

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**“PREVALENCIA DE *Ehrlichia sp.*, EN CANINOS INFESTADOS CON GARRAPATAS (*Rhipicephalus sanguineus*), MEDIANTE FROTIS SANGUÍNEO EN LA PROVINCIA DE TRUJILLO”**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

**PRESENTADA POR LA BACHILLER:**

**LUZ TERESA RABANAL ALVA**

**ASESOR**  
**M. Cs. RODOLFO GAMARRA RAMÍREZ**  
**COASESOR**  
**M.V. JULIO PAREDES SALDAÑA**

**CAJAMARCA – PERÚ**

**2014**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA**  
Fundada Por Ley N° 14015 Del 13 De Febrero De 1962  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**DECANATO**

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las once horas con quince minutos, del día veintinueve de agosto 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 “**PREVALENCIA DE *Ehrlichia sp.*, EN CANINOS INFESTADOS CON GARRAPATAS (*Rhipicephalus sanguineus*), MEDIANTE FROTIS SANGUÍNEO EN LA PROVINCIA DE TRUJILLO**” presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **Luz Teresa Rabanal Alva**.

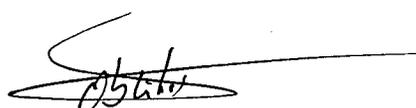
Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó a la sustentante a exponer su trabajo.

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 **Dieciséis (16)**.

Siendo las doce horas y catorce minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dió por concluido el proceso de sustentación.

  
Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES  
PRESIDENTE

  
M.Sc. M.V. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN  
SECRETARIO

  
M.Sc. M.V. MARÍA MANUELA CABRERA NÚÑEZ  
VOCAL

## DEDICATORIA

A Jehová por guiarme siempre en mis decisiones e iluminar mi vida en los momentos difíciles.

A mis padres José Serapio Rabanal Ramírez y María Ysabel Alva Zavaleta, con cariño y aprecio, por su protección, amor sacrificio y apoyo en todas mis decisiones para mi formación profesional y personal.

A los motivadores de mi vida, Misael y Antonio, por darme la dicha de amarlos.

A mis hermanos, Kike, Pepo, Misael y Mario, por su gratitud desinteresada, su cariño y comprensión.

A quienes sin escatimar esfuerzo alguno; han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme.

A mis abuelas, Bertila Zavaleta Mauricio, Mercedes Alva Minchón y Felicita Alva Minchón, por el ejemplo de amor, lucha, valor y lealtad

A mis abuelos Misael Rabanal Alcalde y Santiago Alva Minchón.

La autora.

## AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, por la formación profesional.

A mi asesor Rodolfo Gamarra, por su confianza, tiempo y dedicación en este trabajo de investigación.

A Manuela Lujan Velásquez y Julio Paredes que compartieron sus conocimientos, por sus valiosas ideas, recomendaciones y experiencias durante la realización de este trabajo.

A mi hermano Misael por acompañarme por lugares peligrosos para la ejecución de esta investigación y a Juan Carlos por la confianza con su clave de acceso.

A mis primos Shesira, Angy, Tula, Sussan, Rosita, Karin, Beto, Juan Carlos, Edu, Hans, Haniel, Victor, Adonis, Franco, Luis, Felix, Alessandro, Stephanie, Alan, Luz, Jorge, Toño, Carlos, Hugo, José y Vivian, por su amistad y aliento.

A mis tíos Luis Antonio, Santiago, Misael, Aldo, mamá Magaly, mamá Carmen y Silvia por su preocupación para con mi persona en todo momento.

A Vilma y Elmer por su hospitalidad brindada en Cajamarca.

A mis amigos Valeria Horna, Tania Ramos, Ronald Romero, Tito Sangay y Milagros Sánchez, por brindarme su amistad y apoyo para la realización de este proyecto.

Luz T Rabanal Alva

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se planteó como objetivo, determinar la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en caninos positivos a garrapatas, de la provincia de Trujillo - La Libertad, mediante la técnica de Frotis Sanguíneo. Se utilizó 100 caninos, de los cuales se obtuvo la muestra por punción en la cara ventral de la oreja, realizándose en una lámina porta objetos un extendido, y en el laboratorio, se procedió a la coloración Wright. Se observó cuerpos de inclusión o mórulas intracitoplasmáticas basófilas en neutrófilos, linfocitos y plaquetas, indicadores de infección por *Ehrlichia sp.*. Se determinó la prevalencia por distritos siendo de 45% en el distrito de Trujillo, 40% en Huanchaco, 40% en Laredo, 35% en El Porvenir y 25% en Moche. Por lo tanto se concluye que, en la provincia de Trujillo existe una prevalencia de 37% de *Ehrlichia sp.* en caninos infestados con garrapatas.

Palabras Clave: *Ehrlichia sp.*, Ehrlichiosis canina, Mórulas intracitoplasmáticas basófilas.

## ABSTRACT

In the current investigative work the following objective was presented: To determine the prevalence of *Ehrlichia sp.* in canines positive for ticks in the province of Trujillo - La Libertad, found by means of a blood smear technique. A sample of 100 canine subjects was tested. The blood sample was drawn from the ventral side of the ear, then a slide smear prepared. Slides were then processed with the Wright Stain in the laboratory to for appropriate staining. It was observed that inclusion bodies or basophilic intracytoplasmic morulae in neutrophils, lymphocytes, and platelets, all indicators of infection by *Ehrlichia sp.* The individual districts presented a prevalence of 45% for Trujillo, 40% in Huanchaco, 40% in Laredo, 35% in El Porvenir, and 25% in Moche. Therefore it is concluded that, in the province of Trujillo there is a prevalence of 37% of *Ehrlichia sp.* in dogs infested with ticks.

**Keywords:** *Ehrlichia sp.*, Canine Ehrlichiosis, basophilic intracytoplasmic morulae.

## ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	3
CAPÍTULO II.....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
Antecedentes .....	4
Características taxonómicas, morfológicas de Ehrlichia .....	6
Diagnóstico .....	13
Tratamiento de la Ehrlichiosis. ....	15
Garrapatas .....	15
CAPÍTULO III.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
UBICACIÓN .....	19
MATERIALES. ....	20
METODOLOGÍA .....	21
DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA.....	25
DISEÑO ESTADÍSTICO.....	26
CAPÍTULO IV .....	26
RESULTADOS .....	26
CAPÍTULO V .....	31
DISCUSIÓN .....	31
CAPÍTULO VI .....	33
CONCLUSIONES.....	33
CAPÍTULO VII .....	34
BIBLIOGRAFÍA .....	34
ANEXOS .....	42

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

*Ehrlichia canis* es una bacteria gramnegativa que causa la enfermedad Ehrlichiosis, la misma que es transmitida por la mordedura de *Rhipicephalus sanguineus*, mediante sus secreciones glandulares salivales contaminadas (Roura, 2006), también se reportó un trabajo donde utilizaron ninfas de *Dermacentor variabilis* criados en el laboratorio, las que fueron alimentadas con canes infectados a *Ehrlichia canis*, quedando demostrada la transmisión experimental de *Ehrlichia canis* por *Dermacentor variabilis* (Johnson y col., 1998).

Esta bacteria gramnegativa infecta leucocitos circulantes, donde se multiplican dentro de las vacuolas fagocíticas, formando cúmulos de Ehrlichias que se denominan, en conjunto, mórula (Brooks y col., 2010).

En canes se han identificado especies de Ehrlichias parasitando monocitos, granulocitos y plaquetas. La Ehrlichiosis es una enfermedad muy importante puesto que al atacar las células antes indicadas, deprimen el sistema inmune, trayendo como consecuencia: aplasia medular, aumento de la susceptibilidad para infecciones con otros agentes secundarios, anemia, hemorragia, lesión lenta del riñón que provoca muchas veces falla renal irreversible; todo esto afecta la salud y la calidad de vida del canino (Vadillo y col., 2002; Tami, 2003).

También cobra importancia a nivel mundial la presencia del vector *Rhipicephalus sanguineus* el cual participa en la transmisión de la enfermedad en canes y humanos. Este ectoparásito se ha reportado como transmisor de

Ehrlichiosis, Hepatozoonosis, Babesiosis, Anaplasmosis, Lyme, inclusive en infecciones mixtas. La distribución mundial de *Rhipicephalus sanguineus* se originó por la ausencia de medidas de control oportunas, transformándose en un problema serio de higiene ambiental, sobre todo en zonas tropicales y subtropicales.

Numerosos estudios evidencian la relación de la Ehrlichia con el vector *Rhipicephalus sanguineus*; reportando en caninos, altas seroprevalencias en distintas regiones del mundo; así, en la Florida (EEUU) se reporta 98% (Bélanger y col., 2002); en Maracaibo (Venezuela) un 83.63% (Arranga, 1998), y en Niteroi (Brazil) un 25% (Poubel, 2012). Estos estudios de seroprevalencias sugieren que la Ehrlichiosis es bastante frecuente en el mundo y está tomando vital importancia.

Así el Ministerio de Salud - Región La Libertad, nos reporta una población canina estimada de 202 826 caninos en la provincia de Trujillo, la cual se encuentra en probable riesgo a infección con *Ehrlichia sp.*

En la provincia de Trujillo no se han encontrado reportes recientes de la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en caninos utilizando la técnica de Frotis Sanguíneo, por lo que se decidió en el presente estudio aplicar dicha técnica, con el objetivo de determinar la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en caninos positivos a garrapatas procedentes de la provincia de Trujillo mediante la técnica Frotis Sanguíneo, coloreados con tinción Wright.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- ✓ Determinar la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en sangre de caninos infestados con garrapatas, procedentes de los distritos: Trujillo, Laredo, Huanchaco, El Porvenir y Moche de la provincia de Trujillo, región La Libertad, utilizando la técnica Frotis Sanguíneo.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en caninos infestados con garrapatas, de la provincia de Trujillo - La Libertad.
- ✓ Identificar la frecuencia de presentación de mórulas de *Ehrlichia sp.* en el citoplasma de los leucocitos.

## CAPÍTULO II,

### MARCO TEÓRICO

#### 1. Antecedentes

Durante la Guerra de Vietnam, la bacteria *Ehrlichia sp.* causó la muerte de cientos de perros pertenecientes a las fuerzas armadas y fue identificada por primera vez en el Instituto Pasteur (Argelia) en 1935 (Waner y Harrus, 2000).

Posteriormente, en 1945, Moshkovskii redenominó a este agente patógeno con el nombre de Ehrlichia en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich. En los años 40 se describen diversas infecciones por este agente en África e India, en los años 50 en las Antillas Holandesas y a partir de los años 60 se describe la enfermedad en Singapur, Vietnam, Estados Unidos y Europa (Peczar y col., 1990; Harkess y col., 1991).

*Ehrlichia sp.* está presente sobre todo en países tropicales, pero es de distribución mundial, por la presencia del vector *Rhipicephalus sanguineus* (Vadillo y col., 2002).

A nivel mundial se han reportado seroprevalencias de Ehrlichia en caninos, con los siguientes porcentajes: 42% en Zimbawe, 33% en Egipto y 30% en Israel (Waner y Harrus, 2000).

