

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



***Ehrlichia canis* en perros atendidos en la
Clínica Veterinaria Orejitas Vet,
Chimbote – Perú**

T E S I S

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

Presentada por

Melany Katerine Ariana Garrido Espada

Asesor

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares

CAJAMARCA – PERÚ

2023

COPYRIGHT © 2023 por
MELANY KATERINE ARIANA GARRIDO ESPADA
Todos los derechos reservados



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Av. Atahualpa 1050 -Ciudad Universitaria Ed



CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

EL QUE SUSCRIBE DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA.

CERTIFICA:

Que, la Tesis Titulada "*Ehrlichia canis* EN PERROS ATENDIDOS EN LA CLÍNICA VETERINARIA DREJITAS VET, CHIMBOTE - PERÚ", corresponde a la Autoría de la Bachiller en Medicina Veterinaria : **MELANY KATERINE ARIANA GARRIDO ESPADA**, en base al reporte de originalidad bajo el código D165188656, arrojando el 14% de coincidencias; presentado por el Asesor **Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares**, al amparo del numeral 9, inciso 904 de la directiva N° 01-2020-VRI-UNC. "Uso de Software Antiplagio de la UNC", aprobado con Resolución de Consejo Universitario N° 0937-2020-UNC, de fecha 25 de junio del 2020

Se expide la presente, a solicitud escrita de la interesada y para los fines que considere conveniente.

Cajamarca, mayo 25 del 2023

Atentamente,



Universidad Nacional de Cajamarca
Facultad de Ciencias Veterinarias

Dr. Wilder Quispe Urteaga
Director de la Unidad de Investigación



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
UNIVERSIDAD LICENCIADA
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 y treinta minutos del día veintidós de mayo del dos mil veintitrés, 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: “**Ehrlichia canis EN PERROS ATENDIDOS EN LA CLÍNICA VETERINARIA OREJITAS VET, CHIMBOTE - PERÚ**” asesorada por el docente **Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares** y presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **MELANY KATERINE ARIANA GARRIDO ESPADA**.

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 **DIECISIETE (17)**.

Siendo las doce horas y veinte minutos del mismo día, el presidente del jurado calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. ABEL MELCHOR GARCÍA BAZÁN
PRESIDENTE


Dr. JUAN DE DIOS ROJAS MONCADA
SECRETARIO


Dra. CECILIA ELIZABETH PAJARES ACOSTA
VOCAL


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
ASESOR

Dedicatoria

A mis padres, Franklin Alberto Garrido Escalante y Marieli Espada Arce; por el apoyo, comprensión y su amor incondicional.

A mis hermanos, por su apoyo y cariño.

Melany Katerine Ariana Garrido Espada

Agradecimiento

A Dios, por darme la vida y señalarme el camino correcto para alcanzar mis metas.

A la Universidad Nacional de Cajamarca, mi Alma Mater, lugar donde tuve la oportunidad de realizar mi carrera profesional.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias, por sus acertadas enseñanzas.

Al Doctor Teófilo Severino Torrel Pajares, por el asesoramiento en la ejecución de la presente tesis.

Melany Katerine Ariana Garrido Espada

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria _____	<i>i</i>
Agradecimiento _____	<i>ii</i>
INTRODUCCIÓN _____	1
CAPÍTULO I _____	4
MARCO TEÓRICO _____	4
1.1 Antecedentes de la investigación _____	4
1.1.1 Internacionales _____	4
1.1.2 Nacionales _____	9
1.1.3 Regional _____	11
1.2 Bases teóricas _____	12
1.2.1 Generalidades de Ehrlichiosis Canina Monocítica _____	12
1.2.2 Clasificación taxonómica _____	13
1.2.3 Ciclo de vida y morfología _____	14
1.2.4 Epidemiología _____	15
1.2.5 Ciclo de transmisión _____	16
1.2.6 Patogenicidad _____	17
1.2.7 Trastorno plaquetario _____	18
1.2.8 Respuesta inmune _____	20
1.2.9 Persistencia de la infección _____	23
1.2.10 Manifestaciones de la enfermedad _____	24
1.2.11 Diagnóstico _____	25
1.2.12 Tratamiento _____	28
1.2.13 Medidas preventivas _____	29
1.3 Definición de términos básicos _____	30
CAPÍTULO II _____	32
MARCO METODOLÓGICO _____	32
2.1 Ubicación geográfica _____	32
2.2 Diseño de la investigación _____	33

