

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 794 373**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

C12Q 1/04 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/38 (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.04.2015 PCT/US2015/024208**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.10.2015 WO15153949**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.04.2015 E 15772535 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2020 EP 3126835**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para identificar especies de Ehrlichia**

30 Prioridad:

04.04.2014 US 201461975581 P

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

18.11.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 794 373 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

Composiciones y procedimientos para identificar especies de *Ehrlichia*

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general a procedimientos para identificar especies de bacterias en un sujeto infectado. En particular, la invención se refiere a procedimientos para detectar anticuerpos contra antígenos bacterianos (por ejemplo, antígenos de *Ehrlichia spp.*).

Antecedentes de la invención

10 Las bacterias *Ehrlichia* son patógenos intracelulares obligados que infectan los linfocitos circulantes en los hospedadores mamíferos. El modo más natural de transmisión de *Ehrlichia* es a través de una diversidad de vectores de garrapatas. *Ehrlichia canis* (*E. canis*) y *Ehrlichia chaffeensis* (*E. chaffeensis*) son miembros del mismo grupo de subgéneros de *Ehrlichia* que infectan a caninos y humanos y provocan la ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y la ehrlichiosis monocítica humana (EMH), respectivamente. Otra especie de *Ehrlichia* conocida como *Ehrlichia ewingii* (*E. ewingii*) tiene tropismo por granulocitos y provoca ehrlichiosis granulocítica. La enfermedad canina se caracteriza por fiebre, epilepsia, descoordinación, letargia, episodios de sangrado, linfadenopatía, pérdida de peso y pancitopenia. 15 En humanos, la enfermedad se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, mialgia y leucopenia.

20 Los ensayos de inmunofluorescencia indirecta (IF A) y los ensayos de inmunosorción 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 los anticuerpos anti-*Ehrlichia* de la sangre, plasma o suero de un paciente a células infectadas, lisados celulares o proteínas de *Ehrlichia* enteras parcialmente purificadas. Sin embargo, los ensayos actualmente conocidos para detectar anticuerpos anti-*Ehrlichia* o fragmentos de los mismos tienen una utilidad muy limitada debido a cuestiones de sensibilidad y especificidad directamente relacionadas con la naturaleza impura del antígeno o antígenos de *Ehrlichia* usados en estas pruebas.

25 Las enfermedades causadas por bacterias pertenecientes a diferentes especies de *Ehrlichia* se manifiestan de manera diferente y requieren una rutina de gestión separada (Thomas, R.J., y col.; Expert Rev Anti Infect Ther. agosto de 2009; 7(6): 709-722). Es, por lo tanto, importante identificar la especie de *Ehrlichia* que provoca una infección particular. Los inmunoensayos actualmente conocidos usan mezclas de muchos antígenos de *Ehrlichia* o antígenos que no son específicos de especies. Los procedimientos de PCR, que pueden ser útiles para identificar especies *Ehrlichia*, son utilizables solo si la garrapata se recupera y/o el tejido del hospedador se analiza poco después de la infección. Adicionalmente, el cultivo de bacterias del sitio de infección, otro procedimiento que puede ser útil para identificar especies de *Ehrlichia*, no solo es técnicamente complejo sino que también requiere tejido recién infectado. Además, un procedimiento de cultivo para la especie *E. ewingii* aún no se ha desarrollado. 30

El documento US2011/124125 (A1) describe composiciones peptídicas útiles para la detección de anticuerpos que se unen a antígenos de *Ehrlichia*, en las que los péptidos comprenden secuencias polipeptídicas basadas en un fragmento inmunogénico de la proteína de *Ehrlichia* Proteína de membrana externa 1 (OMP-1).

35 En consecuencia, sigue existiendo la necesidad en la técnica de ensayos adicionales para detectar antígenos de *Ehrlichia* y serodiagnóstico de la ehrlichiosis monocítica y la ehrlichiosis granulocítica. En particular, sigue siendo necesario un ensayo para identificar especies de *Ehrlichia*, especialmente un ensayo que pueda usarse en una diversidad de circunstancias y para diversas muestras, incluyendo muestras que no requieren aislamiento de tejidos recién infectados. La presente invención proporciona procedimientos para facilitar el diagnóstico, la identificación de especies y el tratamiento de los diversos tipos de infecciones de *Ehrlichia*. 40

Sumario de la invención

45 La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que mezclas particulares, o poblaciones, de péptidos de *Ehrlichia* o sus variantes tienen afinidad de unión preferencial por anticuerpos provocados por antígenos de especies de *Ehrlichia*. Los inventores han descubierto que puede usarse una combinación particular de estas mezclas o poblaciones de péptidos para identificar especies de *Ehrlichia* que inducen la respuesta de anticuerpos. En consecuencia, la presente invención proporciona un procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, como se define en el conjunto de reivindicaciones adjunto.

De acuerdo con la invención, el procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, comprende:

50 poner en contacto una muestra del sujeto con una primera población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-E-T-R-X₄₄-T-F-G-L-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 1), en la que X₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y 55

V, X₁₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido y detectar la formación de un primer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la primera población; en el que el procedimiento comprende además las etapas de:

(i) poner en contacto dicha muestra con una segunda población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de F-S-A-K-E-E-X₇-A-E-T-R-X₁₂-T-F-G-L-X₁₇-K-Q-Y-D-G-A-X₂₄-I-X₂₆-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 2), en la que X₇ es cualquier aminoácido, X₁₂ es cualquier aminoácido, X₁₇ es cualquier aminoácido, X₂₄ es cualquier aminoácido y X₂₆ es cualquier aminoácido y

detectar la formación de un segundo conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la segunda población, en donde la formación del primer y segundo conjunto de complejos indica que el sujeto está infectado con *Ehrlichia ewingii* (*E. ewingii*), y en donde la formación del primer conjunto de complejos, pero no el segundo, indica que el sujeto está infectado con *Ehrlichia canis* (*E. canis*) y/o *Ehrlichia chaffeensis* (*E. chaffeensis*); o

(ii) poner en contacto dicha muestra con una tercera población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-X₄₁-T-R-X₄₄-T-F-G-X₄₈-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3), en la que X₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido, X₄₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido; y

detectar la formación de un tercer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la tercera población, en el que la formación de los conjuntos primero y tercero de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis* y en el que la formación del primer pero no el tercer conjunto de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii*.

En algunas realizaciones de los procedimientos, la muestra se analiza adicionalmente con al menos un ensayo para determinar si la especie infectante es *E. canis* o *E. chaffeensis*.

En determinadas realizaciones, al menos una de las etapas de detección en cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento puede comprender: (i) realizar un ensayo ELISA; (ii) realizar un ensayo de flujo lateral; (iii) realizar un ensayo de aglutinación; (iv) realizar una transferencia Western, una transferencia de ranura o un ensayo de transferencia de punto; (v) realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda; (vi) hacer pasar la muestra a través de un rotor analítico o centrífugo; o (vii) ejecutar un ensayo de micromatrices. En algunas realizaciones, una o más de las etapas de detección comprenden hacer girar la muestra en un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, una o más de las etapas de detección comprenden analizar la muestra con un sensor electroquímico, un sensor óptico, un sensor de quimioluminiscencia o un sensor optoelectrónico. En realizaciones particulares, una o más de las etapas de detección comprenden realizar un ensayo ELISA o un ensayo de flujo lateral.

Determinadas realizaciones del procedimiento comprenden además informar resultados de detección. El informe puede realizarse electrónicamente, por escrito o verbalmente. Puede hacerse a través de una máquina tal como un ordenador.

En ciertas realizaciones de los procedimientos de la invención, los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados están unidos o inmovilizados sobre un soporte sólido.

Los aspectos adicionales y realizaciones de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada que sigue.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de una realización de un procedimiento para identificar especies de *Ehrlichia*. La abreviatura "EAL" representa la puntuación ELISA para un ensayo ELISA que usa la población de péptidos EE13 (SEQ ID NO: 2), mientras que "CAL" representa la puntuación ELISA para un ensayo ELISA que usa la población de péptidos EE12EW1 (SEQ ID NO: 3). En esta realización, se prueba una muestra de sangre completa en un ensayo ELISA, ELISA ECHEW1, usando la población de péptidos ECHEW1 (SEQ ID NO: 1), que comprende una primera población de péptidos como se describe en el presente documento. Si el resultado de ELISA ECHEW1 es positivo, la muestra se somete después a otro ensayo ELISA, ELISA EE13, usando la población de péptidos EE13, que comprende una segunda población de péptidos como se describe en el presente documento, y se somete a otro ensayo ELISA, ELISA EE12EW, usando la población de péptidos EE12EW, que comprende una tercera población de péptidos como se describe en el presente documento. Un resultado positivo de ELISA EE13 combinado con un resultado negativo de ELISA EE12EW, o un EAL más alto que CAL, indica que la muestra está infectada con *E. ewingii*. Un resultado positivo de ELISA EE12EW combinado con un resultado negativo de ELISA EE13, o un CAL más alto que EAL, indica que la muestra está infectada con *E. canis* y/o *E. chaffeensis*. Si se identifica que la muestra está infectada con *E. canis* y/o *E. chaffeensis*, la muestra se somete después a otro ensayo, en este ejemplo, un ensayo IFA para *E. canis* o *E. chaffeensis*, concurrente o no concurrentemente, para determinar si la muestra está infectada con *E. canis* o *E. chaffeensis*.

La Figura 2 es una representación gráfica de puntuaciones de anticuerpos anti-*Ehrlichia* de muestras de plasma extraídas en diversos momentos de perros infectados con la especie de *Ehrlichia* indicada. Los perros se infectaron experimentalmente con diversas especies de *Ehrlichia* y se tomaron muestras de plasma diversos días después de la infección como se indica en los gráficos. Se realizaron ensayos ELISA en las muestras usando cada una de las tres poblaciones de péptidos, ECHEW1, EE12EW y EE13. Los paneles superior izquierdo e inferior izquierdo muestran los resultados de muestras tomadas por separado de dos perros infectados con *E. canis*. El panel superior derecho muestra los resultados de muestras tomadas de un perro infectado con *E. chaffeensis*. Las puntuaciones de anticuerpos se calcularon usando los procedimientos descritos en el presente documento.

Descripción detallada

Como se usa en el presente documento, los siguientes términos deben tener 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 el presente documento, es una porción de un antígeno que un anticuerpo reconoce específicamente. 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 determinadas realizaciones, los epítopos pueden comprender regiones no contiguas.

La expresión "proteína OMP-1" se refiere a cualquiera de los parálogos de la proteína de membrana externa 1 de *Ehrlichia*, incluyendo, pero no limitado 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.

La expresión "proteína MSP4" se refiere a cualquier miembro de la familia de antígenos de superficie MSP4 de *Ehrlichia*, incluyendo, pero no limitado a, *E. canis* MSP4, P30-5 y P28-1. OMP y MSP son variantes alélicas.

Las expresiones "ácido nucleico", "oligonucleótido" y "polinucleótido" se usan indistintamente en el presente documento y abarcan ADN, ARN, ADNc, ya sea monocatenario o bicatenario, así como modificaciones químicas de los mismos.

Las abreviaturas de aminoácidos de una sola letra usadas en el presente documento tienen su significado convencional en la técnica, y todas las secuencias de péptidos descritas en el presente documento están escritas de acuerdo con la convención, con el extremo N-terminal a la izquierda y el extremo C-terminal a la derecha.

El término "puntuación" como se usa en el presente documento se refiere a un valor, nivel, fuerza o grado relativos de un resultado de ensayo. Puede crearse artificialmente por una persona experta en la técnica o mediante el uso de un algoritmo, a veces usando muestras con analitos conocidos, por ejemplo, antígenos o anticuerpos, opcionalmente usando muestras con concentraciones o títulos conocidos de los analitos conocidos. Puede ser un número asignado manualmente por una persona experta en la técnica o generado con una fórmula o algoritmo. También puede ser un símbolo, por ejemplo, "-", "+" o "++". Puede generarse una puntuación a partir del cálculo con una fórmula o algoritmo o puede asignarse mediante inspección visual, medición o estimación del resultado del ensayo. Cuando se usan muestras con concentraciones o títulos conocidos de analitos conocidos, tales muestras pueden ensayarse en condiciones diluidas y sin diluir y puede generarse un intervalo de puntuaciones o una curva patrón de puntuaciones, que puede usarse para asignar o estimar las puntuaciones de muestras desconocidas ensayadas para los mismos analitos, preferentemente con los mismos ensayos.

Se definirán términos adicionales, según se requiera, en la descripción detallada que sigue.

La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que mezclas particulares, o poblaciones, de péptidos de *Ehrlichia* o sus variantes tienen afinidad de unión preferencial por anticuerpos provocados por antígenos de especies de *Ehrlichia*. Los inventores han descubierto que puede usarse una combinación particular de estas mezclas o poblaciones de péptidos para identificar especies de *Ehrlichia* que inducen la respuesta de anticuerpos. En consecuencia, la presente invención proporciona un procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, según lo recitado por el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

En determinadas realizaciones, el procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, comprende:

- poner en contacto una muestra del sujeto con una primera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- detectar la formación de un primer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la primera población; poner en contacto dicha muestra con una segunda población de péptidos aislados como se describe en el presente documento; y
- detectar la formación de un segundo conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la segunda población, en el que la formación del primer y segundo conjunto de complejos indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii* y en el que la formación del primer conjunto de complejos, pero no el segundo, indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis*.

En otras realizaciones, el procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, comprende:

- poner en contacto una muestra del sujeto con una primera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- detectar la formación de un primer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la primera población;
- poner en contacto dicha muestra con una tercera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento; y detectar la formación de un tercer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la tercera población, en el que la formación de los conjuntos primero y tercero de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis* y en el que la formación del primer pero no el tercer conjunto de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii*.

En aún otras realizaciones, el procedimiento para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, comprende:

- poner en contacto una muestra del sujeto con una primera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- detectar la formación de un primer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la primera población;
- poner en contacto dicha muestra con una segunda población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- detectar la formación de un segundo conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la segunda población;
- poner en contacto dicha muestra con una tercera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento; y
- detectar la formación de un tercer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la tercera población, en el que la formación del primer y segundo conjuntos de complejos pero no el tercer conjunto indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii* y en el que la formación del primer y tercer conjunto de complejos pero no el segundo conjunto indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis*.

