacteriano o eucariótico). En ciertas realizaciones, la célula huésped es una célula bacteriana. En otras realizaciones, la célula huésped es una célula eucariota.
- 20 Las células huésped o líneas celulares adecuadas para los ácidos nucleicos recombinantes o los vectores de la descripción de la transfección mediante este método incluyen células bacterianas. Por ejemplo, diversas cepas de *E. coli* (por ejemplo, HB101, MC1061) son bien conocidas como células huésped en el campo de la biotecnología. En este método también pueden emplearse diversas cepas de *B. subtilis*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y otros bacilos y similares. Alternativamente, un péptido de la descripción se puede expresar en levadura, insecto, mamífero u otros tipos de células, usando procedimientos convencionales. También pueden usarse síntesis *in vitro* sin células y/o maquinarias sintéticas mediadas por enzimas.
- 25 La presente descripción también proporciona un método para producir un péptido o polipéptido recombinante, que implica transfectar o transformar, por ejemplo, por medios convencionales tales como electroporación, una célula huésped con al menos un vector de expresión que contiene un polinucleótido de la divulgación bajo el control de una secuencia de control de la expresión (por ejemplo, una secuencia reguladora de la transcripción). La célula huésped transfectada o transformada se cultiva a continuación en condiciones que permiten la expresión del péptido o polipéptido. El péptido o polipéptido expresado se recupera, aísla y opcionalmente se purifica de la célula (o del medio de cultivo, si se expresa extracelularmente) por medios apropiados conocidos por el experto en la técnica, incluida la cromatografía líquida tal como fase normal o inversa, usando HPLC, FPLC y similares, cromatografía de afinidad, tal como con ligandos inorgánicos o anticuerpos monoclonales, cromatografía de exclusión por tamaño, cromatografía de quelatos metálicos inmovilizados, electroforesis en gel, y similares. Un experto en la técnica puede seleccionar las técnicas de aislamiento y purificación más apropiadas sin apartarse del alcance de esta invención. Un experto en la técnica puede determinar la pureza del péptido o polipéptido usando métodos estándar que incluyen, por ejemplo, electroforesis en gel de poli(acrilamida) (por ejemplo, SDS-PAGE), electroforesis capilar, cromatografía en columna (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)), análisis de aminoácidos amino terminales y análisis cuantitativo de aminoácidos.
- 30 Métodos
- 35 En otro aspecto, la invención proporciona métodos para detectar en una muestra un anticuerpo para un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto una muestra con un péptido de la invención y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho péptido, donde la formación de dicho complejo es indicativa de la presencia de un anticuerpo frente a un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia* en dicha muestra. En algunas realizaciones, el antígeno de *Ehrlichia* es de una especie
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

infeciosa de Ehrlichia. En ciertas realizaciones, el antígeno de Ehrlichia es de una especie de *Ehrlichia* patógena, tal como *Ehrlichia chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris* o *Ehrlichia canis*. Otras especies de *Ehrlichia* que han sido implicadas en la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica también pueden detectarse usando los métodos de la invención, siempre que induzcan anticuerpos que puedan reaccionar específicamente con un péptido de la invención. Por lo tanto, debe entenderse que el término "*Ehrlichia* patógena", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier especie de *Ehrlichia* que cause ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. En realizaciones particulares, los métodos proporcionan la detección de anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia* de múltiples especies (por ejemplo, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*) simultáneamente en una muestra.

En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos, tres, cuatro o más (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 o más) diferentes péptidos de la invención. Por ejemplo, en una realización particular de la divulgación, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en la que cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1. En otra realización particular, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3. En otra realización más, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 72. En algunas realizaciones de la divulgación, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, o SEQ ID NO: 72. En otras realizaciones de la divulgación, los métodos comprenden contactar la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en la que cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85.

En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos de la invención y uno o más péptidos (por ejemplo, un péptido de *Ehrlichia*, o un fragmento o epítipo antigénico del mismo, tal como un antígeno de superficie de *Ehrlichia*, o proteínas OMP-1, p38, p43, p120, p140, p153, p156, p200, gp19, gp36, gp47, gp200 o HGE-3). Por ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos de la invención (por ejemplo, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72) y uno o más péptidos antigénicos de *Ehrlichia* que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En una realización particular, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En otra realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En otra realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3. En una realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72, en o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3, y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. Las mezclas de péptidos de la invención permiten, en algunas realizaciones, la detección de anticuerpos contra antígenos de múltiples Especies de *Ehrlichia* (por ejemplo, *E. canis*, *E. muris*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*) simultáneamente en una muestra.

En ciertas realizaciones, el péptido o cada péptido en la mezcla o población es un péptido aislado (por ejemplo, sintético y/o purificado). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla de péptidos (es decir, población de péptidos) se une o se inmoviliza sobre un soporte sólido. En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una nanopartícula metálica o nanocubierta, una nanopartícula, una perla de látex, etc.), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral (por ejemplo, una membrana porosa), una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, una mancha (Inmunoprecipitación Western, inmunoprecipitación de punto o inmunoprecipitación de ranura), un tubo o un pozo (por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA), o un sensor (por ejemplo, un electroquímico, óptico, o sensor optoelectrónico). En algunas realizaciones, el péptido o mezcla de péptidos se une o se inmoviliza sobre un soporte sólido a través de una nanocapa metálica que, en algunas realizaciones, puede estar compuesta de cadmio, zinc, mercurio o un metal noble (por ejemplo, oro, plata, cobre y platino).

En ciertas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ELISA o ensayo de inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un inmunoensayo de flujo lateral. En otras realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de aglutinación (por ejemplo, un ensayo de hemaglutinación o aglutinación de partículas/perlas). En otras realizaciones, la etapa de detección comprende hacer girar la muestra en un rotor analítico o centrífugo. En algunas realizaciones, la etapa de detección comprende realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda. Dichos ensayos de desplazamiento de longitud de onda pueden implicar medir o determinar un cambio en la resonancia de plasmón superficial o en la longitud de onda de resonancia de plasmón superficial localizada resultante de la unión de anticuerpos a péptidos unidos a nanocapas metálicas o nanopartículas/nanocubiertas metálicas. En otras formas de realización más, la etapa de detección comprende analizar la muestra con un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico.

Existen varios ensayos convencionales diferentes para detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende un péptido de la invención. Por ejemplo, la etapa de detección puede comprender realizar un ensayo

ELISA, realizar un ensayo de inmunofluorescencia, realizar un inmunoensayo de flujo lateral, realizar un ensayo de aglutinación, realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda, realizar una inmunoprecipitación Western, inmunoprecipitación de ranura o inmunoprecipitación de punto, analizar la muestra en un rotor analítico o centrífugo, o analizar la muestra con un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico. Estos diferentes ensayos se describen en este documento y/o son bien conocidos por los expertos en la técnica.

En una realización, los métodos implican detectar la presencia de anticuerpos de origen natural contra uno o más antígenos de *Ehrlichia* (por ejemplo, el antígeno de una *Ehrlichia* patógena, tal como *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* o *E. canis*) que son producidos por el sistema inmune del sujeto infectado en sus fluidos o tejidos biológicos, y que son capaces de unirse específicamente a un péptido de la invención o combinaciones de un péptido de la invención y, opcionalmente, uno o más polipéptidos o péptidos antigénicos adicionales adecuados.

Los métodos de inmunoensayo adecuados incluyen típicamente: recibir u obtener (por ejemplo, de un paciente) una muestra de fluido corporal o tejido que probablemente contenga anticuerpos; poner en contacto (por ejemplo, incubar o reaccionar) una muestra a ensayar con un péptido de la invención, en condiciones efectivas para la formación de un complejo péptido-anticuerpo específico (por ejemplo, para la unión específica del péptido al anticuerpo); y ensayar la muestra en contacto (reaccionada) con la presencia de una reacción anticuerpo-péptido (por ejemplo, determinar la cantidad de un complejo anticuerpo-péptido). La presencia de una cantidad elevada del complejo anticuerpo-péptido indica que el sujeto fue expuesto e infectado con una especie infecciosa de *Ehrlichia*. Un péptido, que incluye una forma modificada del mismo, que "se une específicamente" a (por ejemplo, "es específico para" o se une "preferentemente" a) un anticuerpo contra un antígeno *Ehrlichia* interactúa con el anticuerpo o se forma o se asocia físicamente con él, en una cantidad y durante un tiempo suficiente para permitir la detección del anticuerpo. Por "específicamente" o "preferentemente", se entiende que el péptido tiene una afinidad más alta (por ejemplo, un mayor grado de selectividad) para dicho anticuerpo que para otros anticuerpos en una muestra. Por ejemplo, el péptido puede tener una afinidad para el anticuerpo de al menos aproximadamente 1.5 veces, 2 veces, 2.5 veces, 3 veces o más que para otros anticuerpos en la muestra. Tal afinidad o grado de especificidad se puede determinar mediante una variedad de procedimientos de rutina, que incluyen, por ejemplo, estudios de unión competitiva. En un ensayo ELISA, una respuesta positiva se define como un valor de 2 o 3 desviaciones estándar mayores que el valor medio de un grupo de controles sanos. En algunas realizaciones, se requiere un ensayo de segundo nivel para proporcionar un serodiagnóstico inequívoco de ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.

Expresiones tales como "muestra que contiene un anticuerpo" o "detección de un anticuerpo en una muestra" no pretenden excluir muestras o determinaciones (por ejemplo, intentos de detección) en las que no se contiene o detecta ningún anticuerpo. En un sentido general, esta invención implica ensayos para determinar si un anticuerpo producido en respuesta a la infección con una *Ehrlichia* infecciosa está presente en una muestra, independientemente de si se detecta o no.

Las condiciones para hacer reaccionar péptidos y anticuerpos para que reaccionen específicamente son bien conocidas por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Current Protocols in Immunology (Coligan et al., Editores, John Wiley & Sons, Inc).

Los métodos comprenden recibir u obtener una muestra de fluido corporal o tejido que probablemente contenga anticuerpos de un sujeto. Los anticuerpos pueden ser, por ejemplo, de tipo IgG, IgE, IgD, IgM o IgA. En general, se detectan anticuerpos IgM y/o IgA, por ejemplo, para la detección en etapas tempranas de la infección. Los anticuerpos IgG pueden detectarse cuando se usan algunos de los péptidos adicionales discutidos anteriormente en el método (por ejemplo, péptidos para la detección de proteínas de flagelo). La muestra es preferiblemente fácil de obtener y puede ser sangre entera, plasma o suero derivado de una muestra de sangre venosa o incluso de un pinchazo en el dedo. Se sabe que los tejidos de otras partes del cuerpo u otros fluidos corporales, como el líquido cefalorraquídeo (LCR), la saliva, las secreciones gástricas, el moco, la orina, etc., contienen anticuerpos y se pueden usar como fuente de la muestra. La muestra también puede ser un extracto de tejido o un lisado celular.

Una vez que se permite que el antígeno peptídico y el anticuerpo de muestra reaccionen en un medio adecuado, se realiza un ensayo para determinar la presencia o ausencia de una reacción anticuerpo-péptido. Entre los muchos tipos de ensayos adecuados, que serán evidentes para un trabajador experto, se encuentran los ensayos de inmunoprecipitación y aglutinación.

