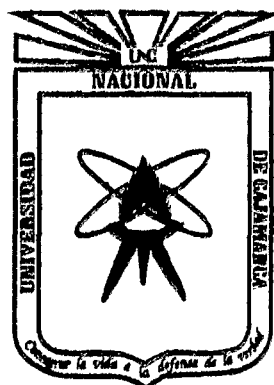


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**FRECUENCIA DE EHRlichia CANIS EN CANINOS  
DE LA CIUDAD DE CHIMBOTE - 2013**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
MÉDICO VETERINARIO**

**PRESENTADO POR:**

***Bach. MIGUEL ÁNGEL JARA ACUÑA***

**ASESOR:**

***M.Cs. M.V. Marcelino Adolfo Irazábal Léctor***

**CAJAMARCA - PERÚ**

**2014**



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las doce horas del día veintiséis de junio del dos mil catorce, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “César Bazán Vásquez” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada “**FRECUENCIA DE *Ehrlichia canis* EN CANINOS DE LA CIUDAD DE CHIMBOTE 2013**”, presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **Miguel Angel Jara Acuña**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **QUINCE ( 15 )**.

Siendo las trece horas del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

  
DR. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES  
PRESIDENTE

  
M.Cs. M.V. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ  
SECRETARIO

  
Mg. M.V. JAIME MEGO SILVA  
VOCAL

## **DEDICATORIA**

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

## AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Huber y Mery por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar. por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

A mis hijas por ser el motivo de lucha constante en mi vida; Astryd y Naomi.

A mi esposa Blanca, por ser una parte muy importante en mi vida, por haberme apoyado en las buenas y en las malas, sobre todo por su paciencia y amor incondicional.

Le agradezco la confianza, apoyo y dedicación de tiempo a mis profesores: Por haber compartido conmigo sus conocimientos y sobre todo su amistad.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la ciudad de Chimbote - Perú, tuvo como objetivo determinar la frecuencia de presentación de caninos e positivos a *Ehrlichia canis* según edad y sexo en animales residentes en la zona, diagnosticados mediante una prueba comercial inmunocromatográfica, la misma que se realizó en la Clínica Veterinaria Mi Mascota. Para el efecto se sometieron a la prueba experimental 30 perros de ambos sexos, procedentes de diferentes Clínicas Veterinarias de la ciudad, los mismos que fueron clasificados en tres grupos de edad: de 0 a 2 , de 2 a 4 y mayores de 4 años. Para la realización del test se utilizó sangre entera y se procedió según las normas establecidas por el fabricante, los resultados se registraron como positivos o negativos, de las 30 pruebas realizadas; 7 fueron positivas ( 23,3%) y 23 negativas (76,4 %), asimismo según el sexo, se encontró 5 machos positivos (27,8%) y 13 negativos (72,2%); en cuanto a hembras 2 fueron positivas (16,7%) y 10 negativas (83,3%), finalmente en lo que respecta a edad, de 0 a 2 años, 2 animales resultaron positivos (20%) y 8 negativos (80%), de 2 a 4 años, se encontró 1 positivo (10%) y 9 negativos (90%); y en el grupo de mayores de 4 años, 4 fueron positivos (40%) y 6 negativos (60%). Bajo las condiciones del presente trabajo de investigación se puede concluir que el agente causal de la Ehrlichiosis canina está afectando la población de canes residentes en la ciudad de Chimbote.

## ABSTRACT

Present the work of investigation one took an end in Chimbote's city - Peru, the frequency of presentation had as aim determine of canine and positive an Ehrlichia canis according to age and sex in residents of animals in the zone, diagnosed by means of a test inmunocromatográfica commercial, the same one that carried out in the Veterinary Clinic My Pet. Paragraph effect there submitted one the test 30 experimental dogs of both sexes, proceeding from different Veterinary Clinics of the city, the same ones that were classified under three groups of age: of 0 the 2, of 2 4 mayors and of 4 years. The paragraph the accomplishment of the prueba was in use entire blood and one proceeded according to the procedure established by manufacturer-, the results registered as positives it or negatives, of 30 realized tests; 7 were positive (23,3 %) and 23 denials (76,4 %), likewise according to sex-, one found 5 positive males (27,8 %) and 13 negatives (72,2 %); in all that a hembras 2 were positive (16,7 %) and 10 denials (83,3 %), finally in what concerns an edad, of 0 2 years, 2 animals turned out to be positive (20 %) and 8 negatives (80 %), of 2 4 years, there was 1 (10 %) positive and 9 negatives (90 %); and group in that of 4-year-old mayors, 4 were positive (40 %) and 6 negatives (60 %). Under the conditions of the present work of investigation it is possible to conclude that the causal agent of the canine Ehrlichiosis is affecting the population of residents of canes in Chimbote's city.

## ÍNDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
DEDICATORIA	02
AGRADECIMIENTO	03
RESUMEN	04
ABSTRACT	05
CAPÍTULO I : INTRODUCCIÓN	07
CAPÍTULO II : MARCO TEÓRICO	09
CAPÍTULO III : MATERIALES Y MÉTODOS	20
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	24
CAPÍTULO V : DISCUSIÓN	26
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	28
CAPÍTULO VII: BIBLIOGRAFIA	29

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad inmunodepresiva de los caninos domésticos y silvestres, tiene una distribución mundial. Es también llamada “enfermedad del perro rastreador”, “pancitopenia canina tropical”, “fiebre canina hemorrágica”, y “tifus canina”(Frisby, 1997). Esta enfermedad es producida por una rickettsia, la *Ehrlichia canis*, microorganismo gram negativo, pleomórfico, que infecta a los monocitos circulantes dentro de su citoplasma en agregados denominados ‘mórulas’. *E. canis* es transmitida por la garrapata marrón del perro, el *Rhipicephalus sanguineus*, la cual ocurre en forma transestadial, pero no transovárica (Waner y Harrus, 2000). La infección dentro del animal se disemina vía sanguínea o linfática dentro de las células mononucleares infectadas, llegando a otros sistemas orgánicos (Tesouro y Sainz, 1993). La mayoría de casos se presenta en áreas endémicas durante los meses de primavera y verano, cuando la población de garrapatas es más activa. Como la transmisión de la ehrlichiosis es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden ocasionar altas tasas de infección (Waner y Harrus, 2000). La garrapata marrón del perro, *R. sanguineus*, tiene una alta prevalencia en el Perú (Liberato, 1998; Bustamante, 1998; Estares, 1999); sin embargo, no existen reportes sobre la presencia de la *E. canis* en la ciudad de Chimbote, lo que motiva el presente trabajo de investigación, a fin de determinar la frecuencia de presentación de caninos seropositivos a *E. canis* utilizando una prueba inmucromatográfica.



## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la frecuencia de presentación de caninos serológicamente positivos a *Ehrlichia canis* en canes residentes en la ciudad de Chimbote, diagnosticados mediante una prueba inmunocromatográfica.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1.- Determinar la frecuencia de presentación para *Ehrlichia canis* en caninos residentes en la ciudad de Chimbote según edad.
- 2.- Determinar la frecuencia de presentación para *Ehrlichia canis* en caninos residentes en la ciudad de Chimbote según sexo.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### ANTECEDENTES

En el estado de Zulia en Venezuela se reporta un 83.6% de casos positivos a *Ehrlichia canis* en frotices sanguíneos coloreados (Arraga, 1992).

En Minas Gerais, Brasil se ha reportado un 16% de ehrlichiosis (Moreiraet *al.*, 2002).

Se obtuvo una seroprevalencia del 16.5 %  $\pm$  6.2 en 140 caninos muestreados y analizados mediante el método de ELISA, en 3 distritos de Lima (La Molina, Chorrillos y San Juan de Miraflores) (Adrianzen, et al., 2003).

En la ciudad de Cali, Colombia, de 101 pruebas de un test comercial de ELISA realizadas en sangre de caninos enviadas para análisis diagnóstico específico de *Ehrlichia canis*, el 49,5% resultaron positivas y el 50,5% de ellas resultaron negativas, de todos los animales evaluados, el 61,4% fueron machos (62) y el 38,6% fueron hembras (39), presentando positividad el 34,7% de los machos y el 14,8% de las hembras. En el presente estudio se encontró que aunque se presentaron animales seropositivos en todos los grupos etarios, el grupo correspondiente a los perros en edad adulta fue el más afectado, debido posiblemente a que representaron la mayor cantidad de perros del reporte (60 animales), con relación al número de cachorros (15 animales) y seniles (26 animales) (Silva, et al., 2008).

Se tomaron muestras sanguíneas a 27 caninos de una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua y se les realizó un ensayo inmunocromatográfico, detectándose un 63% de casos positivos a *Ehrlichia canis* (Rivas, et al. 2010).

En la ciudad de Lázaro Cárdenas, Estado de Michoacán, México, se tomaron muestras de sangre a 50 caninos, saliendo positivos a *Ehrlichia canis*, 32 de ellos, lo que totalizó un 64% de positivos, de los cuales 33 fueron hembras con un 42,2% de positivas y 17 restantes fueron machos, con un 21,8 de positivos; igualmente el 41% de los caninos positivos estuvieron en el rango de edad de 4 a 7 años (Romero, et al. 2011).

En la ciudad de Cuenca – Ecuador, se tomaron 560 muestras de sangre de caninos con la finalidad de encontrar la prevalencia e identificación de hemoparásitos, para lo cual se utilizó el método del frotis periférico directo con tinción de giemsa, encontrándose que en lo referente a *Ehrlichia canis* 46 animales fueron positivos (8,21%) y 514 negativos (91,8%), en cuanto a sexo, de 303 machos muestreados, 23 fueron positivos (7,6%) y 280 negativos (92,4%); de 257 hembras, 13 resultaron positivas (5,1%) y 244 negativas (94,9%). En lo referente a edad, sin considerar sexo, de 97 caninos muestreados menores de 1 año, 6 fueron positivos (0,01%) y 91 negativos (99,99%), de 345 cánidos de entre 1 a 5 años, 24 salieron positivos (7%) y 321 negativos; finalmente de 118 perros mayores de 5 años, se encontraron 6 positivos (5%) y 112 negativos (95%) (Domínguez, 2011).

No existe predilección de edad ni sexo para la enfermedad de Ehrlichiosis (Nyindo, et al., 1991; Sainz, et al., 2000).

## **ETIOLOGÍA**

Los microorganismos del género *Ehrlichia* son considerados como parásitos intracelulares obligados los cuales producen ehrlichiosis monocítica canina. Esta pequeña bacteria gram negativa cocoide pleomórfica se presenta en forma intracitoplásmica en grupos de organismos llamados mórulas. (Dumler, 2001) Se han identificado tres miembros del grupo; *E. canis*, *E. chaffensis* y *E. ruminantium* las cuales infectan a los monocitos de los perros.

## ***E.canis***

*E.canis* fue identificado por primera vez en 1935. (Donatein, et al. 1937). En 1991, se descubrió una nueva especie del género *Ehrlichia*, *E. chaffensis*, la cual ocasiona la ehrlichiosis monocitotrópica humana.

*E. canis* tiene una distribución mundial, así, puede ser encontrada en Asia, África, Europa y América. El Reino Unido y Oceanía parecen no presentar la infección por *E. canis* (Jittapalapong, et al.1993; Martin, et al. 2000).

Se considera que el zorro, el perro y el chacal, además del perro doméstico, son huéspedes reservorio. El vector artrópodo de *E. canis* es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Esta garrapata de un huésped prefiere alimentarse de perros en las tres etapas del ciclo vital, se tiene también evidencia de transmisión de la infección por *Dermacentor variabilis*, la garrapata americana del perro. (Johnson, et al. 1998).

La transmisión es transestadial, como no ocurre propagación transovárica, el vector garrapata, no puede ser reservorio verdadero. Las garrapatas adquieren *E. canis* bajo la forma de larvas o ninfas al alimentarse de perros infectados con rickettsias. Las garrapatas transmiten la infección a caninos susceptibles durante por lo menos 155 días después de la infección. (Groves, et al. 1975).

## **PATOGÉNESIS**

*Ehrlichia canis* es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*. Recientemente también se demostró que es experimentalmente transmitida por la garrapata *Dermacentor variabilis*. La transmisión en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* ocurre entre estados de desarrollo y no transováricamente. Se ha demostrado que las larvas y las ninfas se infectan al alimentarse de perros con enfermedad aguda. La reciente demostración del ADN de *Ehrlichia* en la sangre de perros infectados persistentemente, clínicamente sanos, 34 meses después de la infección experimental, sugiere que los perros en estadio subclínico también pueden ser una fuente de infección. En la garrapata la *Ehrlichia* se disemina desde el intestino a las glándulas salivares a través de las células sanguíneas. Al alimentarse, las garrapatas inyectan en el lugar, las secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *Ehrlichia canis*. Los tres estados (larva, ninfa y adulto), son

capaces de transmitir la enfermedad. Se ha demostrado que las garrapatas pueden sobrevivir como adultos 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse. Este fenómeno permite a las garrapatas sobrevivir durante el invierno e infectar a los huéspedes en la primavera siguiente.

Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos de EMC ocurren durante esos períodos. Como la transmisión de *Ehrlichia* es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la rickettsia (Troy, G. y Forrester, S. 1990).