En América se reportó casos positivos a *Ehrlichia sp.* en caninos: en Estados Unidos (La Florida) un 97%, mediante serología (Bélanger y

col., 2002); en México un 30% (Mil, 2005), en Venezuela (Maracaibo) un 83.63% (Arranga, 1987), en Brasil (Niterói) un 25% (Poubel, 2012).

En Perú en el distrito de Comas, provincia y departamento de Lima, se reportó un 8.1% de casos positivos en caninos positivos a *Ehrlichia sp.*, mediante Frotis Sanguíneo con coloración Wright, también se encontró 56.8% a *Anaplasma spp.*, 10.8% a *Babesia spp.*, también reportó asociaciones de *Ehrlichia canis* con *Anaplasma spp.* en un 13.5% , y de *Babesia spp.* con *Anaplasma spp.* en un 10.8% (Paredes, 1993).

En la provincia de Trujillo, mediante la técnica Frotis Sanguíneo utilizando coloración Giemsa, se reportó un 63.3% de casos de caninos positivos a *Ehrlichia sp.* (Robles, 2008). También en la misma zona y con canes se reportó un 60.47% de seroprevalencia a *Ehrlichia canis* (Meléndez, 2006).

En la actualidad, a nivel mundial, la infección por esta bacteria es considerada como una zoonosis de importancia médica (Jawetz y col., 1996; Marshall y col., 2012; Murray y col., 2005; Rosenthal y Pauller, 2007). Se reportaron, en Perú (Ancash) seroprevalencias de 9.2% de Ehrlichiosis humana (Anaya y col., 2009). En Lima (Perú) se reportó en propietarios de caninos un 14.2% mediante Inmunofluorescencia Indirecta (Barrios, 2010), También se encontraron seroprevalencias en Mori de 25%, Pampas 23%, Cochapata 3% y Santo Tomás 3% (Moro y col., 2009). Así, en Trujillo, mediante la técnica Frotis Sanguíneo, se determinó una prevalencia de 60% a Ehrlichiosis humana en pacientes anémicos (Paredes, 2014) y en el distrito de Trujillo, se demostró una frecuencia de 18.2% de casos positivos, en 110 personas (Horna, 2013).

Mediante un formato de ELISA se empleó como antígeno la proteína MAP2 recombinante. En este estudio se utilizaron 141 muestras de suero de caninos positivos a *E. canis*, teniendo como resultado un 100

% de concordancia entre caninos infectados experimentalmente y, caninos del grupo control, que fueron infectados con otras especies de Ehrlichias 5.7% fueron positivos (Alleman y col., 2001; Knowles y col., 2003).

## 2. Características taxonómicas, morfológicas de Ehrlichia

### 2.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica de este microorganismo está basada en el análisis de la secuencia genética del 16S del ARN ribosomal, reforzado por las características biológicas y antigénicas.

Superreino:	: Bacteria
Reino	: Monera
Phylum	: Proteobacteria
Clase	: Alphaproteobacteria
Orden	: Rickettsiales
Familia	: Anaplasmataceae
Género	: Ehrlichia

El género Ehrlichia, denominado así en honor al padre de microbiología Paul Ehrlich, comprende las especies *Ehrlichia chaffensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia ruminantium* y *Ehrlichia platys*; caracterizadas por infectar a las células mononucleares y granulocíticas, formando mórulas o inclusiones intracitoplasmáticas; siendo su localización intracelular lo cual la protege de la respuesta de anticuerpos del huésped (Murray y col., 2005; Vadillo y col., 2002).

## 2.2. Características morfológicas

*Ehrlichia sp.* es una bacteria gramnegativa (Jawetz y col., 2000), mide entre 0.2 a 0.4 micras, está envuelta por dos membranas que carecen de peptidoglucano y lipopolisacáridos, pero contiene glicoproteínas (Walker y col., 2004).

Las mórulas en examen microscópico, se observan dentro del citoplasma, son de color azulófilo, teniendo como tamaño un diámetro entre 2 micras a 3 micras. La identificación de la mórula proporciona un permanente registro de *Ehrlichia sp.* (Rikihisa, 1991; Ferreyra, 2003).

Las distintas especies de estos géneros comparten diversos antígenos proteicos, como consecuencia de ello son frecuentes las reacciones cruzadas en las pruebas serológicas de detección de anticuerpos.

Los cultivos se realizan en laboratorios de bioseguridad tipo III y precisando para su crecimiento líneas celulares como las células promielocíticas HL-60 y precursores mielomonocíticos (Paddock y Childs, 2003).

## 2.3. Características tintoriales

Las tinciones utilizadas para la identificación de esta bacteria son del tipo Romanowsky (Wright, Giemsa y tinciones rápidas modificadas), estas resultan muy útiles porque son menos sensibles al pH de la solución y son las que permiten en general una mejor valoración morfológica del Frotis Sanguíneo (Gutierrez, 2008).

Estas tinciones contienen un colorante ácido (eosina) y otro básico (azul de metileno) (Murray y col., 2005). La coloración Wright es la más empleada y tiñe las bacterias de color púrpura a azul, lo que permite la visualización de las características de las mórulas (Rikihisa, 1991). Las

mórulas tiñen débilmente con el método de tinción Gram (Murray y col., 2007).

### **3. Características Clínicas, Epidemiológicas y Patológicas de la Ehrlichiosis**

Ehrlichiosis es la enfermedad causada por bacterias del género *Ehrlichia* sp., siendo transmitida por medio de las garrapatas y con síntomas parecidos a otras enfermedades. También afecta a múltiples especies de animales tales como perro, zorro, coyote, chacal, ciervos de cola blanca, ratones de pies blancos, ardillas listadas, ratones de campo (Murray y col., 2005). A nivel mundial es considerada como una zoonosis (Paredes, 2014; Brooks y col., 2000).

Otros nombres con los cuales ha sido conocida la enfermedad son: Fiebre Hemorrágica Canina; Enfermedad del Perro Rastreador; Tifus de la garrapata canina, rickettsiosis canina; desorden hemorrágico de Nairobi, fiebre canina Lahore y Pancitopenia Tropical Canina (Blood y Studdert, 1993).

#### **3.1. Clasificación según la célula que infecta**

##### **3.1.1 Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC)**

Esta enfermedad tiene como agentes etiológicos a *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ruminantium* y *Ehrlichia canis* (Quinn y col., 2008; Romero y col., 2011); las que infectan a células mononucleares (Monocitos y Linfocitos). Es transmitida a través de la mordedura de la garrapata infectada (Murray y col., 2005; Cercenado y Cantón, 2007).

Los signos de la EMC pueden incluir depresión, letargia, anorexia, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia, pérdida moderada de peso, depresión, tendencia al sangrado, epistaxis, petequias, equimosis en la piel y/o ocasionalmente edema periférico en miembros superiores y escroto. Siendo la trombocitopenia el hallazgo hematológico más común (Ferreira, 2003).

La bacteria *Ehrlichia canis* esta confinada a las regiones tropicales y subtropicales, afectando a todos los cánidos; esta relacionada con el vector *Rhipicephalus sanguineus* en el que desarrolla una transmisión transtética. Una vez infectado el can, se convierte en reservorio de la bacteria (Romero y col., 2011).

En un trabajo de investigación, realizado en Venezuela, utilizando la técnica Frotis Sanguíneo para encontrar casos positivos a mórulas; se les extrajo el ADN, aplicando pruebas moleculares (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y se detectó el 33% de muestras de perros con infección por *Ehrlichia canis* y 100% con *Ehrlichia chaffeensis* (Gutiérrez y col., 2006).

En la fase aguda de la enfermedad se produce la replicación del microorganismo en las células mononucleares, con diseminación hematógica y vasculitis (Peczar y col., 1990).

La Ehrlichiosis crónica causada por *E. canis* puede desarrollarse en cualquier raza canina; pero ciertas razas como el caso del Pastor Alemán, pueden estar predispuestas (Schaer y col., 2006).

En la fase crónica se produce una respuesta inmune ineficaz, por parte del hospedador conduciendo a pancitopenia relacionada con hipoplasia de la médula ósea. Debido a la larga vida de los hematíes, la trombocitopenia y la neutropenia aparecen generalmente antes de la

anemia. La leucopenia y la pancitopenia son hallazgos menos frecuentes que pueden aparecer más tarde en el curso de la enfermedad (Schaer y col., 2006).

En 1996, se demostró que *E. chaffeensis* causa signos de enfermedad en perros, indistinguible de la infección provocada por *E. canis* (Waner y Harrus, 2000).

*Ehrlichia ruminantium* es el agente causal de la Ehrlichiosis de los rumiantes, también llamada “enfermedad del corazón acuoso”, debido a que produce hidropericardio. Esta Ehrlichia infecta las células endoteliales, células de la línea mieloblástica y células de la línea monoblástica de los rumiantes. Su transmisión se realiza por medio de garrapatas vectores del género *Amblyomma* sp. La distribución de la enfermedad ligada a la de su vector se ha limitado al continente africano y algunas islas del Caribe, provocando una alta mortalidad en los rumiantes (Romero y col., 2011; Kobashi y col., 2005).

### 3.1.2. La Ehrlichiosis Granulocítica Canina (EGC)

La EGC es producida por *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia muris*, *Anaplasma phagocytophilum* (Alleman y Couto , 2008).

*Ehrlichia ewingii* infecta a los granulocitos como neutrófilos y más raramente, eosinófilos. La garrapata vector es *Amblyomma americanum* de distribución exclusiva en los Estados Unidos, por lo que esta infestación se considera actualmente restringida a esta área, aunque recientemente se ha observado la infestación natural por este agente en otras especies de garrapatas como *Rhipicephalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis* en Oklahoma. Además, para la identificación molecular de esta bacteria, esta en investigación (Yabsley y col., 2011).

*Ehrlichia muris* se aisló en 1983 del bazo de un roedor salvaje en Japón. Esta Ehrlichia ha sido aislada de la garrapata *Haemaphysalis flava* siendo probable su papel como vector, habiéndose encontrado hasta el momento en Japón y Corea. El poder patógeno de esta bacteria se desconoce. La inoculación experimental de este agente en perros, vía intravenosa, no produjo sintomatología, observándose tan sólo una ligera y fugaz elevación del título de anticuerpos. Mediante los controles serológicos se ha detectado la exposición a este agente o a alguno similar en hombres, perros y otros animales (Thomas y col., 2009).

### **3.2. Sintomatología**

La Ehrlichiosis canina se inicia con un proceso agudo caracterizado por depresión, anorexia, letargo, pérdida de peso y fiebre; seguido por una etapa subaguda; manifestándose en la etapa crónica hemorragias, linfadenopatías, esplenomegalia, poliartropatías y signos neurológicos (Manual Merck, 2011).

La enfermedad tiene un periodo de incubación de diez a veinte días seguido por fiebre variable, anorexia pérdida de peso, depresión y debilidad. Algunos animales mueren en la fase aguda, pero la mayoría entran al estado subclínico de duración variable. La etapa crónica o final, comprende una duración de noventa días, presentando signos clínicos de epistaxis, hemorragia generalizada e incluso insuficiencia renal (Couto y col., 2008).