2.3 Métodos de investigación	33
2.4 Población, muestra y unidad de análisis	34
2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de información	34
2.6 Técnicas para el procesamiento y análisis de la información	35
2.7 Equipos, materiales e insumos	35
CAPÍTULO III	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
CAPÍTULO IV	39
CONCLUSIONES	39
CAPÍTULO V	40
SUGERENCIAS	40
REFERENCIAS	41
ANEXOS	52
1. Protocolo de bioseguridad en el desarrollo de la investigación.	52
2. Ficha de consentimiento informado	55
3. Ficha clínica	56
4. Anigen Rapid E. canis Ab Test Kit	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2: Frecuencia de *E. canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet. _____36

Tabla 3: Frecuencia de los casos hallados en perros de 0 a 12 meses de edad____37

Tabla 4: frecuencia de los casos hallados en perros mayores a 12 meses de edad__37

RESUMEN

La *Ehrlichia canis* es una bacteria Gram negativa intracelular distribuida a nivel mundial que afecta a los caninos desarrollando signos clínicos inespecíficos. En Perú se ha reportado desde 1982, pero, no se presta especial atención en cuanto a su epidemiología, a pesar de ser zoonótica. En este contexto, la presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de determinar la frecuencia de *Ehrlichia canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, Chimbote – Perú, durante los meses de noviembre 2022 a febrero 2023. Se trabajó con 100 perros, los cuales fueron divididos en dos grupos con igual número de individuo: Grupo A ($n = 50$), perros menores a 12 meses de edad y Grupo B ($n = 50$), perros mayores de 12 meses de edad. Se extrajo sangre por venopunción de la vena cefálica y se analizaron mediante inmunoensayo cromatográfico usando el kit de prueba Anigen Rapid *E. canis* Ab. Se obtuvo una frecuencia del 50% ($50/100$) \pm 9,8 entre ambos grupos, por grupos, en el Grupo A 40% ($20/50$) \pm 13,5 y el Grupo B 60% ($30/50$) \pm 13,5, según la edad. Se concluye que, la frecuencia de *Ehrlichia canis* fue mayor en perros mayores a 12 meses de edad (60% \pm 13,5), en comparación a perros menores a los 12 meses de edad (40% \pm 13,5).

Palabras clave: Canes domésticos, Ehrlichiosis canina, frecuencia, Orejitas Vet.

ABSTRACT

Ehrlichia canis is an intracellular Gram-negative bacterium distributed worldwide that affects canines developing nonspecific clinical signs. In Peru it has been reported since 1982, but no special attention is paid to its epidemiology, despite being zoonotic. In this context, the present investigation was carried out with the objective of determining the frequency of *Ehrlichia canis* in dogs treated at the Clínica Veterinaria Orejitas Vet, Chimbote - Peru, during the months of November 2022 to February 2023. We worked with 100 dogs, which were divided into two groups with the same number of individuals: Group A ($n = 50$), dogs under 12 months of age and Group B ($n = 50$), dogs over 12 months of age. Blood was drawn by venipuncture from the cephalic vein and analyzed by chromatographic immunoassay using the Anigen Rapid *E. canis* Ab test kit. A frequency of 50% ($50/100$) \pm 9.8 was obtained between both groups, by groups, in Group A 40% ($20/50$) \pm 13.5 and Group B 60% ($30/50$) \pm 13.5, according to age. It is concluded that the frequency of *Ehrlichia canis* was higher in dogs older than 12 months of age (60% \pm 13.5), compared to dogs younger than 12 months of age (40% \pm 13.5).

Keywords: Domestic dogs, canine Ehrlichiosis, frequency, Ears Vet.

INTRODUCCIÓN

La *Ehrlichia canis* es una bacteria gramnegativa intracelular obligada que pertenece a la familia Anaplasmataceae (1), es la causante de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC), enfermedad observada muy frecuente en perros (2) y de distribución mundial, aunque es de mayor preocupación en climas tropicales y templado (3). Este hemoparásito es principalmente un agente etiológico en perros, aunque también se ha informado en otras especies de mamíferos y existe un riesgo zoonótico mínimo (4). *Rhipicephalus sanguineus* es el vector biológico de este patógeno, que también tiene una amplia distribución (5).