Como en otras infecciones una variedad de factores, incluido el tamaño del inóculo de *E. canis*, pueden influir en el curso y el resultado de la infección. La gravedad de la enfermedad es mayor con ciertas cepas del organismo. Un análisis de inmunotransferencia de respuesta de Ig G a *E. canis* ha mostrado que puede existir diversidad antigénica entre organismos de *E. canis* de distintas partes del mundo y ha sugerido que este hecho puede afectar la gravedad de la enfermedad. (Neer, 1995). La enfermedad concomitante con otros parásitos transmitidos por garrapatas u otros patógenos puede afectar también la gravedad y las manifestaciones de la enfermedad. Es posible que los animales inmunodeficientes desarrollen manifestaciones más graves y es más probable que muestren gran cantidad de mórulas circulantes. No existe predilección de edad ni sexo en la ehrlichiosis canina, sin embargo, parece que los Pastores alemanes son más susceptibles que otras razas. La enfermedad en esta raza es más grave y presenta un pronóstico menos favorable que en otras (Nyindo, et al. 1991).

Puede haber propagación iatrogénica con transfusiones de sangre de donantes infectados. Durante el periodo de incubación, el cual es de 8 a 20 días, los organismos se multiplican en los macrófagos y el sistema fagocítico mononuclear, mediante fisión binaria y se propagan por todo el organismo. El curso de la ehrlichiosis se ha dividido en tres fases, aguda, subclínica y crónica sobre la base de los signos clínicos y anomalías clínico patológicas

después de la inoculación experimental. La fase aguda dura entre 2 a 4 semanas, durante la cual se puede observar signos como fiebre, descarga oculonasal, anorexia y depresión; petequias, equimosis, linfadenomegalia y esplenomegalia.

Las anomalías típicas de laboratorio en esta fase incluyen trombocitopenia, leucopenia y anemias leves.

La mayoría de los caninos se recupera de la enfermedad aguda con tratamiento adecuado. Es posible que los caninos no tratados o mal tratados, ingresen a la fase subclínica, durante esta fase, el canino se normaliza y la pirexia se resuelve. Desde el punto de vista clínico, los animales se ven saludables; sin embargo es posible que los recuentos de plaquetas permanezcan en niveles inferiores a los rangos de referencia (Waner, et al. 1999; Waner et al. 1996). Los perros que se encuentren dentro de la fase subclínica pueden ser portadores persistentes (Harrus, et al. 1998). Infecciones experimentales indican que es probable que el bazo aloje organismos de *E. canis* durante la fase subclínica de la enfermedad. Caninos a los que se les realizó esplenectomía y fueron infectados de forma experimental con *E. canis* mostraron enfermedad clínica leve en comparación con los no esplenectomizados (Harrus, et al. 1998).

La fase crónica, en su forma grave, se caracteriza por reducción en la producción de elementos sanguíneos por parte de la médula ósea, ocasionando pancitopenia. El pronóstico de esta forma es grave, el canino puede sucumbir por infecciones secundarias o hemorragias incontrolables, o ambas. La doxiciclina restaura la capacidad fagocítica del huésped, es probable que lo haga mediante la inhibición de la síntesis de una proteína bacteriana que retrasa la fusión (Weiser, et al. 1991).

Entre 4 a 7 días después de la infección, aparecen Ig M e Ig A; en general la IgG aumenta desde los 15 días posteriores a la infección. (Waner, et al. 1997).

Los títulos altos de anticuerpos a *E. canis* no proporcionan protección cuando se desafía a los animales (Barnwell, et al. 1994; Ristic, et al. 1988).

Cada vez mayor cantidad de evidencia confirma la suposición de que los mecanismos hiperinmunes están involucrados en la patogénesis de la ehrlichiosis.

Estos incluyen infiltración generalizada de células plasmáticas de la médula ósea y el parénquima de los órganos, aparición de hipergammaglobulinemia policlonal que no se correlaciona con títulos específicos de anticuerpos a *E. canis*, resultados positivos de pruebas de autoaglutinación y Coombs, conducen a pensar que existe una inducción de producción de anticuerpos antiplaquetarios después de la infección natural y experimental (Grindem, et al. 1999; Harrus, et al. 2001; Harrus, et al. 1999).

Ocurre trombocitopenia, la anormalidad hematológica más común de perros infectados por *E. canis*, en todas las fases de la enfermedad. (Gaunt, et al. 1996; Harrus, et al. 1999).

La disminución de la producción de plaquetas, ocurre como resultado de una médula ósea hipoplásica, este hecho contribuye a las hemorragias que se observan (Harrus, et al. 1999).

## **CUADRO CLÍNICO**

La ehrlichiosis canina es un trastorno multisistémico; en la actualidad, se sabe que lo provoca una variedad de especies de ehrlichia.

### ***Signos multisistémicos***

Comunmente se observa depresión, letargia, leve pérdida de peso y anorexia, con o sin tendencias hemorrágicas. Si se presenta hemorragia, ésta ocurre por petequias dérmicas o equimosis, o ambas. Es frecuente la epistaxis, al examen clínico se puede encontrar linfadenomegalia y esplenomegalia en un 20 y 25 % de los paciente, respectivamente (Woody, 1985).

### ***Signos Oculares***

Es posible que los caninos muestren cambios en el color o la apariencia de los ojos o desarrollen ceguera. Los hallazgos más comunes son uveítis anterior y enfermedad retinal, como corioretinitis, papiledema, hemorragia retinal, infiltrados perivasculares retinales y desprendimiento de retina bulloso, y pueden dar como resultado ceguera aguda (Gould, et al. 2000).

### ***Signos neuromusculares***

Los signos neurológicos de ehrlichiosis son principalmente el resultado de meningitis por inflamación o hemorragias, o ambas (Maretzki, et al. 1994; Troy, et al. 1990).

Se han observado convulsiones, estupor, ataxia con disfunción vestibular periférica o central aguda, temblores e hiperestesia generalizada o localizada. Se han encontrado mórulas en células de líquido cefalorraquídeo (LCR) en algunos casos (Maretzki, et al. 1994).

### ***Poliartritis***

Es posible que los perros con ehrlichiosis desarrollen cojera con andar endurecido en forma secundaria a poliartropatía. Puede producirse enfermedad de las articulaciones por hemartrosis o deposición de complejo inmune con artritis como resultado y efusión neutrofílica en la articulación. Se ha asociado la mayoría de los casos de poliartritis con infección por cepas granulocitotrópicas (Cowell, et al. 1988; Stith, et al.1996; Stockham, et al. 1992).

## **DIAGNÓSTICO**

En general, el diagnóstico de la ehrlichiosis se basa en una combinación de signos clínicos, anormalidades hematológicas, trombocitopenias y hallazgos serológicos. En la actualidad, se utilizan en mayor medida las técnicas de PCR e inmunotransferencia.



### **Hallazgos de laboratorio clínico**

Los cambios hematológicos están mejor documentados en infecciones por *E. canis* e incluyen trombocitopenia (82%), anemia (82%), la que, en general, es no regenerativa, y leucopenia (32% de la cual el 20% presentaba neutropenia) (Troy, et al. 1990; von Stedingk, et al. 1997).