### 3.3. Epidemiología

La Ehrlichiosis, tiene como vector a la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), viéndose favorecida en las estaciones de verano y primavera cuando la proliferación de vectores es mayor por la presencia de tierra, humedad y temperaturas altas (Vadillo y col., 2002), recomendándose en países de climas templados y tropicales un programa de control para el vector (Jawetz y col., 2000; Cercenado y col., 2007).

En las garrapatas la transmisión de *Ehrlichia sp.* es transestadial (Los estados de ninfa y adulto son capaces de transmitir la enfermedad. En estado de larva pueden adquirir la enfermedad y la mantienen hasta ninfa) (Waner y Harrus, 2000) y 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 hasta la primavera siguiente (Waner y Harrus, 2000), éstas pueden transmitir el agente a los perros susceptibles hasta por 5 meses (Quinn y col., 2008). Se han encontrado perros con Ehrlichiosis que presentan infecciones concomitantes con *Bartonella sp.*, *Babesia canis*, *Hepatozoon canis* (Romero y col., 2011).

### 3.4. Patogenia

La Ehrlichia en perros es transmitida por la mordedura de *Rhipicephalus sanguineus*, mediante sus secreciones glandulares salivales contaminadas (Roura, 2006).

Dentro del hospedero, *Ehrlichia sp.* busca su célula sanguínea (leucocitos, monocitos y plaquetas), que depende de la especie, luego se introduce por endocitosis siendo el mecanismo mediante el cual

*Ehrlichia* ingresa; e inhibe la fusión fagosoma-lisosoma de células del hospedero, porque no posee en la membrana peptidoglucano (Waner y Harrus, 2000; Murray y col., 2005; Vadillo y col., 2002; Jawetz y col., 1996). La *Ehrlichia* en el perro tiene un periodo de incubación de 1 a 3 semanas, presentando como características generales: fiebre, depresión y anorexia, dependiendo del nivel de infectividad (Brooks y col., 2000), luego lisa la célula, liberando las *Ehrlichias* que infectaran más células.

En la garrapata, *Ehrlichia* se multiplica en el interior de los hemocitos, en la pared del tracto digestivo (epitelio del intestino medio) y en las células de las glándulas salivales. Al alimentarse, las garrapatas introducen las bacterias a través de su saliva contaminada con *Ehrlichia sp.* (Waner y Harrus, 2000)

#### **4. Diagnóstico**

El diagnóstico se inicia con la anamnesis, presentación clínica, hallazgos patológicos al examen clínico y se confirma con la notificación de las pruebas de laboratorio (Cercenado y col., 2007; Walker y col., 2004).

Los propietarios pueden mencionar una infestación previa con garrapatas o la visita reciente a un área endémica (Waner y Harrus, 2000).

Al examen clínico puede observarse epistaxis, hematuria, melena, petequias y equimosis en la piel, causadas por la trombocitopenia. Asimismo las señales variables de anorexia, depresión, pérdida de la resistencia, rigidez y la resistencia para caminar, edema de las extremidades o el escroto y tos con disnea (Cercenado y col., 2007).

El diagnóstico de laboratorio se inicia mediante hallazgos en extendidos de sangre, coloreados con tinción Wright, siendo preferible que en la toma de muestra provenga de un vaso o capilar auricular, observando inclusiones

intracitoplasmáticas leucocitos, monocitos y plaquetas. Esta es considerada una prueba confirmatoria para el diagnóstico de infección por *Ehrlichia sp.* (Couto y col., 2008). (Granados y Villaverde, 1996; Gutiérrez y col., 1999; Jawetz y col., 1996). Las mórulas de *E. ewingii* y *A. phagocytophilum* se ven rápidamente en los neutrófilos de sangre periférica de los perros afectados. Sin embargo las mórulas de *E. canis* de los linfocitos y monocitos de caninos se detectan raramente en sangre periférica, y solo durante estadios tempranos de la infección. En el hemograma se revela trombocitopenia, anemia (no regenerativa) y leucopenia.

En la citología de aspiración se revela nódulos linfáticos reactivos, frecuentemente, plasmocitosis marcada. También las mórulas de *E. ewingii* y *E. equi* pueden identificarse en los neutrófilos sinoviales de algunos perros (Cowel y col., 2009).

El diagnóstico monitorizado del paciente con infección por *E. canis* se puede complementar obteniendo muestras del suero con una prueba comercializada para uso en clínica o con un examen de laboratorio por inmunofluorescencia indirecta (IFI). No obstante estos test no diferencian completamente los organismos rickettsiales y se pueden producir falsos negativos basados en títulos IFI bajos. El análisis molecular (PCR) es el medio más fiable para distinguir las infecciones entre especies de *Ehrlichia* y *Anaplasma*. No obstante debido al bajo número de organismos circulantes, con este medio todavía puede producirse falsos negativos de Ehrlichiosis monocítica con muestras de sangre entera de perros con *E. canis*. (Cowel y col., 2009). Así también teniendo como limitación su elevado costo y su delicada manipulación (Méndez, 2004; Carrillo y col., 2000).

## **5. Tratamiento de la Ehrlichiosis.**

Los fármacos más empleados para el tratamiento de Ehrlichiosis canina; son la doxiciclina, dipropionato de imidocarb y cloranfenicol.

Para el tratamiento durante las fases aguda y crónica, se emplea el fármaco doxiciclina; iniciando por vía endovenosa por dos o tres días, luego se completa por vía oral por un periodo de 10 días a 6 semanas, dependiendo de la respuesta clínica. Se recomienda en dosis de 5mg a 10 mg por Kilo (Walker y col., 2004).

El tratamiento con Dipropionato de Imidocarb se puede emplear, administrando inyecciones de 5 mg/Kg, vía Sub cutánea por un intervalo de 2 semanas(Manual Merck, 2011).

En perros menores a 6 meses de edad se recomienda el uso de cloranfenicol a razón de 15-25 mg por Kilo, vía oral o intravenosa cada 8 horas, durante 2 semanas (Manual Merck, 2011); ya que la tetraciclina y la Oxitetraciclina producen coloración amarillenta en los dientes en etapa de erupción (Maddison y col., 2004)

## **6. Garrapatas**

Las garrapatas son artrópodos del suborden Ixodida que se dividen en tres familias, dos de las cuales son: familia Ixodidae (garrapatas duras) y Argasidae (garrapatas blandas). En la familia Ixodidae se observa la porción anterior del cuerpo que incluye un escudo ("escudo dorsal") y un capitulo orientado hacia adelante ("cabeza"), de donde proviene el termino, "garrapata dura ". Éstos son ectoparásitos temporales obligados de reptiles, aves o mamíferos y tienen un gran tamaño (al menos en el estado adulto) resultando observables a simple vista (Cordero y Rojo, 1999).

### 6.1. Familia Ixodidae

Incluye a las garrapatas duras cuyo calificativo alude a la dureza de sus tegumentos, deriva de la presencia, en el dorso de su idiosoma, de un escudo esclerificado que lo cubre totalmente en los machos y tan solo en su región anterior en las hembras. Son también conocidos con el nombre de ricinos por la semejanza que guardan algunas hembras gravidas como las semillas del ricino (Koneman y col., 2008).

### 6.2. Morfología General

En el cuerpo se distinguen dos regiones bien diferentes: el gnatosoma, constituido por el conjunto de sus piezas bucales, visibles dorsalmente dada su posición apical, y el idiosoma, en el que el diferente desarrollo del escudo dorsal en machos y hembras les confiere un notable dimorfismo sexual (Koneman y col., 2008).

El gnatosoma, esta constituido por una pieza bucal, la base del *capitulum*, cuya articulación con el idiosoma le permite una notable movilidad hacia la parte ventral del mismo, hasta poderse situar formando un ángulo agudo con él. La forma de esta pieza varía en los distintos grupos de la familia, siendo su contorno rectangular, hexagonal o subtriangular. En sus ángulos inferiores puede presentar unas apófisis más o menos acusadas, denominadas córnulas. En las hembras la base del *capitulum* se distingue por la presencia, en su cara dorsal (Koneman y col., 2008).

En el mismo gnatosoma, se implantan apicalmente las piezas bucales típicas de los ácaros y de conformación muy peculiar en los ixódidos: los quelíceros, los maxilipapos y el hipostoma. Los quelíceros, cuyo dígito móvil o extremo está provisto de unos denticulos cortantes, se sitúan dorsalmente. Los maxilipalpos son tetra-articulados. Sus artejos

segundo y tercero están excavados en su cara interna protegiendo, en reposo, los quelíceros y el hipostoma. El cuarto es muy pequeño y se halla situado en una foseta de la cara ventral del tercero, visible, por lo tanto, tan solo cuando se observa por su cara ventral (Koneman y col., 2008).

El hipostoma, o pieza ventral, se halla provisto de unas series de dentrículos puntiagudos dirigidos hacia atrás que permiten una sólida y tenaz fijación en la piel del hospedador (Koneman y col., 2008).

El idiosoma, tiene su tegumento endurecido por la presencia de un escudo dorsal que en los machos cubre casi toda esta zona. En las hembras, este escudo dorsal sólo cubre el tercio anterior del idiosoma (Koneman y col., 2008).

### **6.3. Género *Rhipicepalus sanguineus***

Procedente de África y zonas templadas. Los ojos son planos, solo en raras ocasiones hemisféricos. El escudo dorsal es liso, brillante y unicolor, pardonegro, y las piezas bucales son cortas, el surco anal bordea por ambos lados la abertura anal. Los palpos están deprimidos dorsalmente y en la cara interior del primer artejo llevan una dilatación en forma de placa, con 5 a 7 cerdas finalmente plumosas. Todos los segmentos de las patas son cilíndricos y relativamente cortos, de color pardo-rojizo uniforme. La primera cadera esta hendida, llevando dos fuertes apéndices. Los machos poseen dos placas anales triangulares. Los estigmas tienen forma de coma con la punta dirigida hacia atrás y hacia arriba (Borchert, 1964).

Se ha informado que, la garrapata marrón del perro también puede transmitir la bacteria *Rickettsia rickettsii*, causando "Fiebre de las Montañas

Rocosas” (FMR) y posiblemente *Anaplasma platys* en los seres humanos y caninos. En las regiones del sur de Europa, África y Asia, la garrapata marrón del perro es el principal vector para *Rickettsia conorii*, que es la bacteria responsable de la Fiebre Maculosa del Mediterráneo en los seres humanos. *R. sanguineus* también se reporta como vector para el parásito protozoario *Hepatozoon canis*, lo que provoca hepatozoonosis canino en perros. Así como *Babesia canis* (babesiosis canina) en perros. *Bartonella henselae*, la bacteria que causa la enfermedad por arañazo de gato. También en trabajos con exposición experimental se demostró que puede causar Leishmaniasis en seres humanos (Paskewitz, 2013).