La *Ehrlichia canis* tiene tropismo por las células hematopoyéticas, desarrollando una enfermedad potencialmente fatal en perros que requiere un diagnóstico rápido y preciso para iniciar una terapia adecuada que conduzca a un pronóstico favorable. La enfermedad se caracteriza por tres etapas; 1) aguda, 2) subclínica y 3) crónica y los perros infectados con *E. canis* permanecen infectados durante toda su vida, incluso después de recibir un tratamiento antibiótico con doxiciclina (6).

La Ehrlichiosis Monocítica Canina es una enfermedad de gran preocupación en los propietarios de mascotas principalmente en lugares tropicales como es la costa peruana, por ser una afección multisistémica con signos clínicos inespecíficos lo que conlleva a confusión con otras enfermedades. Las fases agudas se caracterizan por fiebre alta, depresión, letargo, anorexia, linfadenomegalia y esplenomegalia ; los signos clínicos incluyen petequias dérmicas, equimosis y epistaxis (7). Trombocitopenia es el cambio hematológico más prominente en la fase aguda (8, 9). Durante la fase subclínica, no hay signos clínicos o hematológicos manifiestos

explícitos (10). La fase crónica se caracteriza por pancitopenia debido a la supresión o destrucción de la médula ósea (11). Mucosas pálidas, sangrado, pérdida de peso significativa y debilidad son signos clínicos comunes durante esta fase. Los signos clínicos en la fase crónica son similares a los de la fase aguda; pero con mayor severidad (7).

Los métodos tradicionales de diagnóstico de la EMC se basan en signos clínicos, hallazgos hematológicos de laboratorio, presencia de *E. canis* en frotis de sangre y pruebas de inmunodiagnóstico, como serología, aislamiento y detección molecular. Sin embargo, muchos estudios han informado una mayor eficiencia de las técnicas moleculares en comparación con otras para la confirmación de un diagnóstico de EMC (12, 13). No obstante, se debe considerar que estos últimos necesitan equipos más sofisticados que no están al alcance de la mayoría de profesionales o consultorios médicos, por lo que se optan por métodos más prácticos y menos costosos.

Determinar la frecuencia de *Ehrlichia canis* en un determinado lugar permite la toma de una serie de medidas pertinentes para su prevención u optar por medidas específicas de tratamiento, posterior a un diagnóstico definitivo mediante serología, precedido por una sintomatología y condiciones ambientales o naturales que permitan el desarrollo del vector biológico y los mecanismos de su diseminación.

En diversos lugares del Perú, se ha reportado la presencia de *Ehrlichia canis* en perros diagnosticados mediante inmunoensayo cromatográfico, en los que generalmente se han encontrado factores asociados a la enfermedad el mal estado de salud del animal, un mayor promedio de infestación por garrapatas y edad adulta; de esta manera en Huánuco se ha reportado una prevalencia de 51,3% a *Ehrlichia canis* en perros de edad

adulta, de un total de 150 animales (14). En los distritos de Lima Metropolitana en un estudio más reciente se encontró una frecuencia serológica de 59,4% (723/1716) de perros positivos a *Ehrlichia canis* y como factores asociados la raza mestiza y la edad mayor a dos años (15).

En la ciudad de Chimbote se reporta pocos datos acerca de ésta enfermedad, motivo por el cual el objetivo general del presente trabajo de investigación fue determinar la frecuencia mayor a 23,3 % de *E. canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, Chimbote – Perú, y como objetivo específico determinar la frecuencia de *E. canis* según la edad en la Clínica Veterinaria ya mencionada.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Internacionales