En ciertas realizaciones de la invención, el ensayo comprende: inmovilizar el(los) anticuerpo(s) en la muestra; añadir un péptido de la invención; y detectar el grado de anticuerpo unido al péptido, por ejemplo, mediante el péptido marcado o añadiendo una sustancia marcada, tal como un asociado de unión marcado (por ejemplo, complejo de estreptavidina-HRP u oro coloidal-estreptavidina) o un anticuerpo marcado que específicamente reconoce el péptido. Véase, por ejemplo, la Figura 2. En otras realizaciones, el ensayo comprende: inmovilizar un péptido de la invención; añadiendo la muestra que contiene anticuerpos; y detectar la cantidad de anticuerpo unido al péptido, por ejemplo, añadiendo otro péptido de la invención conjugado, directa o indirectamente, a una etiqueta (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta metálica, marcador fluorescente, enzima (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina)) o mediante la adición de una sustancia etiquetada, como un asociado de unión o un anticuerpo marcado que reconoce específicamente los anticuerpos de muestra (por ejemplo, anticuerpos IgG

antihumano, anticuerpos IgM antihumano, anticuerpos IgG anti-perro, anticuerpos IgM anti-perro, anticuerpos IgG anti-gato, anticuerpos IgM anti-gato, proteína A, proteína G, proteínas de fusión proteína A/G, proteína L, o combinaciones de los mismos, etc.). Véanse, por ejemplo, las Figuras 1, 3 y 4. En otras realizaciones, el ensayo comprende: inmovilizar un péptido de la invención; añadiendo la muestra que contiene anticuerpos; y detectar la cantidad de anticuerpo unido al péptido, por ejemplo, añadiendo un primer asociado de unión que reconoce específicamente los anticuerpos de muestra (por ejemplo, anticuerpos IgG antihumanos, anticuerpos IgM antihumanos, anticuerpos IgG anti-perro, IgM anti-perro anticuerpos, anticuerpos IgG anti-gato, anticuerpos IgM anti-gato, proteína A, proteína G, proteínas de fusión proteína A/G, proteína L, etc.), y además agregar un segundo asociado de unión (por ejemplo, proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L, etc.), en donde el segundo asociado de unión está marcado y reconoce dicho primer asociado de unión. En otras realizaciones más, el ensayo comprende: hacer reaccionar el péptido y la muestra que contiene anticuerpos sin inmovilizar ninguno de los reactivos, y luego detectar la cantidad de complejos de anticuerpo y péptido, por ejemplo, mediante el péptido marcado o añadiendo una sustancia etiquetada, tal como un asociado de unión marcado (por ejemplo, complejo de estreptavidina-HRP u oro coloidal-estreptavidina) o un anticuerpo marcado que reconoce específicamente el péptido.

La inmovilización de un péptido de la invención puede ser covalente o no covalente, y la inmovilización no covalente puede ser no específica (por ejemplo, unión no específica a una superficie de poliestireno en, por ejemplo, un pozo de microtitulación). La unión específica o semiespecífica a un portador, soporte o superficie sólida o semisólida puede conseguirse mediante el péptido que tiene, asociado con él, una unidad estructural que permite su unión covalente o no covalente al portador, soporte o superficie sólido o semisólido. Por ejemplo, la unidad estructural puede tener afinidad por un componente unido al portador, soporte o superficie. En este caso, la unidad estructural puede ser, por ejemplo, una biotina o grupo biotinilo o un análogo del mismo unido a un grupo aminoácido del péptido, tal como ácido 6-aminohexanoico, y el componente es entonces avidina, estreptavidina, neutravidina o análogo de eso. Una alternativa es una situación en la que la unidad estructural tiene la secuencia de aminoácidos His-His-His-His-His-His (SEQ ID NO: 82) y el vehículo comprende un derivado de ácido nitrilotriacético (NTA) cargado con iones  $Ni^{++}$  o  $Co^{++}$ . En ciertas realizaciones, la unidad estructural es un asociado de fusión, por ejemplo, BSA. En realizaciones ejemplares, los péptidos de la invención se pueden conjugar con BSA a través de unidades estructurales N-terminales y/o C-terminales de los péptidos. En una realización, uno, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 15, 20, 25, 30 o más péptidos de la invención pueden estar sustituidos en, por ejemplo, conjugados con BSA. Como entenderá un experto en la técnica, los niveles de sustitución pueden afectar la sensibilidad del ensayo. Se requieren concentraciones más bajas de BSA altamente sustituidas para lograr la sensibilidad que ofrecen las altas concentraciones de BSA-péptido que contienen menos moléculas de péptido. En ciertas otras realizaciones, el asociado de fusión puede ser MAPS. En ciertas realizaciones a modo de ejemplo, MAPS puede consistir en 4, 8 o más ramas asimétricas.

Los portadores, soportes y superficies adecuados incluyen, entre otros, nanocapas metálicas, perlas (por ejemplo, perlas magnéticas, partículas coloidales o nanopartículas metálicas o nanocubiertas, tales como oro coloidal, o partículas o nanopartículas que comprenden sílice, látex, poliestireno, policarbonato o PDVF), látex de copolímeros tales como estireno-divinilbenceno, estireno-divinilbenceno hidroxilado, poliestireno, poliestireno carboxilado, perlas de negro de humo, vidrio no activado o activado por poliestireno o cloruro de polivinilo, vidrio magnético poroso activado por partículas de epoxi, gelatina o polisacárido u otras partículas de proteína, glóbulos rojos, anticuerpos mono o policlonales o fragmentos Fab de tales anticuerpos.

Los protocolos para inmunoensayos que usan antígenos para la detección de anticuerpos específicos son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un ensayo en sándwich convencional, o se puede usar un formato de ensayo competitivo convencional. Para una discusión de algunos tipos adecuados de ensayos, véase Current Protocols in Immunology (supra). En ciertas realizaciones, un péptido de la invención se inmoviliza en una superficie o vehículo sólido o semisólido por medio de unión covalente o no covalente, antes o después de la adición del anticuerpo que contiene la muestra.

Los dispositivos para realizar ensayos de unión específica, especialmente inmunoensayos, son conocidos y pueden adaptarse fácilmente para su uso en los presentes métodos. Los ensayos en fase sólida, en general, son más fáciles de realizar que los métodos de ensayo heterogéneos que requieren una etapa de separación, como precipitación, centrifugación, filtración, cromatografía o magnetismo, porque la separación de reactivos es más rápida y simple. Los dispositivos de ensayo en fase sólida incluyen placas de microtitulación, dispositivos de ensayo de flujo continuo (por ejemplo, dispositivos de inmunoensayo de flujo lateral), tiras reactivas y dispositivos de inmunoensayo inmunocapilar o inmunocromatográfico.

En las realizaciones de la invención, la superficie o soporte sólido o semisólido es el suelo o pared en un pozo de microtitulación, una superficie de filtro o membrana (por ejemplo, una membrana de nitrocelulosa o una membrana de PVDF (fluoruro de polivinilideno), tal como una membrana Immobilon™), una fibra hueca, un medio cromatográfico en perlas (por ejemplo, un gel de agarosa o poli(acrilamida)), una perla magnética, una matriz de celulosa fibrosa, una matriz de HPLC, una matriz de FPLC, una sustancia que tiene moléculas de tal tamaño que las moléculas con el péptido unido a las mismas, cuando se disuelven o dispersan en una fase líquida, pueden retenerse por medio de un filtro, una sustancia capaz de formar micelas o participar en la formación de micelas que

permite cambiar o intercambiar una fase líquida sin atrapar las micelas, un polímero soluble en agua o cualquier otro portador, soporte o superficie adecuado.

En algunas realizaciones de la invención, el péptido se proporciona con una etiqueta adecuada que permite la detección. Se pueden usar marcadores convencionales que son capaces, solos o en concierto con otras composiciones o compuestos, de proporcionar una señal detectable. Las etiquetas adecuadas incluyen, pero no están limitadas a, enzimas (por ejemplo, HRP, beta-galactosidasa, fosfatasa alcalina, etc.), etiquetas fluorescentes, etiquetas radiactivas, partículas de látex coloreadas y etiquetas conjugadas con metales (por ejemplo, nanopartículas metálicas, nanopartículas metálicas - o etiquetas metálicas conjugadas con nanocubierta). Las etiquetas de nanopartículas metálicas o nanocubiertas metálicas adecuadas incluyen, entre otras, partículas de oro, partículas de plata, partículas de cobre, partículas de platino, partículas de cadmio, partículas compuestas, esferas huecas de oro, nanocubiertas de sílice recubiertas de oro y capas de oro recubiertas de sílice. Las nanopartículas metálicas adecuadas para capas detectables incluyen nanopartículas compuestas de cadmio, zinc, mercurio y metales nobles, como oro, plata, cobre y platino.

Métodos de detección adecuados incluyen, por ejemplo, la detección de un agente que está marcado, directa o indirectamente, mediante un ensayo colorimétrico (por ejemplo, para la detección de actividad de HRP o beta-galactosidasa), inspección visual usando microscopía óptica, microscopía de inmunofluorescencia, incluyendo microscopía confocal, o por citometría de flujo (FACS), autorradiografía (por ejemplo, para la detección de un agente marcado radioactivamente), microscopía electrónica, inmunotinción, fraccionamiento subcelular o similares. En una realización, un elemento radiactivo (por ejemplo, un aminoácido radiactivo) se incorpora directamente en una cadena peptídica; en otra realización, un marcador fluorescente está asociado con un péptido mediante interacción biotina/avidina, asociación con un anticuerpo conjugado con fluoresceína o similar. En una realización, se agrega a la mezcla un asociado de unión específico detectable para el anticuerpo. Por ejemplo, el asociado de unión puede ser un anticuerpo secundario detectable u otro agente de unión (por ejemplo, proteína A, proteína G, proteína L o combinaciones de los mismos) que se une al primer anticuerpo. Este anticuerpo secundario u otro agente de unión se puede marcar, por ejemplo, con una nanopartícula metálica radiactiva, enzimática, fluorescente, luminiscente o metálica (por ejemplo, oro coloidal), u otra etiqueta detectable, tal como un sistema de avidina/biotina. En otra realización, el asociado de unión es un péptido de la invención, que puede conjugarse directa o indirectamente (por ejemplo, mediante interacción biotina/avidina) a una enzima, tal como peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina u otra unidad estructural de señalización. En tales realizaciones, la señal detectable se produce añadiendo un sustrato de la enzima que produce una señal detectable, tal como un sustrato cromogénico, fluorogénico o quimioluminiscente.

Un "sistema de detección" para detectar el péptido unido, como se usa en el presente documento, puede comprender un asociado de unión detectable, tal como un anticuerpo específico para el péptido. En una realización, el asociado de unión está marcado directamente. En otra realización, el asociado de unión está unido a un reactivo generador de señal, tal como una enzima que, en presencia de un sustrato adecuado, puede producir una señal detectable. Una superficie para inmovilizar el péptido puede opcionalmente acompañar al sistema de detección.

En algunas realizaciones de la invención, el procedimiento de detección comprende inspeccionar visiblemente el complejo anticuerpo-péptido para un cambio de color, o inspeccionar el complejo anticuerpo-péptido para un cambio físico-químico. Los cambios físico-químicos pueden ocurrir con reacciones de oxidación u otras reacciones químicas. Se pueden detectar a simple vista, usando un espectrofotómetro o similar.