El diagnóstico tradicionalmente se ha realizado mediante la observación directa de las garrapatas sobre los animales: orejas, cara, cuello, dorso, pliegues de la región perianal e inguinal, y en ocasiones las patas (interdigitales), son los lugares preferidos de fijación (Cordero y Rojo, 1999).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación, se realizó en el departamento La Libertad, provincia de Trujillo, en los distritos: Trujillo, Laredo, Huanchaco, El Porvenir y Moche.

En cuanto al procesamiento de las muestras del frotis sanguíneo se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunología de la Universidad Nacional de Trujillo, y la tipificación de garrapatas se realizó en el Laboratorio de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad Nacional de Cajamarca, del distrito y provincia de Cajamarca.

La ciudad de Trujillo cuenta con las siguientes características geográficas y meteorológicas<sup>1</sup> :

- Altitud	: 65 m.s.n.m.
- Latitud Sur	: 8° 06" 03"
- Longitud Oeste	: 78° 59" 05"
- Temperatura media anual	: 21.1°
- Precipitación pluvial anual	: 25mm
- Humedad relativa media anual	: 88%
- Clima	: Semiseco-Cálido

---

<sup>1</sup>Estación Climatológica Ordinaria Trujillo - Laredo (SENAMHI-2013).

## 2. MATERIALES.

### 2.1. Material Biológico.

- Se trabajó con un total de 100 muestras de sangre de caninos (de diferente sexo y edad), infestados con garrapatas (*Rhyncephalus sanguineus*).

### 2.2. Material y Equipo de Laboratorio

- Microscopio de luz incorporada.
- Estéreo microscopio<sup>2</sup>
- Láminas porta objetos.
- Colorante Wright<sup>3</sup>.
- Solución Buffer pH 7.2<sup>4</sup>.
- Aceite de cedro.
- Agua destilada.
- Pipetas Pasteur.
- Lancetas de Frank.
- Pizeta.
- Papel toalla.
- Caja porta láminas.
- Guantes de diagnóstico.
- Algodón.
- Caja porta láminas.
- Pinzas
- Estilete
- Frascos.

---

<sup>2</sup> Karl Stemi DV con estactivo LCD

<sup>3</sup> Distribuidora JAMPAR laboratorio Biolabtest cod.013010272.

<sup>4</sup> Distribuidora JAMPAR laboratorio Biolabtest cod.013010240.

### 3. METODOLOGÍA:

#### 3.1. Determinación del número de muestras

Para la determinación del número de muestras requeridas se utilizó un muestreo simple al azar, con un nivel de confianza del 95% (Thrusfield 1991).

El tamaño muestral se calculó mediante la siguiente fórmula.<sup>5</sup>

$$N = \frac{1.96^2 \cdot P \cdot (1-P)}{d^2}$$

N = Número de muestras requeridas

1.96 = Constante que equivale al nivel de confianza de 95 %

d = Precisión deseada (10 %)

P = Prevalencia esperada (63 %) (Robles 2008)

$$N = (1.96^2 \cdot 0.63 \cdot (1-0.63)) / 0.1^2$$

$$N = (0.896) / (0.01)$$

$$N = 89.6$$

$$N = 90 \text{ muestras.}$$

<sup>5</sup>La fórmula utilizada para el tamaño muestral es reportada por Thrusfield, 1991

### **3.2. Aplicación de la Encuesta.**

Previa a la aplicación de la encuesta se explicó a los propietarios sobre el trabajo y la importancia de realizarse un análisis de esta enfermedad.

- Se aplicó la encuesta (Ver Anexo 01) en la zona urbana de cinco distritos de la provincia de Trujillo en el orden siguiente: Trujillo, Laredo, Huanchaco, El Porvenir y Moche.

### **3.3. Selección de los caninos.**

- Se seleccionó 20 canes por distrito (Trujillo, Laredo, Huanchaco, El Porvenir y Moche), cuyos propietarios manifestaron presencia de garrapatas en sus mascotas, durante los tres últimos meses previos a la toma de muestra. Para la selección de los perros no se consideró raza, edad ni sexo.

### **3.4. Toma de la muestra.**

La toma de muestra se realizó inmediatamente después de la aplicación de la encuesta

- Se sujetó adecuadamente el perro, colocándole un bozal a los muy agresivos (Ver Anexo 02, Fotografía 01).
- Se procedió a limpiar la cara ventral de la oreja con un algodón humedecido con alcohol de 70° (Ver Anexo 02, Fotografía 02).
- Se localizó un vaso sanguíneo visible del pabellón de la oreja y se realizó la punción con una lanceta de Frank (Ver Anexo 02, Fotografía 03).
- Se tomó una gota de sangre en una lámina portaobjetos (Ver Anexo 02, Fotografía 04), preparando un frotis. Repitiéndose la toma de

muestra en una lámina testigo y rotulando cada lámina con el nombre del can y las iniciales del Distrito.

- Empleando algodón limpio se presionó, por unos segundos, en la zona de la punción para favorecer la hemostasia.

### **3.5. Análisis de la muestra.**

Se realizó el método de tinción Wright y la observación de la lámina.

#### **3.5.1. Método de Tinción Wright.**

- Se colocó el frotis sobre un puente de tinción, en posición horizontal.
- Se aplicó el colorante Wright en cantidad necesaria para que cubra toda la muestra con una pipeta Pasteur y luego la misma cantidad de Buffer fosfato pH 7.2.
- Se realizó el viraje de la lámina de manera suave hasta que se formó una capa brillante y se dejó por 5 minutos para que actué el colorante.
- Finalmente se realizó el lavado de lámina coloreada, con agua destilada y se dejó secar en posición vertical,
- Luego se realizó la observación en el microscopio de luz incorporada a 400X y luego a 1000X.

#### **3.5.2. Identificación de la mórula de *Ehrlichia sp.* en Frotis Sanguíneo.**

- La lámina con la extensión, se llevó al microscopio, observando las diferentes células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos).

- Para la identificación de Ehrlichia se tomó importancia en los neutrófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas, buscando la presencia de cuerpos de inclusión o mórulas que se tiñen a color azul basófilo, indicadores de infección por *Ehrlichia sp.* (Rikihisa 1991)
- Para realizar la lectura, se consideró revisar toda la lámina.
- Estas estructuras se identificaron por presentar agrupaciones basófilas de color azul, claramente definidas en el citoplasma de los leucocitos, llamadas mórulas, siendo compatibles con las descritas por los diversos autores consultados (Koneman y col., 2008; Rikihisa. 1991; Horna, 2014; Paredes, 2014; Schaer y col., 2006; Roura, 2006; Couto y col., 2008; Waner y Harrus 2000; Dumler y col., 1993).

### **3.6. Identificación de Garrapata (Ver anexo 03)**

- Habiendo revisado las características morfológicas documentadas por Koneman en el año 2008.
- Utilizando una pinza, se colocó las garrapatas (obtenidas de los caninos infectados) en una placa petri , para luego ser observadas en el estéreomicroscopio.
- se pudo observar en las garrapatas hembras y machos la presencia del capítulo orientado hacia adelante.
- Las garrapatas hembras presentaron escudo dorsal pequeño y los machos presentaron escudo dorsal que cubre las dos terceras partes del idiosoma (Ver anexo 03. Fotografía 60, 07, 08, 09).Estas dos primeras características pertenecen a la familia Ixodidae
- En el hipostoma se identificó los palpos cortos y anchos, las garrapatas machos presentaron festomes en los bordes posterior del cuerpo (Ver anexo 03. Fotografía 12).

- En la parte ventral de idiosoma se observó el surco anal que rodea el ano por detrás. Lo que nos llevó a identificar las características propias del género *Rhipicephalus* (Ver anexo 03. Fotografía 13).
- También se observó que las garrapatas presentaron en forma hexagonal la base del capitulum.
- Finalmente se identificó los ojos y su forma ligeramente convexos. También se consideró que el escudo y las patas fueron de color café, las dos últimas características que nos permitieron identificar la especie de *Rhipicephalus sanguineus* (Ver anexo 03. Fotografía 10,11, 12).

#### 4. DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA

En base al número de láminas positivas (Ver Anexo 04), se calculó la prevalencia de Ehrlichiosis, aplicando la fórmula que se menciona en Thrusfield (1991).

N=	$\frac{\text{N}^\circ \text{ casos positivos}}{\text{Total de población estudiada}} \times 100$
----	---

$$P = (37 \times 100) / 100$$

$$P = 37\%$$

#### 5. DISEÑO ESTADÍSTICO

El presente estudio es analítico descriptivo. Se utilizó una estadística básica descriptiva, mediante tablas de frecuencia y figuras.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

**Tabla 4.1.** Prevalencia de *Ehrlichia sp.*, en caninos infestados con garrapatas, a nivel de los Distritos de la provincia de Trujillo – La Libertad (Julio - Diciembre) 2013.

Distrito	Población Estudiada	Casos		PREVALENCIA	
		Negativos		Positivos	
		Nº	%	Nº	%
Trujillo	20	11	55	9	45
Laredo	20	12	60	8	40
Huanchaco	20	12	60	8	40
El Porvenir	20	13	65	7	35
Moche	20	15	75	5	25

No existe diferencia entre distritos ( $P > 0.05$ - Chi cuadrado)(Ver Anexo 5).

Los resultados (Tabla 4.1), obtenidos de 100 muestras de sangre de caninos analizados en los cinco distritos de la provincia de Trujillo, se reporta mayor prevalencia en los distritos de Trujillo (un 45%), Laredo (un 40%) y Huanchaco (un 40%).

**Tabla 4.2.** Prevalencia de *Ehrlichia sp.*, en caninos infestados con garrapatas, de la provincia de Trujillo - La Libertad (Julio- Diciembre) 2013.

<b>Población estudiada (N°)</b>	<b>Casos positivos a <i>Ehrlichia sp.</i> (N°)</b>	<b>Casos negativos a <i>Ehrlichia sp.</i> (N°)</b>	<b>Tasa de Prevalencia (%)</b>
100	37	63	37%

Los resultados (Tabla 4.2), obtenidos de 100 muestras de sangre de caninos analizados en los cinco distritos de la provincia de Trujillo – La Libertad, se obtuvo una tasa de prevalencia de 37%.

**Tabla 4.3.** Número de casos positivos a *Ehrlichia sp.* Según el tipo de célula infectada, en base a la presencia de mórulas, empleando la técnica Frotis Sanguíneo de sangre periférica de caninos en Trujillo - La Libertad (Julio - Diciembre) 2013.

<b>Célula Sanguínea</b>	<b>N° casos Positivos</b>	<b>% Frecuencia de presentación</b>
<b>Neutrófilo</b>	24	65
<b>Monocito</b>	6	16
<b>Monocito y neutrófilo</b>	5	14
<b>Plaqueta</b>	2	5
<b>TOTAL</b>	<b>37</b>	<b>100</b>

En los resultados (Tabla 4.3), positivos identificados según el tipo de célula sanguínea, se encontró mayor frecuencia presentación en neutrófilos un 65% y monocitos un 16%.