La Ehrlichiosis Monocítica Canina se ha distribuido alrededor de todo el mundo, así, en Tailandia se realizó un estudio con la finalidad de definir la diversidad genética de *E. canis*. Usando PCR y análisis filogenético de los *dsb*, *gp19* y *gp36*, se examinaron las características moleculares de *E. canis*, en el que se extrajo ADN de 220 muestras de sangre completa de perros infectados de forma natural, todos con signos clínicos compatibles con enfermedades transmitidas por garrapatas. De los animales analizados, el 16,4% (36/220) proporcionó ADN positivo de genes de *E. canis* a través de *dsb* y *gp19*; sin embargo, solo 13 de las 36 muestras (36,1%) fueron positivas para el gen *gp36*. Las secuencias del gen *dsb* tenían una identidad muy alta (99-100%) con secuencias de *E. canis* depositadas previamente. Las secuencias del gen *gp19* fueron similares a las de los genogrupos de EE. UU y Taiwán (98,8–99,5% de identidad). La elucidación de las características genéticas de *E. canis* basadas en el gen *gp36* mostró una identidad compartida del 91,4% al 99,1%. Había 426-429 pb de una región en tándem de pre-repetición del extremo 5', una repetición de 27 pb con números variables de una región de repetición en tándem (TR) de 9 secuencias de aminoácidos (TEDSVSAPA), y una región terminal 3' variable con longitud de secuencia dependiendo del aislado (72–93 pb). Los

árboles filogenéticos de *E. canis*, particularmente usando las de aminoácidos *gp36*, mostraron que las cepas tailandesas se dividían en dos clases filogenéticas contenidos dentro de otras cepas de *E. canis* en todo el mundo. El alineamiento y el análisis filogenético sugirieron que las cepas de *E. canis* de Tailandia podrían dividirse en dos genogrupos, los de EE. UU y Taiwán (16).

Otra investigación se llevó a cabo en México con el fin de investigar infecciones por rickettsiosis en perros. Se tomaron muestras de sangre de un total de 246 perros y se examinaron inicialmente para detectar *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Rickettsia rickettsii* mediante un ensayo de PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR). Sesenta y cinco perros fueron monitoreados y muestreados dos veces con 7 u 8 meses de diferencia. Mediante qPCR se detectaron 72 perros positivos a *E. canis* (prevalencia del 29,26%). Estos perros también fueron probados por PCR anidada para detectar los mismos patógenos. Ninguno de los perros estudiados dio positivo a *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *R. rickettsii* ni *A. phagocytophilum* en ambos ensayos de PCR. La incidencia acumulada de la infección por *E. canis* fue del 38,46%. El análisis de secuenciación de los productos de PCR anidados reveló una identidad del 100% y del 98,1% de *E. canis* y *R. parkeri*, respectivamente. Encontrando un perro coinfectado con *E. canis* y *R. parkeri* (17).

En Venezuela también se ha identificado anticuerpos anti-*E. canis* y molecularmente en una comunidad rural del estado de Aragua. De 110

muestras sanguíneas de perros domésticos evaluados por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y por PCR, se halló una seroprevalencia de 77.3% y detección molecular de 45.2%. Adicionalmente se identificaron a *Rhipicephalus sanguineus* en el 69% de los perros y el 80% (68/85) de los perros con garrapatas fueron seropositivos (18).

En Cauca (Colombia), se encuestaron 506 residentes sanos y 114 perros de cuatro municipios de quienes se tomaron muestras de sangre para evaluar anticuerpos contra *E. canis* en el suero humano y canino mediante el ELISA del péptido de repetición en tándem 19 (TRP19) y el ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFA). A los resultados, los anticuerpos contra *Ehrlichia canis* TRP19 solo se detectaron en 1/506 sueros humanos, pero la única muestra positiva fue negativa por IFA. La mayoría (75/114; 66%) de los perros estudiados tenían anticuerpos contra el péptido TRP19 de *E. canis* por ELISA, y ocho sueros seleccionados al azar se confirmaron además por IFA de *E. canis*. Las muestras de ADN genómico obtenidas de 73 muestras de sangre de perro positivas a *E. canis* TRP19 se examinaron mediante PCR dirigida al gen del ácido ribonucleico 16S (ARNr). El ARNr 16S de *Ehrlichia canis* se amplificó en 30 (41%) de los perros, y se seleccionaron 16 amplicones para la secuenciación del ADN, que confirmó que todos eran *E. canis*. Se realizó una segunda PCR en las 16 muestras positivas a la PCR del 16S rRNA de *E. canis* para determinar el genotipo TRP36 mediante la amplificación del gen *trp36*. La secuenciación del amplicón de la PCR TRP36 identificó a nueve perros infectados con el genotipo TRP36 de *E. canis* de EE.UU. (56%), un perro con el genotipo

brasileño (6%) y seis perros con el genotipo costarricense (38%). Además, estas firmas moleculares de genotipo eran consistentes con el análisis serológico utilizando péptidos específicos del genotipo TRP36. Notablemente, no hubo evidencia serológica de infección por *E. canis* en humanos, sugiriendo que la infección por *E. canis* en perros en el Cauca no está asociada con la infección zoonótica en humanos (19).