La primera población de péptidos aislados es capaz de unirse específicamente a anticuerpos contra antígenos de múltiples especies de *Ehrlichia*, incluyendo *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*. La primera población de péptidos aislados comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-E-T-R-X₄₄-T-F-G-L-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 1), en la que X₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X₁₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido.

En determinadas realizaciones, X₃₉ en SEQ ID NO: 1 es K. En algunas realizaciones, X₄₄ en SEQ ID NO: 1 es K o R y/o X₄₉ en SEQ ID NO: 1 es E o D. En ciertas realizaciones, X₅₆ en SEQ ID NO: 1 es K o Q, y/o X₅₈ en SEQ ID NO: 1 es E o T.

En realizaciones particulares, cada péptido en la primera población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1.

- 5 En algunas realizaciones, la primera población de péptidos aislados comprende al menos una secuencia seleccionada del grupo que consiste en:

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 4);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 5);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 6);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 7);

10

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 8);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-D-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 9);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 10);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 11);

S-V-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 12);

S-A-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 13);

S-V-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 14);

S-V-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 15);

S-A-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 16);

5

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 17);

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-T-A-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 18);

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-T-G-V-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 19);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-A-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 20);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-A-V-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 21);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-V-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 22);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-F-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 23);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-F-G-L-K-Q-N-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 24);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-F-G-L-K-Q-D-W-N-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 25);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-N-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 26);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-N-W-N-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 27);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-N-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 28);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 29);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-S-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 30);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-T-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 31);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-S-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 32);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-T-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 33);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-S-I-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 34);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-T-I-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 35);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-I-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 36);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 37);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-N-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 38);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-K-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 39);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-N-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 40);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-K-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 41);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-N-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 42);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-K-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 43);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-R-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 44);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-Q-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 45);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-Q-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 46);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-N-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 47);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-R-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 48);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-E-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 49);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-D-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 50); y

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-S-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 51).

- 5 En algunas realizaciones, la primera población de péptidos aislados comprende al menos dos o tres secuencias diferentes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4-51.

La segunda población de péptidos aislados es capaz de unirse específica o preferencialmente a anticuerpos contra antígenos de *E. ewingii*. La segunda población de péptidos aislados no se une o se une mínimamente a los anticuerpos contra los antígenos de *E. canis* o *E. chaffeensis*. La segunda población de péptidos aislados comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de F-S-A-K-E-E-X₇-A-E-T-R-X₁₂-T-F-G-L-X₁₇-K-Q-Y-D-G-A-X₂₄-I-X₂₆-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 2), en la que X₇ es cualquier aminoácido, X₁₂ es cualquier aminoácido, X₁₇ es cualquier aminoácido, X₂₄ es cualquier aminoácido y X₂₆ es cualquier aminoácido.

10 En ciertas realizaciones de la segunda población de péptidos aislados, X₇ en SEQ ID NO: 2 es K. En algunas realizaciones, X₁₂ en SEQ ID NO: 2 es K o R y/o X₁₇ en SEQ ID NO: 2 es E o D. En ciertas realizaciones, X₂₄ en SEQ ID NO: 2 es K o Q, y/o X₂₆ en SEQ ID NO: 2 es E o T.

En algunas realizaciones, cada péptido en la segunda población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 2.

En realizaciones particulares, la segunda población de péptidos aislados comprende al menos una secuencia, seleccionada del grupo que consiste en:

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 52);

20 F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 53);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 54);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-R-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 55);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 56);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 57);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 58);

F-S-A-K-E-E-R-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 59);

5 F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-Q-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 60);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-Q-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 61);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-N-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 62);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-R-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 63);

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-E-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T
I-S-N-C (SEQ ID NO: 64);

10 F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-D-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 65); y

F-S-A-K-E-E-K-A-E-T-R-K-T-F-G-L-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-S-E-N-Q-V-Q-N-K-F
T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 66).

En algunas realizaciones, la segunda población de péptidos aislados comprende al menos dos o tres secuencias diferentes, seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 52-66.

15 La tercera población de péptidos aislados es capaz de unirse específica o preferentemente a anticuerpos contra antígenos de *E. canis* y *E. chaffeensis*. La tercera población de péptidos aislados no se une o se une mínimamente a los anticuerpos contra los antígenos de *E. ewingii*. La tercera población de péptidos aislados comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-KL-E-X₃-KL-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-KL-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-X₄₁-T-R-X₄₄-T-F-G-X₄₈-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3), en la que X₂ es un aminoácido del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X₁₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido,

20

25

X₄₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido.

5 En ciertas realizaciones de la tercera población de péptidos aislados, X₃₉ en SEQ ID NO: 3 es K. En ciertas realizaciones, X₄₄ en SEQ ID NO: 3 es K o R y/o X₄₉ en SEQ ID NO: 3 es E o D. En ciertas realizaciones, X₅₆ en SEQ ID NO: 3 es K o Q, y/o X₅₈ en SEQ ID NO: 3 es E o T.

En realizaciones particulares, cada péptido en la tercera población comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3.

En realizaciones particulares, la tercera población de péptidos aislados comprende al menos una secuencia seleccionada del grupo que consiste en:

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 67);

10

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-R-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 68);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-R-T-F-G-V-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 69);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-R-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 70);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 71);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-D-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 72);

15

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-Q-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 73);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 74);

S-V-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 75);

S-A-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-T-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 76);

S-V-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 77);

S-V-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 78);

5

S-A-K-E-D-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 79);

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 80);

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-V-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 81);

S-A-K-E-E-K-Q-P-T-T-A-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 82);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-V-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 83);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-V-A-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 84);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-A-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 85);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-V-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 86);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-V-F-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 87);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-V-Y-G-L-K-Q-N-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 88);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-F-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 89);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-F-G-L-K-Q-N-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 90);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-N-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 91);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-N-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 92);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-N-G-S-S-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 93);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-N-G-S-T-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 94);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 95);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-S-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 96);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-V-T-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 97);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-S-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 98);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-T-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 99);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-I-T-N-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 100);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-I-T-K-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 101);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-I-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 102);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 103);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-N-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 104);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-P-K-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 105);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-N-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 106);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-K-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 107);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-N-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 108);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-N-T-R-K-T-F-G-A-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 109);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-N-T-R-K-T-F-G-V-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 110);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-A-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 111);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-A-D-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 112);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-R-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 113);

5

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-Q-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 114);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-Q-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 115);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-N-K-Q-Y-D-G-A-K-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 116);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-R-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
(SEQ ID NO: 117);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
 A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-E-I-E-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
 (SEQ ID NO: 118);

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
 A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-D-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
 (SEQ ID NO: 119); y

S-A-K-E-E-K-Q-T-T-T-G-L-Y-G-L-K-Q-D-W-D-G-S-A-A-T-S-G-G-G-G-G-N-F-S-
 A-K-E-E-K-A-D-T-R-K-T-F-G-V-E-K-Q-Y-D-G-A-K-I-S-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C
 (SEQ ID NO: 120).

5 En algunas realizaciones, la tercera población de péptidos aislados comprende al menos dos o tres secuencias diferentes, seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 67-120.

También se desvela en el presente documento que las poblaciones de péptidos aislados usadas en el procedimiento pueden comprender un fragmento de una secuencia peptídica descrita en el presente documento. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, las poblaciones de péptidos aislados comprenden un fragmento de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-120. El fragmento puede tener, 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 deleciones (por ejemplo, una deleción de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más restos de aminoácidos). En algunas realizaciones, los fragmentos comprenden los aminoácidos 1 a 26 de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-120. En otras realizaciones, los fragmentos comprenden los aminoácidos 33 a 71 de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, 3, 4-51 y 67-120. En determinadas realizaciones, los fragmentos comprenden un epítipo de una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1-120.

20 En algunas realizaciones, uno o más de los péptidos en la primera y/o tercera poblaciones de péptidos usados en el procedimiento no tienen más de 71, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud. En realizaciones particulares, al menos tres péptidos en la primera y/o tercera poblaciones de péptidos no tienen más de 71, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud. En determinadas realizaciones, cada péptido en la primera y/o tercera poblaciones de péptidos no tiene más de 71, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud.

25 En algunas otras realizaciones, uno o más de los péptidos en la segunda población de péptidos usados en el procedimiento no tienen más de 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud. En realizaciones particulares, al menos tres péptidos en la segunda población de péptidos no tienen más de 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud. En determinadas realizaciones, cada péptido en la segunda población de péptidos no tiene más de 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud.

35 En realizaciones particulares, cada péptido en la primera y tercera poblaciones de péptidos no tiene más de 71, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud y cada péptido en la segunda población de péptidos no tiene más de 39, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500 o 2000 aminoácidos de longitud.

Se desvela en el presente documento que las poblaciones de péptidos aislados pueden comprender los péptidos desvelados en la Solicitud de EE.UU. N.º 14/052.296 y/o la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N.º 2011/0124125A1.

40 Se desvela en el presente documento que los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados usados en el procedimiento pueden comprender una secuencia que es al menos aproximadamente el 80, el 85, el 90, el 95, el 98 o el 99 % idéntica a una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 1-120. El porcentaje de identidad de secuencia tiene un significado reconocido en la técnica y existen varios procedimientos para medir la identidad entre dos secuencias de polipéptidos o polinucleótidos. Véase, por ejemplo, Lesk, Ed., Computational Molecular Biology, Oxford University Press, Nueva York, (1988); Smith, Ed., Biocomputing: Informatics And Genome Projects, Academic Press, Nueva

York, (1993); Griffin y Griffin, Eds., Computer Analysis Of Sequence Data, Parte I, Humana Press, Nueva Jersey, (1994); von Heinje, Sequence Analysis In Molecular Biology, Academic Press, (1987); y Gribskov y Devereux, Eds., Sequence Analysis Primer, M Stockton Press, Nueva York, (1991). Los procedimientos para alinear polinucleótidos o polipéptidos se codifican en programas de ordenador, incluyendo el paquete del programa GCG (Devereux y col., Nuc. Acids Res. 12:387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul y col., J Molec. Biol. 215:403 (1990)), y el programa Bestfit (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711) que usa el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (Adv. App. Math., 2:482-489 (1981)). Por ejemplo, puede usarse el programa informático ALIGN que emplea el algoritmo FASTA, usando una búsqueda de hueco afín con una penalización abierta de hueco de -12 y penalización de extensión de hueco = -2.

Al usar cualquiera de los programas de alineación de secuencias para determinar si una secuencia particular es, por ejemplo, aproximadamente un 95 % idéntica a una secuencia de referencia, los parámetros se establecen de modo que el porcentaje de identidad se calcule sobre la longitud total del polipéptido de referencia y que se permitan huecos en la identidad de hasta el 5 % del número total de aminoácidos en el polipéptido de referencia.

Un experto en la materia puede seleccionar fácilmente las variantes de las secuencias peptídicas, basándose en parte en propiedades conocidas de la secuencia. Por ejemplo, un péptido variante puede incluir sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones conservativas con aminoácidos de origen natural, aminoácidos no naturales o análogos de aminoácidos) y/o deleciones (por ejemplo, deleciones de aminoácidos pequeñas individuales o deleciones que abarcan 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 o más aminoácidos contiguos). Por lo tanto, en determinadas realizaciones, una variante de una secuencia peptídica nativa es una que difiere de una secuencia natural en (i) una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o más) sustituciones conservativas de aminoácidos, (ii) deleción 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 relacionadas en sus cadenas laterales y propiedades químicas. Estas 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 sin carga: glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina; (5) aminoácidos alifáticos: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, agrupándose serina y treonina opcionalmente por separado como hidroxilo alifático; (6) aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina, triptófano; (7) aminoácidos amida: asparagina, glutamina; y (9) aminoácidos que contienen azufre: cisteína y metionina. Véase, por ejemplo, Biochemistry, 2ª ed., Ed. por L. Stryer, W H Freeman y Cía.: 1981. Los procedimientos para confirmar que los péptidos variantes son adecuados son convencionales y rutinarios.

Las variantes de las secuencias peptídicas abarcan variaciones en secuencias peptídicas previamente definidas. Por ejemplo, una secuencia peptídica descrita previamente 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 estar sustituidos por aminoácidos conservativos, etc. Adicionalmente, 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, en aproximadamente 5 aminoácidos en cualquier dirección) desde los puntos finales de la región aproximada original para optimizar la actividad.

En algunas realizaciones, los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados usados en el procedimiento pueden comprender además una secuencia peptídica N-terminal adicional, una secuencia de péptido C-terminal adicional, o una combinación de las mismas.

En determinadas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal adicional puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos y puede ser una secuencia nativa o no nativa. En otras realizaciones, la secuencia peptídica C-terminal adicional puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos y puede ser una secuencia nativa o no nativa.

La secuencia peptídica N-terminal o C-terminal adicional puede ser una secuencia nativa. Como se usa en el presente documento, una secuencia "nativa" es una secuencia peptídica de una secuencia de OMP-1 de *Ehrlichia* de origen natural o una variante de la misma. En determinadas realizaciones, la secuencia peptídica es un fragmento de una secuencia de OMP-1 de *Ehrlichia* 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, tales como un epítipo inmunodominante o cualquier otro epítipo reconocible por un sistema inmunitario hospedador (por ejemplo, humano, canino, etc.). Las proteínas OMP-1 y péptidos de las mismas se han descrito, por ejemplo, en las Patentes de EE. UU. N.º 6.544.517, 6.893.640, 6.923.963, 7.063.846 y 7.407.770, las Solicitudes de Patente de EE.UU. 2004/0265333 y 2009/0075368 y la Patente Europea N.º 1026949.

En determinadas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal o C-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 determinadas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal o C-terminal adicional puede comprender o consistir

en otro péptido que tenga una secuencia, o un fragmento de la misma, seleccionada de SEQ ID NO: 1-120.

En algunas realizaciones, la secuencia peptídica N-terminal o C-terminal adicional puede enlazarse a los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados a través de uno o más aminoácidos enlazadores (por ejemplo, restos de glicina, serina o cisteína).