**Figura 1, figura 2 y figura 3** En la observación en el microscopio, de las células infectadas, se puede apreciar inclusiones ligeramente basófilas, producidas por *Ehrlichia* a nivel de citoplasma en Monocitos, Neutrófilos y Plaquetas, las que corresponden a las mórulas identificadas en el presente estudio.

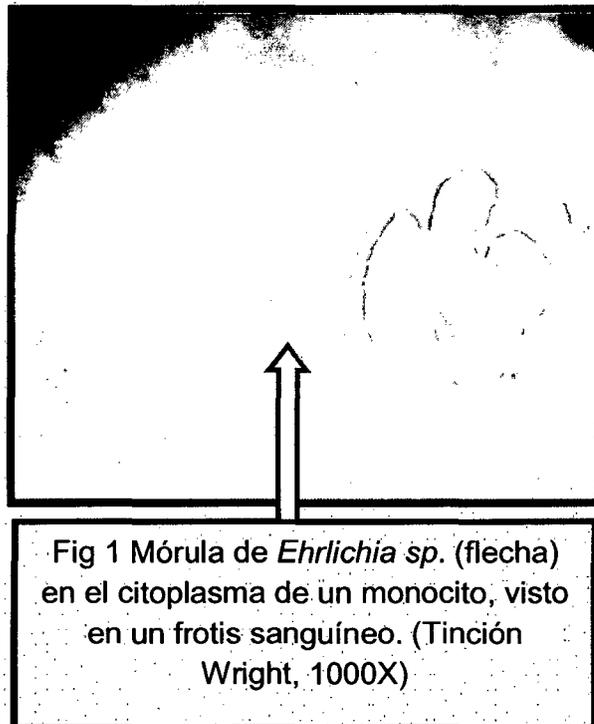




Fig 2 Mórula de *Ehrlichia sp.* (Flecha) en el citoplasma de un neutrófilo, visto en un frotis sanguíneo. (Tinción Wright, 1000X)

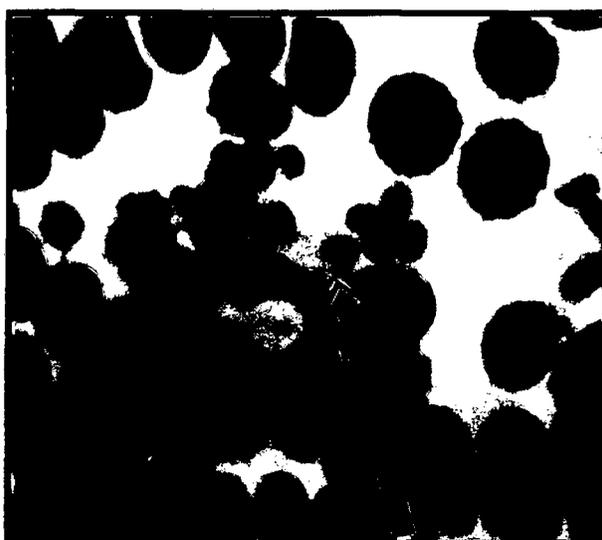


Fig 3 Mórula de *Ehrlichia sp.* (Flecha) en el citoplasma de una plaqueta, visto en un frotis sanguíneo. (Tinción Wright, 1000X)

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

Según la Tabla 4.1, que nos muestra la prevalencia de *Ehrlichia sp.* en caninos infestados con garrapatas, a nivel de los distritos de la provincia de Trujillo - La Libertad (Julio- diciembre) 2013. Podemos notar que se obtuvo en Trujillo 45% de prevalencia; en Laredo, 40%; en Huanchaco, 40%; en El Porvenir, 35%; y en Moche, 25%; por lo tanto se evidencia la presencia de *Ehrlichia sp.* en caninos infestados con garrapatas en los cinco distritos de Trujillo donde se realizó el estudio; siendo los distritos de Trujillo, Laredo y Huanchaco donde obtuvimos mayor cantidad de casos positivos. Estas diferencias porcentuales podrían deberse a que en las ciudades de Trujillo Laredo y Huanchaco, los caninos están expuestos a calles arenosas y parques muy frecuentados por perros, además, de acuerdo a la prueba de Chi cuadrado no se encontró significancia estadística entre distritos, lo cual se concluye que la bacteria se encuentra causando infección en caninos de cualquier distrito de Trujillo, con lo cual hemos identificado los focos infecciosos para población estimada de 202 826 caninos, que nos reporta la Dirección Regional Técnica de Salud Ambiental de Trujillo.

Según la Tabla 4.2, de un total de 100 muestras de sangre, de caninos infestados con *Rhipicephalus sanguineus*, procedentes de la provincia de Trujillo – La Libertad (Julio-Diciembre) 2013, evaluadas mediante el método frotis sanguíneo y coloreados con tinción Wright; existen 37 caninos con

infección por *Ehrlichia sp.*, siendo la Prevalencia encontrada de 0.37. Esta proporción representa la probabilidad de que de aproximadamente 3 caninos infestados con garrapatas, 1 es positivo a *Ehrlichia sp.*. De tal manera en el presente trabajo obtuvimos una Tasa de Prevalencia de 37%, la cual es mayor que la reportada por Paredes, quien trabajó en el distrito de Comas, provincia de Lima-Perú, considerando una población con características de anemia y utilizó como prueba de diagnóstico la coloración Wright, y teniendo como resultado un 8.1% de caso positivos a Ehrlichia y además reportó infección concomitante de *Ehrlichia sp.* y *Anaplasma spp.* en un 13.5%. Esto puede deberse a las diferentes condiciones climatológicas que existen entre Comas y Trujillo, este último de clima más cálido, por ubicarse en la costa norte del Perú, también podría deberse a que dicho estudio se realizó en 1993, cuando esta enfermedad aún se encontraba poco difundida.

En la Tabla 4.3, según el tipo de célula infectada y en base a la presencia de mórulas, empleando la técnica Frotis Sanguíneo de sangre periférica de caninos en Trujillo - La Libertad (Julio - Diciembre) 2013; se evidencia que la frecuencia de presentación para *Ehrlichia sp.* en un 65% es para neutrófilos, 16% para monocitos, 14% para monocitos con neutrófilos y 5 % para plaquetas. Con este estudio se evidencia una posible existencia de más de un tipo de especies de Ehrlichia, como lo mencionan Alleman y Couto en la clasificación de *Ehrlichia sp.* por el tipo de célula infectada; documento publicado en el año 2008. Así también se reporta infecciones concomitantes entre especies. De esta manera la presencia de mórulas en un tipo particular de leucocito es considerada una prueba confirmatoria para el diagnóstico de Ehrlichia, sin embargo no puede identificar de manera concluyente la especie que infecta, requiriendo pruebas moleculares, como método fiable, así lo demostraron Carrillo y colaboradores en el año 2000, quienes estandarizaron y validaron un formato de PCR para Ehrlichia en Colombia.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES

Ejecutado el presente trabajo de investigación, se llegó a las siguientes conclusiones:

- La prevalencia de *Ehrlichia sp.*, en caninos infestados con garrapatas (*Rhipicépalus sanguineus*), en los distritos de Trujillo fue: 45% en Trujillo; 40% en Laredo; 40% en Huanchaco; 35% en El Porvenir y 25% en Moche.
- Existe una prevalencia de *Ehrlichia sp.*, en caninos infestados con garrapatas (*Rhipicépalus sanguineus*), procedentes de la provincia de Trujillo, analizadas mediante Frotis Sanguíneo y coloreados con tinción Wright, es de 37 %.
- Se evidencia una frecuencia de presentación a mórulas de *Ehrlichia sp.* en el citoplasma de los leucocitos: 65% para neutrófilos, 16% para monocitos, 14% para monocitos con neutrófilos y 5% para plaquetas.

## CAPÍTULO VII

### BIBLIOGRAFÍA

- Alleman, A.; Barbet, A.; Bowie, M.; Sorenson, L.; Wong, S. y Bélanger, M. 2001.** Recombinant major antigenic protein 2 of *Ehrlichia canis*: a potential diagnostic tool. *Microbiology Journal of Clinical Microbiology*. 39 (7). 2497-2499.
- Alleman, R.; Couto G. 2008.** Enfermedades transmitidas por garrapatas. Universidad del estado de Ohio, Colegio de Medicina Veterinaria. Disponible en: <http://vet.osu.edu/greyhound-es/enfermedades-transmitidas-por-garrapatas>.
- Anaya, E.; Morón, C.; Jaramillo, K.; Mendoza, L.; Román, R. 2009.** Evidencia serológica de Ehrlichiosis humana en Ancash, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 26(1): 54-57.
- Arranga, C. 1998.** Ehrlichiosis canina en Maracaibo, estado Zulia Venezuela, reporte de 55 casos. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia- Venezuela. 52 p.
- Barrios, L. 2010.** Evidencia hematológica y serológica de *Ehrlichia spp.* en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de Ehrlichiosis en Lima Metropolitana. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional San Marcos-Perú. 136 p.

- Bélangier, M; Sorenson, H; Francia M; Bowie, M; Barbet A; Breitschwerdt E. y Alleman A. 2002.** Comparación de los métodos de detección serológicas para el diagnóstico de infecciones por *Ehrlichia canis* en perros La Florida-EUA. *Microbiology Journal of Clinical Microbiology*. 4.40(9):3506-3508.
- Blood, D. y Studdert, V.1993.** Diccionario de Veterinaria. Primera Edición. Editorial McGraw-Hill-Interamericana de España.
- Borchert, A.1964.** Parasitología Veterinaria. Primera edición. Editorial Acribia de España. 746p.
- Brooks, G.; Butel, J.; Nicholas, L.; Jawetz, E.; Melnick y Aldelberg, A. 2000.** Microbiología Médica. Quinceava Edición. Editorial El Manual Moderno de México. 773p.
- Brooks, G.; Carrol, K.; Butel, J.; Morse, S. y Mietzner, T. 2010.** Microbiología Médica. Veinticincoava Edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 773p.
- Carrillo M.; Betancur S.; Roldán, D.; Pérez y Echevarria E., K. 2000.** Estandarización y validación de un PCR para *Ehrlichia spp.*. *Revista de la Universidad de Antioquia – Colombia*. 75: 65-87.
- Cercenado, E. y Cantón R. 2007.** Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España. 1522 p.
- Cowel L.; Tyler R.; Meinkoth, J. y De Nicola, D.2009.** Diagnóstico Citológico y hematológico del perro y gato. Tercera Edición. Editorial Elsevier-Mosby. 474p.