En Chile también se ha reportado un caso clínico de Ehrlichiosis causada por *Ehrlichia canis* en un perro de la ciudad de Arica, el cual fue diagnosticado molecularmente. Se trataba de un canino mestizo siberiano hembra de 10 años, infestada con garrapatas que presentó un cuadro de hematomas, sangrado bucal profuso y marcado compromiso del estado general. En los exámenes clínicos destacaba trombocitopenia (30,000 plaquetas/mm³) y mediante un test rápido inmunocromatográfico para *E. canis* dio positivo. La amplificación y secuenciación de un fragmento del gen 16S ARNr a partir de muestra de sangre mostró 100% de homología con *E. canis* de Perú. Entonces, se trató del primer reporte de la presencia de *E. canis* en Chile en el 2012 (20).

A su vez, en Río de Janeiro (Brasil) se ha reportado la presencia de Ehrlichiosis Monocítica Canina. En un estudio transversal, observacional y descriptivo con el objetivo de investigar la epidemiología de *Ehrlichia canis* en perros sanos de la región sureste de Río de Janeiro, se recogieron muestras de sangre de 390 perros domésticos. Se realizaron visitas durante las cuales se llenaron cuestionarios epidemiológicos sobre las características

de los perros, así como los entornos en los que vivían. Las variables se analizaron mediante una prueba bivariada, mientras que el análisis de correlación entre las variables se realizó a través de la prueba *phi*. Se seleccionaron para el análisis multivariante las variables que tuvieron valores de *p* inferiores a 0,2 en el análisis bivariado y tenían una correlación baja o moderada. Se retuvo el modelo que tenía el valor más bajo del criterio de información de Akaike (AIC). Entre las 390 muestras de sangre analizadas, el 24,8% se consideraron positivas para *E. canis*. El modelo de regresión logística parsimoniosa presentó un valor AIC de 408,75 y mostró tres variables que favorecieron la presencia de ADN de *E. canis* en los perros analizados: acceso del animal a calles y barrios urbanos (relación de probabilidad [OR] = 1,91; p-valor = 0,02; intervalo de confianza [IC]: 1,14 – 3,18), infestación de garrapatas (OR = 2,01; p-valor = 0,006; IC: 1,22 – 3,32) y malas condiciones higiénicas (OR = 2,19; valor de p = 0,002; IC: 1,31 – 3,67). El modelo se consideró bien calibrado según la prueba de Hosmer-Lemeshow (p = 0,39). Y según el estudio, los perros que tenían acceso a la calle y al barrio, infestados de garrapatas y vivían en malas condiciones higiénicas tenían más probabilidades de infectarse con *E. canis* (2).

También en otros países de América del Sur se ha reportado la presencia de *E. canis*, como en la garrapata en *Rhipicephalus sanguineus* en Argentina (21). En Paraguay, los perros de mayor edad sin atención veterinaria tenían mayores probabilidades de ser positivos a *E. canis* y un mayor número de perros en el mismo hogar, así como la ausencia de tratamiento

antigarrapatas, se consideraron factores de riesgo para *Ehrlichia canis* (22). En Uruguay se ha encontrado *Ehrlichia* sp. en la garrapata *Ixodes auritulus* de vida libre (23).

1.1.2. Nacionales

En localidades fronterizas de los departamentos Loreto, Madre de Dios, y Tumbes se realizó un estudio mediante encuestas para evaluación serológica empleando el ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFI) con la finalidad de determinar inmunoglobulinas G (IgG) e inmunoglobulinas totales (IgA+IgM+IgG) de anticuerpos a *Rickettsia* y *Ehrlichia* en 1634 personas. A los análisis se halló una prevalencia de contacto reciente para *Ehrlichia* de 3,7% (IC95%: 3,0-4,4) y para *Rickettsia* de 10,6% (IC95%: 9,1-12,1), y de contacto pasado para *Ehrlichia* de 19,0% (IC95%: 17,1-21,0) y para *Rickettsia* de 23,3% (IC95: 21,2-25,3) (24). A pesar que el estudio se llevó a cabo en personas, es importante no deslindar la presencia de los perros y el vector biológico de la *Ehrlichia*, la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.