5 Los péptidos aislados en las poblaciones pueden aislarse mediante síntesis química y/o purificación. En algunas realizaciones, los péptidos se producen biológicamente (es decir, por maquinaria celular, tales como un ribosoma) y después se aíslan. Como se usa en el presente documento, un péptido "aislado" es un péptido que se ha producido sintética o biológicamente y después se ha purificado, al menos parcialmente, de los productos químicos y/o la maquinaria celular usados para producir el péptido. En determinadas realizaciones, un péptido aislado de la invención está sustancialmente purificado. La expresión "sustancialmente purificado", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula, tales como un péptido, que está sustancialmente libre de material celular (proteínas, lípidos, hidratos de carbono, 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 un 40 %, un 30 %, un 25 %, un 20 %, un 15 %, un 10 %, un 5 %, un 2 %, un 1 % o menos del material celular, medio de cultivo, otros polipéptidos, precursores químicos y/o productos químicos usados en la síntesis del péptido. En consecuencia, una molécula sustancialmente pura, tales como un péptido, puede ser al menos aproximadamente un 60 %, un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 98 % o un 99 %, en peso seco, la molécula de interés. Un péptido aislado o una población de péptidos puede estar en agua, un tampón o en forma seca en espera de reconstitución, por ejemplo, como parte de un kit.

20 En determinadas realizaciones, uno o más péptidos en las poblaciones se conjugan con un ligando. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, los péptidos están biotinilados. En otras realizaciones, los péptidos se conjugan con estreptavidina, avidina o neutravidina. En otras realizaciones, los péptidos se conjugan con una proteína vehículo (por ejemplo, seroalbúmina, hemocianina de lapa californiana (KLH) o un dominio Fc de inmunoglobulina). En otras realizaciones más, los péptidos se conjugan con un dendrímero y/o son parte de un sistema de péptidos antigénicos múltiples (MAPS, por sus siglas en inglés "multiple antigenic peptide system"). Los péptidos también pueden conjugarse con oro coloidal, puntos cuánticos u otras nanopartículas y/o partículas de látex. En aún otra realización, los péptidos pueden conjugarse con enzimas, marcadores fluorescentes o quimioluminiscentes.

30 En determinadas realizaciones, los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados están modificados. Los péptidos de la invención pueden modificarse mediante una diversidad de técnicas, tales como por desnaturalización con calor y/o detergente (por ejemplo, SDS). Como alternativa, los péptidos de la invención pueden modificarse por asociación con uno o más restos adicionales. La asociación puede ser covalente o no covalente, y puede ser, por ejemplo, a través de un enlazador de aminoácidos terminal, tales como la lisina o la cisteína, un agente de acoplamiento químico o un enlace peptídico. El resto adicional puede ser, por ejemplo, un ligando, un receptor de ligando, un compañero de fusión, un marcador detectable, una enzima o un sustrato que inmoviliza el péptido.

35 Además, los péptidos en las poblaciones de péptidos aislados pueden modificarse para incluir cualquiera de una diversidad de grupos químicos conocidos o moléculas. Dichas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, glucosilación, acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, fijación covalente a polietilenglicol (por ejemplo, PEGilación), fijación covalente de flavina, fijación covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, fijación covalente de un lípido o derivado lipídico, fijación covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cistina, formación de piroglutamato, formilación, gamma carboxilación, glucosilación, formación de anclaje GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, ubiquitinación, modificaciones con ácidos grasos, adición de aminoácidos mediada por ARN de transferencia a proteínas tales como arginilación, etc. También se incluyen análogos de un aminoácido (incluyendo aminoácidos no naturales) y péptidos con enlaces sustituidos.

45 Las modificaciones establecidas anteriormente son bien conocidas por los expertos en la materia y se han descrito con gran detalle en las referencias científicas. Varias modificaciones particularmente comunes, glucosilación, fijación de lípidos, sulfatación, gamma-carboxilación de restos de ácido glutámico, hidroxilación y ADP-ribosilación, por ejemplo, se describen en muchos textos básicos, tales como *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2ª ed., T. e. Creighton, W.H. Freeman and Compañía, Nueva York (1993). Muchas revisiones detalladas están disponibles sobre esta materia, tales como por Wold, F., *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, Nueva York 1-12 (1983); Seifter y col. (1990) *Meth. Enzymol.* 182:626-646 y Rattan y col. (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 663:48-62.

55 En determinadas realizaciones, uno o más o todos los péptidos en una población de péptidos está fijado o inmovilizado sobre un sustrato, tales como un soporte sólido o semisólido. La unión puede ser covalente o no covalente, y puede estar facilitada por un resto asociado al péptido que permite la unión covalente o no covalente, tales como un resto que tiene una alta afinidad con un componente fijado al vehículo, soporte o superficie. Por ejemplo, el péptido puede asociarse con un ligando, tales como la biotina, y el componente asociado a la superficie puede ser un receptor de ligando correspondiente, tales como la avidina. En algunas realizaciones, el péptido puede asociarse con un compañero de fusión, por ejemplo, seroalbúmina bovina (BSA, por sus siglas en inglés "bovine serum albumin"), lo

60

que facilita la fijación del péptido a un sustrato. En otras realizaciones, los péptidos de la invención están fijados o inmovilizados sobre un sustrato a través de una nanocapa metálica tales como una superficie de espectroscopía de resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR, por sus siglas en inglés "localized surface plasmon resonance"). En una realización, la nanocapa metálica está compuesta por cadmio, cinc, mercurio o un metal noble, tales como oro, plata, cobre y platino. El péptido o la población de péptidos puede fijarse o inmovilizarse sobre el sustrato antes o después de la adición de una muestra que contiene anticuerpo durante un inmunoensayo.

En determinadas realizaciones, el sustrato es una perla, tales 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-cubierta 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, poliacrilato o PVDF). Dichas partículas pueden comprender un marcador (por ejemplo, un marcador colorimétrico, quimioluminiscente o fluorescente) y puede ser útil para visualizar la ubicación de los péptidos durante los inmunoensayos. En determinadas 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 metálicos u otros metales blandos o nanocápsulas metálicas (por ejemplo, esferas huecas de oro, nanocápsulas de sílice recubiertas de oro y cápsulas de oro recubiertas de sílice).

En determinadas realizaciones, el sustrato es una transferencia de puntos o una ruta de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral. Por ejemplo, los péptidos pueden fijarse o inmovilizarse sobre una membrana porosa, tales 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 determinadas realizaciones, el sustrato es un camino de flujo en un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, el sustrato es un tubo o un pocillo, tales como un pocillo en una placa (por ejemplo, una placa de microtitulación) adecuada para su uso en un ensayo ELISA. Tales sustratos pueden comprender vidrio, materiales basados en celulosa, polímeros termoplásticos, tales como polietileno, polipropileno o poliéster, estructuras sinterizadas compuestas por materiales particulados (por ejemplo, vidrio o diversos polímeros termoplásticos), o película de membrana fundida compuesta de nitrocelulosa, nailon, polisulfona o similares. Un sustrato pueden ser partículas finas sinterizadas de polietileno, comúnmente conocido como polietileno poroso, por ejemplo, polietileno poroso de 0,2-15 micrómetros de Chromex Corporation (Albuquerque, NM). Todos estos materiales de sustrato pueden usarse en formas adecuadas, tales como películas, láminas o placas, o pueden revestirse sobre o unirse a o laminarse a vehículos inertes apropiados, tales como papel, vidrio, películas plásticas o tejidos. Los procedimientos adecuados para inmovilizar péptidos en fases sólidas incluyen interacciones iónicas, hidrófobas, covalentes y similares.

Los procedimientos desvelados en el presente documento implican detectar la presencia de anticuerpos naturales contra uno o más antígenos *Ehrlichia* (por ejemplo, el antígeno de una *Ehrlichia* patogénica, tales como *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* o *E. canis*) que son producidos por el sistema inmunitario del sujeto infectado en sus fluidos o tejidos biológicos, y que son capaces de unirse específicamente a uno o más péptidos en una población de péptidos y, opcionalmente, uno o más polipéptidos o péptidos antigénicos adicionales adecuados.

Por ejemplo, la divulgación proporciona un procedimiento para detectar en una muestra de un sujeto la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* y/o *E. canis* que comprende poner en contacto la muestra con una población de péptidos que comprende al menos tres péptidos diferentes, en el que cada péptido comprende una secuencia de SEQ ID NO: 1; y detectar la formación de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la población, en el que la formación de los complejos indica la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii* y/o *E. canis*. En algunas realizaciones, la población de péptidos comprende al menos dos o tres secuencias diferentes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4-51.

La divulgación proporciona un procedimiento para detectar en una muestra de un sujeto la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. ewingii* que comprende poner en contacto la muestra con una población de péptidos que comprende al menos tres péptidos diferentes, en el que cada péptido comprende una secuencia de SEQ ID NO: 2; y detectar la formación de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la población, en el que la formación de los complejos indica la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. ewingii*. En algunas realizaciones, la población de péptidos comprende al menos dos o tres secuencias diferentes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 52-66.

La divulgación también proporciona un procedimiento para detectar en una muestra de un sujeto la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. chaffeensis* y/o *E. canis* que comprende poner en contacto la muestra con una población de péptidos que comprende al menos tres péptidos diferentes, en el que cada péptido comprende una secuencia de SEQ ID NO: 3; y detectar la formación de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la población, en el que la formación de los complejos indica la presencia de anticuerpos contra antígenos de *E. chaffeensis* y/o *E. canis*. En algunas realizaciones, la población de péptidos comprende al menos dos o tres secuencias diferentes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 67-120.

Hay varios ensayos diferentes que pueden usarse para detectar la formación de complejos anticuerpo-péptido que

comprenden uno o más péptidos en los procedimientos 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 transferencia Western, una transferencia de ranura o una transferencia de punto, analizar la muestra en un rotor analítico o centrífugo o analizar la muestra con un sensor electroquímico, óptico u opto-electrónico. Estos diferentes ensayos se describen en el presente documento y/o son bien conocidos por los expertos en la materia.

Los procedimientos 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 hacer reaccionar) una muestra para analizar con una población de péptidos, bajo condiciones eficaces para la formación de un complejo péptido-anticuerpo específico (por ejemplo, para la unión específica del péptido al anticuerpo); y analizar la muestra contactada (reaccionada) para detectar 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 estuvo expuesto e infectado con una especie de *Ehrlichia* infecciosa. Un péptido, incluyendo una forma modificada del mismo, que "se une específicamente" a (por ejemplo, "es específico para" o se une "preferencialmente" a) un anticuerpo contra un antígeno de *Ehrlichia* interactúa con el anticuerpo, o forma o experimenta una asociación física con él, en una cantidad y durante un tiempo suficiente para permitir la detección del anticuerpo. Por "específicamente" o por "preferencialmente", se entiende que el péptido tiene una afinidad más alta (por ejemplo, un grado de selectividad más alto) por un anticuerpo tal que por otros anticuerpos en una muestra. Por ejemplo, el péptido puede tener una afinidad por el anticuerpo de al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces o más que por otros anticuerpos en la muestra. Dicha afinidad o grado de especificidad puede determinarse mediante una diversidad de procedimientos de rutina, incluyendo, por ejemplo, estudios de unión competitiva. En un ensayo de ELISA, una respuesta positiva se define como un valor de 2 o 3 desviaciones estándar mayor 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 la ehrlichiosis monocítica y/o granulocítica.

Las frases 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 los que no se contiene ni detecta ningún anticuerpo. En un sentido general, la presente 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 materia. Véase, por ejemplo, Current Protocols in Immunology (Coligan y col., editores, John Wiley & Sons, Inc).

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

Una vez que se permite que una población de péptidos y anticuerpos 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 calificado, están los ensayos de inmunoprecipitación y aglutinación realizados con o sin potenciamiento.

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

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

5 En algunas realizaciones de la invención, la superficie sólida o semisólida o el vehículo fijados a las poblaciones de péptidos es el suelo o la pared en un pocillo de microtitulación, una superficie o membrana de filtro (por ejemplo, una membrana de nitrocelulosa o una membrana de PVDF (fluoruro de polivinilideno), tales como una membrana Immobilon™), una fibra hueca, un medio cromatográfico con 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

10 tiene moléculas de un tamaño tal que las moléculas con el péptido unido a las mismas, cuando se disuelve o dispersa en una fase líquida, puede 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 arrastrar las micelas, un polímero soluble en agua, o cualquier otro vehículo adecuado, soporte o superficie.

15 En algunas realizaciones de la invención, se proporciona una población de péptidos con un marcador adecuada que permite la detección. Pueden usarse marcadores convencionales que sean capaces, solos o en concierto con otras composiciones o compuestos, de proporcionar una señal detectable. Las etiquetas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, enzimas (por ejemplo, HRP, beta-galactosidasa, fosfatasa alcalina, etc.), marcadores fluorescentes, marcadores radiactivos, partículas de látex coloreadas y marcadores conjugados con metal (por ejemplo, marcadores

20 conjugados con nanopartículas metálicas, con nanopartículas metálicas o con nanocápsulas metálicas). Los marcadores adecuados de nanopartículas metálicas o nanocápsulas metálicas incluyen, pero no se limitan a, partículas de oro, partículas de plata, partículas de cobre, partículas de platino, partículas de cadmio, partículas compuestas, esferas huecas de oro, nanocápsulas de sílice recubiertas de oro y cápsulas de oro recubiertas de sílice. Las nanopartículas metálicas adecuadas para capas detectables incluyen nanopartículas compuestas por cadmio, cinc, mercurio y metales nobles, tales como oro, plata, cobre y platino.