En general, la pancitopenia es el resultado de la hipoplasia de las células precursoras de la médula ósea, ocurre en la fase crónica grave (18% de los casos) y, con mayor frecuencia, en los perros Pastores alemanes (Woody BJ. 1985).

Se ha informado trombocitopenia en forma consistente en todas las etapas de la infección por *E. canis*; como muchas veces es una prueba de chequeo de ehrlichiosis, es posible que esta proporción sea exagerada (Bulla, et al. 2004).

Las anormalidades químicas de suero más frecuentes han incluido hiperproteinemia (33%), hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%), y actividades elevadas de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (43 y 31 % respectivamente) (Neer, 1995). La hiperproteinemia es el resultado de niveles elevados de globulina, pero no existe ninguna correlación directa entre los niveles de globulinas séricas y anticuerpos séricos a *E. canis*.

### **Citología**

Puede realizarse un diagnóstico definitivo de enfermedad por ehrlichia mediante una demostración de presencia de mórulas en los leucocitos en frotis de sangre o aspirados de tejidos como el bazo, el pulmón o el ganglio linfático. Resulta difícil y lleva tiempo encontrar mórulas, pero esto puede optimizarse mediante la realización de frotis de la capa leucocítica o examen de frotis delgados de sangre realizados a partir del lecho capilar periférico del margen de la oreja. Pueden visualizarse mórulas dentro de los monocitos presentes en frotis de sangre periférica o líquido sinovial (o ambos) o, en pocas ocasiones, en LCR. Los estudios citológicos de sangre periférica, capa leucocítica, aspirados de ganglio linfático, aspirados de médula ósea y cultivo a corto plazo de especímenes de sangre mostraron mayor sensibilidad en la detección de organismos en capa leucocítica y aspirados de ganglio linfático (Murphy, et al. 1998).

### **Pruebas serológicas**

Un diagnóstico de ehrlichiosis se basa en general en resultados positivos de pruebas indirectas. Esta prueba detecta anticuerpos séricos incluso 7 días después de la infección inicial, a pesar de que es posible que algunos de los perros se tornen seropositivos hasta 28 días después de que comienza la infección. Por lo tanto, es posible que un perro esté infectado en forma aguda y no presente título demostrable de anticuerpos séricos.

Cuando los resultados de título de anticuerpo a *E. canis* son negativos, se recomienda un examen de seguimiento de 2 a 3 semanas o pruebas séricas en busca de otros agentes. Los niveles de anticuerpos séricos en perros no tratados llegan a su punto máximo a los 80 días posteriores a la infección. Durante los primeros 7 días después de la infección, el título está formado por Ig A e Ig M y, para los 20 días, la mayor parte es Ig G. La mayoría de los laboratorios miden este anticuerpo. La metodología y los informes difieren entre los laboratorios; por lo tanto, no se llegó a un consenso sobre el nivel absoluto de reactividad. En general, se considera que un título de Ig G de 1:80 o mayor es evidencia de infección o exposición o ambos, aunque es posible que este hallazgo varíe según los métodos de cada laboratorio (Hoskins, et al. 1988).

Después del tratamiento en la mayoría de los perros, el título declina de manera progresiva y se torna negativo en general de 6 a 9 meses. Es posible que algunos se tornen asintomáticos luego del tratamiento, pero siguen reteniendo títulos muy altos a *E. canis* durante años (Bartsch, et al. 1996; Pérez, et al. 1996).

En teoría el tratamiento indiscriminado de todos los animales seropositivos puede conducir a resistencia futura de estos organismos a las tetraciclinas; sin embargo, hasta el momento no se ha informado de este tipo de resistencia. (Greene, 2008)

### **Detección del ácido nucleico**

Se ha demostrado que la PCR es un método sensible para detectar infección aguda experimental por *E. canis* en caninos. Con frecuencia dentro de los 4 a

10 días posinoculación y antes de que ocurra seroconversión. No resulta clara la sensibilidad de la PCR de sangre en el canino infectado en forma natural. Las dificultades en la extracción del organismo, los problemas inherentes a la técnica y la selección inapropiada de la muestra provocan resultados falsos negativos.

La razón principal de que ocurran resultados falsos negativos es la amplificación no específica o la contaminación de las muestras durante su manejo o durante la realización de las pruebas (Engvall, et al. 1996; McBride, et al. 2001).

## **INMUNOCROMATOGRAFIA**

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. Sino, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras **positivas**). En el caso contrario las muestras son **negativas**.

La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas (Pita y Pértegas, 2003).

Un test diagnóstico debe tener un alto porcentaje de sensibilidad y especificidad para ser confiable.

### **Sensibilidad**

Es la capacidad del test para detectar a los verdaderos positivos (enfermos).

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

### **Especificidad**

Es la capacidad del test para detectar a los verdaderos negativos (sanos)

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

VP = número de positivos verdaderos

FN = número de falsos negativos

VN = número de verdaderos negativos

FP = número de falsos positivos

(Pita y Pértegas, 2003).

## **HALLAZGOS PATOLÓGICOS**

Las hallazgos patológicos de perros infectados por *E. canis* incluyen hemorragias petequiales y equimóticas en la superficie de las mucosas y serosas de la mayoría de los órganos incluso de la cavidad nasal, el pulmón, el riñón, la vejiga urinaria, el tracto gastrointestinal (GI) y el tejido subcutáneo. Se presenta linfadenomegalia, esplenomegalia y hepatomegalia generalizadas con mayor frecuencia durante la fase aguda (De Castro, et al. 2004; Greene, et al.1984). Es posible que todos los ganglios linfáticos estén agrandados y muestren una decoloración amarronada. Un hallazgo adicional en casos crónicos es emaciación con pérdida de condición corporal general. La médula ósea es hiper celular y muestra un color rojo en la fase aguda, aunque con la enfermedad crónica se torna hipoplásica y muestra un color pálido por decoloración grasa. Uno de los hallazgos histopatológicos más característicos es un infiltrado de células plasmática perivascular en gran cantidad de órganos incluidos los pulmones, el cerebro, las meninges, los riñones, los ganglios linfáticos, la médula ósea, el bazo y a veces la piel o mucosa. Parece que el grado de infiltrados de célula plasmática y linfoide aumenta en los caninos afectados de forma crónica (Lockhart, et al. 1997).

Resulta difícil detectar de forma histológica los organismos de ehrlichia en tejidos fijados en formalina o solución de Bouin. Con poca frecuencia se observan mórulas en células fagocíticas mononucleares en tejidos coloreados con hematoxilina y eosina. (Greene, et al.1984). Es posible que la dificultad para encontrar organismos en forma histológica explique la razón por la cual no se diagnostica con frecuencia la enfermedad en la necropsia.

En el SNC se observa una meningoencefalitis no supurativa multifocal que involucra el tronco encefálico, el cerebro medio y la corteza cerebral. La mayoría de las lesiones se ubican en dirección ventral en el tronco encefálico y alrededor de la materia blanca y gris periventricular (Trapp, et al. 2002).