En la ciudad de Huánuco, se recolectaron muestras de sangre de 150 perros seleccionados al azar sin distinción de raza, edad ni sexo, infestados con garrapatas en diez consultorios veterinarios, con el propósito de determinar la frecuencia y factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis*. Al procesado de las muestras, mediante inmunoensayo cromatográfico se detectó anticuerpos contra *E. canis* y el 51,3% de los perros estuvieron infectados con la bacteria. A la presencia de la Ehrlichiosis se asoció el mal

estado de salud del perro ($p=0,049$), un mayor promedio de infestación por garrapatas ($p=0,018$) y perros de edad adulta ($p=0,038$) (14).

Se realizó otro estudio en la zona norte de Lima Metropolitana con el fin de determinar la frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en pacientes caninos mediante revisión de la base de datos de un laboratorio de análisis clínicos, aquellos registros con análisis de hemograma y contra *E. canis* durante los años 2014-2016. Las muestras fueron analizadas con un kit comercial específico para detectar *E. canis* y a los resultados se determinó una frecuencia serológica 59,4% (723/1216) de caninos positivos. Además, se halló asociación significativa de la presencia de Ehrlichiosis para los perros de raza mestiza y mayor a 2 años. Asimismo, en perros adultos positivos a la enfermedad presentaron valores menores de la serie roja, blanca y plaquetaria con respecto los perros negativos (15).

En la Clínica de Animales Menores y del Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos se ejecutó un estudio retrospectivo de tipo caso-control para evaluar los factores de riesgo asociados a la presentación de Ehrlichiosis Canina en perros. Se consiguieron tanto los casos positivos ($n = 50$) como los controles ($n = 100$), analizados con la prueba Chi Cuadrada para determinar la asociación según raza, sexo, edad, historia de garrapatas y lugar de origen. Al término del estudio, de los casos, el 50% fue de raza grande, 72% fueron machos, el 68% fue mayor de 2 años y el 82% tuvo historia de infestación por garrapatas. Los factores de riesgo asociados con

la enfermedad fueron razas grandes (OR=12,8, p=0,024), raza Pastor alemán (OR=12,2, p<0,01), edad (2-4 años: OR= 4,0, p=0,008) e historia de garrapatas [82% (48/50) para los casos y 1% (1/100) para los controles] (25).

Es imperante tomar especial énfasis en la capacidad zoonótica de esta bacteria ya que se ha detectado seropositividad a *Ehrlichia canis* mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en pacientes humanos. Así lo demostró un estudio llevado a cabo en Lima metropolitana, donde evaluaron 91 sujetos sin distinción de género, edad o condición socioeconómica cuyos perros tenían historia de Ehrlichiosis dentro de los seis meses previos al muestreo y a los resultados se obtuvo una frecuencia de pacientes seropositivos de 14,3% (26). De manera similar se halló seropositividad a *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* en personal de clínicas veterinarias y en personas en contacto con canes con Ehrlichiosis Canina provenientes de diferentes distritos de Lima Metropolitana, en el que, de 90 muestras de suero de 55 varones y 35 mujeres, se encontró 23,3% de seropositividad a *E. canis* y 20,0% a *E. chaffeensis* (27).

1.1.3. Regional

Los estudios realizados a nivel regional son limitados, únicamente se ha reportado un estudio en la ciudad de Chimbote el cual se realizó en el año 2013 con el objetivo de determinar la frecuencia de caninos positivos a *Ehrlichia canis* procedentes de diferentes clínicas veterinarias de la ciudad y mediante inmunocromatografía se analizaron 30 perros de entre machos y hembras, de los cuales el 23,3% resultaron positivos, cinco (27,8%) fueron

machos y dos (16,7%) hembras, además, con respecto a la edad, la mayor proporción se halló en perros mayores a cuatro años (40%), seguido de perros de cero a dos años (20%) y finalmente de dos a cuatro años (10%). Al término del estudio se concluyó que la Ehrlichiosis Canina está afectando a la población de canes residentes en la ciudad de Chimbote (28).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Generalidades de Ehrlichiosis Canina Monocítica

La Ehrlichiosis Canina Monocítica (ECM) es una importante enfermedad transmitida por garrapatas del perro en todo el mundo (29). También se conoce como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, tífus, enfermedad del perro rastreador y exposición tropical a las garrapatas caninas (30). Aunque el papel zoonótico de los perros como reservorio de la infección humana nunca ha demostrado ser una amenaza, sigue siendo una gran preocupación para muchos pacientes caninos. Los veterinarios desempeñan un papel importante en la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las infecciones por *Ehrlichia* en los perros (31).