Un formato de ensayo particularmente útil es un formato de inmunoensayo de flujo lateral. Los anticuerpos contra las inmunoglobulinas humanas o animales (por ejemplo, perros, ratones, ciervos, etc.) o las proteínas A, G o L del estafilococo pueden etiquetarse con un generador de señal o indicador (por ejemplo, oro coloidal) que se seca y se coloca en una almohadilla de fibra de vidrio (almohadilla de aplicación de muestra o almohadilla conjugada). El péptido de diagnóstico se inmoviliza en la membrana, tal como nitrocelulosa o una membrana de PVDF (fluoruro de polivinilideno) (por ejemplo, una membrana Immobilon™). Cuando una solución de muestra (sangre, suero, etc.) se aplica a la almohadilla de aplicación de muestra (o fluye a través de la almohadilla de conjugado), disuelve el indicador marcado, que luego se une a todos los anticuerpos en la muestra. Los complejos resultantes son luego transportados a la siguiente membrana (PVDF o nitrocelulosa que contiene el péptido de diagnóstico) por acción capilar. Si están presentes anticuerpos contra el péptido de diagnóstico, se unen al péptido de diagnóstico rayado en la membrana, generando de ese modo una señal (por ejemplo, una banda que puede verse o visualizarse). Se puede usar un anticuerpo adicional específico para el anticuerpo marcado o un segundo anticuerpo marcado para producir una señal de control.

Un formato alternativo para el inmunoensayo de flujo lateral comprende los péptidos o composiciones de la invención que se conjugan con un ligando (por ejemplo, biotina) y se complejan con un receptor de ligando marcado (por ejemplo, oro coloidal de estreptavidina). Los complejos peptídicos marcados pueden colocarse en la almohadilla de aplicación de muestra o almohadilla conjugada. Anticuerpos IgG/IgM anti-animales (por ejemplo, perros, ratones, ciervos) IgG/IgM u otros péptidos de la invención se inmovilizan en una membrana, tal como nitrocelulosa de PVDF, en un sitio de prueba (por ejemplo, una prueba), línea). Cuando se agrega la muestra a la almohadilla de aplicación de muestra, los anticuerpos en la muestra reaccionan con los complejos peptídicos marcados de manera que los anticuerpos que se unen a los péptidos de la invención se etiquetan indirectamente. Los anticuerpos en la muestra

son luego transportados a la siguiente membrana (PVDF o nitrocelulosa que contiene el péptido de diagnóstico) por acción capilar y se unen a anticuerpos IgG/IgM antihumanos o IgG/IgM anti-animales (o proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L, o combinaciones de los mismos) o péptidos inmovilizados de la invención. Si cualquiera de los anticuerpos de muestra se une a los péptidos marcados de la invención, el marcador asociado con los péptidos puede verse o visualizarse en el sitio de prueba. Otra realización de este tipo de dispositivo de flujo lateral en el que los péptidos de la invención se usan como agente de captura inmovilizado en un sitio de prueba y como complejo etiquetado soluble para reaccionar con anticuerpos en una muestra se muestra en la Figura 1. En tales realizaciones, para amplificar la señal de detección, las proteínas de fusión proteína A, proteína G y/o proteína A/G conjugadas a una etiqueta detectable (por ejemplo, nanopartícula metálica o nanocubierta, HRP, ALP, fluoróforo, partículas de látex coloreadas) pueden aplicarse al sitio de prueba donde se unirán a la región Fc de cualquier anticuerpo contra antígenos de *Ehrlichia* capturados por los péptidos inmovilizados de la invención. Los controles adecuados para este ensayo pueden incluir, por ejemplo, un conjugado de IgY coloidal de pollo situado en la almohadilla de aplicación de muestra o almohadilla conjugada, y un anticuerpo IgY anti-pollo inmovilizado en un sitio de control localizado proximal al sitio de prueba.

Otro ensayo para el cribado de productos sanguíneos u otros fluidos fisiológicos o biológicos es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, es decir, un ELISA. Típicamente en un ELISA, los péptidos o mezclas o poblaciones de péptidos aislados de la invención se adsorben a la superficie de un pozo de microtitulación directamente o a través de una matriz de captura (por ejemplo, un anticuerpo). Los sitios residuales, no específicos de unión a proteínas en la superficie se bloquean con un agente apropiado, como albúmina de suero bovino (BSA), suero de cabra normal inactivado con calor (NGS) o BLOTTO (una solución regulada de leche descremada en polvo que también contiene un conservante, sales y un agente antiespumante). Luego se incuba el pozo con una muestra biológica que se sospecha que contiene anticuerpo anti-*Ehrlichia* (por ejemplo, anti-*E. chaffeensis*, anti-*E. muris*, anti-*E. ewingii*, o anti-*E. canis*) específico. La muestra puede aplicarse pura o, con mayor frecuencia, diluirse, generalmente en una solución regulada que contiene una pequeña cantidad (0.1-5.0% en peso) de proteína, como BSA, NGS o BLOTTO. Después de incubar durante un período de tiempo suficiente para permitir que se produzca la unión específica, el pozo se lava para eliminar la proteína no unida y luego se incuba con una concentración óptima de un anticuerpo antiinmunoglobulina apropiado (por ejemplo, para sujetos humanos, una inmunoglobulina antihumana ( $\alpha$ HuIg) de otro animal, tal como perro, ratón, vaca, etc.) u otro péptido de la invención que está conjugado con una enzima u otra etiqueta mediante procedimientos estándar y se disuelve en regulador de bloqueo. La etiqueta puede elegirse entre una variedad de enzimas, incluida la peroxidasa de rábano picante (HRP), la beta-galactosidasa, la fosfatasa alcalina (ALP), la glucosa oxidasa, etc. Se permite un tiempo suficiente para que vuelva a ocurrir la unión específica, luego se lava nuevamente el pozo para eliminar el conjugado no unido, y se agrega un sustrato adecuado para la enzima. Se permite que el color se desarrolle y la densidad óptica del contenido del pozo se determina visualmente o instrumentalmente (medida a una longitud de onda apropiada). El valor de DO de corte se puede definir como las desviaciones estándar (DE) promedio de DO + 3 de al menos 50 muestras de suero recogidas de individuos de un área donde la ehrlichiosis no es endémica, o por otras definiciones convencionales de este tipo. En el caso de un ensayo muy específico, se puede usar OD + 2 SD como valor de corte.

En una realización de un ELISA, se inmoviliza un péptido de la invención sobre una superficie, tal como una placa de ELISA de noventa y seis pozos o una fase sólida equivalente que está recubierta con estreptavidina o un compuesto de unión a biotina equivalente, como avidina o neutravidina, a una concentración óptima en un regulador de revestimiento alcalino y se incuba a 4°C durante la noche. Después de un número adecuado de lavados con reguladores de lavado estándar, se aplica a cada pozo una concentración óptima de una forma biotinilada de un péptido o composición de la invención, disuelta en un regulador de bloqueo convencional. A continuación, se agrega una muestra, y el ensayo continúa como se indicó anteriormente. Las condiciones para realizar ensayos ELISA son bien conocidas en la técnica.

En otra realización de un ELISA, se inmoviliza un péptido o una mezcla de péptidos de la invención sobre una superficie, tal como una placa de ELISA de noventa y seis pozos o una fase sólida equivalente a través de un asociado de fusión, por ejemplo, BSA o MAPS. Luego se agrega una muestra y el ensayo continúa como se indicó anteriormente.

Un formato alternativo para el ensayo ELISA presenta el(los) péptido(s) de la invención unidos (por ejemplo, fusionados) a una enzima apropiada, tal como HRP. Las etapas para llevar a cabo tal ELISA incluyen: revestir los pozos de una placa con IgG/IgM anti-perro, anti-gato o anti-humano; incubar muestras sospechosas de contener anticuerpos contra el péptido de la invención con la IgG/IgM anti especie inmovilizada; eliminar la muestra sin reaccionar y lavar los pozos con un regulador de lavado adecuado; aplicar el péptido acoplado a enzima (por ejemplo, acoplado a HRP) de la invención y permitir que reaccione con cualquier anticuerpo anti-*Ehrlichia* capturado; y visualizar el péptido acoplado a la enzima mediante la aplicación de un sustrato enzimático apropiado (por ejemplo, TMB).

En otra realización, los métodos comprenden un ensayo de aglutinación. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, las nanopartículas metálicas o nanocubiertas metálicas (por ejemplo, oro coloidal, etc.) o perlas de látex se conjugan con péptidos o composiciones de la invención. Posteriormente, el fluido biológico se incuba con el conjugado de perlas/péptidos, formando así una mezcla de reacción. La mezcla de reacción se analiza luego para determinar la presencia de los anticuerpos. En ciertas realizaciones, los ensayos de aglutinación comprenden el uso de una

segunda población de partículas, tales como nanopartículas metálicas o nanocubiertas metálicas (por ejemplo, oro coloidal, etc.) o perlas de látex, conjugadas a (1) anticuerpos específicos para los péptidos de las composiciones de la invención, en el caso de un ensayo de competencia, o (2) anticuerpos capaces de detectar anticuerpos de muestra (por ejemplo, anticuerpos IgG o IgM antihumanos, anticuerpos IgG o IgM anti-perro, anticuerpos IgG o IgM anti-gato, etc.), en el caso de un ensayo sándwich. Los métodos de aglutinación adecuados pueden comprender la centrifugación como un medio para evaluar el grado de aglutinación.

En aún otras realizaciones, el péptido o las composiciones de la invención se transfieren por electroinmunoprecipitación o por puntos sobre papel de nitrocelulosa. Posteriormente, se incuba una muestra, tal como un fluido biológico (por ejemplo, suero o plasma) con el antígeno transferido, y se permite que el anticuerpo en el fluido biológico se una al antígeno(s). El anticuerpo unido se puede detectar, por ejemplo, mediante métodos inmunoenzimáticos estándar o mediante visualización usando nanopartículas metálicas o nanocubiertas acopladas a anticuerpos secundarios u otros agentes de unión a anticuerpos, tales como proteína A, proteína G, proteínas de fusión proteína A/G, proteína L, o combinaciones de los mismos.

Un experto en la técnica debe entender que cualquier número de formatos de ensayo de proteínas convencionales, particularmente formatos de inmunoensayo, puede diseñarse para utilizar los péptidos aislados de esta invención para la detección de anticuerpos contra *Ehrlichia* y la infección por *Ehrlichia* patógena (por ejemplo, *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* o *E. canis*) en un sujeto. Por lo tanto, esta invención no está limitada por la selección del formato de ensayo particular, y se cree que abarca formatos de ensayo que son conocidos por los expertos en la técnica.

En ciertas realizaciones, la muestra utilizada en los métodos es un fluido corporal, tal como sangre, suero, fluido espinal cerebral, orina o saliva. En otras realizaciones, la muestra es un tejido (por ejemplo, un homogeneizado de tejido) o un lisado celular. En ciertas realizaciones, la muestra es de un animal salvaje (por ejemplo, un ciervo o un roedor, tal como un ratón, ardilla listada, ardilla, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal de laboratorio (por ejemplo, un ratón, rata, cobaya, conejo, mono, primate, etc.). En otras realizaciones, la muestra es de un animal domesticado o asilvestrado (por ejemplo, un perro, un gato, un caballo). En otras realizaciones más, la muestra es de un ser humano.

Gran parte de la discusión anterior se dirige a la detección de anticuerpos contra *Ehrlichia* patógena. Sin embargo, debe entenderse que la discusión también se aplica a la detección de células T cebadas, ya sea *in vitro* o *in vivo*.

Se espera que se genere una respuesta inmune mediada por células (por ejemplo, una respuesta T-auxiliar), ya que se produce IgG. Por lo tanto, se espera que sea posible determinar la reactividad inmunológica entre las células T cebadas y un péptido de la invención. Esto puede realizarse *in vitro* incubando células T aisladas del sujeto con un péptido de la invención y midiendo la inmunorreactividad, por ejemplo, midiendo la proliferación posterior de células T o midiendo la liberación de citoquinas de las células T, tales como IFN- $\gamma$ . Estos métodos son bien conocidos en la técnica.