- Couto, G.; Nelson, R.; Baruch, S.; Grauer, G.; Hawkins, E.; Johnson, CH.; Lappin, M.; Taylor, S.; Ware, W. y Willard, M. 2008.** Medicina interna de animales pequeños. Segunda Edición. Editorial Intermedica. Argentina. 1368p.
- Cordero, M. Rojo, F. 1999.** Parasitología Veterinaria. Primera edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. p.134- 429.
- Dumler, JS; Chen, SM; Bakken, JS; Walker, D 1993.** Identification of a Granulocytotropic Ehrlichia Species as the Etiologic Agent of Human Disease. Journal of Clinical Microbiology. 5: 95 (1) 586-595.
- Ferreira, G. 2003.** Patología Veterinaria. Primera Edición. Universidad de Antioquia-Colombia. p. 439-440.
- Granados, R. y Villaverde, C.1996.** Microbiología. Editorial Paraninfo. 194p.
- Gutierrez, N.; Martínez, M.; Arraga, C.; Bretana, A.; Pacheco, I. y Comach, G. 1999.** Identificación ultraestructural de *Ehrlichia sp* en un perro de Venezuela infectado experimentalmente. Centro de Investigaciones Biomédicas Revista Investigación Clínica- Venezuela 40(3):147-170.
- Gutierrez, Cl.; Martínez, M. y Triana, F. 2006.** Biología Molecular Revista Salus Online. Arangua-Venezuela. 12(1): 197-200.
- Gutierrez, VM, 2008.** Estudio comparativo entre el método de coloración Wright y prueba de Elisa para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina en la ciudad de San Pedro Sula, Honduras. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad San Pedro de Guatemala. 65p.
- Harkess, J.; Ewing, S.; Brumit, T. y Metty L. 1991.** Erlichiosis in Children. The Western Journal of Medicine. 152(2):183-203.

- Horna, V, 2014.** Frecuencia de Ehrlichiosis Humana en la Provincia de Trujillo-Perú durante los meses de Agosto a Noviembre 2013. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. 51p.
- Jawetz, E.; Melnick, A. y Aldelberg, A., 1996.** Microbiología Médica. Veinteava Edición. Editorial El Manual Moderno de México. 807 p.
- Jawetz, E.; Melnick, A. y Aldelberg, A., 2000.** Microbiología Médica. Vigésima novena Edición. Editoria El Manual Moderno. México.1848 p.
- Johnson, EM; Ewing, SA; Barker, RW; Fox, JC; Crow, DW; Kocan, KM; 1998.** Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol.* 1998 Jan 31;74(2-4):277-88 Disponible; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9561712>
- Kobayashi G.; Taylor L.; Dei-Cas E., 2005.** Immunology and Medical Microbiology Federation of European Microbiological Societies1995. 11(2):81–156. Disponible en: [www.Browser/wwwtax.cgi?mode](http://www.Browser/wwwtax.cgi?mode).
- Koneman, E.; Winn W.; Allen S.; Janda W.; Procop G.; Schreckenberger P.; Woods G., 2008.** Diagnostico Microbiológico, Texto y Atlas de Color. Sexta Edición. Editorial Panamericana de España. 1475p.
- Knowles, T.; Allegan, A.; Sorenson, H.; Marciano, D, Breitschwerdt, F.; Aarhus, S.; Barbet, A. y Bélanger, M., 2003.** Characterization the Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia chaffeensis* and il Application for Serodiagnosis of Ehrlichiosis, *Journals Diagnostic Laboratory Inmunology.* p. 520-524.
- Maddison, J.; Page S.; Church D. 2004.** Farmacología Clínica en pequeños animales. Editorial Interamericana. República Argentina. 494 p.

**Manual Merck Veterinaria, 2011.** Sexta Edición. Océano. 2092 p

**Marshall, G.; Jacobs, R.; Gordon, S.; Shutza, E.; Pacton, H.; Bashingan, C.; Devicenzo, P.; Jackson, M.; Standert, S. y Woods Ch. 2012.** *Ehrlichia Chaffensis* Seroprevalence among children in the Shoutheast and South-central regions of the United States, Archives pediatric adolescent. 156(1):166-170

**Melendez, R. 2006.** Estudio de los métodos de Elisa y hemograma en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina en Trujillo. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinaria. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. 83p.

**Méndez, L. 2004.** Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la Ehrlichiosis canina: evolución tras la administración de dipropionato delmidocarb. Tesis. Facultad de Veterinaria Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad Complutense de Madrid- España.307p.

**Mil, M. 2005.** Frecuencia y alteraciones hematológicas identificadas en animales afectados con Ehrlichiosis y Babesiosis canina. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Veracruz. Mexico.28p.

**Moro, L.; Shah, J.; Li, O.; Gilman, R.; Harris, N. y Moro, M. 2009.** Short Report, Serologic Evidence of Human Ehrlichiosis in Peru. The Américan Society of Tropical Medicine and Hygiene. 80(4):244.

**Mosby, 2014** "Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears". 2da Edición. Editorial Mosby. p. 215-233.

**Murray, P.; Rosenthal, S.; Kobayashi, S. y Pfaller, A. 2005.** Microbiología Médica. Cuarta Edición. Editorial Elsevier de España. 876 p.

- Murray, P.; Rosenthal, S.; Kobayashi, S. y Pfaller, A. 2007.** Microbiología Médica. quinta Edición. Editorial Elsevier. España. 976 p.
- Paddock, C, y Childs J. 2003.** *Ehrlichia chaffeensis*: a Prototypical Emerging Pathogen. Revista Clinica de Microbiología, 16(1): 37-64.
- Paredes, J.1993.** Hemoparásitos encontrados en caninos infestados con garrapatas en Comas – Lima. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. 45p.
- Paredes, J. 2014.** Frecuencia de Ehrlichiosis en humanos afectados por *Rhipicephalus sanguineus* “garrapatas” en la ciudad de Trujillo, Perú; marzo a noviembre 2010. Tesis. Escuela de postgrado de la Universidad Nacional de Trujillo, Microbiología Clínica. Perú. 58p.
- Paskewitz, S. 2013.** Wisconsin Ticks and Tick-borne Diseases. Departament of Entomology University of Wisconsin – Madison. Disponible en: <http://labs.russell.wisc.edu/wisconsin-ticks/rhipicephalus-sanguineus/>.
- Peczar, M.; Reid, R. y Chan, S.1990.** Microbiología. Cuarta Edición. Editorial Mc Graw-Hill. España. 826 p.
- Poubel, I 2012.** Circulação de *Ehrlichia canis* (donatien e lestoquard, 1935) em cães (*canis familiaris*, linnaeus, 1758) no município de Bomjesus do Itabapoana no estado do Rio de Janeiro. Tesis posgrado Universidad Federal Fluminense, Niterói- Brasil. 76 p.
- Quinn, P.; Markey, B. y Maguire, D., 2008.** Elementos de Microbiología Veterinaria. Editorial Acribia . Zaragoza-España.648 p.
- Rikihisa Y.1991.** The Tribe Ehrlichieae and Ehrlichial Diseases Department of Veterinary Pathobiology .American Society for Microbiology. p. 304.

- Robles D. 2008.** Diagnóstico de Ehrlichiosis canina basado en los hallazgos clínico – hematológicos de los caninos atendidos en el Centro Veterinario San Martín de la ciudad de Trujillo durante marzo 2006 a marzo 2007. Tesis. Escuela de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Lambayeque-Perú. 61 p.
- Rosenthal, S. y Pualler, A. 2007.** Microbiología Médica. Octava Edición. Editorial Elsevier. España. 780 p.
- Roura, X. 2006.** Actualización de las enfermedades infecciosas caninas transmitidas por garrapatas. Cuarentavo AVEPA. España.
- Romero, B.; Padilla, A. y Alvarado, E., 2011.** Cambios hematológicos en pacientes positivos a Ehrlichiosis Canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán, XXII Encuentro de investigación Veterinaria y Producción Animal. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. 140p.
- Schaer, M.; Brooks, D.; Burrows, C.; Ford, R.; Fox, R.; Herrtage, M.; Jones, B.; Lewis, D.; Raskin, R.; Senior, D. y Thomas, P. 2006.** Medicina clínica del perro y el gato. Editorial Elsevier. p. 85-86.
- Sykes, J.E., 2014.** Canine and Feline Infectious Diseases. Editorial Elsevier. p.278
- Tami, I. 2003.** Ehrlichiosis Humana: Ehrlichia trombocítica en sangre periférica. Revista Sociedad Venezolana de Microbiología. Venezuela Public Health. 16(5).
- Thrusfield, M. 1991.** Epidemiología Veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza-España. p.191-200.

- Thomas, N., Thirumalapura, E., Crossley, N., Ismail Y Walker , D. 2009.** Antigenic protein modifications in *Ehrlichia*. Department of Pathology, Center for Biodefense and Emerging Infectious Diseases, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas. 31:296-303
- Vadillo, S., Píriz, S. y Mateos E. 2002.** Manual de Microbiología Veterinaria. Editorial Mc GRAW-HILL. 853p
- Walker, D.; McBride J.; Yu X.; Feng H. 2004.** Ehrlichia Chaffeensis: a Prevalent, Life-Threatening, Emerging Pathogen. Transactions of the american clinical and climatological association.115(1) : p.388
- Waner, T y Harrus, S. 2000.** Ehrlichiosis canina. Revista International Veterinary Information Service. University of Jerusalem-Israel. Disponible en: <http://acppav.mforos.com/1652255/8286659-ehrlichiosis-monocitica-canina>.
- Yabsley, M.: Adams D.: O'Connor, T.; Chandrashekar, R.; Little, S. 2011.** Experimental primary and secondary infections of domestic dogs with Ehrlichia ewingii. Journal Veterinary Microbiology. Editorial Elsevier. 315–321:150.

## ANEXOS

### Anexo 1. Encuesta:

**“UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA”  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA  
“PREVALENCIA DE Ehrlichia sp., EN CANINOS INFESTADOS  
CON GARRAPATAS (Rhipicephalus sanguineus), MEDIANTE  
FROTIS SANGUÍNEO EN LA PROVINCIA DE TRUJILLO”**

Fecha:.....

- **DATOS DE LOS ANIMALES**

NOMBRE ..... RAZA.....

EDAD APROXIMADA ( ) Sexo ( )

- **DATOS DEL PROPIETARIO**

NOMBRES Y APELLIDOS:.....

DOMICILIO:..... Teléfono:.....

PROVINCIA: Trujillo DISTRITO:.....

- **EXPLORACIÓN FÍSICA**

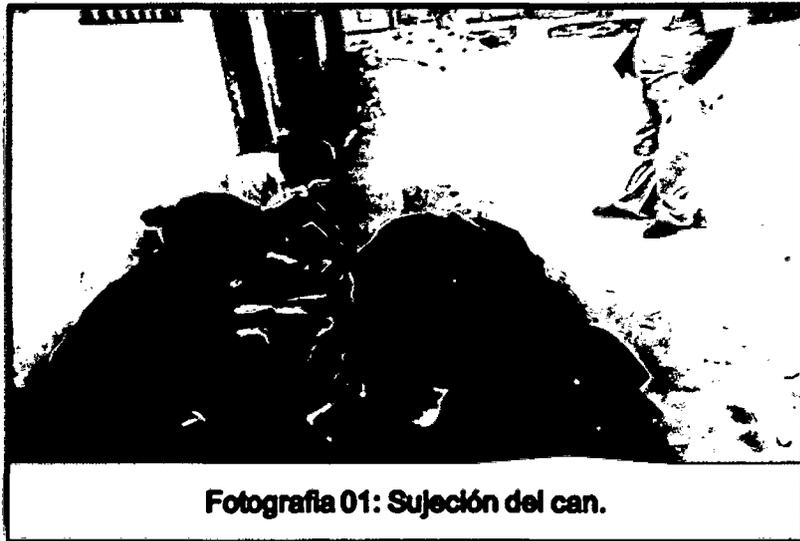
Observación del can

- **LUGAR DONDE DESCANSAN O DUERMEN**

Patio ( ) Azotea ( )

Calle ( ) Especificar.....