En la necropsia se presentan lesiones meníngeas microscópicas en casi todos los perros aunque algunos muestran signos clínicos de meningitis.

Se ha informado que los signos clínicos involucran casi toda la estructura del ojo, estos incluyen conjuntivitis, petequias o equimosis en la conjuntiva o iris, edema corneal, uveítis e hiperemia. También es posible que ocurra hemorragia subretinal y desprendimiento retiniano (Pancholi, et al.1995).

## **TRATAMIENTO**

### ***Farmacoterapia específica***

Los agentes antirickettsias y los cuidados de apoyo forman el tratamiento para la ehrlichiosis canina. Los fármacos eficaces han incluido tetraciclinas, cloranfenicol, diprionato de imidocarb y amicarbalida. En general cuanto antes se comience el tratamiento durante el proceso de enfermedad, más favorable serán el pronóstico y el resultado, porque resulta difícil tratar a los perros en fase crónica grave (Murphy, et al. 1998). Es posible que en estos perros sea difícil resolver los cambios inflamatorios multisistémicos y la mielosupresión.

En el pasado se consideraba que los mejores fármacos iniciales eran la tetraciclina y oxitetraciclina, y aun funcionan correctamente, aunque en la actualidad se utilizan con mayor frecuencia la doxiciclina y la minociclina. Estas últimas son tetraciclinas semisintéticas y solubles en lípidos que se absorben con facilidad para provocar concentraciones altas en sangre, tejido e intracelulares. Como es posible que las ehrlichias persistan en forma

intracelular, es importante la penetración del fármaco en la célula para eliminar la infección. Por lo tanto, pueden administrarse tetraciclinas solubles en lípidos por un periodo más corto y a dosis más bajas que las tetraciclinas sin dejar de ser eficaces. El periodo de tratamiento sugerido con doxiciclina es de 7 a 10 días, aunque un estudio encontró que la doxiciclina (10mg/kg por día) durante 7 días no resultó eficaz para eliminar la infección por *E. canis* inducida en forma experimental a partir de 3 a 5 perros (Mc Bride, et al. 2001).

El imidocarb, es un fármaco antiprotozo, ha resultado exitoso para tratar infecciones resistentes a *E. canis*. (Matthewman, et al. 1993) Este fármaco persiste en los tejidos hasta 1 mes inclusive después de una dosis. Cuando se administró imidocarb como inyección IM única, el 83.9% de los perros con ehrlichiosis se recuperó.

Además del tratamiento antimicrobiano, quizás se justifique la fluídoterapia de apoyo para la deshidratación o las transfusiones sanguíneas si el perro se encuentra gravemente anémico (Aroch, et al. 2001).

El tratamiento a corto plazo (2 a 7 días) con dosis inmunosupresoras de glucocorticoides (2mg/kg de prednisona) puede resultar beneficioso durante la etapa temprana del periodo de tratamiento, cuando se presenta trombocitopenia grave o que constituye un riesgo para la vida. Un mecanismo mediado por respuesta inmune es responsable, en parte de la trombocitopenia y la disminución de la función plaquetaria.

Es posible que los glucocorticoides resulten útiles en el tratamiento de otras condiciones mediadas por respuesta inmune asociadas con ehrlichiosis, como poliartritis, vasculitis y meningitis. En un estudio con meningitis secundaria a ehrlichiosis granulocitotrópica, se necesitaron glucocorticoides además de doxiciclina antes de lograr la resolución clínica de los signos. (Greene, 2008).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. UBICACIÓN**

El presente trabajo de investigación se realizó en la Clínica Veterinaria Mi Mascota en la ciudad de Chimbote, cuyas características geográficas y meteorológicas son:

<b>ALTITUD</b>	: 4 m.s.n.m.
<b>LATITUD</b>	: 09° 04' 15" S
<b>LONGITUD</b>	: 78° 35' 27" W
<b>PRECIPITACIÓN PLUVIAL</b>	: 40 mm (promedio anual)
<b>HUMEDAD RELATIVA</b>	: Min.72% Max.92%
<b>TEMPERATURA</b>	: Min 14°C Max.32°C
<b>SUPERFICIE</b>	: 1461,44 Km <sup>2</sup>

---

Fuente: servicio nacional de meteorología e hidrología (SENAMHI)

### **3.2 MATERIALES:**

#### **A. Material biológico:**

- Se utilizaron 30 caninos, los que se dividieron en tres grupos conformados por 10 caninos cada uno y cuyas edades estuvieron entre:

- a.- 0 a 2 años
- b.- 2.1 a 4 años
- c.- 4.1 a más

#### **B. Kit de ensayo (para 10 pruebas).**

- 1 Prueba : 10 unidades
- 2 Solución diluyente : 2 ml
- 3 Pipetas Pasteur : 10 unidades

#### **C. MATERIAL DE CONSULTORIO**

- Mandil o chaqueta
- Estetoscopio.
- Guantes quirúrgicos
- Agujas hipodérmicas
- Jeringas hipodérmicas.
- Mesa de examen clínico
- Fichas de datos
- Algodón
- Alcohol
- Tubos con anticoagulante

### **3.3 METODOLOGÍA:**

#### **1. Selección de caninos**

Se seleccionaron 30 caninos, de diferente sexo y edad, según lo descrito bajo material biológico. Los animales procedieron de la Clínica Veterinaria Mi Mascota y de las demás Clínicas Veterinarias de la ciudad de Chimbote y fueron escogidos al azar.



## **2. Toma de Muestra de Sangre**

Para la realización de la prueba inmunocromatográfica comercial se extrajo aproximadamente 10 cc de sangre de cada canino en experimentación, para lo cual se desinfectará con algodón y alcohol la zona en donde se encuentra la vena cefálica y se procedió a su punción. La sangre fue colectada en tubos de vidrio conteniendo anticoagulante y fue llevada al lugar en donde se efectuó la prueba.

## **3. Realización de la Prueba**

### **Principio**

Se utilizó el kit de prueba E. canis Ab, el cual se fundamenta en el principio de la inmunocromatografía y está diseñado para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* en sangre, suero o plasma. Los resultados de la prueba aparecen en las líneas de control (C) y de prueba (T). El test tiene una sensibilidad del 97.6% y una especificidad del 99%.

### **Composición**

El dispositivo para realizar la prueba posee, la ventana de dispensación de muestra (S) para el cuentagotas, la línea de prueba (T) y la línea de control (C), los cuales se encuentran identificados en el dispositivo. En su interior, la tira se compone de la esponja de muestra, la esponja combinada, la membrana de nitrocelulosa (papel de prueba) y la esponja absorbente.