Los procedimientos de detección adecuados incluyen, por ejemplo, detección de un agente que está etiquetado, directa o indirectamente, con un ensayo colorimétrico (por ejemplo, para la detección de HRP o actividad 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

25 marcado radiactivamente), 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 se asocia a un péptido a través de la interacción biotina/avidina, asociación con un anticuerpo conjugado con fluoresceína, o similares. En una realización, se añade un compañero de unión específico detectable para el anticuerpo a la mezcla. Por ejemplo, el compañero de unión

30 puede ser un anticuerpo secundario detectable u otro agente de unión (por ejemplo, proteína A, proteína G, proteína L, proteínas quiméricas A/G, A/G/I, A/I, G/I o combinaciones de los mismos) que se une al primer anticuerpo. Este anticuerpo secundario u otro agente de unión puede marcarse, por ejemplo, con un marcador radioactivo, enzimático, fluorescente, luminiscente, quimioluminiscente, de nanopartícula metálica o de nanocápsula metálica (por ejemplo, oro coloidal) u otro detectable, tales como una avidina/biotina, avidina/estreptavidina o avidina/poliestreptavidina. En otra realización, el compañero de unión es un péptido de la invención, que puede conjugarse directa o indirectamente

35 (por ejemplo, mediante la interacción biotina/avidina o biotina/estreptavidina) a una enzima, tales como peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina u otro resto de señalización. En dichas realizaciones, la señal detectable se produce al añadir un sustrato de la enzima que produce una señal detectable, como un sustrato cromogénico, fluorogénico o quimioluminiscente.

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

45 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 producirse con reacciones de oxidación u otras reacciones químicas. Pueden detectarse a simple vista, usando un espectrofotómetro, o similares.

Un formato de ensayo muy útil es un formato de inmunoensayo de flujo lateral. Los anticuerpos contra

50 inmunoglobulinas humanas o animales (por ejemplo, perro, ratón, ciervo, etc.) o proteínas A, G o L de estafilococos, pueden marcarse con un generador de señal o indicador (por ejemplo, oro coloidal) que se seca y se coloca sobre una almohadilla de fibra de vidrio (almohadilla de aplicación de muestra o almohadilla conjugada). El péptido diagnóstico está inmovilizado sobre la membrana, tales como nitrocelulosa o una membrana 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 conjugada), disuelve el indicador marcado, que después se une a todos los anticuerpos en la muestra. Los complejos resultantes se transportan 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 colocado en tiras en la membrana, generando de esta manera una señal (por ejemplo, una banda que puede verse o visualizarse). Puede usarse un anticuerpo adicional

60 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 las poblaciones de péptidos aislados que se

conjugan con un ligando (por ejemplo, biotina) y se complejan con el receptor de ligando marcado (por ejemplo, estreptavidina-oro coloidal). Los complejos peptídicos marcados pueden colocarse en la almohadilla de aplicación de muestra o la almohadilla conjugada. Los anticuerpos anti IgG/IgM humanas o anti IgG/IgM animales (por ejemplo, perro, ratón, ciervo) u otros péptidos de la invención se inmovilizan en una membrana, tales como la nitrocelulosa de PVDF, en un sitio de prueba (por ejemplo, una línea de prueba). Cuando se añade una muestra a la almohadilla de aplicación de muestra, los anticuerpos en la muestra reaccionan con los complejos peptídicos marcados de tal manera que los anticuerpos que se unen a los péptidos de la invención se marcan indirectamente. Los anticuerpos que se unen a los péptidos de la invención se transportan a la siguiente membrana (PVDF o nitrocelulosa que contiene el péptido de diagnóstico) por acción capilar y se unen a los anticuerpos anti-IgG/IgM humanos inmovilizados o anti-IgG/IgM animales (o proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L o combinaciones de las mismas) o péptidos inmovilizados de la invención. Si cualquiera de los anticuerpos de la muestra está unido a los péptidos marcados de la invención, el marcador asociado a los péptidos puede verse o visualizarse en el sitio de prueba. En otra realización de este tipo de dispositivo de flujo lateral (en el que los péptidos de la invención se usan tanto como agente de captura inmovilizado en un sitio de prueba como y como complejo marcado soluble para reaccionar con anticuerpos en una muestra), para amplificar la señal de detección, proteína A, proteína G y/o proteínas de fusión de proteína A/G conjugadas con un marcador detectable (por ejemplo, nanopartículas o nanocápsulas metálicas o, HRP, ALP, fluoróforo, partícula de látex coloreada) pueden aplicarse al sitio de prueba en el que 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 de pollo-oro coloidal ubicado en la almohadilla de aplicación de muestra o almohadilla conjugada y un anticuerpo anti-IgY de pollo inmovilizado en un sitio de control ubicado próximo al sitio de prueba. Otros controles adecuados pueden incluir pollo anti-proteína A, IgG de ratón o cualquier otra proteína capaz de unirse a la proteína A/G/I. En al menos algunos de los inmunoensayos de flujo lateral realizados en los procedimientos de la invención y descritos en el presente documento, se usó pollo anti-proteína A como la línea de control.

Otro ensayo para la detección de productos sanguíneos u otros fluidos fisiológicos o biológicos es un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas, es decir, un ELISA. Típicamente en un ELISA, los péptidos aislados o mezclas o poblaciones de péptidos se adsorben directamente, o después de la conjugación con una proteína vehículo, a la superficie de un pocillo de microtitulación directamente o a través de una matriz de captura (por ejemplo, un anticuerpo). Los sitios de unión a proteínas no específicos residuales en la superficie se bloquean con un agente apropiado, tales como seroalbúmina bovina (BSA), suero de cabra normal (NGS, por sus siglas en inglés "normal goat serum") inactivado por calor o BLOTTO (una solución tamponada de leche en polvo sin grasa que también contiene un conservante, sales y un agente antiespumante). El pocillo se incuba después con una muestra biológica sospechosa de contener un anticuerpo específico anti-*Ehrlichia* (por ejemplo, anti-*E. chaffeensis*, anti-*E. ewingii* o anti-*E. canis*). Dicha muestra biológica puede ser un suero, plasma u otro tipo de muestra. La muestra puede aplicarse pura, o más a menudo se puede diluir, habitualmente en una solución tamponada que contiene una pequeña cantidad (0,1-10,0 % en peso) de proteína, tales como BSA, NGS o BLOTTO. Después de incubar durante un período de tiempo suficiente para permitir que se produzca una unión específica, el pocillo se lava para retirar la proteína no unida y después se incuba con una concentración óptima de un anticuerpo anti-inmunoglobulina apropiado (por ejemplo, para sujetos humanos, una anti-inmunoglobulina humana (α Hulg) de otro animal, tales como perro, ratón, vaca, etc.) u otro péptido de la invención que se conjuga con una enzima u otro marcador mediante procedimientos convencionales y se disuelve en tampón de bloqueo. El marcador puede elegirse de una diversidad de enzimas, incluyendo peroxidasa de rábano picante (HRP), beta-galactosidasa, fosfatasa alcalina (ALP), glucosa oxidasa, etc. En determinadas realizaciones, La proteína A o la proteína G-HRP se usa en los procedimientos de la invención. Se permite tiempo suficiente para que vuelva a producirse un enlace específico, luego el pocillo se lava nuevamente para retirar el conjugado no unido y se añade un sustrato adecuado para la enzima. Se permite que se desarrolle el color y la densidad óptica de los contenidos del pocillo se determina visual o instrumentalmente (medida a una longitud de onda apropiada). El valor de corte de DO puede definirse como la media de desviaciones estándar de DO + 3 (DE) de al menos 50 muestras de suero recolectadas de individuos de un área donde la ehrlichiosis no es endémica, o por otras definiciones convencionales. En el caso de un ensayo muy específico, DO+2 DE puede usarse como valor de corte.

En otra realización, los procedimientos comprenden un ensayo de aglutinación. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, nanopartículas metálicas o nanocápsulas metálicas (por ejemplo, oro coloidal, etc.) o perlas de látex se conjugan con las poblaciones de péptidos aislados. Posteriormente, el fluido biológico se incuba con el conjugado perla/péptido, formando de esta manera una mezcla de reacción. La mezcla de reacción se analiza después para determinar la presencia de los anticuerpos. En determinadas realizaciones, los ensayos de aglutinación comprenden el uso de una segunda población de partículas, tales como nanopartículas metálicas o nanocápsulas metálicas (por ejemplo, oro coloidal, etc.) o perlas de látex, conjugada con (1) anticuerpos específicos para los péptidos de las composiciones de la invención, en el caso de un ensayo de competición, o (2) anticuerpos capaces de detectar muestras de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos anti-IgG o IgM humanas, anticuerpos anti-IgG o IgM de perro, anticuerpos anti-IgG o IgM de gato, etc.), en el caso de un ensayo sándwich. Los procedimientos de aglutinación adecuados pueden comprender la centrifugación como un medio para evaluar el grado de aglutinación.

En otras realizaciones más, Las poblaciones de péptidos aislados se electro-transfieren o se transfieren por puntos sobre papel de nitrocelulosa. Posteriormente, una muestra, tales como un fluido biológico (por ejemplo, suero o plasma) se incuba con el antígeno transferido y se permite que el anticuerpo en el fluido biológico se una al antígeno

o antígenos. El anticuerpo unido puede después detectarse, por ejemplo, por procedimientos inmunoenzimáticos convencionales o por visualización usando nanopartículas o nanocápsulas metálicas acopladas a anticuerpos secundarios u otros agentes de unión a anticuerpos, tales como proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L o combinaciones de las mismas.

5 En otras realizaciones más, el péptido o las composiciones de la invención se electro-transferen o se transfieren por puntos sobre papel de nitrocelulosa. Posteriormente, una muestra, tales como un fluido biológico (por ejemplo, suero o plasma) se incuba con el antígeno transferido y se permite que el anticuerpo en el fluido biológico se una al antígeno o antígenos. El anticuerpo unido puede después detectarse, por ejemplo, por procedimientos inmunoenzimáticos convencionales o por visualización usando nanopartículas o nanocápsulas metálicas acopladas a anticuerpos secundarios u otros agentes de unión a anticuerpos, tales como proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L o combinaciones de las mismas.

10 En otras realizaciones más, se usa una micromatriz de proteínas (o chip de proteínas) en los procedimientos. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la micromatriz o el chip comprende una superficie de soporte tales como un portaobjetos de vidrio, membrana de nitrocelulosa, perla o placa de microtitulación, que se conjugan con una matriz de proteínas de captura que comprenden una población de péptidos como se describió anteriormente. Las muestras, opcionalmente marcadas con un tinte fluorescente, se añaden a la matriz. La unión específica entre los anticuerpos en las muestras, si está presente y la proteína inmovilizada emite una señal fluorescente que es leída por un escáner láser. Los anticuerpos no marcados unidos a los péptidos de la invención también pueden marcarse posteriormente con la proteína A marcada con puntos cuánticos, A/G, etc. Las micromatrices de péptidos aislados también pueden usarse en un formato de chip de microchip en un analizador centrífugo. Las micromatrices de proteínas son de alto rendimiento, rápidas, automatizadas, económicas y altamente sensibles, consumiendo pequeñas cantidades de muestras y reactivos.

15 Un experto en la materia debe entender que cualquier número de formatos convencionales de análisis de proteínas, particularmente formatos de inmunoensayo, puede diseñarse para utilizar las poblaciones de péptidos aislados para cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento. Por lo tanto, la presente invención no está limitada por la selección del formato de ensayo particular, y se cree que abarca todos los formatos de ensayo adecuados que son conocidos por los expertos en la materia.

20 Usando cualquiera de los formatos de ensayo adecuados descritos en el presente documento o conocidos por los expertos en la materia, puede detectarse la formación de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en las poblaciones de péptidos aislados. Por un "conjunto" de complejos, se refiere a complejos formados entre una población de péptidos aislados y cualquier anticuerpo en una muestra. Cuando un resultado de detección se describe como la formación de uno pero no otro conjunto de complejos, incluye una gama de resultados que pueden obtenerse con dos poblaciones diferentes de péptidos aislados. Por "formación del primer conjunto de complejos, pero no el segundo", por ejemplo, puede incluir un resultado claramente positivo obtenido con la primera población de péptidos aislados y un resultado claramente negativo con la segunda población de péptidos aislados. También puede incluir una puntuación muy alta del resultado obtenido con la primera población de péptidos aislados y una puntuación muy baja del resultado obtenido con la segunda población de péptidos aislados. Puede incluir además cualquier puntuación relativamente más alta del resultado obtenido con la primera población que la segunda población de péptidos aislados.

25 Para cualquiera de los formatos de ensayo descritos en el presente documento, puede asignarse una puntuación al resultado del análisis de cada muestra. Dicha puntuación se refiere a un valor relativo, nivel, fuerza o grado de un resultado de ensayo. Puede crearse artificialmente por una persona experta en la técnica o mediante el uso de un algoritmo, a veces usando muestras con analitos conocidos, por ejemplo, antígenos o anticuerpos, opcionalmente usando muestras con concentraciones o títulos conocidos de los analitos conocidos (que pueden llamarse "patrones" o "calibradores"). Una puntuación puede ser un número asignado manualmente por una persona experta en la técnica o generado con una fórmula o algoritmo informático, por ejemplo, desde cero para un control negativo hasta cualquier número positivo para un control positivo (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, etc.). También puede representarse con símbolos, por ejemplo, "-" para un control negativo y "+", "++", "+++", etc., para controles positivos. Una puntuación puede determinarse mediante el cálculo con una fórmula o mediante el procesamiento automático con un algoritmo informático o puede determinarse mediante inspección visual, medición o estimación del resultado del ensayo. Cuando se usan muestras con concentraciones o títulos conocidos de analitos conocidos (los patrones o calibradores), tales patrones/calibradores pueden ensayarse en condiciones diluidas y sin diluir y puede generarse un intervalo de puntuaciones o una curva patrón de puntuaciones, que puede usarse para determinar las puntuaciones de muestras desconocidas ensayadas para los mismos analitos, preferentemente con los mismos ensayos y en las mismas ejecuciones de ensayo.

30 En determinadas realizaciones, el procedimiento usa una combinación de ensayos inmunoquímicos y tres poblaciones de péptidos para identificar si una muestra está infectada con una, dos o los tres de las siguientes especies de *Ehrlichia*: *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*.