Cuando se lleva a cabo un método de la invención *in vivo*, se puede usar cualquiera de una variedad de ensayos convencionales. Por ejemplo, se puede realizar un ensayo en forma de una prueba cutánea, por ejemplo, inyectando intradérmicamente, en el sujeto, un péptido de la invención. Una reacción cutánea positiva en la ubicación de la inyección indica que el sujeto ha sido expuesto e infectado con *Ehrlichia* patógena capaz de causar ehrlichiosis monocítica y granulocítica, y una respuesta negativa de la piel en la ubicación de la inyección indica que el sujeto no ha sido tan expuesto/infectado. Esta u otras pruebas *in vivo* se basan en la detección de una respuesta de células T en el sujeto.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica en un sujeto. El sujeto puede ser un sujeto sospechoso de tener anticuerpos contra un agente causante de la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. El método de diagnóstico es útil para diagnosticar sujetos que exhiben los síntomas clínicos de ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. Los síntomas clínicos de la ehrlichiosis monocítica/granulocítica humana incluyen, entre otros, fiebre, dolor de cabeza, malestar general, mialgia, erupción cutánea, trombocitopenia, leucopenia y niveles elevados de transaminasas séricas. Los síntomas clínicos de ehrlichiosis en animales (por ejemplo, caninos) incluyen, entre otros, fiebre, petequias, trastornos hemorrágicos, vasculitis, linfadenopatía, secreción de la nariz y los ojos, edema de las piernas y del escroto, pérdida de peso, encías pálidas debido a anemia, sangrado por trombocitopenia, vasculitis, linfadenopatía, disnea, tos, poliuria, polidipsia y cojera.

En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto una muestra del sujeto con un péptido de la invención, y detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho péptido, donde la formación de dicho complejo es indicativa del sujeto que tiene enfermedad de ehrlichiosis. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos, tres, cuatro o más (por ejemplo, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 o más) diferentes péptidos de la invención. Por ejemplo, en una realización particular de la divulgación, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en la que cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1. En otra realización particular, la métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada

péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3. En otra realización más, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 72. En algunas realizaciones de la divulgación, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, o SEQ ID NO: 72. En otras realizaciones de la divulgación, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla o población de dos o más péptidos aislados diferentes, en la que cada péptido aislado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 83 o SEQ ID NO: 85.

En ciertas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos o la invención y uno o más péptidos diferentes (por ejemplo, un péptido de *Ehrlichia*, o fragmento antigénico o epítipo del mismo, tal como de una proteína de superficie de *Ehrlichia* o proteínas *Ehrlichia* OMP-1, p38, p43, p120, p140, p153, p156, p200, gp19, gp36, gp47, gp200 o HGE-3. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos de la invención (por ejemplo, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 72) y uno o más péptidos antigénicos de *Ehrlichia* que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En una realización particular, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71. En otra realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 72 y uno o más péptidos a una secuencia de SEQ ID NO: 71. En otra realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72 y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3. En una realización, los métodos comprenden poner en contacto la muestra con una mezcla de uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 72, uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 3, y uno o más péptidos que tienen una secuencia de SEQ ID NO: 71.

En ciertas realizaciones, el péptido o cada péptido en la mezcla o población es un péptido aislado (por ejemplo, sintético y/o purificado). En ciertas realizaciones, el péptido o mezcla de diferentes péptidos (es decir, población de péptidos) se une o se inmoviliza sobre un sustrato (por ejemplo, un soporte sólido o semisólido). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el sustrato es un reborde (por ejemplo, un coloide u otro tipo de partícula o nanopartícula metálica o nanocapa), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral (por ejemplo, una membrana porosa), una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, una mancha (por ejemplo, una inmunoprecipitación Western, inmunoprecipitación de punto, o inmunoprecipitación de ranura), un tubo o un pozo (por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA), o un sensor (por ejemplo, un electroquímico, sensor óptico u optoelectrónico). En algunas realizaciones, el péptido o mezcla de péptidos se une o se inmoviliza sobre un soporte sólido a través de una nanocapa metálica que, en algunas realizaciones, puede estar compuesta de cadmio, zinc, mercurio o un metal noble (por ejemplo, oro, plata, cobre y platino).

Existen varios ensayos convencionales diferentes para detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende un péptido de la invención. Por ejemplo, la etapa de detección puede comprender realizar un ensayo ELISA, realizar un inmunoensayo de flujo lateral, realizar un ensayo de aglutinación, realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda, analizar la muestra usando una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de ranura, o una inmunoprecipitación de punto, analizar la muestra en un rotor analítico o centrífugo, o analizar la muestra con un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico. Estos diferentes ensayos se describen anteriormente y/o son bien conocidos por los expertos en la técnica.

En ciertas realizaciones, la muestra es un fluido corporal, tal como sangre, suero, fluido espinal cerebral, orina o saliva. En otras realizaciones, la muestra es un tejido (por ejemplo, un homogeneizado de tejido) o un lisado celular. En ciertas realizaciones, el sujeto es un animal salvaje (por ejemplo, un ciervo o un roedor, tal como un ratón, ardilla listada, ardilla, etc.). En otras realizaciones, el sujeto es un animal de laboratorio (por ejemplo, un ratón, rata, conejillo de Indias, conejo, mono, primate, etc.). En otras realizaciones, el sujeto es un animal domesticado o asilvestrado (por ejemplo, un perro, un gato, un caballo). En otras formas de realización más, el sujeto es un ser humano.

#### Kits

En otro aspecto más, la invención proporciona kits. En ciertas realizaciones, los kits comprenden un péptido de la invención. En ciertas realizaciones, los kits comprenden dos, tres, cuatro o más péptidos diferentes de la invención o una mezcla o población de los péptidos de la invención. En ciertas realizaciones, los péptidos están unidos o inmovilizados en un soporte sólido. En algunas realizaciones, los péptidos se unen o se inmovilizan en un soporte sólido a través de una nanocapa metálica (por ejemplo, nanocapa de cadmio, zinc, mercurio, oro, plata, cobre o platino). En ciertas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una partícula coloidal o una nanopartícula metálica o nanocapa), una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, una trayectoria de flujo en un rotor analítico o centrífugo, un tubo o un pozo (por ejemplo, en una placa), o un sensor (por ejemplo, un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico).

Los reactivos para tipos particulares de ensayos también se pueden proporcionar en kits de la invención. Por lo tanto, los kits pueden incluir una población de perlas (por ejemplo, adecuada para un ensayo de aglutinación o un

ensayo de flujo lateral), o una placa (por ejemplo, una placa adecuada para un ensayo ELISA). En otras realizaciones, los kits comprenden un dispositivo, tal como un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, un rotor analítico o centrífugo, una inmunoprecipitación Western, una inmunoprecipitación de punto, una inmunoprecipitación de ranura o un sensor electroquímico, óptico u optoelectrónico. La población de perlas, la placa y los dispositivos son útiles para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, pueden ser útiles para detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende un anticuerpo de una muestra y un péptido de la invención. En ciertas realizaciones, un péptido, una mezcla de diferentes péptidos (es decir, población de péptidos) de la invención, o una composición peptídica de la invención se une o se inmoviliza sobre las perlas, la placa o el dispositivo.

Además, los kits pueden incluir diversos diluyentes y reguladores, conjugados marcados u otros agentes para la detección de antígenos o anticuerpos específicamente unidos (por ejemplo, reactivos de marcado), y otros reactivos que generan señal, tales como sustratos de enzimas, cofactores y cromógenos. En algunas realizaciones, el kit comprende un anticuerpo IgG/IgM anti-humano, anti-canino o anti-felino conjugado con un marcador detectable (por ejemplo, una nanopartícula metálica, nanocubierta metálica, nanocapa metálica, fluoróforo, partícula de látex coloreado o enzima) como un reactivo de etiquetado. En otras realizaciones, el kit comprende proteína A, proteína G, proteínas de fusión proteína A/G, proteína L, o combinaciones de las mismas conjugadas a un marcador detectable (por ejemplo, una nanopartícula metálica, nanocubierta metálica, nanocapa metálica, fluoróforo, partículas de látex coloreadas, o enzima) como reactivo de marcaje. Una proteína de fusión A/G de proteína ejemplar combina cuatro dominios de unión a Fc de proteína A con dos de proteína G. Véase, por ejemplo, Sikkema, J.W.D., Amer. Biotech. Lab, 7:42, 1989 and Eliasson et al., J. Biol. Chem. 263, 4323-4327, 1988. En otras realizaciones más, los reactivos de marcado del kit son una segunda población de péptidos de la invención conjugados con un marcador detectable (por ejemplo, una nanopartícula metálica, nanocubierta metálica, nanocapa metálica, fluoróforo, partícula de látex coloreado o enzima). La segunda población de péptidos puede ser la misma o diferente a la primera población de péptidos, que opcionalmente puede unirse o inmovilizarse sobre un soporte sólido.

Un experto en la técnica puede determinar fácilmente otros componentes de un kit. Tales componentes pueden incluir reactivos de recubrimiento, anticuerpos de captura policlonales o monoclonales específicos para un péptido de la invención, o un cóctel de dos o más de los anticuerpos, extractos purificados o semipurificados de estos antígenos como patrones, anticuerpos detectores de anticuerpos monoclonales, un anticuerpo anti-mono, anti-perro, anti-gato, anti-pollo, o anti-humano conjugado a una etiqueta detectable, tablas de indicadores para comparaciones colorimétricas, guantes desechables, instrucciones de descontaminación, paletas o recipientes aplicadores, una copa preparatoria de muestra, etc. En una realización, un kit comprende reguladores u otros reactivos apropiados para constituir un medio de reacción que permite la formación de un complejo péptido-anticuerpo.

Dichos kits proporcionan una manera conveniente y eficiente para que un laboratorio clínico diagnostique la infección por una *Ehrlichia* patógena, como *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* o *E. canis*. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, los kits comprenden además una instrucción. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, los kits comprenden una instrucción que indica cómo usar un péptido o población de péptidos de la invención para detectar un anticuerpo contra uno o más antígenos de *Ehrlichia* o para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica. En ciertas realizaciones, los kits comprenden una instrucción que indica cómo usar una población de perlas, una placa o un dispositivo (por ejemplo, que comprende un péptido o una mezcla de diferentes péptidos de la invención) para detectar un anticuerpo contra uno o más antígenos de *Ehrlichia* o para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.

Los péptidos, composiciones y dispositivos que comprenden los péptidos, kits y métodos de la invención ofrecen una serie de ventajas. Por ejemplo, permiten la detección simple, económica, rápida, sensible y precisa de la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica, y evitan la reactividad cruzada serológica con otras afecciones con síntomas similares. Esto permite un diagnóstico preciso. Además, una prueba de diagnóstico de la invención (por ejemplo, un ensayo ELISA, inmunoensayo de flujo lateral o ensayo de aglutinación) es útil en muestras de suero que contienen anticuerpos anti-OMP-1 u otros anticuerpos producidos en respuesta a una vacuna basada en la superficie externa proteínas de *Ehrlichia*.

Los siguientes ejemplos ilustran diversos aspectos de la invención. Por supuesto, los ejemplos deben entenderse como meramente ilustrativos de solo ciertas realizaciones de la invención y no constituyen limitaciones sobre el alcance de la invención.