### **Procedimiento de la prueba**

- a) Cuando la muestra y el kit de prueba se almacenen en frío (2 ~ 8°), se deberán dejar al medio ambiente durante 15 ~ 30 minutos antes de realizar el test.
- b) Se sacó el dispositivo del envoltorio y se colocó sobre una superficie horizontal.
- c) Se utilizó una pipeta Pasteur, para tomar la muestra a ser analizada, se dispensó 1 gota (40 µl) en el dispositivo (S).
- d) Una vez que la muestra es completamente absorbida, se añadió 1 gota (40 µL) del búffer, con un cuentagotas.
- e) Los resultados de la prueba fueron leídos entre 5 a 10 minutos de ser realizada.

## Interpretación de los resultados

**Línea de control (C):** Se esperó la aparición de esta línea, ya que debe aparecer siempre sin importar la presencia de anticuerpos a *Ehrlichia canis*. De no aparecer esta línea, la prueba se consideró como no válida. Y por tanto debería ser repetida.

**Línea de prueba (T):** La presencia de anticuerpos a *Ehrlichia canis* se determinó por la presentación de esta línea de prueba.

### Negativo

Solo aparece la línea control (C)



### Positivo

Aparecen ambas líneas control (C) y prueba (T)



### Repetir la Prueba:

- a) Si no aparecen ninguna de las dos líneas.
- b) Si sólo aparece la línea de prueba.

## ESTADÍSTICA

Se hará uso de la estadística descriptiva, con la utilización de:

- Tabla de frecuencia
- Clasificación de variables

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

**Cuadro 1. Resultados obtenidos en 30 caninos sometidos a una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de *Ehrlichia canis*. Chimbote-Perú**

Resultados	Número	Porcentaje
POSITIVOS	07	23.3
NEGATIVOS	23	76.4
TOTAL	30	100

**Cuadro 2. Resultados obtenidos en 30 caninos sometidos a una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de *Ehrlichia canis* según el sexo. Chimbote-Perú.**

Sexo	Positivos		Negativos	
	No.	%	No.	%
MACHOS	05	27.8	13	72.2
HEMBRAS	02	16.7	10	83.3
TOTAL	07	23.4	23	76.6

**Cuadro 3. Resultados obtenidos en 30 caninos sometidos a una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de *Ehrlichia canis* según la edad. Chimbote-Perú.**

Edad años	Positivos		Negativos		TOTAL
	No.	%	No.	%	
0 - 2	02	20	08	80	10
2 - 4	01	10	09	90	10
> 4	04	40	06	60	10
<b>TOTAL</b>	<b>07</b>	<b>23.4</b>	<b>23</b>	<b>76.6</b>	<b>30</b>

**Cuadro 4. Resultados obtenidos en 30 caninos sometidos a una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de *Ehrlichia canis* según la edad. Chimbote-Perú.**

Edad Años	Machos		Hembras	
	( + )	( - )	( + )	( - )
1 - 2	00	04	02	04
2 - 4	01	05	00	04
> 4	04	04	00	02
<b>TOTAL</b>	<b>05</b>	<b>13</b>	<b>02</b>	<b>10</b>

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

En el cuadro 1, se muestran los resultados obtenidos en 30 caninos procedentes de la ciudad de Chimbote sometidos a la prueba inmunocromatográfica comercial E .canis Ab, para el diagnóstico serológico de *Ehrlichia canis*, encontrándose un 23,3 % de positividad y un 76,4 % de negatividad, el resultado de positividad hallado en el presente trabajo es mayor al 16.5 % encontrado en 140 caninos procedentes de tres distritos de la ciudad de Lima (Adrianzen, et al. 2003), al 16 % reportado en Minas Gerais (Moreira , et al. 2012) y al 8,21% encontrado en la ciudad de Cuenca (Domínguez, 2011). De la misma manera, nuestros resultados son inferiores a los manifestados por Arraga (1992), quien en el estado de Zulia – Venezuela encontró 83,6% de casos positivos utilizando la técnica de frotices coloreados, de igual manera es mayor el porcentaje hallado en la ciudad de Cali – Colombia, en donde de 101 muestras sometidas a un test comercial de ELISA, se reporta un 49,5% (Silva, et al. 2008). La diferencia de porcentajes de positividad pueden deberse al diferente número de muestras, al método de diagnóstico utilizado y al lugar de procedencia que haya hecho propicia la presencia del vector.

En el cuadro 2, se presentan los resultados obtenidos a seropositividad y negatividad a *Ehrlichia canis* según el sexo, encontrándose en este caso un mayor porcentaje de positivos en machos, 27,8% (5/18), contra un 16,7% (2/12) en hembras. Resultados disímiles fueron hallados en otros trabajos similares, así se tiene que en la ciudad de Lázaro Cárdenas, Estado de Michuacan – México, de 50 caninos muestreados, el 21,8% de positivos fueron machos y el 42,2%, hembras (Romero, et al. 2011); en la ciudad de Cuenca – Ecuador de 303 machos muestreados, el 7,6% fueron positivos y de 257 hembras el 5,1% resultaron positivas (Domínguez, 2011), en la ciudad de Cali – Colombia de 62 muestras correspondientes a macho, resultaron positivos el 34,7% y de 39 hembras el 14,8% (Silva, et al. 2008). Los diferentes resultados encontrados podrían estar relacionados, en cada caso, a la diferente

proporción de machos y hembras tomados en cuenta para cada investigación, ya que se tiene conocimiento que no existe para la enfermedad de Ehrlichiosis, predilección por sexos (Nyindo, et al. 1991; Sainz, et al. 2000).

De acuerdo a la prueba estadística de Z de proporciones (Anexo 1), se acepta que no existe diferencia entre sexos.

En el cuadro 3, se encuentran los resultados a la prueba inmunocromatográfica a *Ehrlichia canis*, según edad, hallándose que el mayor porcentaje de caninos positivos se encontró en el grupo mayores de 4 años con un 40% (4/10) y el menor, en el grupo de 2 a 4 años con el 10% (1/10). De modo similar a lo encontrado en los anteriores cuadros, al comparar nuestros resultados con lo manifestado por otros autores, se aprecia que existe mucha variación, así se tiene que Silva, et al. (2008) en la ciudad de Cali, el mayor porcentaje de perros seropositivos correspondieron a los de edad adulta, sin especificar número ni porcentaje, Romero et al. (2011) en la ciudad de Lázaro Cárdenas halló un 41% de caninos positivos en el rango de 2 a 7 años de edad y por último Dominguez (2011) en la ciudad de Cuenca, nos afirma que el mayor porcentaje, 7%, correspondió al grupo que se encontraba entre 1 a 5 años (24/345). A pesar de existir similitud de porcentajes en algunos casos, según la edad, no se puede concluir que haya ocurrido igualdad ni diferencia por grupos de edad, ya que como lo afirma Sainz, et al. (2000) no existe diferencias por edad a la Ehrlichiosis canina.

Realizada la prueba estadística de chi cuadrado (Anexo 2), se concluye que en el presente trabajo existen diferencias por edades.