35 En algunas realizaciones del procedimiento, se prueba una muestra patrón que tiene un título conocido de anticuerpos contra una especie determinada (por ejemplo, *E. canis* y *E. chaffeensis* o *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*). En

determinadas realizaciones, la muestra patrón se diluye a una serie de patrones/calibradores. Los calibradores pueden prepararse usando anticuerpos purificados. Los calibradores también pueden prepararse seleccionando, agrupando y/o diluyendo muestras de antisueros/anticuerpos con diversos niveles de título de anticuerpos. Una persona experta en la materia debe saber cómo generar calibradores adecuados. Pueden generarse puntuaciones y una curva patrón para la serie de patrones/calibrador. En algunas realizaciones, se genera un límite para que una muestra se clasifique como positiva por comprender anticuerpos contra ciertas especies de *Ehrlichia* (por ejemplo, un límite para anticuerpos contra *E. ewingii*, un límite para anticuerpos contra *E. canis* y *E. chaffeensis* y otro límite para anticuerpos contra *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*). Una muestra puede clasificarse como una muestra baja, media o alta. Una muestra baja generalmente está justo por encima del límite de detección y una muestra muy alta muestra la mayor respuesta en una población dada. Los calibradores para ELISA a menudo están preparados para representar los intervalos de muestras bajas a muy altas.

En determinadas realizaciones, se ensaya una muestra desconocida con los mismos ensayos que los patrones. En algunas realizaciones, se genera una puntuación de la muestra desconocida contra las puntuaciones o la curva patrón de cada patrón, por ejemplo, puede generarse una puntuación de la muestra desconocida contra un patrón que tiene un título conocido de anticuerpos contra *E. ewingii*; y puede generarse otra puntuación de la muestra desconocida contra un patrón que tiene un título conocido de anticuerpos tanto contra *E. canis* como *E. chaffeensis*.

Las puntuaciones pueden compararse entre las muestras analizadas para un mismo analito o para diferentes analitos.

Al comparar puntuaciones de muestras ensayadas para un mismo analito, las puntuaciones pueden determinarse y compararse con el mismo intervalo de puntuaciones o la misma curva patrón de puntuaciones generadas a partir de los patrones/calibradores, si todas las muestras se ensayan en el mismo experimento en las mismas condiciones que los patrones/calibradores. Las puntuaciones también pueden determinarse a partir de diferentes intervalos de puntuaciones o diferentes curvas patrón de puntuaciones de los patrones/calibradores, si las muestras se ensayan en diferentes experimentos junto con los mismos patrones/calibradores. Después las puntuaciones relativas de las muestras ensayadas en relación con los mismos patrones/calibradores pueden determinarse y compararse entre sí.

Al comparar puntuaciones de muestras ensayadas para diferentes analitos, por ejemplo, anticuerpos contra diferentes especies de *Ehrlichia*, cada especie o combinación de especies (tales como *E. canis* y *E. chaffeensis*) tiene sus propios calibradores. El límite de detección para cada conjunto de calibradores y ensayo se determina generando un corte normalmente asignado mediante la adición de 2-3 desviaciones estándar a la media de las muestras que se sabe que son negativas para los anticuerpos detectados. Los calibradores para la población de péptidos aislados que detectan todas las especies de *Ehrlichia* contienen una mezcla de anticuerpos contra diferentes especies *Ehrlichia* en proporciones apropiadas, por ejemplo, al menos el 5 % cada uno de *anti-canis*, *anti-chaffeensis* y *anti-ewingii*, para que haya suficiente de cada especie y el ensayo no pierda ninguna de las especies ensayadas. Los calibradores para la población de péptidos que detectan ambos *E. canis* y *E. chaffeensis*, contienen una mezcla de muestras *anti-canis* y *anti-chaffeensis* en proporciones apropiadas, por ejemplo, al menos un 5 % de cada especie. Los calibradores para la población de péptidos que solo detectan *E. ewingii* contienen solo muestras *anti-ewingii*. Los calibradores para la población de péptidos que detectan *E. canis/E. chaffeensis* y para la población de péptidos que detectan *E. ewingii* se les asigna el mismo intervalo de puntuaciones que se limitan a la porción lineal de las curvas patrón respectivas.

En algunas realizaciones, las puntuaciones se generan al detectar la formación de complejos que comprenden anticuerpos y péptidos en las poblaciones de péptidos como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, se genera una puntuación al detectar la formación de complejos que comprenden anticuerpos en una muestra, si está presente, y péptidos en una primera, segunda o tercera población de péptidos como se describe en el presente documento, dando como resultado una primera puntuación, una segunda puntuación o una tercera puntuación, respectivamente.

En algunas realizaciones, la segunda puntuación se compara con la tercera puntuación, manualmente o usando un ordenador. En realizaciones particulares, una muestra se identifica o se clasifica estando infectada con *E. ewingii* si la segunda puntuación es más alta que la tercera puntuación. En otras realizaciones, una muestra se identifica o se clasifica estando infectada con *E. canis* y/o *E. chaffeensis* si la tercera puntuación es más alta que la segunda puntuación.

En aún otras realizaciones, el procedimiento comprende además una etapa para determinar si la especie infectante es *E. canis* o *E. chaffeensis*. Por ejemplo, en una de tales realizaciones se realiza un ensayo para detectar anticuerpos contra *E. canis* pero no *E. chaffeensis*, para generar una puntuación para *E. canis*. Puede realizar otro ensayo para detectar anticuerpos contra *E. chaffeensis* pero no *E. canis*, para generar una puntuación para *E. chaffeensis*. Los resultados del ensayo, opcionalmente las puntuaciones, se comparan entre sí para determinar si la especie infectante es *E. canis* o *E. chaffeensis*. En algunas realizaciones, si la puntuación para *E. canis* es más alta que la puntuación para *E. chaffeensis*, la muestra se clasifica como infectada con *E. canis* pero no *E. chaffeensis*. En otras realizaciones, si la puntuación para *E. chaffeensis* es más alta que la puntuación para *E. canis*, la muestra se clasifica como infectada con *E. chaffeensis* pero no *E. canis*. En algunas realizaciones, si las dos puntuaciones son idénticas, la muestra se clasifica como infectada con ambos *E. chaffeensis* y *E. canis* o como indeterminada.

En determinadas realizaciones, la muestra usada en los procedimientos es de un animal salvaje (por ejemplo, un

ciervo o un roedor, tales como un ratón, una ardilla listada, una 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 feral (por ejemplo, un perro, un gato, un caballo). En otras realizaciones más, la muestra es de un humano. En otras realizaciones, la muestra es de un sujeto canino o felino. En algunas realizaciones, la muestra es un fluido corporal. En realizaciones particulares, la muestra es una muestra de sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, moco, orina o saliva. En determinadas realizaciones, la muestra es una muestra de sangre completa. En otras realizaciones, la muestra es un tejido (por ejemplo, un homogeneizado de tejidos), extracto de tejido o un lisado celular.

Gran parte del análisis anterior está dirigida a la detección de anticuerpos contra *Ehrlichia* patogénica. Sin embargo, debe entenderse que el análisis también se aplica a la detección de linfocitos T cebados, ya sea *in vitro* o *in vivo*.

Se espera que se genere una respuesta inmunitaria mediada por células (por ejemplo, una respuesta T ayudante), desde que se produce IgG. Por lo tanto, se espera que sea posible determinar la reactividad inmunológica entre los linfocitos T cebados y una población de péptidos como se describe en el presente documento. Esto puede realizarse *in vitro* incubando linfocitos T aislados del sujeto con la población de péptidos y midiendo la inmunoreactividad, por ejemplo, midiendo la posterior proliferación de linfocitos T o midiendo la liberación de citocinas de las células T, tales como IFN- γ . Estos procedimientos son bien conocidos en la técnica.

Cuando se lleva a cabo un procedimiento de la invención *in vivo*, puede usarse cualquiera de una diversidad de ensayos convencionales. Por ejemplo, uno puede realizar un ensayo en forma de prueba cutánea, por ejemplo, mediante inyección intradérmica, en el sujeto, de una población de péptidos como se describe en el presente documento. Una reacción cutánea positiva en el lugar de la inyección indica que el sujeto ha estado expuesto e infectado con la especie de *Ehrlichia* a la que es específica la población de péptidos. La especie de *Ehrlichia* que infecta al sujeto puede identificarse usando el procedimiento de la invención con las poblaciones de péptidos como se describe en el presente documento. Esta u otras pruebas *in vivo* se basan en la detección de una respuesta de linfocitos T en el sujeto.

Determinadas realizaciones del procedimiento comprenden además informar resultados de detección. El informe puede realizarse electrónicamente, por escrito o verbalmente. Puede hacerse a través de una máquina tal como un ordenador.

También se desvelan en el presente documento kits. Los kits pueden comprender al menos una población de péptidos aislados como se describe en el presente documento. En particular, un kit comprende al menos dos o tres poblaciones diferentes de péptidos. En algunas realizaciones, un kit comprende una primera, segunda y/o tercera poblaciones de péptidos como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, los kits comprenden además una instrucción.

En algunas realizaciones de la divulgación, el kit es un kit para detectar anticuerpos que se unen a antígenos *Ehrlichia* y/o que identifican las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes.

En determinadas realizaciones de la divulgación, el kit comprende:

- una primera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- una segunda población de péptidos aislados como se describe en el presente documento;
- una tercera población de péptidos aislados como se describe en el presente documento; y
- una instrucción para el uso de la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos para identificar las especies de *Ehrlichia* en una muestra biológica, si están presentes.

En realizaciones particulares de la divulgación de los kits, la primera población de péptidos aislados es capaz de unirse específicamente a anticuerpos contra antígenos de múltiples especies de *Ehrlichia* incluyendo *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*. En otras realizaciones, la primera población de péptidos aislados comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de SEQ ID NO: 1 o un fragmento de la misma como se describe en el presente documento. Los ejemplos específicos de las secuencias peptídicas con SEQ ID NO: 1 que pueden usarse en los kits se han descrito anteriormente, por ejemplo, aquellos con aminoácidos específicos en ubicaciones que pueden tener diversos aminoácidos. Algunos ejemplos específicos son SEQ ID NO: 4-51. Los fragmentos de SEQ ID NO: 1 que pueden usarse en los kits también se han descrito anteriormente.

En otras realizaciones particulares de la divulgación de los kits, la segunda población de péptidos aislados es capaz de unirse específica o preferencialmente a anticuerpos contra antígenos de *E. ewingii*, pero no a o no preferencialmente a anticuerpos contra antígenos de *E. canis* o *E. chaffeensis*. En otras realizaciones, la segunda población de péptidos aislados comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de SEQ ID NO: 2 o un fragmento de la misma como se describe en el presente documento. Los ejemplos específicos de las secuencias peptídicas con SEQ ID NO: 2 que pueden usarse en los kits se han descrito anteriormente, por ejemplo, aquellos con aminoácidos específicos en ubicaciones que pueden tener diversos aminoácidos. Algunos ejemplos específicos son SEQ ID NO: 52-66. Los fragmentos de SEQ ID NO: 2 que pueden usarse en los kits también se han descrito anteriormente.

En aún otras realizaciones de la divulgación de los kits, la tercera población de péptidos aislados es capaz de unirse específica o preferentemente a anticuerpos contra antígenos de *E. canis* y *E. chaffeensis*, pero no a o no preferencialmente a anticuerpos contra antígenos de *E. ewingii*. En otras realizaciones, la tercera población de péptidos aislados comprende al menos dos o tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de SEQ ID NO: 3 o un fragmento de la misma como se describe en el presente documento. Los ejemplos específicos de las secuencias peptídicas con SEQ ID NO: 3 que pueden usarse en los kits se han descrito anteriormente, por ejemplo, aquellos con aminoácidos específicos en ubicaciones que pueden tener diversos aminoácidos. Algunos ejemplos específicos son SEQ ID NO: 67-120. Los fragmentos de SEQ ID NO: 3 que pueden usarse en los kits también se han descrito anteriormente.

En ciertas realizaciones de la divulgación de los kits, las poblaciones de péptidos están fijadas a o inmovilizadas sobre un soporte sólido. En algunas realizaciones, las poblaciones de péptidos están fijadas a o inmovilizadas sobre un soporte sólido a través de una nanocapa metálica (por ejemplo, una nanocapa de cadmio, cinc, mercurio, oro, plata, cobre o platino). En determinadas realizaciones, el soporte sólido es una perla (por ejemplo, una partícula coloidal o una nanopartícula o nanocápsula metálica), una ruta de flujo en un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, una ruta de flujo en un rotor analítico o centrífugo, un tubo o un pocillo (por ejemplo, en una placa) o un sensor (por ejemplo, un sensor electroquímico, óptico u opto-electrónico).

Los reactivos para tipos particulares de ensayos también pueden proporcionarse en kits de la invención. Por lo tanto, los kits pueden incluir una población de perlas (por ejemplo, adecuadas 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, tales como un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral, un rotor analítico o centrífugo, una transferencia Western, una transferencia de puntos, una transferencia de ranura o un sensor electroquímico, óptico u opto-electrónico. 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 determinadas realizaciones, un péptido, una mezcla de diferentes péptidos (es decir, población de péptidos) de la invención, o una composición peptídica de la invención está fijada a o inmovilizada sobre las perlas, la placa o el dispositivo.

Además, los kits pueden incluir diversos diluyentes y tampones, conjugados marcados u otros agentes para la detección de antígenos o anticuerpos unidos específicamente (por ejemplo, reactivos de marcaje) y otros reactivos generadores de señales, tales como sustratos enzimáticos, 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, una nanocápsula metálica, una nanocapa metálica, fluoróforo, punto cuántico, partícula de látex coloreada o enzima) como reactivo de marcaje. En otras realizaciones, el kit comprende proteína A, proteína G, proteínas de fusión de proteína A/G, proteína L o combinaciones de las mismas conjugadas con un marcador detectable (por ejemplo, una nanopartícula metálica, una nanocápsula metálica, una nanocapa metálica, fluoróforo, partícula de látex coloreada o enzima) como reactivo de marcaje. Una proteína de fusión de proteína A/G ejemplar combina cuatro dominios de unión a Fc de la proteína A con dos de la proteína G. Véase, por ejemplo, Sikkema, J.W.D., Amer. Biotech. Lab, 7:42, 1989 y Eliasson y col., J. Biol. Chem. 263, 4323-4327, 1988.