**Anexo 02: Toma de muestras de sangre en caninos infestados con garrapatas, de la provincia de Trujillo – La Libertad (Julio - Diciembre) 2013.**





**Fotografía 03: Punción en la zona ya elegida.**

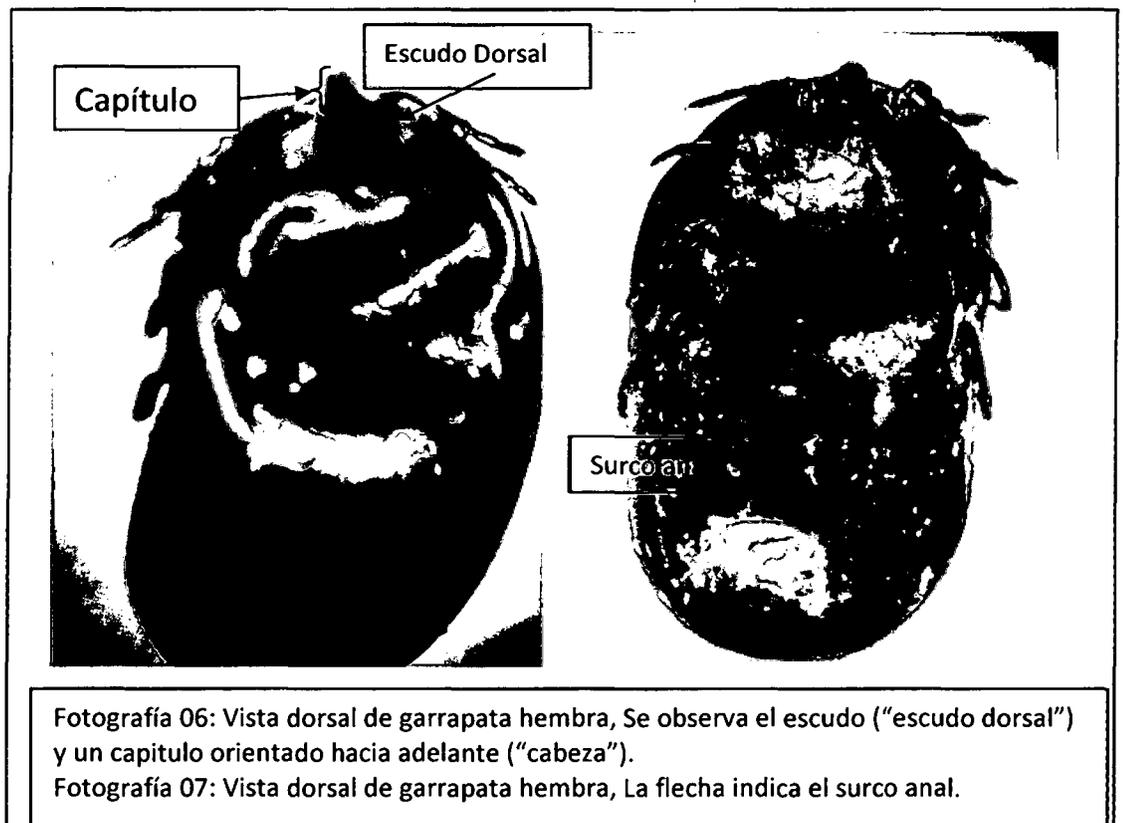


**Fotografía 04: Toma de una gota de sangre en una lámina portaobjetos para realizar el frotis.**

**Anexo 03: Identificación de *Rhipicephalus sanguineus*.**

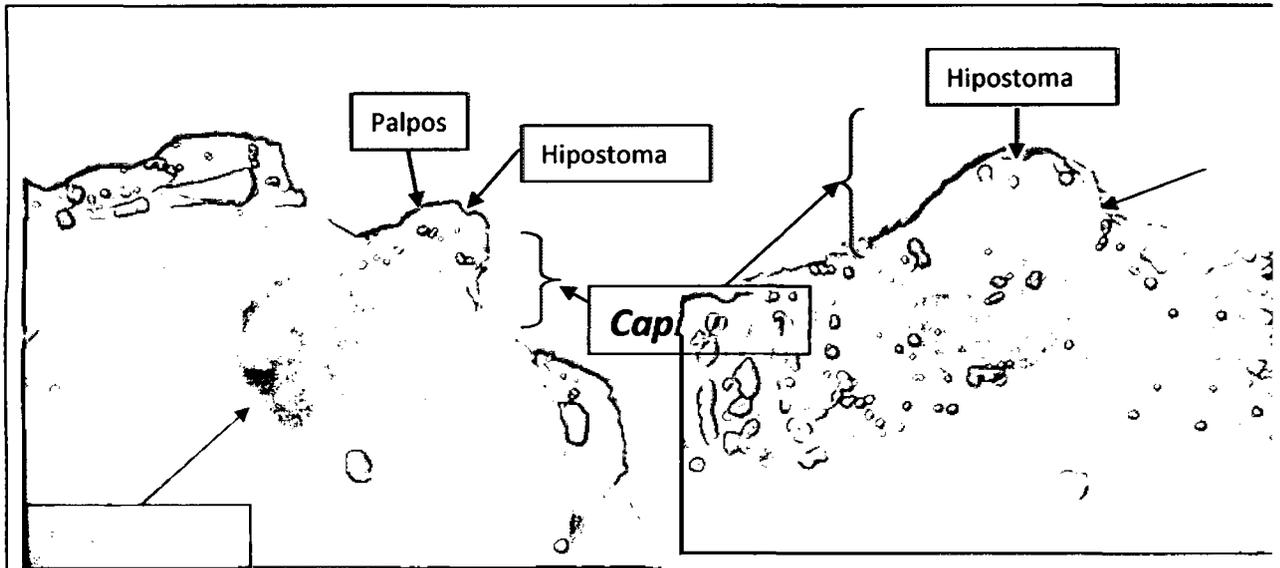


Fotografía 05: Observación de garrapatas en el Estéreo microscopio para iniciar la identificación.

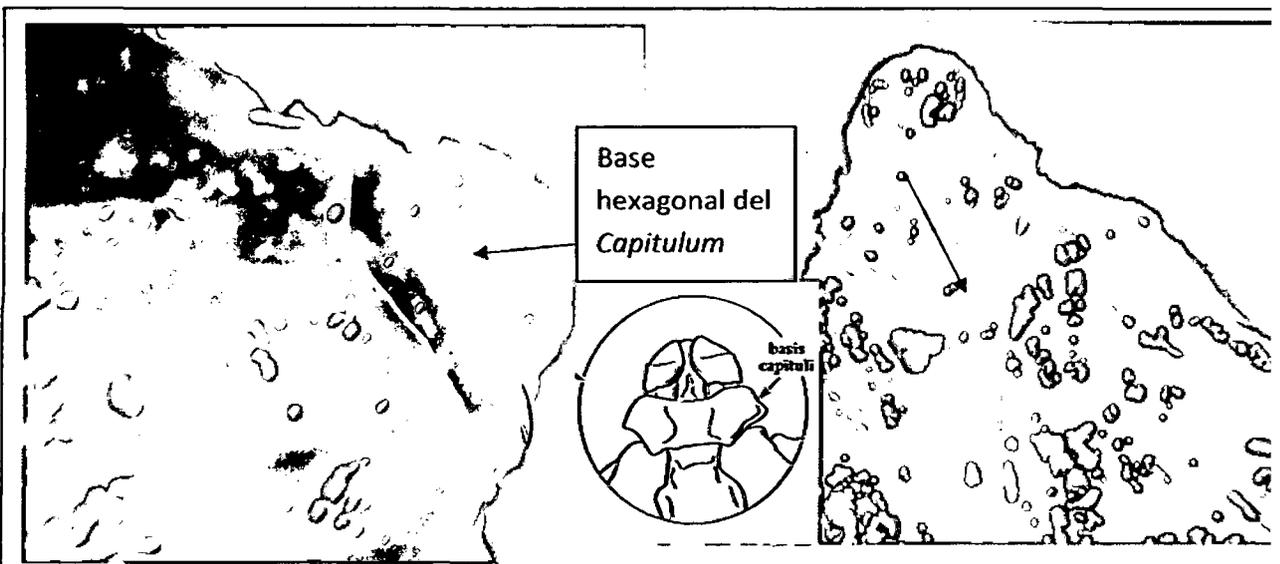


Fotografía 06: Vista dorsal de garrapata hembra, Se observa el escudo ("escudo dorsal") y un capítulo orientado hacia adelante ("cabeza").

Fotografía 07: Vista dorsal de garrapata hembra, La flecha indica el surco anal.



Fotografía 08: Vista dorsal de garrapata macho, indicando la presencia del escudo dorsal, *capitulum*, palpos e hipostoma  
 Fotografía 09: Vista ventral de garrapata macho, donde se observa el hipostoma y el *capitulum*.



Fotografía 10: Vista dorsal de garrapata macho donde se observa claramente la base hexagonal del *Capitulum*.  
 Fotografía 11: Vista ventral de garrapata macho.



Fotografía 12: Vista dorsal de dos garrapatas machos, presentaron festones en el borde posterior del cuerpo.



Fotografía 13: Vista ventral de garrapata macho, donde se observa el surco anal definido como "media luna".