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1-Ensayo ELISA

Se sintetizaron tres poblaciones diferentes de péptidos usando procedimientos de síntesis estándar. Cada péptido en la primera población de péptidos (ECHEW1) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 72. La primera población de péptidos se une específicamente a anticuerpos provocados por múltiples *Ehrlichia spp.* (por ejemplo, *canis*, *chaffeensis* y *ewingii*). Cada péptido en la segunda población de péptidos (EE12EW1) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 3. La segunda población de péptidos se une específicamente a anticuerpos provocados principalmente por *E. canis* y *E. chaffeensis* con alguna reactividad cruzada con *E. ewingii*. Cada péptido en la tercera población de

péptidos (EE13) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 71. La tercera población de péptidos se une específicamente a anticuerpos provocados principalmente por *E. ewingii* con alguna reactividad cruzada con *E. canis* y *E. chaffeensis*.

5 Cada péptido en las tres poblaciones se unió por separado a la proteína portadora albúmina de suero bovino (BSA) usando química de tioéter. Los conjugados BSA-péptido resultantes se usaron como entidades de captura en placas ELISA de 96 pozos para crear tres ensayos ELISA separados (una población de péptidos por placa). Las placas se bloquearon luego para evitar la unión no específica indeseable.

10 Se incubaron muestras de plasma de perro positivas a especies de *Ehrlichia*, según se determinó mediante ensayos de inmunofluorescencia indirecta (IFA), IDEXX SNAP 4DX Plus™, y/o SNAP 3Dx™, con los péptidos de captura inmovilizados en cada una de las tres placas de ELISA. Después de una hora de incubación, los materiales sin reaccionar se eliminaron lavando los micro pozos. La IgG o IgM de perro capturada específicamente se detectaron por reacción con la proteína A marcada con HRP. La HRP se ensayó usando un sustrato de TMB comercial. La densidad óptica de cada pozo se leyó a 650 nm con un lector de placas.

15 Se evaluaron un total de 156 muestras, de las cuales 152 dieron positivo en las placas ELISA con cuatro muestras negativas. Por lo tanto, el porcentaje de sensibilidad de la prueba fue 97.4%. Un resumen de los resultados separados por especies infecciosas de *Ehrlichia* se muestra en la Tabla 1 a continuación. Estos resultados experimentales muestran que las poblaciones de péptidos definidas por SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 71 tienen un alto grado de sensibilidad para detectar la presencia de anticuerpos frente a antígenos de diversas *Ehrlichia spp.*

20 Tabla 1-Resultados de ELISA de muestras conocidas de *Ehrlichia*-Positiva

	Positivo ELISA	por	Negativo ELISA	por	Total
No. de muestras de <i>E. canis</i> positivas <sup>1</sup>	44		1		45
No. de muestras positivas para <i>E. chaffeensis</i> <sup>2</sup>	38		2		40
No. de <i>E. ewingii</i> -muestras positivas <sup>3</sup>	46		1		47
No. de muestras positivas; especie indeterminada <sup>4</sup>	24		0		24
Muestras totales probadas	156				
Número total de muestras positivas correctamente identificadas (detectado positivo por ELISA)	152				
Número total de muestras positivas incorrectamente identificadas (detectadas negativas por ELISA)	4				
% de sensibilidad	97.4				

<sup>1</sup> Estas muestras dieron positivo en los ensayos ELISA con las poblaciones de péptidos ECHEW1 (SEQ ID NO: 72) y EE12EW1 (SEQ ID NO: 3) y tuvieron un título más alto para *E. canis* por IFA.

<sup>2</sup> Estas muestras dieron positivo en los ensayos ELISA con las poblaciones de péptidos ECHEW1 (SEQ ID NO: 72) y EE12EW1 (SEQ ID NO: 3) y tuvieron un título más alto para *E. chaffeensis* por IFA.

<sup>3</sup> Estas muestras dieron positivo en los ensayos ELISA con poblaciones de péptidos ECHEW1 (SEQ ID NO: 72) y EE13 (SEQ ID NO: 71).

<sup>4</sup> Las especies de *Ehrlichia* en estas muestras no pudieron determinarse de manera concluyente mediante análisis IFA o SNAP, pero las muestras dieron positivo en el ensayo ELISA con ECHEW1 (SEQ ID NO: 72).

**Ejemplo 2: Ensayo de flujo lateral**

Se construyó un inmunoensayo de flujo lateral en un formato de sándwich de doble antígeno para detectar la presencia de anticuerpos específicos para antígenos de *Ehrlichia* de múltiples especies. Una población de péptidos definida por SEQ ID NO: 72 se unió a BSA y los complejos resultantes se usaron como conjugado de prueba (péptidos marcados con nanopartículas de oro) y como captura (inmovilizados en la línea de prueba del dispositivo). La señal producida en la línea de prueba fue potenciada por los conjugados de proteína A y proteína G-oro añadidos al conjugado de péptido marcado. El dispositivo se muestra en la Figura 5.

Para llevar a cabo el ensayo, se aplica una gota de sangre entera anticoagulada, suero o plasma al puerto de muestra del dispositivo. La almohadilla de separación de sangre filtra las células sanguíneas de la sangre entera. El plasma (o suero) se moviliza y se une específicamente al conjugado de prueba presente en la almohadilla conjugada y cualquier complejo formado de anticuerpo-péptido migra a la membrana de nitrocelulosa que contiene la prueba y las regiones de control. La aplicación de un regulador de seguimiento después de la aplicación de la muestra mueve los conjugados de ensayo libres y unidos a través de la membrana de nitrocelulosa hacia la almohadilla absorbente superior. Los complejos de péptido-anticuerpo marcados se mueven a la línea de prueba donde los péptidos inmovilizados capturan complejos de péptido-anticuerpo marcados a través de los segundos sitios de unión en los anticuerpos. Los conjugados de proteína A-oro y proteína G-oro en la mezcla conjugada se unen a anticuerpos capturados que amplifican la señal de detección. La aparición de una línea roja en el sitio de prueba y una segunda línea roja en el sitio de control indica la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia spp.* (por ejemplo, *canis*, *chaffeensis* o *ewingii*) en la muestra. La aparición de una línea roja solo en el sitio de control indica la ausencia de anticuerpos contra todas las *Ehrlichia spp.* en la muestra. La prueba se considera inválida si (i) aparece una señal en la línea de prueba, pero no hay señal en la línea de control o (ii) no se observa señal en las líneas de control o de prueba.

Las mismas 156 muestras de plasma de perro *Ehrlichia* positivas conocidas evaluadas mediante ensayo ELISA en el Ejemplo 1 se probaron en el dispositivo de flujo lateral. Además, se evaluaron 120 muestras de perros (100 muestras de plasma y 20 muestras de sangre entera) que se determinó que eran negativas mediante ensayos de inmunofluorescencia indirecta o IDEXX SNAP 4DX Plus™. Los resultados se resumen en la Tabla 2 a continuación. El ensayo de flujo lateral tuvo una sensibilidad del 97.4% con un intervalo de confianza del 95% de 93.6-99.3%. La especificidad del ensayo fue 98.3% con un intervalo de confianza del 95% de 94.1-99.8%. Este ejemplo demuestra que una población de péptidos definida por la SEQ ID NO: 72 puede detectar eficazmente anticuerpos contra antígenos de *Ehrlichia* cuando se emplea en un formato de ensayo lateral.

Tabla 2: Resultados del ensayo de flujo lateral de muestras conocidas de *Ehrlichia* positivas y negativas

	Negativo por flujo lateral	Positivo por flujo lateral
No. de muestras negativas conocidas	118	2
No. de muestras positivas conocidas	4	152

**Ejemplo 3- Ensayo de anticuerpos fluorescentes indirectos**

Se construye una prueba de inmunofluorescencia indirecta utilizando perlas de látex recubiertas con uno o más péptidos de la invención. En ciertas realizaciones, se usan los péptidos definidos por SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 5. Los péptidos de la invención se recubren sobre perlas de látex derivadas con maleimida usando química de tioéter. Alternativamente, los péptidos de la invención se pueden conjugar con BSA a través de tioéter o químicas similares y se absorben pasivamente en perlas de látex. Luego se inmoviliza una población de tales perlas en un portaobjetos de vidrio usando técnicas conocidas.

Para llevar a cabo el ensayo, se aplica una gota de suero o plasma (diluido apropiadamente con un regulador adecuado) de perros sospechosos de tener anticuerpos anti-*Ehrlichia* al portaobjetos de vidrio recubierto con perlas de látex. Después de un tiempo de incubación adecuado, los materiales que no han reaccionado se eliminan por lavado y se aplica una gota de IgG (o IgM) anti-perro marcada fluorescentemente y los portaobjetos se incuban durante un período de tiempo adicional. La preparación final se observa bajo un microscopio de fluorescencia para determinar perlas de látex marcadas fluorescentemente. La clasificación del suero/plasma de prueba como positiva o negativa se basa en la comparación con los controles apropiados. Se puede usar un marcador de enzima en lugar del marcador fluorescente, en cuyo caso el paso de visualización emplea un sustrato de enzima. Por ejemplo, las IgG/IgM anti-perro marcadas con fosfatasa alcalina se pueden visualizar exponiendo el portaobjetos a un sustrato BCIP-nitro BT. La proteína etiquetada A, proteína G o proteína A/G puede usarse en lugar de IgG anti-perro marcada e IgM anti-perro para detectar anticuerpos unidos a las perlas recubiertas de péptido.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Abaxis, Inc. Mehra, Rajesh K. Aron, Kenneth P. Bleile, Dennis M. Forsyth, Timothy P. Walker, Jeremy D. Cuesico, Cristina R.

<120> PÉPTIDOS, DISPOSITIVOS Y MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE EHRlichIA

<130> ABAX-040/01WO 010265-2241

5 <150> US 61/712,578

<151> 2012-10-11

<160> 86

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

15 <220>

<221> características\_miscláneas

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

20 <221> características\_miscláneas

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Thr o Val

<220>

<221> características\_miscláneas

25 <222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (18)..(18)

30 <223> Xaa puede ser Glu o Gln

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (20)..(20)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

35 <220>

<221> características\_miscláneas

<222> (22)..(22)

- <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (24)..(24)
- 5 <223> Xaa puede ser Ala o Ile  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro
- 10 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
 <220>
- 15 <221> características\_misceláneas  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto His, Asn, Ser o Ala  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas
- 20 <222> (28)..(28)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Ser o Pro  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (29)..(29)
- 25 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Pro, Asn o Ser  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Glu, Asp o Ser
- 30 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (31)..(31)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Asn, Val o His  
 <220>
- 35 <221> características\_misceláneas  
 <222> (32)..(32)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Thr

<220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (33)..(33)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Phe o Ile

5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Thr o Asp

<220>

10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (35)..(35)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Lys, Val o Pro

<220>

<221> características\_miscláneas

15 <222> (36)..(36)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Gly, Pro o Ser

<220>

<221> características\_miscláneas  
 <222> (37)..(37)

20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Tyr, Asn o Thr

<220>

<221> características\_miscláneas  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ser, Tyr o Ile

25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (39)..(39)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Ser

<400> 1

<b>Ser</b>	<b>Xaa</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Asp</b>	<b>Lys</b>	<b>Gln</b>	<b>Thr</b>	<b>Thr</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Ile</b>	<b>Trp</b>	<b>Gly</b>	<b>Leu</b>	<b>Lys</b>
1				5					10					15	

<b>Gln</b>	<b>Xaa</b>	<b>Trp</b>	<b>Xaa</b>	<b>Gly</b>	<b>Xaa</b>	<b>Pro</b>	<b>Xaa</b>								
			20					25					30		

<b>Xaa</b>	<b>Cys</b>						
		35					40

30 <210> 2

- <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>
- 5 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Val
- 10 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>
- 15 <221> características\_misceláneas  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas
- 20 <222> (19)..(19)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Gln  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (21)..(21)
- 25 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val
- 30 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile  
 <220>
- 35 <221> características\_misceláneas  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro,