Un experto en la materia puede determinar fácilmente otros componentes de un kit. Dichos componentes pueden incluir reactivos de recubrimiento, anticuerpos de captura policlonales o monoclonales específicos para una población de péptidos como se describe en el presente documento, extractos purificados o semipurificados de estos antígenos como patrones, anticuerpos detectores de anticuerpos monoclonales, un anticuerpo anti-ratón, anti-perro anti-gato, anti-pollo o anti-humano conjugado a un marcador detectable, tablas de indicadores para comparaciones colorimétricas, guantes desechables, instrucciones de descontaminación, palos aplicadores o recipientes, una copa preparatoria de muestra, etc. En una realización, un kit comprende tampones u otros reactivos apropiados para constituir un medio de reacción que permite la formación de un complejo péptido-anticuerpo.

En determinadas realizaciones de la divulgación, los kits comprenden una instrucción que indica cómo usar la primera, la segunda y/o la tercera poblaciones de péptidos aislados como se describe en el presente documento para detectar un anticuerpo contra un antígeno de *Ehrlichia* y/o para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes. En determinadas 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 población de péptidos de la invención) para detectar un anticuerpo contra uno o más antígenos de *Ehrlichia* y/o para identificar las especies de *Ehrlichia*. En realizaciones particulares, la instrucción comprende instrucciones para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones, la instrucción comprende instrucciones para poner en contacto una muestra biológica con la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos por separado. En realizaciones particulares, la instrucción comprende instrucciones para poner en contacto una muestra biológica con la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos secuencialmente.

Dichos kits proporcionan una forma conveniente, eficiente para que un laboratorio clínico diagnostique la infección por una *Ehrlichia* patogénica y/o identificar la especie de *Ehrlichia* que infecta a un sujeto.

En otro aspecto, la divulgación proporciona composiciones útiles para identificar las especies de *Ehrlichia* que infecta

a un sujeto, si están presentes. En algunas realizaciones, la composición comprende al menos una población de péptidos aislados como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, la invención proporciona una combinación de composiciones que comprenden la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos, respectivamente.

- 5 En otro aspecto, la divulgación proporciona dispositivos útiles para identificar las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes. En algunas realizaciones, el dispositivo comprende al menos una población de péptidos aislados como se definió anteriormente. En determinadas realizaciones, el dispositivo comprende la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos.

10 En determinadas realizaciones de la divulgación, los dispositivos son útiles para realizar un inmunoensayo. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el dispositivo es un dispositivo de inmunoensayo de flujo lateral. En algunas realizaciones, el dispositivo es un portaobjetos compuesto por una pluralidad de perlas a las que se fija un péptido o una población de péptidos. En otras realizaciones, el dispositivo es un rotor analítico o centrífugo. En otras realizaciones, el dispositivo es una transferencia de puntos, una transferencia de ranura o una transferencia Western. En otras realizaciones, el dispositivo es un tubo o un pocillo, por ejemplo, en una placa adecuada para un ensayo ELISA. En otras realizaciones más, el dispositivo es un sensor electroquímico, un sensor óptico, un sensor opto-electrónico, una película de rayos X, generador de imágenes de quimioluminiscencia o un equipo de detección de fotones.

20 Los procedimientos de la invención ofrecen una serie de ventajas. Por ejemplo, permiten la detección sencilla, barata, rápida, sensible y precisa de anticuerpos contra *Ehrlichia* e identificación de las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes. También evitan la reactividad cruzada serológica con otras afecciones con síntomas similares. Esto permite un diagnóstico preciso de las bacterias y especies, facilita de esta manera el tratamiento oportuno y apropiado que puede ser necesario para la especie particular de *Ehrlichia*.

25 Los siguientes ejemplos ilustran ciertos aspectos de la invención. Los ejemplos deberían, por supuesto, entenderse que son meramente ilustrativos de solo ciertas realizaciones de la invención y no constituye limitaciones sobre el ámbito de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Infección experimental de perros con *Ehrlichia* y detección de anticuerpos anti-*Ehrlichia* específicos de especie con ELISA

30 Este ejemplo muestra que los anticuerpos específicos para especies de *Ehrlichia* particulares se generaron y se encontraron reactivas a las poblaciones de péptidos como se describe en el presente documento.

35 Varios perros fueron infectados experimentalmente con *E. canis*, *E. chaffeensis* o *E. ewingii* (cuatro perros por cada especie de *Ehrlichia*) con el fin de estudiar el transcurso de los cambios patológicos y la producción de anticuerpos. Los animales fueron infectados usando cultivos de *E. canis* y *E. chaffeensis*, respectivamente, y estabilizados de sangre de *E. ewingii* (*E. ewingii* no se ha cultivado con éxito y, por lo tanto, no hay portaobjetos para realizar IFA actualmente disponibles para esta especie). Se tomaron muestras de plasma de los perros infectados en diversos puntos de tiempo para generar las "muestras de plasma de perro". Aunque todos los animales infectados mostraron la presencia de ADN bacteriano por PCR, en el período de tiempo permitido para el estudio, solo uno de los perros infectados con *E. chaffeensis* y dos de los perros infectados con *E. canis* mostraron la presencia de anticuerpos antibacterianos según lo determinado por la reactividad con SNAP 4DX Plus™ (fabricado por IDEXX Laboratories, Inc., que detecta anticuerpos contra *E. canis*, *E. ewingii* y *E. chaffeensis*). Todas las muestras de plasma de perros del estudio de infección que resultaron positivas en SNAP 4DX Plus™ también fueron positivas en los ensayos ELISA realizados de acuerdo con el procedimiento descrito a continuación, usando la primera población de péptidos como se describe a continuación (ECHEW1).

45 Se sintetizaron tres poblaciones diferentes de péptidos usando procedimientos de síntesis convencionales. Cada péptido en la primera población de péptidos (ECHEW1) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 1, que comprende un péptido quimérico que abarca dos secuencias diferentes que se unen a los anticuerpos provocados por los siguientes antígenos de *Ehrlichia*: msp4, p30 o p30-1 de *canis/chaffeensis* y 28kD de *ewingii*. La población de péptidos ECHEW1 se une específicamente a los anticuerpos provocados por múltiples especies de *Ehrlichia* (*E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*). Cada péptido en la segunda población de péptidos (EE13) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 2. La población de péptidos EE13 se une específicamente a los anticuerpos provocados principalmente por *E. ewingii* con alguna baja reactividad cruzada a *E. canis* y *E. chaffeensis*. Cada péptido en la tercera población de péptidos (EE12EW1) contenía una secuencia de SEQ ID NO: 3. La población de péptidos EE12EW1 se une específicamente a los anticuerpos provocados principalmente por *E. canis* y *E. chaffeensis* con alguna baja reactividad cruzada a *E. ewingii*.

55 Procedimiento ELISA

1. Antígeno de recubrimiento

1.1. El número deseado de pocillos en placas de 96 pocillos (Microplacas Thermo Scientific Nunc™ MaxiSorp) se revistió con 1-20 µg/ml de Abaxis población de antígenos de *Ehrlichia* ECHEW1, EE12EW1 o EE13, cada uno conjugado con BSA y diluido en tampón carbonato/bicarbonato sódico 0,1 M (pH 9-9,4). El recubrimiento se realizó añadiendo 0,1 ml del antígeno a cada pocillo e incubando la placa en un agitador de microplacas a 250-300 rpm a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora.

1.2. La solución de revestimiento se retiró, seguido de frotar las placas con toallas de papel para eliminar las gotas colgantes. Se añadieron 0,3 ml de agua desionizada a cada pocillo y las placas se agitaron a 250-300 rpm durante 5 minutos. El líquido se retiró como anteriormente.

1.3. La etapa de lavado como en 1.2 se repitió dos veces.

2. Bloqueo de la placa

2.1. Los pocillos de la placa recubierta se bloquearon tratando con la solución de bloqueo que consiste en 30 g de leche descremada en 100 ml de agua desionizada. Cada pocillo se cargó con 0,3 ml de solución de bloqueo y las placas se colocaron en un agitador a 250-300 rpm durante aproximadamente una hora.

2.2. Se retiró la solución de bloqueo y la placa se secó sobre una toalla de papel para retirar las gotas colgantes.

3. Incubación de muestra/calibrador

3.1 Los calibradores de anticuerpos *anti-Ehrlichia* se generaron a partir de plasma canino haciendo un grupo de muestras de plasma de alto título contra especies conocidas. La especie se determinó por pruebas diferenciales SNAP 4DX Plus™ y SNAP 3DX™ (fabricado por IDEXX, que detecta anticuerpos contra *E. canis* y *E. chaffeensis*, pero no *E. ewingii*) e IFA. Después se asignó una puntuación arbitraria al grupo y se diluyó a varios niveles en un diluyente de plasma canino negativo. La puntuación escaló linealmente con la dilución: por ejemplo, si una muestra con puntuación 40 se diluye 2 veces, la puntuación resultante sería 20. Un conjunto de cinco calibradores de *Ehrlichia* se ejecutó en cada placa para el ELISA de *Ehrlichia*. Un conjunto estaba compuesto por muestras de plasma que fueron positivas para *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*, y se usó con una placa recubierta con ECHEW1. Un conjunto estaba compuesto por anti-muestras positivas para *E. canis*/*E. chaffeensis*, usando muestras que muestran títulos cercanos en IFA para *canis* y *chaffeensis*, respectivamente y se usó con una placa recubierta con ECHEW1 y una placa recubierta con EE12EW1. Otro conjunto estaba compuesto por anti-muestras positivas para *E. ewingii* y se usó con una placa recubierta con EE13. Cada muestra de plasma o calibrador de perro se diluyó 250 veces en la solución de bloqueo. Se añadieron alícuotas de 0,1 ml de cada uno de los calibradores diluidos y las muestras de plasma de perros a los pocillos y se colocaron placas en el agitador a 250-300 rpm durante una hora. Tanto los calibradores como las muestras de plasma de perros se procesaron por duplicado y los resultados informados son el promedio de las dos lecturas.

3.2. La solución de muestra se retiró y la placa se lavó en el tampón de lavado que contenía base Trizma 50 mM (Sigma-Aldrich T1503) y detergente CHAPS al 0,05 % (pH 8,0) (Sigma-Aldrich C3023). La etapa de lavado se llevó a cabo añadiendo 0,3 ml del tampón de lavado y agitando la placa a 250-300 rpm durante 5 minutos. La solución de lavado se retiró invirtiendo la placa y después se secó sobre una toalla de papel para eliminar las gotas colgantes. 3.3 La etapa de lavado anterior se repitió dos veces.

4. Incubación conjugada

4.1. El conjugado de proteína A-HRP (Bio-Rad 170-6522) se diluyó 8000 veces en la solución de bloqueo (descrita en 2.1 anteriormente) y se añadieron 0,1 ml del conjugado diluido a cada pocillo. Las placas se incubaron después con agitación a 250-300 rpm a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora.

4.2. El conjugado se retiró y las placas se secaron con una toalla de papel para eliminar las gotas colgantes. Las placas se lavaron tres veces como se describe anteriormente en 3.2 y 3.3. Por último, las placas se lavaron con 0,3 ml de agua destilada por pocillo.

4.3. El conjugado unido se ensayó añadiendo 0,1 ml de la solución de sustrato TMB (Millipore ES022). El sustrato se dejó reaccionar durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de tomar lecturas de DO 650 nm en un lector de placas (Spectramax 340 PC).

Se tomaron muestras de plasma de los perros infectados en varios puntos de tiempo y se analizaron con el procedimiento ELISA de *Ehrlichia* como se describe arriba usando ECHEW1, EE13 y EE12EW1, respectivamente. Los resultados se muestran en la Figura 2. Estos resultados muestran la reactividad de ECHEW1 y EE12EW1 con anticuerpos producidos en respuesta a *E. canis* y *E. chaffeensis*. Los anticuerpos producidos en respuesta a *E. canis* no reaccionaron con la población de péptidos específicos de *E. ewingii* EE13. Se observó una muy leve reactividad cruzada con EE13 de la muestra de 42 días después de la infección a partir de los perros infectados con *E. chaffeensis*.

Ejemplo 2 - Detección de presencia y anticuerpos específicos de especies de muestras positivas o negativas anti-*Ehrlichia* adicionales conocidas usando las poblaciones de péptidos

Este ejemplo muestra la detección de la presencia de anticuerpos *anti-Ehrlichia* y, si están presentes, los anticuerpos específicos de especie de muestras adicionales que se identificaron mediante procedimientos de referencia para ser anti-*Ehrlichia*-positivos o negativos, usando las poblaciones de péptidos ECHEW1, EE13 y EE12EW1 en ELISA. Muestra que los resultados de ELISA están de acuerdo con los resultados del procedimiento de referencia.

Cada péptido en las tres poblaciones, ECHEW1, EE13 y EE12EW1, se enlazó por separado a la proteína transportadora seroalbúmina bovina (BSA) usando química de tio-éter. Los conjugados BSA-péptido resultantes se usaron como entidades de captura en placas ELISA de 96 pocillos para crear tres ensayos ELISA separados (una población de péptidos por placa). Después se bloquearon las placas para evitar una unión no específica indeseable.

- 5 Un total de 224 muestras anti-*Ehrlichia* positivas (muestras de plasma de perro positivas a *E. canis*, *E. chaffeensis* o *E. ewingii* según lo determinado por IFA y SNAP 4DX Plus™/SNAP 3Dx™) y 264 muestras negativas contra *Ehrlichia* (244 muestras de plasma de perro y 20 muestras de sangre completa de perro negativas para *E. Canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii* según lo determinado por los mismos procedimientos de referencia) se incubaron con las poblaciones de péptidos inmovilizados en cada una de las tres placas ELISA. Después de una hora de incubación, los materiales no reaccionados se retiraron lavando los micro pocillos. Las IgG o IgM de perro capturadas específicamente se detectaron por reacción con la proteína A marcada con HRP. HRP se ensayó usando un sustrato TMB comercial. La densidad óptica de cada pocillo se leyó a 650 nm en un lector de placas. Un resumen de los resultados separados por "Estado de la muestra", de las pruebas IFA y SNAP, se muestra en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1 - Resultados de ELISA de muestras conocidas de *Ehrlichia*-positivas o negativas

Estado de muestra ¹	Resultado ELISA ²			Total
	ECHEW1-Positivo con EE12EW1>EE13	ECHEW1-Positivo con EE13>EE12EW1	ECHEW1-Negativo	
<i>E. canis</i>	50	0	1	51
<i>E. chaffeensis</i>	49	4	4	57
<i>E. ewingii</i>	2	80	10	92
Positivo, especie indeterminada	23	1	0	24
Negativo	2	3	259	264

¹El estado de la muestra se determinó a partir de los resultados de las pruebas IFA y SNAP.
²Un resultado de ELISA para ECHEW1 se clasificó como "positivo" si tenía una puntuación ≥ 3 o "negativo" si tenía una puntuación <3 .