## Anexo 04: Resultados obtenidos en el trabajo, por distrito.

## RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DISTRITO DE TRUJILLO.

Distrito	#	COD.	Sexo		Nombre	Dirección	Raza	Edad	Lugar de descanso	CASOS		Casos Positivos	Hembras	Machos	
			F	M						Positivos	Negativos				
TRUJILLO	61	TVBL	1	1	Luna	pri San Ignacio N 20	Criollo	4 años	Casa		1	9	5	4	
	62	T	2	1	Peluza	Agusto B Leguia 437	Criollo	2 años	Calle	1					
	63	T	3		1	Burro	Calle Trujillo 544	Shihtzu	8 años	Calle	1				
	64	T	4		1	Manchas	Calle Trujillo 547	Criollo	2 años	Patio	1				
	65	T	5	1		Achira	Calle Trujillo 530	Shihtzu	5 años	Patio					1
	66	T	6	1		Koka	Calle Trujillo 540	Shihtzu	4 años	Patio	1				
	67	T	7		1	Peluchin	Agusto B Leguia 436	Criollo	6 años	Calle					1
	68	T	8		1	pulgarcito	Calle Trujillo 542	Shihtzu	11 años	Calle					1
	69	T	8	1		Luna	Calle Trujillo 546	Shihtzu	2 años	Patio					1
	70	T	#		1	Fido	Calle Trujillo 579	Criollo	10 años	Calle	1				
	71	T	11	1		Loli	Calle Trujillo 566	Criollo	5 años	Casa	1				
	72	T	#	1		Negra	Calle Trujillo 568	Criollo	3 años	Patio	1				
	73	T	#		1	Scot	los Eucaliptos B Lt 1	Criollo	1 año	Calle					1
	74	T	#	1		Bubis	los Eucaliptos B Lt 9	Criollo	2 años	Calle					1
	75	T	15	1		Candy	los Eucaliptos C Lt 1	Criollo	3 años	Calle					1
	76	T	#		1	Toby	los Eucaliptos C Lt 4	Criollo	3 años	Casa	1				
	77	T	17	1		Tedy	los Eucaliptos C Lt 8	Criollo	4 años	Casa	1				
	78	T	#		1	Oddy	La Marina 382	Criollo	2 años	Patio					1
	79	T	#	1		Petiza	Independencia	Criollo	2 años	Patio					1
	80	T	#		1	Messi	Psj San Mateo Mz 11 Lt 21	Criollo	1.7 años	Calle					1

**RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DISTRITO DE LAREDO.**

Distrito	#	COD.	Sexo		Nombre	Dirección	Raza	Edad	Lugar de descanso	CASOS		Casos Positivos	Hembras	Machos
			F	M						Positivos	Negativos			
			Mascota											
<b>LAREDO</b>	41	L 1		1	Arnold	Amapolas Mz F lt 7	Pitbull	años	Patio		1	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>6</b>
	42	L 2		1	Caralampio	Amapolas Mz F lt 7	Schnauzer	3 años	Calle	1				
	43	L 3	1		Luna	JulianGarce	Pequinés	6 años	Calle	1				
	44	L 4		1	Bebe	28 de julio	Coocker	7 años	Calle	1				
	45	L 5	1		Noa	Miguel Moreno 100	Criollo	3 años	Calle		1			
	46	L 6		1	Chiquitin	Miguel Moreno 116	Shihtzu	2 años	Calle		1			
	47	L 7		1	Peluchin	Miguel Moreno 116	Pequines	2 años	Calle		1			
	48	L 8		1	Fido	Miguel MorenoSN	Criollo	1.5 años	Calle		1			
	49	L 9		1	Brando	Segundo carbanelMzNLt 15	Coocker	3 años	Calle	1				
	50	L #	1		Estrella	Segundo carbonel MN L15	Pequines	1.5 años	Calle		1			
	51	L 11		1	Acuña	San Mateo Mz3Lt 21	Criollo	2 años	Calle		1			
	52	L #		1	Cabezón	30 de noviembre	Criollo	1 año	Calle	1				
	53	L #		1	Rambo	30 de noviembre	Criollo	2 años	Calle		1			
	54	L #		1	Mailo	30 de noviembre	Criollo	2 años	Calle		1			
	55	L #		1	Fido	31 de noviembre M16 L14	Criollo	1.5 años	Calle		1			
	56	L #		1	Pichirilo	32 de noviembre M 16 L14	ChowChow	2 años	Calle		1			
	57	L #		1	Gaitas	33 de noviembre M16 L14	Criollo	3 años	Calle	1				
	58	L #	1		Reyna	34 de noviembre M16 L10	Criollo	2 años	Calle	1				
	59	L #		1	Sarnacul	Prl Santa Catalina N 14	Criollo	4 años	Calle		1			
	60	L #		1	Rober	prl San IgnacioN 15	Pequines	4 años	Calle	1				

**RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DISTRITO DE HUANCHACO.**

DISTRITOS	#	Sexo		Nombre	Mascota	Dirección	Raza	Edad	Lugar de descanso	CASOS		Positivos por distrito	Hembras	Machos	
		F	M							Positivos	Negativos				
HUANCHACO	1	H	1		1	Dipilo	Av El Aeropuerto 160	Pitbull	1 año	Patio	1		8	3	5
	2	H	2	1		Chimueta	Av El Aeropuerto 161	Criollo	3 años	Patio		1			
	3	H	3		1	Peluchin	HuanchaquitoMz 10Lt 1	Shihtzu	6 años	Calle	1				
	4	H	4		1	Donald	HuanchaquitoMz 10Lt 6	Criollo	6 años	Calle		1			
	5	H	5		1	Locky	HuanchaquitoMz 10Lt 6	Cocker	3 años	Patio	1				
	6	H	6		1	Callejero	Huanchaquito	Criollo	6 años	Calle		1			
	7	H	7	1		Pipa	HuanchaquitoMz F Lt 8	Criollo	2 años	Patio		1			
	8	H	8		1	Layo	HuanchaquitoMz 12 Lt 4	Criollo	7 años	Calle		1			
	9	H	9		1	Doky	HuanchaquitoMz 38 Lt 7	Criollo	5 años	Calle	1				
	10	H	#	1		Osa	HuanchaquitoMz 38 Lt 7	Criollo	3 años	Casa	1				
	11	H	11		1	Lucky	HuanchaquitoMz 38 Lt 8	Criollo	4 años	Calle		1			
	12	H	#	1		Tonta	HuanchaquitoMz 39 Lt 9	Criollo	8 años	Calle		1			
	13	H	#		1	Tobi	HuanchaquitoMz 39 Lt 14	Criollo	2 años	Patio		1			
	14	H	#	1		Tina	San Mateo Mz 10 Lt 14	Cooker	1 año	Patio	1				
	15	H	15		1	Tobi	San Mateo Mz 15 Lt 16	Criollo	10 años	Calle		1			
	16	H	#	1		Canela	San Mateo Mz 9 Lt 2	Criollo	5 años	Calle	1				
	17	H	17		1	Orejon	San Mateo Mz 16 Lt 1	Cooker	1 año	casa	1				
	18	H	#		1	Oso	Huanchaco	Criollo	1 año	casa		1			
	19	H	#		1	Pelucho	Huanchaco	Pequines	4.5 años	casa		1			
	20	H	#		1	Kino	Huanchaco	Criollo	2 años	casa		1			

**RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DISTRITO DE EL PORVENIR.**

DISTRITOS	#	COD.		Sexo		Nombre	Mascota	Dirección	Raza	Edad	Lugar de descanso	CASOS		Casos Positivos	Hembras	Machos
				F	M							Positivos	Negativos			
EL PORVENIR	21	P	1	1		Keisi	Manco Inca	Weimeraner	11 meses	casa	1		7	4	3	
	22	P	2	1		Perla	Manco Inca	Shihtzu	1 año	casa		1				
	23	P	3	1		Pupis	Manco Inca 962	Criollo	4 años	Calle	1					
	24	P	4	1		Blanca	Manco Inca 982	Criollo	12 años	Calle	1					
	25	P	5	1		Blanca	San AgustinMz 6 Lt 22	Pequines	3 años	Azotea		1				
	26	P	6	1		Chispa	San AgustinMz 5 Lt 21	Pequines	3 años	Calle	1					
	27	P	7		1	Bethoven	SAN Martin 717	Criollo	2 años	Calle		1				
	28	P	8	1		Lazi	San Martin 724	Criollo	8meses	Calle		1				
	29	P	9		1	Scot	Santa Isabel	Criollo	1.5 años	Patio		1				
	30	P	#		1	Maycol	Santa Isabel 341	Criollo	2 años	Calle	1					
	31	P	11	1		Chiquita	Psj los olivos 248	Criollo	2 años	patio		1				
	32	P	#		1	Negro	Santa Isabel 260	Criollo	1 año	Calle	1					
	33	P	#		1	Chato	Los Incas 519	Criollo	4 años	Calle	1					
	34	P	#		1	Peluche	Psj los olivos 248	Criollo	1 año	Calle		1				
	35	P	15		1	Beethoveen	Sta Isabel272	Criollo	1 año	Calle		1				
	36	P	#		1	Beethoveen	Jr. Juan Carbajal	Criollo	2 años	Calle		1				
	37	P	17		1	maytaison	FcodeZela 1780	Shihtzu	8 años	Calle		1				
	38	P	#		1	Rico	Fco de Zela 1781	Criollo	4 años	Calle		1				
	39	P	#		1	Max	FcodeZela 1691	Fila	1.5 años	Calle		1				
	40	P	#	1		Nala	FcodeZela 1691	Fila	5 años	Calle		1				

**RESULTADOS OBTENIDOS EN EL DISTRITO DE MOCHE.**

Distrito	#	COD.	Sexo		Nombre	Mascota	Dirección	Raza	Edad	Lugar de descanso	CASOS		Casos Positivos	Hembras	Machos
			F	M							Positivos	Negativos			
MOCHE	81	M	1	1	Negra	Independencia 282	Criollo	2 años	Patio		1	5	2	3	
	82	M	2		Jasper	Independencia 282	Criollo	3 años	Patio	1					
	83	M	3		Culto	Independencia 282	Criollo	4 años	Patio		1				
	84	M	4		Sheko	Independencia 282	Criollo	3 años	Patio	1					
	85	M	5		Simbad	Av Moche s/n	Criollo	3 años	Patio	1					
	86	M	6	1	Gatubela	Av Moche s/n	Criollo	3 años	Patio		1				
	87	M	7	1	Negrita	Av Moche s/n	Criollo	4 años	Patio		1				
	88	M	8	1	Zarquita	Av Moche s/n	Criollo	1 año	Patio		1				
	89	M	9	1	Layla	Av Moche s/n	Criollo	8 meses	Patio	1					
	90	M	#	1	Nela	Psj San Martín 272 El Paraíso	Criollo	1 año	Calle		1				
	91	M	11		Negro	Psj San Martín Lt 3 El Paraíso	Criollo	2 años	Calle		1				
	92	M	#	1	Loli	Av Libertad 3941	ShihTzu	10 años	Calle		1				
	93	M	#	1	Paquita	Av Libertad 3948	Criollo	7 años	Calle		1				
	94	M	#	1	Negra	Av La Marina MzA Lt12	Criollo	1 año	Patio	1					
	95	M	15		Oso	Av La Marina MzA Lt13	Criollo	4 meses	Patio		1				
	96	M	#		Zeus	Av La Marina MzA Lt14	Chowchow	10 años	Patio		1				
	97	M	17		Brandown	Av independencia 687	ShetterIrlandez	3 años	Patio		1				
	98	M	#		Bianca	Independencia 292	Criollo	6 años	Patio		1				
	99	M	#		Toby	Independencia 282	Criollo	2 años	Patio		1				
	100	M	#		Pablo	Independencia 282	Criollo	3 años	Patio		1				

**Anexo 05: Prueba de Chi cuadrado por distritos de la provincia de Trujillo, utilizando la prueba de Chi-Square.**

	<b>Value</b>	<b>df</b>	<b>Asymp. Sig. (2-sided)</b>
<b>Pearson Chi-Square</b>	1,973 <sup>a</sup>	4	0,741
<b>Like lihood Ratio</b>	2,033	4	0,730
<b>N of Valid Cases</b>	100		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7.40.