En el cuadro 4, se puede hallar los resultados obtenido en el presente estudio, según edad y sexo, apreciándose que, en los tres grupos etéreos existieron 10 caninos muestreados entre machos y hembras, encontrándose el mayor número de positivos, en los machos cuyas edades correspondían a los mayores de 4 años (4/10) y ningún positivo en las hembras de los grupos de 2 a 4 y mayores de 4 años. No se puede establecer discusión con otros autores, por cuanto ninguno reporta resultados considerando edad y sexo.

Es de resaltar, que efectuada la prueba de chi cuadrado (Anexo 3), se llega a la conclusión de que existe diferencia entre edades de los machos y de las hembras.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

- 1.- El porcentaje de positivos fue del 23,35% (7/30) y el de negativos del 76,45% (23/30).
- 2.- Los caninos machos tuvieron un 27,8% de positividad (5/18) y las hembras 16,7% (2/12).
- 3.- El grupo de 0 a 2 años de edad reportó el 20% de positivos (2/10), el grupo de 2 a 4 años el 10% (1/10) y el grupo de mayores de 4 años el 40% (4/10).
- 4.- Considerando edad y sexo, el mayor número de positivos se halló en el grupo de machos mayores de 4 años (4/10).
- 5.- bajo las condiciones del presente estudio se puede concluir, que el agente causal de Ehrlichosis canina, está afectando la población canina de la ciudad de Chimbote.



## RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar un estudio similar con mayor número de muestras, a fin de poder obtener la prevalencia a Ehrlichiosis en la ciudad de Chimbote.
- 2.- Establecer las características hematológicas que se presentan en los caninos positivos a *Ehrlichia canis*.
- 3.- Diseñar un trabajo de investigación que evidencie o no, la existencia de variaciones de la presentación de Ehrlichiosis por épocas del año.

## CAPÍTULO VII

### BIBLIOGRAFIA

Adrianzen, G.; Chávez, V.; Casas, A.; Li, E. 2003. Seroprevalencia de la *Dirofilariosis* y *Ehrlichiosis* canina en Tres Distritos de Lima. *Rev. Inv, Vet. Peru.* 2003 (1) 43-48.

Aroch I, Harrus S. 2001. The use of hematopoietic growth factors: recombinant human granulocyte colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis. *Israel J Vet Med* 56:65-69.

Arraga de Alvarado, C.M. 1992. Ehrlichiosis canina en Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. Reporte de 55 casos. *Rev. Cient. Univ., Zulia* 2: 30-40.

Barnwell RE, Rikihisa Y. 1994. Abrogation of gamma interferon-induced inhibition of *Ehrlichia chaffeensis* infection in human monocytes with iron transferring. *Infect Immun* 62:4804-4810.

Bartsch RC, Greene RT. 1996. Post - therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. *J Vet Intern Med* 10:271-274.

Bulla C, Kiomi Takahira R, Pessoa Araujo J Jr, et al. 2004. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Vet Res* 35:141-146.

Cowell RL, Tyler RD, Clinkenbeard KD, et al. 1988. Ehrlichiosis and polyarthritis in three dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192:1093-1095.

De Castro MB, Machado RZ, Cury LP, et al. 2004. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Vet Parasitol* 119:73-86.

Domínguez, A. 2011. Prevalencia e Identificación de Hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canina* y *Anaplasma phagocytophilum*) en Perros de la Ciudad de Cuenca. Tesis para la obtención de Título de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Ciencias agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootécnica. Universidad de Cuenca. 101 pag.

Donatein A, Lestoquard F. 1937. State of the present knowledge concerning rickettsiosis of animals. Arch Inst Pasteur Alger 15:142-187.

Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ, et al. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* and *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi*, and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int J SystEvolMicrobiol 51:2145-2165

Engvall EO, Pettersson B, Persson M, et al. 1996. A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic Ehrlichia species in dogs, horses, and cattle. J ClinMicrobiol 34:2170-2174.

Frisby, H. 1997. Ehrlichiosis. [OnLine] disponible: <http://www.peteducation.com/dogs/ehrlichia.htm> [28/08/01]. frm.asp [28/12/01].

Gaunt SD, Cortsvet RE, Brennan RE, et al. 1996. Platelet-associated IgG and antibodies to platelet proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. Abstract #29. Vet Pathol 33:557.

Gould DJ, Murphy K, Rudoef H, et al. 2000. Canine monocytic ehrlichiosis presenting as acute blindness 36 months after importation into the UK. J Small AnimPract 41:263-265.

Greene CE, Harvey JW. 1984. Canine ehrlichiosis, pp 545-561. In Greene CE (ed), Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat. WB Saunders, Philadelphia, PA.

Greene, C. "Enfermedades infecciosas, perros y gatos" Tercera Edición 2008 Volumen 1. Cap: 28 "Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por Wolbachia" pp.:227-259.

Grindem CB, Breitschwerdt EB, Perkins PC, et al. 1999. Platelet-associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis. *J Am Anim Hosp Assoc* 35:56-61.

Groves MG, Dennis GL, Amyx HL, et al. 1975. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *Am J Vet Res* 36:937-940.

Harrus S, Day MJ, Waner T, et al. 2001. Presence of immune-complexes, and absence of antinuclear antibodies, in sera of dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis*. *Vet Microbiol* 83:343-349.

Harrus S, Ofri R, Aizenberg I, et al. 1998. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. *Vet Parasitol* 78:155-160.

Harrus S, Waner T, Bark H, et al. 1999. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 37:2745-2749.

Hoskins JD, Breitschwerdt EB, Gaunt SD, et al. 1988. Antibodies to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia platys*, and spotted fever group rickettsiae in Louisiana dogs. *J Vet Intern Med* 2:55-59

Jittapalapong S, Jansawan W. 1993. Preliminary survey on blood parasites of cats in Bangkok District Area. *Kasetsart J Nat Sci* 27:330-335.

Jonson EM, Ewing SA, Barker RW, et al. 1998. Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: *Ehrlichieae*) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 74:277-288.

Liberato, W. 1998. Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis de Bachillerato. Fac. Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 31 p.

Lockhart JM, Davidson WR, Stallknecht DE, et al. 1997. Isolation of *Ehrlichia chaffeensis* from wild white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) confirms their role as natural reservoir hosts. *J Clin Microbiol* 35:1681-1686.