- 15 De las 224 muestras anti-*Ehrlichia*-positivas (determinadas por las pruebas IFA y SNAP), 209 se identificaron positivas por el presente ensayo ELISA usando la población de péptidos ECHEW1. Por lo tanto, el porcentaje de sensibilidad del ELISA ECHEW1 fue del 93,3 %. De las 264 muestras anti-*Ehrlichia* negativas, 259 fueron identificadas negativas por el presente ensayo ELISA. Por lo tanto, el porcentaje de especificidad del ELISA ECHEW1 fue del 98,1 %.
 20 Adicionalmente, de las 108 muestras que fueron clasificadas como específicas anti-*E. canis* o específicas anti-*E. chaffeensis* mediante pruebas IFA y SNAP, 99 ("ECHEW1-Positivo con EE12EW1> EE13") fueron identificados correctamente por el presente procedimiento de detección ELISA. De las 92 muestras que fueron clasificadas como específicas anti-*E. ewingii* mediante pruebas IFA y SNAP, 80 ("ECHEW1-Positivo con EE13> EE12EW1") fueron identificadas por el presente procedimiento de detección ELISA. Por lo tanto, los presentes procedimientos ELISA están en buen acuerdo con los procedimientos de referencia.
- 25 Además, de las 25 muestras anti-*Ehrlichia*-positivas cuya información de especies no pudo determinarse mediante ensayos IFA o SNAP, el presente ELISA los identificó como específicos de *E. Canis*/*E. chaffeensis* (si la puntuación EE12EW1 fue mayor que la puntuación EE13) o bien específicos de *E. ewingii* (si la puntuación EE13 fue mayor que la puntuación EE12EW1), con bastante confianza.

30 En algunas realizaciones, pueden usarse inmunoensayos de flujo lateral en lugar de los ensayos ELISA en los procedimientos descritos anteriormente. Por lo tanto, otros formatos de ensayo que emplean las poblaciones de péptidos como se describe en el presente documento pueden usarse en los procedimientos de la invención para identificar especies de *Ehrlichia*.

Ejemplo 3 - Generación de curvas patrón e identificación de tres muestras desconocidas

35 Este ejemplo demuestra en detalle cómo podrían generarse las curvas patrón para las tres poblaciones de péptidos aislados, ECHEW1, EE13 y EE12EW1, así como cómo se clasificaron tres muestras desconocidas de acuerdo con los procedimientos de la invención.

40 Se realizó un ensayo ELISA de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. En particular, un conjunto de cinco calibradores de *Ehrlichia* generados a partir de muestras de plasma canino conocidas como se describe en el Ejemplo 1 se corrieron en cada placa para el ELISA de *Ehrlichia*. Un conjunto estaba compuesto por muestras positivas de *E. canis*/*E. chaffeensis* y se usó con una placa recubierta con ECHEW1 y una placa recubierta con EE12EW1. Otro conjunto estaba compuesto por muestras positivas de *E. ewingii* y se usó con una placa recubierta con EE13.

Cada una de las tres muestras de plasma canino desconocidas se diluyó 250, 500 y 1000 veces en la solución de bloqueo. Se añadieron después alícuotas de 0,1 ml de cada uno de los calibradores diluidos y las muestras desconocidas a los pocillos y se colocaron placas en el agitador a 250-300 rpm durante una hora.

5 Tanto los calibradores como las muestras de plasma desconocidas se procesaron por duplicado y los resultados informados son el promedio de las dos lecturas.

Análisis de datos

10 Se preparó una curva patrón para cada población de péptidos usando los respectivos calibradores ELISA con puntuaciones (puntuación ECHEW1 para todas las especies, puntuación EE12EW1 para *canis* y/o *chaffeensis* y la puntuación EE13 para *ewingii*) en el eje x y la densidad óptica (DO) en el eje y. Las puntuaciones de *Ehrlichia* de las muestras desconocidas se interpolaron a partir de esta curva patrón. La puntuación ECHEW1, la puntuación EE12EW1 o la puntuación EE13 para una muestra desconocida se determinó usando la DO de una dilución que cae dentro de la curva de calibración.

Resultados

Los resultados de ELISA (lecturas de DO 650 nm) de los calibradores se muestran en la Tabla 2:

15 **Tabla 2 - Curvas patrón (puntuaciones asignadas y lecturas de DO de los calibradores)**

Puntuación	ECHEW1 DO 650 nm	EE12EW1 DO 650 nm	EE13 DO 650 nm
0	0,00	0,00	0,00
10	0,04	0,03	0,06
40	0,40	0,24	0,13
80	0,72	0,43	0,28
120	1,03	0,68	0,83

Las curvas patrón se calcularon como sigue:

ECHEW1: DO = 0,0088 (Puntuación ECHEW1) + 0,0027
 EE12EW1: DO = 0,0055 (Puntuación EE12EW1) + 0,005
 EE13: DO = 0,0069 (Puntuación EE13) + 0,0029

20 Los resultados de ELISA de las muestras desconocidas se muestran en la Tabla 3:

Tabla 3 - Lecturas de DO de ELISA de muestras desconocidas

Nombre de muestra	ECHEW1 DO 650 nm	EE12EW1 DO 650 nm	EE13 DO 650 nm
Desconocida 1	0,42	0,03	0,34
Desconocida 2	0,48	0,31	0,01
Desconocida 3	0,0003	0,012	0,002

Las puntuaciones de las muestras desconocidas se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$(PUNTUACIÓN) = (DO - B)/A$$

En la que B es la intersección de la curva patrón y A es la pendiente.

25 Para cada puntuación, la DO y las constantes usadas provienen de la población de péptidos en cuestión.

Las puntuaciones calculadas para cada muestra desconocida son las siguientes:

1.) Desconocida 1
 (Puntuación ECHEW1) = (0,42-0,0027)/0,0088 = 47
 (Puntuación EE12EW1) = (0,03-0,005)/0,0055 = 5
 (Puntuación EE13) = (0,34-0,0029)/0,0069 = 49
 30 La puntuación de ECHEW1 se usó para determinar si la muestra es positiva o negativa para la infección con alguna especie de *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*. Después se comparó la puntuación EE13 con la puntuación EE12EW1 para determinar la especie de la infección. En este caso, para Desconocida 1, la puntuación ECHEW1 es positiva y la puntuación EE13 >> la puntuación EE12EW1, entonces la muestra es positiva para *E. ewingii*.

2.) Desconocida 2

(Puntuación ECHEW1) = $(0,48-0,0027)/0,0088 = 54$

(Puntuación EE12EW1) = $(0,31-0,005)/0,0055 = 55$

(Puntuación EE13) = $(0,01-0,0029)/0,0069 = 1$

5 Puntuación EE12EW1 >> Puntuación EE13, entonces la muestra es positiva para *E. canis*/*E. chaffeensis*.

3.) Desconocida 3

(Puntuación ECHEW1) = $(0,003-0,0027)/0,0088 = 0$

(Puntuación EE12EW1) = $(0,012-0,005)/0,0055 = 1$

(Puntuación EE13) = $(0,002-0,0029)/0,0069 = 0$

10 Las tres puntuaciones son muy bajas, por lo que la muestra es negativa para las tres especies de *Ehrlichia*.

Corte

15 El límite para el procedimiento de prueba ELISA se calculó sobre la base del análisis de 294 muestras, 128 negativas y 166 positivas. Estas muestras fueron clasificadas por el uso de SNAP 4Dx Plus y títulos de IFA de *E. Canis* y *E. chaffeensis*. Las muestras usadas en este estudio fueron cualquiera para las cuales ambos procedimientos estuvieron de acuerdo, es decir, tanto SNAP como IFA fueron positivos o ambos fueron negativos. En este caso, el valor de IFA fue el valor utilizado. Cada una de estas 294 muestras se probó usando ensayos ELISA de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 y se asignó una puntuación de nivel de anticuerpos a cada resultado de ensayo para cada muestra. El estado positivo y negativo para una muestra procesada a través de este ensayo ELISA se determinó solo con base en la puntuación ECHEW1, por lo que todos los cálculos aquí se referían a la puntuación ECHEW1 para estas muestras.

20 El límite se estableció en tres desviaciones estándar por encima de la media negativa. Para este conjunto de muestra que es:

Media de muestras negativas 0,37

Desviación estándar de muestras negativas 0,82

25 Media + 3x {Des.Est} 2,84

En este ejemplo, todas las puntuaciones se redondearon al número entero más cercano, por lo que cualquier muestra con una puntuación ECHEW1 >= 3 se consideró positiva. Con una puntuación ELISA de 3, uno esperaría un 99,2 % de especificidad y un 95,8 % de sensibilidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

30 <110> Mehra, Rajesh K.
Walker, Jeremy D.
Aron, Kenneth P.
Bleile, Dennis M.
35 Cuesico, Cristina
Forsyth, Timothy P.

<120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA IDENTIFICAR ESPECIES DE EHRLICHIA

<130> ABAX-043/01WO

<150> US 61/975.581

<151> 04/04/2014

40 <160> 120

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 71

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<220>

<221> MISC_FEATURE

50 <222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser Ala o Val
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 5 <223> Xaa puede ser Glu o Asp
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa puede ser Thr o Val
 <220>
 15 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala
 <220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa puede ser Leu o Val
 <220>
 25 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
 <220>
 30 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
 <220>
 35 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
 <220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa puede ser Ser o Val
 <220>
 45 <221> MISC_FEATURE
 <222> (23)..(23)
 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro
 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys
 <220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

5

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

10

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

15

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

20

<400> 1

 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

25

<210> 2
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

35

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 5 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

10 <400> 2

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> 3
 <211> 71
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

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

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa puede ser Glu o Asp

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 30 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 35 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa puede ser Thr o Val

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 40 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa puede ser Gly o Ala

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 45 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa puede ser Leu o Val

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe

- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa puede ser Ser o Val
- 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (23)..(23)
 <223> Xaa puede ser Ala, Ser o Thr
- 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa puede ser Ala o Ile
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa puede ser Thr o Pro
- 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa puede ser Ser, Asn o Lys
- 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (41)..(41)
 <223> Xaa puede ser Asp o Asn
- 35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- 40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (48)..(48)
 <223> Xaa puede ser Val o Ala
- 45 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido
- <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (58)..(58)
- 55

ES 2 794 373 T3

<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

5 <210> 4
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

10 <400> 4

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

15 <210> 5
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 5

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 6

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 6

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 7

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 7

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 8
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 8

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 9
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

15

<400> 9

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

5 <210> 10
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 10

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 11
<211> 71
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 11

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys

65

70

<210> 12

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 12

Ser Val Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 13

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 13

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

- <210> 14
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

5

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 14

Ser Val Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

- <210> 15
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

10

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

15

<400> 15

ES 2 794 373 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 16

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 16

Ser Ala Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 17

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 17

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 18
- <211> 71
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 18

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Thr Ala Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- 10 <210> 19
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 19

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Thr Gly Val Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 20

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 20

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 21

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 21

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Ala Val Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 22

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 22

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Val Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 23

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 23

ES 2 794 373 T3

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

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 24
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 24

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

Gln Asn Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 25
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 25

ES 2 794 373 T3

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

Gln Asp Trp Asn Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 26
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 26

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 27
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 27

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 28

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 28

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asn Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 29

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 29

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 30

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 30

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 31

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 31

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 32

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 32

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ser Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys

65

70

10 <210> 33

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 33

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Thr Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 34

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 34

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ser Ile Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 35

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 35

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Thr Ile Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 36

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 36

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ile Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 37

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 37

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 38

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 38

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Asn Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 39

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 39

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Lys Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 40

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 40

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Asn Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 41

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 41

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Lys Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 42

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 42

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Asn Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 43

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 43

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

ES 2 794 373 T3

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Lys Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

- <210> 44
- <211> 71
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 44

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

- 10 <210> 45
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 45

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn

ES 2 794 373 T3

20

25

30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Glu Thr Arg Gln Thr Phe Gly Leu
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 46

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 46

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 47

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 47

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

ES 2 794 373 T3

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

5 <210> 48
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 48

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 49
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 49

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 50
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 50

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- 10 <210> 51
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 51

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 52
 <211> 39
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 52

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

10 <210> 53
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 53

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 54
 <211> 39

ES 2 794 373 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

5 <400> 54
 Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Glu Thr Arg Arg Thr Phe Gly Leu
 1 5 10 15
 Glu Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Gln Ile Glu Glu Asn Gln Val Gln Asn
 20 25 30
 Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 55
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 55
 Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Glu Thr Arg Arg Thr Phe Gly Leu
 1 5 10 15
 Glu Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Lys Ile Thr Glu Asn Gln Val Gln Asn
 20 25 30
 Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 56
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

20 <400> 56
 Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Glu Thr Arg Lys Thr Phe Gly Leu
 1 5 10 15
 Glu Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Gln Ile Glu Glu Asn Gln Val Gln Asn
 20 25 30
 Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 57
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>

ES 2 794 373 T3

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 57

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

5

<210> 58

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

10

<400> 58

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

15

<210> 59

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 59

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

20

<210> 60

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 60

ES 2 794 373 T3

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
35

5 <210> 61
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 61

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
35

10 <210> 62
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 62

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
35

20 <210> 63
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 63

ES 2 794 373 T3

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 64

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 64

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

10 <210> 65

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 65

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

<210> 66

<211> 39

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 66

ES 2 794 373 T3

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 35

5 <210> 67
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 67

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 68
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 68

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Arg Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 69

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 69

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Arg Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 70