- <220>  
<221> características\_miscláneas  
<222> (27)..(27)  
<223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys
- 5 <220>  
<221> características\_miscláneas  
<222> (28)..(28)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto His, Asn, Ser o Ala  
<220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
<222> (29)..(29)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Ser o Pro  
<220>  
<221> características\_miscláneas
- 15 <222> (30)..(30)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Pro, Asn o Ser  
<220>  
<221> características\_miscláneas  
<222> (31)..(31)
- 20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Glu, Asp o Ser  
<220>  
<221> características\_miscláneas  
<222> (32)..(32)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Asn, Val o His
- 25 <220>  
<221> características\_miscláneas  
<222> (33)..(33)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Thr  
<220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
<222> (34)..(34)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Phe o Ile  
<220>  
<221> características\_miscláneas
- 35 <222> (35)..(35)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Thr o Asp  
<220>

- <221> características\_miscláneas  
 <222> (36)..(36)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Lys, Val o Pro  
 <220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
 <222> (37)..(37)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Gly, Pro o Ser  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 10 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Tyr, Asn o Thr  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (39)..(39)  
 15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ser, Tyr o Ile  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Ser
- 20 <400> 2
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Ser | Xaa | Lys | Glu | Asp | Lys | Gln | Thr | Thr | Xaa | Xaa | Ile | Trp | Gly | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
- 
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Gln | Xaa | Trp | Xaa | Gly | Xaa | Pro | Xaa |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
- 
- |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Xaa |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |
- <210> 3  
 <211> 71  
 <212> PRT
- 25 <213> Secuencia artificial  
 <220>
- <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <220>
- <221> características\_miscláneas
- 30 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Val

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Asp
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (12)..(12)
- 20 <223> Xaa puede ser Leu o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (13)..(13)  
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (22)..(22)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>

- <221> características\_miscláneas  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
 <220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 10 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (26)..(26)  
 15 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (39)..(39)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 20 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 25 <221> características\_miscláneas  
 <222> (44)..(44)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 30 <222> (48)..(48)  
 <223> Xaa puede ser Val o Ala  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (49)..(49)  
 35 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>
- <221> características\_miscláneas

<222> (56)..(56)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_miscláneas

5 <222> (58)..(58)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<400> 3

Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Lys  
1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Asn  
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Xaa  
35 40 45

Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn  
50 55 60

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys  
65 70

<210> 4

10 <211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

15 <220>

<221> características\_miscláneas

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

20 <221> características\_miscláneas

<222> (6)..(6)

<223> Xaa puede ser Glu o Asp

<220>

<221> características\_miscláneas

25 <222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser Thr o Pro

<220>

- <221> características\_miscláneas  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 10 <222> (13)..(13)  
 <223> Xaa puede ser Leu o Val  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (14)..(14)  
 15 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (19)..(19)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 20 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 25 <221> características\_miscláneas  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 30 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (25)..(25)  
 35 <223> Xaa puede ser Ala o Ile  
 <220>
- <221> características\_miscláneas

- <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 5 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- <222> (40)..(40)
- 10 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 15 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>
- 20 <221> características\_miscláneas  
 <222> (49)..(49)  
 <223> Xaa puede ser Val o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 25 <222> (50)..(50)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (57)..(57)
- 30 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (59)..(59)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- 35 <400> 4

ES 2 668 863 T3

Cys Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu  
 1 5 10 15

Lys Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly  
 20 25 30

Asn Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly  
 35 40 45

Xaa Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln  
 50 55 60

Asn Lys Phe Thr Ile Ser Asn  
 65 70

<210> 5

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<220>

<221> características\_misceláneas

10 <222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (9)..(9)

15 <223> Xaa puede ser Asp o Asn

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (12)..(12)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

20 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (16)..(16)

<223> Xaa puede ser Val o Ala

<220>

25 <221> características\_misceláneas

<222> (17)..(17)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (24)..(24)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

5 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (26)..(26)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<400> 5

**Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Xaa**  
**1 5 10 15**

**Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn**  
**20 25 30**

**Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys**  
**35**

10

<210> 6

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (8)..(8)

20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

25 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

30 <221> características\_misceláneas

<222> (17)..(17)

<223> Xaa puede ser Val o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (18)..(18)

5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

10 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <400> 6

<b>Cys</b>	<b>Phe</b>	<b>Ser</b>	<b>Ala</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Glu</b>	<b>Xaa</b>	<b>Ala</b>	<b>Xaa</b>	<b>Thr</b>	<b>Arg</b>	<b>Xaa</b>	<b>Thr</b>	<b>Phe</b>	<b>Gly</b>
1				5					10					15	

<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Lys</b>	<b>Gln</b>	<b>Tyr</b>	<b>Asp</b>	<b>Gly</b>	<b>Ala</b>	<b>Xaa</b>	<b>Ile</b>	<b>Xaa</b>	<b>Glu</b>	<b>Asn</b>	<b>Gln</b>	<b>Val</b>	<b>Gln</b>
			20					25					30		

<b>Asn</b>	<b>Lys</b>	<b>Phe</b>	<b>Thr</b>	<b>Ile</b>	<b>Ser</b>	<b>Asn</b>
		35				

15 <210> 7  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (4)..(4)

25 <223> Xaa puede ser Glu o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa puede ser Pro o Ser

30 <220>  
 <221> características\_miscláneas

<222> (10)..(10)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ser  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas

5 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Gln  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (22)..(22)

10 <223> Xaa puede ser Pro o Thr  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val

15 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>

20 <221> características\_misceláneas  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Asn  
 <400> 7

Ser	Val	Lys	Xaa	Asp	Lys	Gln	Xaa	Thr	Xaa	Val	Leu	Trp	Gly	Ile	Arg
1				5					10					15	

Gln	Asn	Trp	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Ala	Xaa	Xaa	Gln	Val	Glu	Val	Glu	Trp
			20					25					30		

Gln	Gln	Arg	Gly	Trp	Gly	Gly	Cys
		35					40

25 <210> 8  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

30 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <400> 8

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 9

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 9

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10 <210> 10

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 10

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 11

<211> 40

20 <212> PRT

ES 2 668 863 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 11

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

5 Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 12

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 12

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 13

15 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

20 <400> 13

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 14

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 14

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10 <210> 15

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 15

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 16

<211> 40

20 <212> PRT

ES 2 668 863 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 16

5 Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15  
 Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 17

<211> 40

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 17

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

15 <210> 18

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 18

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

ES 2 668 863 T3

<210> 19

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 19

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 20

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

15 <400> 20

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 21

<211> 40

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 21

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 22

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 22

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10 <210> 23

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 23

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 24

<211> 40

20 <212> PRT

ES 2 668 863 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 24

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

5 Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 25

<211> 40

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 25

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

15 <210> 26

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 26

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 27

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 27

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

10

<210> 28

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 28

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 29

20 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 668 863 T3

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 29

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

5 <210> 30

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 30

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 31

<211> 40

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 31

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

20

<210> 32

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 32

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 33

<211> 40

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 33

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

15 <210> 34

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 34

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 35

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 35

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10

<210> 36

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 36

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 37

20 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 668 863 T3

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 37

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 38

5 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

10 <400> 38

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 39

<211> 40

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 39

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

20 <210> 40

<211> 40

<212> PRT

ES 2 668 863 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 40

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

5 Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 41

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 41

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 42

15 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

20 <400> 42

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

ES 2 668 863 T3

<210> 43

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 43

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 44

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

15 <400> 44

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 45

<211> 40

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 45

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 46

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 46

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10

<210> 47

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 47

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 48

20 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 668 863 T3

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 48

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 49

5 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

10 <400> 49

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 50

<211> 40

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 50

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

20 <210> 51

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

5 <400> 51

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 52

<211> 40

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 52

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

15 <210> 53

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 53

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

ES 2 668 863 T3

<210> 54

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 54

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 55

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

15 <400> 55

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 56

<211> 40

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 56

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 57

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 57

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

10

<210> 58

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 58

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
 35 40

<210> 59

20 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

## ES 2 668 863 T3

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 59

```
Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1           5           10           15
```

```
Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
          20           25           30
```

```
Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
          35           40
```

<210> 60

5 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

10 <400> 60

```
Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1           5           10           15
```

```
Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
          20           25           30
```

```
Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
          35           40
```

<210> 61

<211> 40

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 61

```
Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1           5           10           15
```

```
Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
          20           25           30
```

```
Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
          35           40
```

20 <210> 62

<211> 40

ES 2 668 863 T3

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

5 <400> 62

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 63

<211> 40

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 63

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

15 <210> 64

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 64

ES 2 668 863 T3

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 65

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 65

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

10 <210> 66

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 66

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 67

<211> 40

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 668 863 T3

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 67

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

5 <210> 68

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 68

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 69

15 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

20 <400> 69

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg  
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp  
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys  
35 40

<210> 70

- <211> 40  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>
- 5 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
<220>  
<221> características\_misceláneas  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa puede ser Ala o Val
- 10 <220>  
<221> características\_misceláneas  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa puede ser Glu o Asp  
<220>
- 15 <221> características\_misceláneas  
<222> (8)..(8)  
<223> Xaa puede ser Thr o Pro  
<220>  
<221> características\_misceláneas
- 20 <222> (10)..(10)  
<223> Xaa puede ser Ser, Val o Ala  
<220>  
<221> características\_misceláneas  
<222> (11)..(11)
- 25 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
<220>  
<221> características\_misceláneas  
<222> (12)..(12)  
<223> Xaa puede ser Leu o Val
- 30 <220>  
<221> características\_misceláneas  
<222> (13)..(13)  
<223> Xaa puede ser Tyr, Phe o Trp  
<220>
- 35 <221> características\_misceláneas  
<222> (16)..(16)  
<223> Xaa puede ser Lys o Arg

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (19)..(19)  
 <223> Xaa puede ser Trp o Phe  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (22)..(22)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (23)..(23)
- 20 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn and Lys  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (27)..(39)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <400> 70

ES 2 668 863 T3

Ser Xaa Lys Asp Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Xaa  
 1 5 10 15

Gln Xaa Xaa Xaa Gly Xaa  
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys  
 35 40

<210> 71

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<220>

<221> características\_miscláneas

10 <222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (12)..(12)

15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (17)..(17)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

20 <220>

<221> características\_miscláneas

<222> (24)..(24)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>

25 <221> características\_miscláneas

<222> (26)..(26)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<400> 71

ES 2 668 863 T3

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Glu Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Leu  
1 5 10 15

Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn  
20 25 30

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys  
35

<210> 72

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<220>

<221> características\_misceláneas

10 <222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (5)..(5)

15 <223> Xaa puede ser Glu o Asp

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Thr o Pro

20 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Thr o Val

<220>

25 <221> características\_misceláneas

<222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>

<221> características\_misceláneas

30 <222> (12)..(12)

<223> Xaa puede ser Leu o Val

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (13)..(13)  
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (22)..(22)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (23)..(23)
- 20 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (39)..(39)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>

- <221> características\_miscláneas  
 <222> (44)..(44)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
 <222> (49)..(49)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 10 <222> (56)..(56)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (58)..(58)
- 15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <400> 72
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Xaa | Lys | Glu | Xaa | Lys | Gln | Xaa | Thr | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Gly | Leu | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gln | Xaa | Trp | Xaa | Gly | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Asn |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Phe | Ser | Ala | Lys | Glu | Glu | Xaa | Ala | Glu | Thr | Arg | Xaa | Thr | Phe | Gly | Leu |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Xaa | Lys | Gln | Tyr | Asp | Gly | Ala | Xaa | Ile | Xaa | Glu | Asn | Gln | Val | Gln | Asn |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Phe | Thr | Ile | Ser | Asn | Cys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
- <210> 73  
 <211> 72
- 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <220>
- 25 <221> características\_miscláneas  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Val