- Maretzki CH, Fisher DJ, Greene CE. 1994. Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 205:1554-1556.
- Martin ME, Bunnell JE, Dumler JS. 2000. Pathology, immunohistology, and cytokine responses in early phases of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model. *J Infect Dis* 181:374-378.
- Matthewman LA, Kelly PJ, Bobade PA, et al. 1993. Infections with *Babesiacanis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *Vet Rec* 133:344-346.
- McBride JW, Corstvet RE, Breitschwerdt EB, et al. 2001. Immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* infection with recombinant proteins. *J Clin Microbiol* 39:315-322
- McBride JW, Corstvet RE, Gaunt SD, et al. 1996. PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. *J Vet Diagn Invest* 8:441-442.
- Moreira, S.M.; C.V. Bastos; R.B. Araujo; M. Santos; L.M.F. Passos. 2002. Estudo retrospectivo (1998 a 2001) da erliquiose canina em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 50: 20-25.
- Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC, et al. 1998. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Vet Parasitol* 79:325-339.
- Neer TM. 1995. Unpublished data. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- Nyindo MBA, Kakoma I, Hansen R. 1991. Antigenic analysis of four species of the genus *Ehrlichia* by use of the protein immunoblot. *Am J Vet Res* 52:1225-1230.
- Nyindo MBA, Kakoma I, Hansen R. 1991. Antigenic analysis of four species of the genus *Ehrlichia* by use of the protein immunoblot. *Am J Vet Res* 52:1225-1230.
- Pancholi P, Kolbert CP, Mitchell PD, et al. 1995. *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 172:1007-1012.

Perez M, Rikihisa Y, Wen B. 1996. *Ehrlichia canis*-like agent from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. J Clin Microbiol 34:2133-2139. prognostic indicators for the disease. Vet Rec 141:360-363.

Pita F. y Pértegas, D. 2003. Unidad de Epidemiología Clínica. Complejo Hospitalario Universitario de Coruña (España) Cad Aten Primaria 2003; 10: 120-124. Actualizada el 07/12/2010.

Ristic M, Dawson JE, Holland CJ, et al. 1988. Susceptibility of dogs to infection with *E. risticii*, the causative agent of equine monocytic ehrlichiosis (Potomac horse fever). Am J Vet Res 49:1497-1500.

Rivas, L.; Morales, A.; Saénz, M.; Bonilla, J. 2010. Hallazgos de Ehrlichosis canina causada por *Ehrlichia canis* en una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua. Revista Electrónica de Veterinaria. Volumen 11. Número 03.

Romero, B.; Padilla, A.; Alvarado, E. 2011. Cambios Hematológicos en Pacientes positivos a Ehrlichosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas, Michoacan. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. [Vhrb\\_2605@hotmail.com](mailto:Vhrb_2605@hotmail.com)

Sainz, A.; Amusategui, I.; Rodríguez, F.; et al. Las Ehrlichiosis en el perro: presente y futuro. Profesión Veterinaria. v.12, n.47, p.22-28, 2000. Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.

Stith DM, Telford SR III, Dawson JE. 1996. Diagnosing ehrlichiosis. Ann Intern Med 124:854.

Stockham SL, Schmidt DA, Curtis KS, et al. 1992. Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri, including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, and *Borrelia burgdorferi*. Am J Vet Res 53:63-68

Tesouro, M; A. Sainz. 1993. Ehrlichiosis canina. Veterinaria Información. Revisión del Consejo General de Colegios Veterinarios de España. N° 132. p 114-119.

Trapp SM, Dagnone AS, Vidotto O, et al. 2002. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population in South Brazil. *J Vet Intern Med* 16:365.

Troy GC, Forrester SD. 1990. Canine ehrlichiosis, pp 404-418. In Greene CE (ed), *Infectious diseases of the dog and cat*, ed 1. WB Saunders, Philadelphia, PA.

Von Stedingk LV, Gurtelschmid M, Hanson HS, et al. 1997. The human granulocytic ehrlichiosis (HE) agent in Swedish ticks. *ClinMicrobiol Infect* 3:573-574.

Waner T, Baneth G, Strenger C, et al. 1999. Antibodies reactive with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia phagocytophilus* antigens and the spotted fever group rickettsial antigens, in free-ranging jackals (*Canis aureus syriacus*) from Israel. *Vet Parasitol* 82:121-128.

Waner T, Harrus S, Bark H, et al. 1996. Subclinical canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) in experimentally infected beagle dogs. Abstract # 175. *J Am Coll Vet Intern Med* 10:192.

Waner T, Harrus S, Bark H, et al. 1997. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Vet Parasitol* 69:307-317.

Waner, T.; S. Harrus. 2000. Canine Monocytic Ehrlichiosis. [On Line] disponible: [Infect\\_Dis\\_carmichael/waner/chapter\\_](#)

Weiser MG, Thrall MA, Fulton R, et al. 1991. Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis. *J Am Anim Hosp Assoc* 27:84-88.

# ANEXO

## ANEXO 1

Cuadro 2

Sexo	Numero	Positivos	
		N°	%
Machos	18	5	28
Hembras	12	2	17

Los valores obtenidos tienen la misma frecuencia entre sexo ( $P > 0,05$ , Z de proporciones)

### Anexo 1: Prueba de Z de proporciones

$H_0 P = 0.28$      $H_a: \neq 0.28$

El valor de proporción observada en Hembras

0.17

$$z = \frac{|p_o - p^1|}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} = \frac{0.17 - 0.28}{\sqrt{\frac{0.28 * 0.72}{12}}} = \frac{-0.11}{0.13} = -0.84$$

Se tiene que -0.84 es menor que -1.96 se acepta la hipótesis nula

## ANEXO 2

Cuadro 3

Edad	Numero	Positivos	
		N°	%
0 - 2	10	2	20
>2 - 4	10	1	10
>4	10	4	40

Los valores obtenidos no tienen la misma frecuencia entre edades ( $P < 0,05$ , Chi cuadrado)

### Anexo 2 prueba de Chi cuadrado, de conformidad

$$X^2 = \frac{(20 - 23.33)^2}{23.33} + \frac{(10 - 23.33)^2}{23.33} + \frac{(40 - 23.33)^2}{23.33} = 20.0028$$

5.99 es menor que 20.0028 se rechaza la hipótesis nula



## ANEXO 3

Cuadro 4

Edad	Machos			Hembras			Prue Z
	Número	Positivos	Porcentajes	Número	Positivos	Porcentaje	
0-2	4	0	0	6	2	33	P<0.05
>2-4	6	1	17	4	0	0	P<0.05
>4	8	4	50	2	0	0	P<0.05

Las proporciones obtenidas entre edades de machos entre las diferentes edades no es la misma, observándose mayor porcentaje en los machos mayores de 4 años de edad seguida de los machos mayores de 2 a 4 años de edad. (P<0.05. Chi cuadrado).

Las proporciones obtenidas entre edades de las hembras no es la misma, observándose mayor proporción en la hembras entre 0 a 2 años.

### Anexo 3: prueba de Chi cuadrado, de conformidad entre edad de machos

$$X^2 = \frac{(0-33.5)^2}{33.5} + \frac{(17-33.5)^2}{33.5} + \frac{(50-33.5)^2}{33.5} = 49.75$$

5.99 es menor que 44.75, se rechaza la hipótesis nula.

: Edad entre Hembras

$$X^2 = \frac{(0-11)^2}{11} + \frac{(0-11)^2}{11} + \frac{(33-11)^2}{11} = 66$$

5.99 es menor que 66, se rechaza la hipótesis nula