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 70

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Arg Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 71
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 71

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 72
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 72

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 73
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 73

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 74
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 74

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 75

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 75

Ser Val Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 76

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 76

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 77
- <211> 71
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 77

Ser Val Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- 10 <210> 78
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
- <400> 78

ES 2 794 373 T3

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys

65

70

<210> 79

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 79

Ser Ala Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 80

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 80

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 81

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 81

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Val Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 82

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 82

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Pro Thr Thr Ala Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 83

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 83

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Val Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 84

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 84

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Val Ala Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 85

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 85

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Ala Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 86

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 86

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Val Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 87

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 87

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Val Phe Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 88

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 88

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Val Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

5 <210> 89
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
 <400> 89

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

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 90
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*
 <400> 90

ES 2 794 373 T3

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

Gln Asn Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 91

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 91

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn

20

25

30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10

<210> 92

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 92

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asn Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 93
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 93

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asn Gly Ser Ser Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

- <210> 94
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 94

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asn Gly Ser Thr Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 95

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 95

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 96

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 96

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 97

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 97

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

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

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 98

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 98

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ser Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 99

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 99

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Thr Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys

65

70

10 <210> 100

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 100

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ile Thr Asn Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 101
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 101

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ile Thr Lys Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- 10 <210> 102
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 102

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ile Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 103

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 103

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 104

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 104

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Asn Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 105

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 105

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Pro Lys Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 106

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 106

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Asn Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 107

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 107

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Lys Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 108

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 108

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 109

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 109

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 110

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 110

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

ES 2 794 373 T3

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 111

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 111

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 112

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 112

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn

ES 2 794 373 T3

20

25

30

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

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 113

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 113

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Arg Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 114

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 114

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

ES 2 794 373 T3

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Gln Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 115

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 115

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

10 <210> 116

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 116

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

<210> 117

<211> 71

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 117

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
65 70

10 <210> 118

<211> 71

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 118

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 119
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 119

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
 35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

- <210> 120
- <211> 71
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> Péptido antigénico de *Ehrlichia*

<400> 120

ES 2 794 373 T3

Ser Ala Lys Glu Glu Lys Gln Thr Thr Thr Gly Leu Tyr Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Asp Trp Asp Gly Ser Ala Ala Thr Ser Gly Gly Gly Gly Gly Asn
20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Ala Asp Thr Arg Lys Thr Phe Gly Val
35 40 45

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

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys

65

70

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de identificación de las especies de *Ehrlichia* que infectan a un sujeto, si están presentes, comprendiendo el procedimiento:

5 poner en contacto una muestra del sujeto con una primera población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-E-T-R-X₄₄-T-F-G-L-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 1), en la que X₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X₁₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido y
10 detectar la formación de un primer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la primera población;
15 en el que el procedimiento comprende además las etapas de:

(i) poner en contacto dicha muestra con una segunda población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de F-S-A-K-E-E-X₇-A-E-T-R-X₁₂-T-F-G-L-X₁₇-K-Q-Y-D-G-A-X₂₄-I-X₂₆-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 2), en la que X₇ es cualquier aminoácido, X₁₂ es cualquier aminoácido, X₁₇ es cualquier aminoácido, X₂₄ es cualquier aminoácido y X₂₆ es cualquier aminoácido, y
25 detectar la formación de un segundo conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la segunda población, en el que la formación del primer y segundo conjuntos de complejos indica que el sujeto está infectado con *Ehrlichia ewingii* (*E. ewingii*) y en el que la formación del primer conjunto de complejos, pero no el segundo, indica que el sujeto está infectado con *Ehrlichia canis* (*E. canis*) y/o *Ehrlichia chaffeensis* (*E. chaffeensis*); o
30 (ii) poner en contacto dicha muestra con una tercera población de péptidos aislados que comprende al menos tres péptidos diferentes, comprendiendo cada uno una secuencia de S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-X₄₁-T-R-X₄₄-T-F-G-X₄₈-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 3), en la que X₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A y V, X₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en E y D, X₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₁₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y V, X₁₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en G y A, X₁₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en L y V, X₁₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Y y F, X₁₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₀ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₂₂ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S y V, X₂₃ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A, S y T, X₂₄ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en A e I, X₂₅ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en T y P, X₂₆ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en S, N y K, X₃₉ es cualquier aminoácido, X₄₁ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D y N, X₄₄ es cualquier aminoácido, X₄₈ es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en V y A, X₄₉ es cualquier aminoácido, X₅₆ es cualquier aminoácido y X₅₈ es cualquier aminoácido; y

35 detectar la formación de un tercer conjunto de complejos que comprenden un anticuerpo y uno o más péptidos en la tercera población, en el que la formación de los conjuntos primero y tercero de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis* y en el que la formación del primer pero no el tercer conjunto de complejos anticuerpo-péptido indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii*.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que
X₃₉ en SEQ ID NO: 1 es K,
X₄₄ en SEQ ID NO: 1 es K o R y/o X₄₉ en SEQ ID NO: 1 es E o D, o
X₅₆ en SEQ ID NO: 1 es K o Q, y/o X₅₈ en SEQ ID NO: 1 es E o T.

55 3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que X₇ en SEQ ID NO: 2 es K,
X₁₂ en SEQ ID NO: 2 es K o R y/o X₁₇ en SEQ ID NO: 2 es E o D, o
X₂₄ en SEQ ID NO: 2 es K o Q, y/o X₂₆ en SEQ ID NO: 2 es E o T.

60 4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que
X₃₉ en SEQ ID NO: 3 es K,
X₄₄ en SEQ ID NO: 3 es K o R y/o X₄₉ en SEQ ID NO: 3 es E o D, o

X₅₆ en SEQ ID NO: 3 es K o Q, y/o X₅₈ en SEQ ID NO: 3 es E o T.

- 5 El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el procedimiento comprende además poner en contacto la muestra con la primera, la segunda y la tercera poblaciones de péptidos aislados y en el que la formación del primer y segundo conjuntos de complejos pero no el tercer conjunto indica que el sujeto está infectado con *E. ewingii* y en el que la formación del primer y tercer conjunto de complejos pero no el segundo conjunto indica que el sujeto está infectado con *E. canis* y/o *E. chaffeensis*.
- 10 6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra es analizada adicionalmente con al menos un ensayo para determinar si la especie infectante es *E. canis* o *E. chaffeensis*, opcionalmente en el que dicho al menos un ensayo es un ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFA), un ensayo de transferencia de puntos, un ensayo de flujo lateral, un ELISA o una transferencia Western.
- 15 7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos una de dichas etapas de detección comprende: (i) realizar un ensayo ELISA; (ii) ejecutar un ensayo de flujo lateral; (iii) realizar un ensayo de aglutinación; (iv) realizar una transferencia Western, una transferencia de ranura o un ensayo de transferencia de punto; (v) realizar un ensayo de desplazamiento de longitud de onda; (vi) hacer pasar la muestra a través de un rotor analítico o centrífugo; o (vii) ejecutar un ensayo de micromatrices.
8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha muestra es de un sujeto humano, canino o felino.
- 20 9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha muestra es una muestra de sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, extracto de tejido, orina o saliva, opcionalmente en el que dicha muestra es una muestra de sangre completa.
10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además informar resultados de detección.

Identificación de especies de *Ehrlichia*

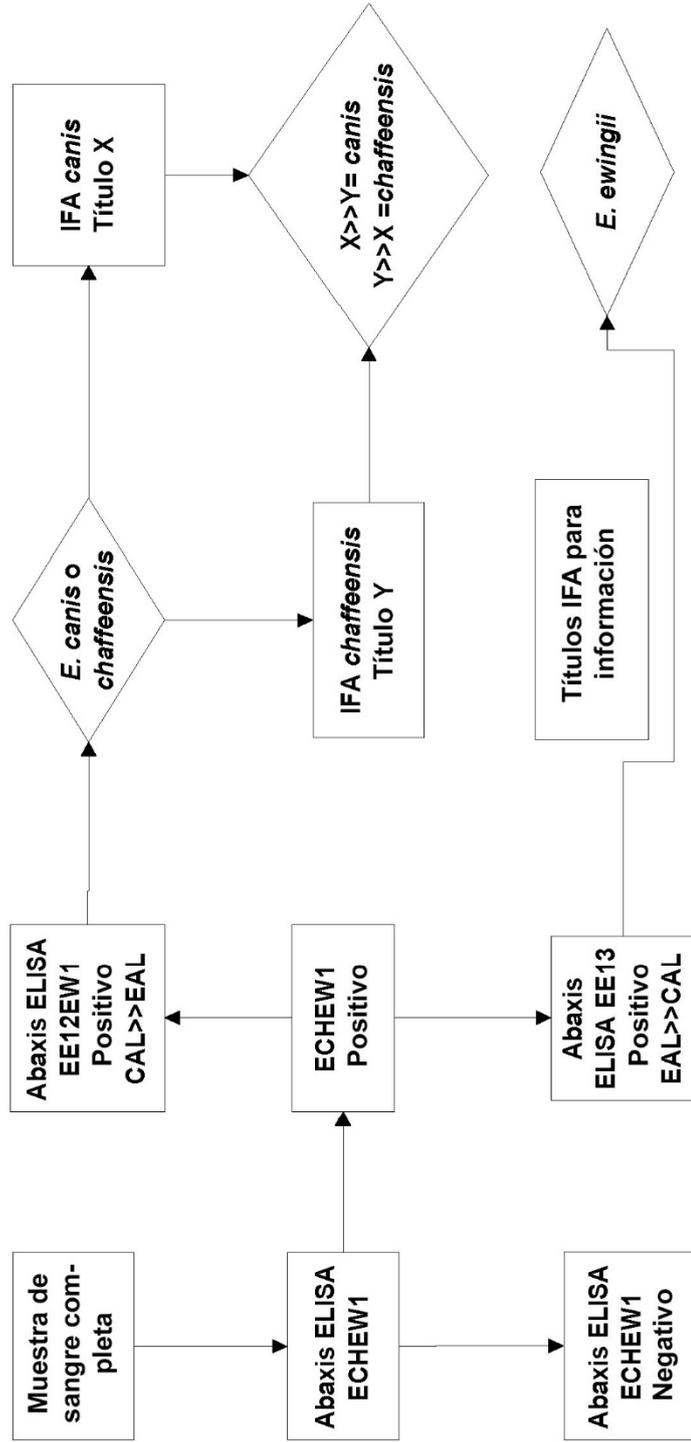


Figura 1

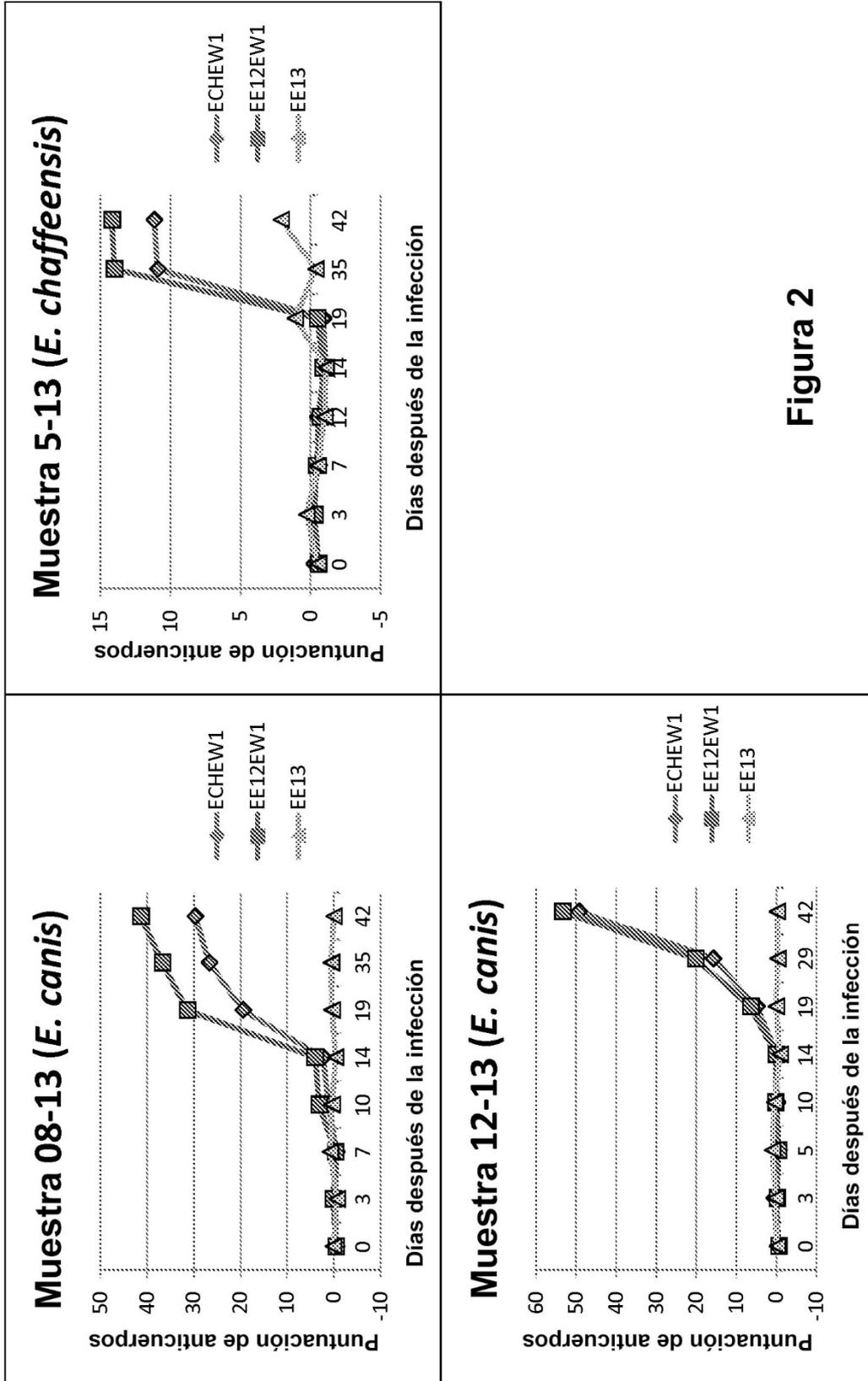


Figura 2