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Asp
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (12)..(12)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (13)..(13)
- 20 <223> Xaa puede ser Leu o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (19)..(19)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>

- <221> características\_miscláneas  
<222> (24)..(24)  
<223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
<220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
<222> (25)..(25)  
<223> Xaa puede ser Ala o Ile  
<220>
- <221> características\_miscláneas
- 10 <222> (26)..(26)  
<223> Xaa puede ser Thr o Pro  
<220>
- <221> características\_miscláneas  
<222> (27)..(27)
- 15 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
<220>
- <221> características\_miscláneas  
<222> (40)..(40)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- 20 <220>
- <221> características\_miscláneas  
<222> (45)..(45)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
<220>
- 25 <221> características\_miscláneas  
<222> (50)..(50)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
<220>
- <221> características\_miscláneas
- 30 <222> (57)..(57)  
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
<220>
- <221> características\_miscláneas  
<222> (59)..(59)
- 35 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
<400> 73

ES 2 668 863 T3

Cys Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu  
1 5 10 15

Lys Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly  
20 25 30

Asn Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Glu Thr Arg Xaa Thr Phe Gly  
35 40 45

Leu Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln  
50 55 60

Asn Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys  
65 70

<210> 74

<211> 13

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 74

Gln Arg Lys Asn Glu Pro Ser Glu Thr Asn Pro Gly Gln  
1 5 10

10 <210> 75

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 75

Met Val Glu Phe Glu Glu Leu Gln Arg Asn Trp His Pro  
1 5 10

<210> 76

<211> 13

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 76

25 Met Leu Glu Val Ser Trp Leu Ile Asp Phe Met Ala Pro  
1 5 10

<210> 77

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 77

<b>Gln</b>	<b>Asp</b>	<b>Glu</b>	<b>Asn</b>	<b>Leu</b>	<b>Tyr</b>	<b>Ser</b>	<b>Ser</b>	<b>Ile</b>	<b>Phe</b>	<b>Phe</b>	<b>Val</b>	<b>Pro</b>
1			5						10			

<210> 78

<211> 13

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 78

<b>Gln</b>	<b>Arg</b>	<b>Lys</b>	<b>Asn</b>	<b>Asp</b>	<b>Pro</b>	<b>Ser</b>	<b>Glu</b>	<b>Thr</b>	<b>Ser</b>	<b>Pro</b>	<b>Gly</b>	<b>Gln</b>
1			5						10			

15 <210> 79

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<400> 79

<b>Met</b>	<b>Ala</b>	<b>Pro</b>	<b>Phe</b>	<b>His</b>	<b>Glu</b>	<b>Leu</b>	<b>Asp</b>	<b>Val</b>	<b>Asn</b>	<b>Asn</b>	<b>His</b>	<b>Pro</b>
1			5						10			

<210> 80

25 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

30 <400> 80

<b>Ser</b>	<b>Leu</b>	<b>Asn</b>	<b>Val</b>	<b>Ser</b>	<b>Phe</b>	<b>Leu</b>	<b>Ile</b>	<b>Asp</b>	<b>Pro</b>	<b>Met</b>	<b>Ala</b>	<b>Pro</b>
1			5						10			

<210> 81

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <400> 81

**Gln Asp Ser Asn Leu Tyr Ser Ser Ile Phe Phe Val Pro**  
 5    **1**                                   **5**                                   **10**

<210> 82  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 6X His tag  
 <400> 82

**His His His His His His**  
 1                                   5

<210> 83

15 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

20 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (2) .. (2)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Val  
 <220>

25 <221> características\_miscláneas  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas

30 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Gln  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (22) .. (22)

35 <223> Xaa puede ser Ser o Val

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (24) .. (24)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (25) .. (25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (26).. (26)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (27) .. (27)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto His, Asn, Ser o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (28) .. (28)
- 20 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Ser o Pro  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (29).. (29)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Pro, Asn o Ser
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ala, Glu, Asp o Ser  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (31)..(31)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asp, Asn, Val o Arg  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (32)..(32)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Thr  
 <220>

- <221> características\_miscláneas  
 <222> (33)..(33)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Phe o Ile  
 <220>
- 5 <221> características\_miscláneas  
 <222> (34) .. (34)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Asn, Thr o Asp  
 <220>
- <221> características\_miscláneas
- 10 <222> (35)..(35)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Lys, Val o Pro  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (36) .. (36)
- 15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Gly, Pro o Ser  
 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (37)..(37)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Tyr, Asn o Thr
- 20 <220>
- <221> características\_miscláneas  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Ser, Tyr o Ile  
 <220>
- 25 <221> características\_miscláneas  
 <222> (39) .. (39)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido excepto Phe o Ser  
 <400> 83

<b>Ser</b>	<b>Xaa</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Asp</b>	<b>Lys</b>	<b>Gln</b>	<b>Thr</b>	<b>Thr</b>	<b>Thr</b>	<b>Xaa</b>	<b>Ile</b>	<b>Trp</b>	<b>Gly</b>	<b>Leu</b>	<b>Lys</b>
1				5					10					15	

<b>Gln</b>	<b>Xaa</b>	<b>Trp</b>	<b>Asp</b>	<b>Gly</b>	<b>Xaa</b>	<b>Pro</b>	<b>Xaa</b>								
			20				25					30			

<b>Xaa</b>	<b>Cys</b>							
30		35						40

- <210> 84  
 <211> 26

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

5 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (2) .. (2)

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

10 <221> características\_misceláneas

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Thr o Val

<220>

<221> características\_misceláneas

15 <222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (18)..(18)

20 <223> Xaa puede ser Glu o Gln

<220>

<221> características\_misceláneas

<222> (20) .. (20)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

25 <220>

<221> características\_misceláneas

<222> (22) .. (22)

<223> Xaa puede ser Ser o Val

<220>

30 <221> características\_misceláneas

<222> (24) .. (24)

<223> Xaa puede ser Ala o Ile

<220>

<221> características\_misceláneas

35 <222> (25) .. (25)

<223> Xaa puede ser Thr o Pro

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (26) .. (26)

<223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys

<400> 84

Ser Xaa Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Xaa Xaa Ile Trp Gly Leu Lys  
 1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Pro Xaa Xaa Xaa  
 20 25

5

<210> 85

<211> 72

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (2) .. (2)

15

<223> Xaa puede ser Ala o Val

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Glu o Asp

20

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Thr o Pro

<220>

25

<221> características\_miscláneas

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Thr o Val

<220>

<221> características\_miscláneas

30

<222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (12)..(12)

- <223> Xaa puede ser Leu o Val  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (13)..(13)
- 5 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 10 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (20) .. (20)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 15 <221> características\_misceláneas  
 <222> (22) .. (22)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas
- 20 <222> (23) .. (23)  
 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (24) .. (24)
- 25 <223> Xaa puede ser Ala o Ile  
 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (25) .. (25)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro
- 30 <220>  
 <221> características\_misceláneas  
 <222> (26) .. (26)  
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys  
 <220>
- 35 <221> características\_misceláneas  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (50)..(50)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (57) .. (57)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (59) .. (59)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido  
 <400> 85
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Xaa | Lys | Glu | Xaa | Lys | Gln | Xaa | Thr | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Gly | Leu | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gln | Xaa | Trp | Xaa | Gly | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Xaa | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Asn |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Phe | Ser | Ala | Lys | Glu | Glu | Lys | Xaa | Ala | Asp | Thr | Arg | Xaa | Thr | Phe | Gly |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Xaa | Lys | Gln | Thr | Asp | Gly | Ala | Xaa | Ile | Xaa | Glu | Asn | Gln | Val | Gln |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Asn | Lys | Phe | Thr | Ile | Ser | Asn | Cys |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
- 20 <210> 86  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>
- 25 <223> péptido capaz de enlazarse a anticuerpos que reconocen antígenos de Ehrlichia  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (2) .. (2)  
 <223> Xaa puede ser Ala o Val

- <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa puede ser Glu o Asp
- 5 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro  
 <220>
- 10 <221> características\_miscláneas  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Xaa puede ser Thr o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 15 <222> (11)..(11)  
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (12)..(12)
- 20 <223> Xaa puede ser Leu o Val  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (13)..(13)  
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
- 25 <220>  
 <221> características\_miscláneas  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>
- 30 <221> características\_miscláneas  
 <222> (20) .. (20)  
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn  
 <220>  
 <221> características\_miscláneas
- 35 <222> (22) .. (22)  
 <223> Xaa puede ser Ser o Val  
 <220>

<221> características\_miscláneas

<222> (23) .. (23)

<223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr

<220>

5 <221> características\_miscláneas

<222> (24) .. (24)

<223> Xaa puede ser Ala o Ile

<220>

<221> características\_miscláneas

10 <222> (25) .. (25)

<223> Xaa puede ser Thr o Pro

<220>

<221> características\_miscláneas

<222> (26) .. (26)

15 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys

<400> 86

<b>Ser</b>	<b>Xaa</b>	<b>Lys</b>	<b>Glu</b>	<b>Xaa</b>	<b>Lys</b>	<b>Gln</b>	<b>Xaa</b>	<b>Thr</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Gly</b>	<b>Leu</b>	<b>Lys</b>
1				5				10						15	

<b>Gln</b>	<b>Xaa</b>	<b>Trp</b>	<b>Xaa</b>	<b>Gly</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>	<b>Xaa</b>
			20					25	

## REIVINDICACIONES

1. Una población de péptidos aislados que comprende tres o más péptidos diferentes, en donde cada péptido en la población comprende una secuencia de:

5 (i) S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-E-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-L-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 72),

en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido, o

10 (ii) S-X<sub>2</sub>-K-E-X<sub>5</sub>-K-Q-X<sub>8</sub>-T-X<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-X<sub>12</sub>-X<sub>13</sub>-G-L-K-Q-X<sub>18</sub>-W-X<sub>20</sub>-G-X<sub>22</sub>-X<sub>23</sub>-X<sub>24</sub>-X<sub>25</sub>-X<sub>26</sub>-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X<sub>39</sub>-A-X<sub>41</sub>-T-R-X<sub>44</sub>-T-F-G-X<sub>48</sub>-X<sub>49</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>56</sub>-I-X<sub>58</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3),

en donde X<sub>2</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X<sub>5</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X<sub>8</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>10</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X<sub>11</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X<sub>12</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X<sub>13</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X<sub>18</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>20</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>22</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X<sub>23</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X<sub>24</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X<sub>25</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X<sub>26</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X<sub>39</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>41</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X<sub>44</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>48</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X<sub>49</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>56</sub> es cualquier aminoácido y X<sub>58</sub> es cualquier aminoácido, o

20 (iii) F-S-A-K-E-E-X<sub>7</sub>-A-E-T-R-X<sub>12</sub>-T-F-G-L-X<sub>17</sub>-K-Q-Y-D-G-A-X<sub>24</sub>-I-X<sub>26</sub>-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 71), en donde X<sub>7</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>12</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>17</sub> es cualquier aminoácido, X<sub>24</sub> es cualquier aminoácido, y X<sub>26</sub> es cualquier aminoácido.

2. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde

(i) X<sub>39</sub> es K,

35 (ii) X<sub>44</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y R, y X<sub>49</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, o

(iii) X<sub>56</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y Q, y X<sub>58</sub> es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y T.

3. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde cada péptido aislado comprende una secuencia peptídica N-terminal o C-terminal adicional que es una secuencia OMP-1 nativa o un antígeno *Ehrlichia* no OMP-1.

4. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde cada péptido aislado comprende al menos 70, 75, 80 u 85 aminoácidos.

45 5. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde uno o más de los péptidos aislados está (i) conjugado con un ligando o está biotinilado, o (ii) está conjugado con avidina, estreptavidina, neutravidina, albúmina de suero, hemocianina de lapa californiana (KLH), una enzima, o una nanopartícula metálica o nanocubierta.

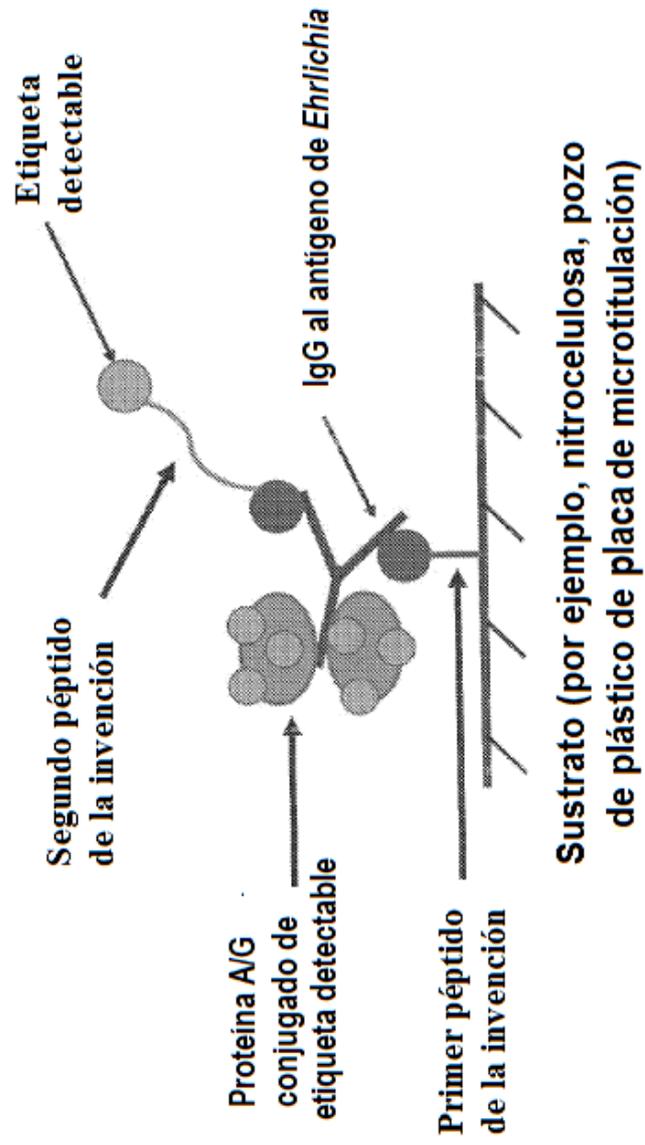
6. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en la que la población de péptidos se inmoviliza en un soporte sólido opcionalmente a través de una nanocapa metálica.

50 7. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde el soporte sólido es una pluralidad de perlas, una trayectoria de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, un pozo en una placa de microtitulación o una trayectoria de flujo en un rotor.

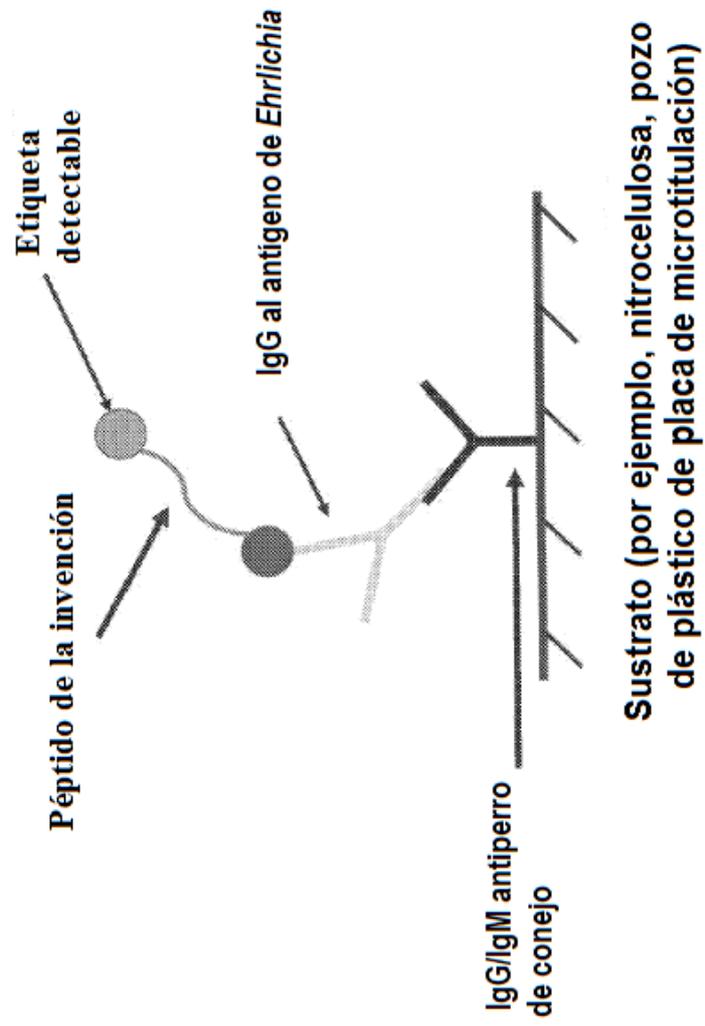
8. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde la población comprende además uno o más péptidos antigénicos de una especie de *Ehrlichia*.

9. La población de péptidos aislados de la reivindicación 1, en donde
- (i) X<sub>7</sub> en SEQ ID NO: 71 es K,
  - (ii) X<sub>12</sub> en la SEQ ID NO: 71 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y R, y X<sub>17</sub> en SEQ ID NO: 71 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, o
  - (iii) X<sub>24</sub> en la SEQ ID NO: 71 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en K y Q, y X<sub>26</sub> en SEQ ID NO: 71 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y T.
- 5 10. Un método para detectar en una muestra un anticuerpo para un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia*, comprendiendo el método:
- poner en contacto una muestra con la población de péptidos aislados de la reivindicación 1; y
- 10 detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho uno o más péptidos en la población, en donde la formación de dicho complejo es indicativa de un anticuerpo para un epítipo de un antígeno de *Ehrlichia* que está presente en dicha muestra.
11. El método de la reivindicación 10, en donde dicho antígeno de *Ehrlichia* es de una especie de *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia canis* o *Ehrlichia muris*.
- 15 12. Un método para diagnosticar la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica en un sujeto, comprendiendo el método:
- poner en contacto una muestra del sujeto con la población de péptidos aislados de la reivindicación 1; y
- detectar la formación de un complejo anticuerpo-péptido que comprende dicho uno o más péptidos en la población, en donde la formación del complejo es indicativa de que el sujeto que tiene ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.
- 20 13. Un kit que comprende la población de péptidos aislados de la reivindicación 1 y un reactivo de marcación capaz de unirse a un anticuerpo que reconoce un epítipo de dicho uno o más péptidos en la población.

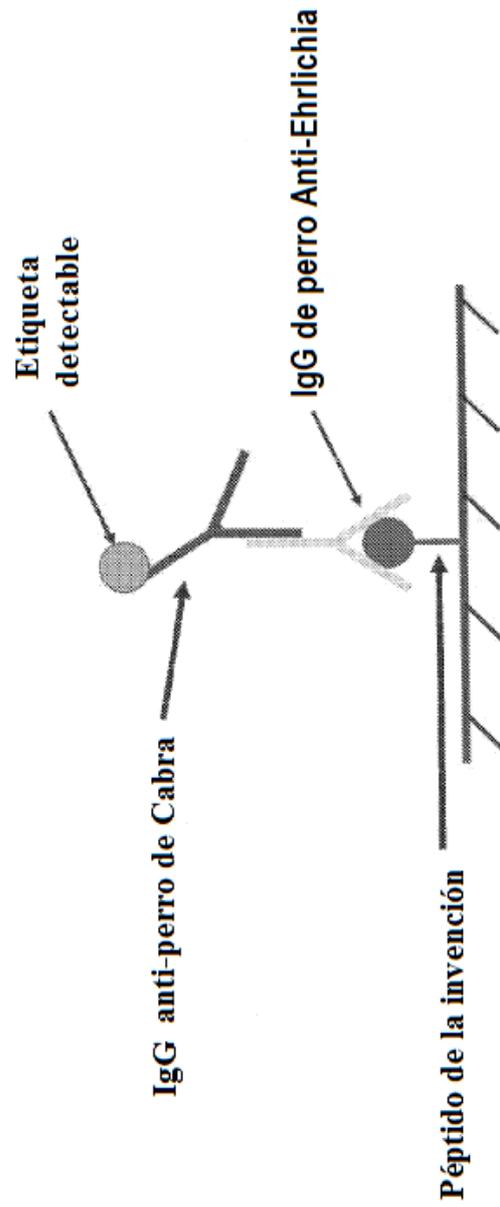
**Fig. 1**



**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Sustrato (por ejemplo, nitrocelulosa, pozo de plástico de microtitulación)**

**Fig. 4**

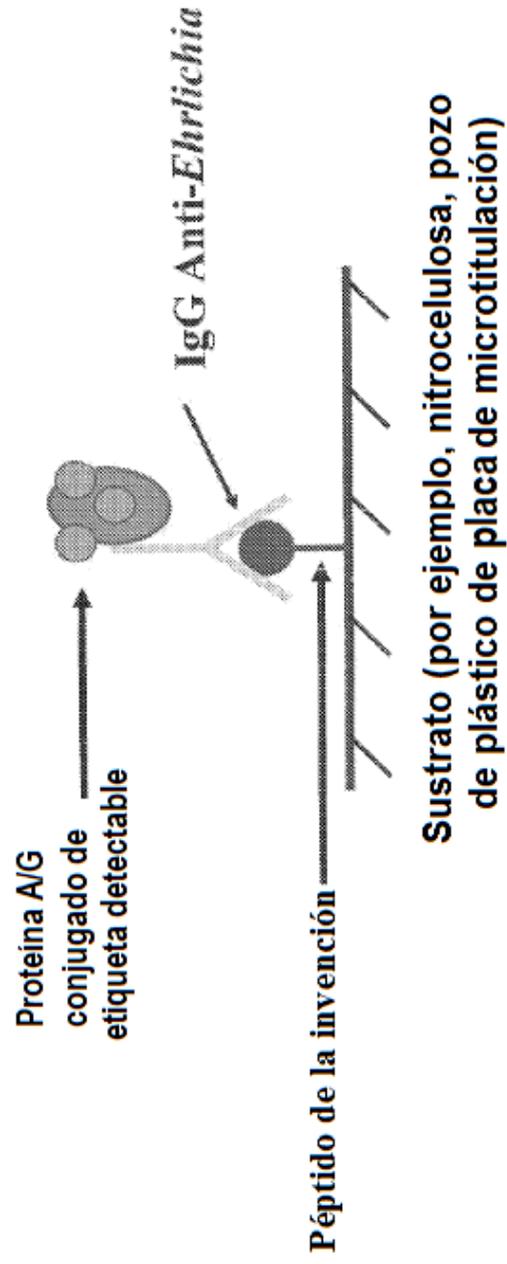


Fig. 5