El principal vector de la ECM es *Rhipicephalus sanguineus* (32). Se ha demostrado experimentalmente que *Dermacentor variabilis* también es capaz de transmitir *E. canis* (33). Se trata de una enfermedad multisistémica que se manifiesta de forma aguda, subclínica y crónica. El resultado de esta última forma es la muerte (11). Incluyen anorexia, letargo, fiebre, linfadenomegalia esplenomegalia y hemorragias, mientras que la trombocitopenia y la pancitopenia son hallazgos hematológicos comunes

hematológicas comunes (34). La doxiciclina y otras tetraciclinas son los agentes terapéuticos de elección para la EMC (35). También se han estudiado otros agentes antibacterianos de eficacia variable (36). Hasta la fecha, no existe ninguna vacuna comercial para la ECM y el control de las garrapatas sigue siendo la principal medida preventiva contra esta enfermedad. Un estudio anterior demostró que una vacuna inactivada era capaz de provocar una rápida respuesta humoral y celular dirigida a los antígenos de *Ehrlichia canis*, pero solo se consiguió una protección clínica parcial cuando los perros fueron desafiados con una cepa avirulenta (37).

1.2.2. Clasificación taxonómica

Anteriormente, *Ehrlichia* spp. estaba clasificado en la familia Rickettsiaceae y *Anaplasma* spp. en la familia Anaplasmataceae del orden Rickettsiales. En la actualidad, estos dos géneros pertenecen a la familia Anaplasmataceae (1). Las especies de *Ehrlichia* pueden dividirse en tres clases en función de las células huésped que infectan, como células monocíticas, granulocíticas y trombocíticas (30). Sobre la base de la homología de la secuencia del ARNr 16S y la relación antigénica, se han delimitado tres genogrupos de *Ehrlichia*: (i) el genogrupo *E. canis* (*E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*); (ii) genogrupo *E. phagocytophila* (*E. phagocytophila*, *E. equi*, agente de la Ehrlichiosis Granulocítica Humana (HGE) y *A. platys*); y (iii) el genogrupo *E. senetsu* (*E. sennetsu*, *E. resticii* y *E. bovis*) (38). Recientemente, los géneros de familias Rickettsiaceae y Anaplasmataceae fueron reorganizados tras el estudio de las secuencias del ARNr 16S. La familia Anaplasmataceae

está formada por los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* y *Wolbachia*. Se propuso incluir en el género *Anaplasma* algunas especies de *Ehrlichia* como *E. (Anaplasma) phagocytophila* (compuesta por *E. equi* y el agente HGE), *E. (Anaplasma) bovis* y *E. (Anaplasma) platys*. Uno de ellos fue cambiado al género *Neorickettsia* es *E. (Neorickettsia) sennetsu* y una especie del género *Cowdria* se reclasificó en *Cowdria (Ehrlichia) ruminantium* (31).

1.2.3. Ciclo de vida y morfología

Ehrlichia spp. se replica en la garrapata. El ciclo de *Ehrlichia spp.* pasa por tres etapas de desarrollo, cuerpos elementales, cuerpos iniciales y mórulas (39). Dentro de una célula, los pequeños cuerpos elementales (0.2 a 0.5 μm) se convierten en cuerpos iniciales más grandes (de 1.0 a 1.5 μm) y, finalmente, en cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos (mórulas: 2 a 5 μm) que contienen aproximadamente 100 cuerpos elementales (38). Desde el organismo único se adhiere a la membrana plasmática (Figura 1), se invagina en las células de las células del huésped, el organismo se divide por fisión binaria en mórulas más grandes. Los organismos pueden salir de las células por lisis celular o por exocitosis.

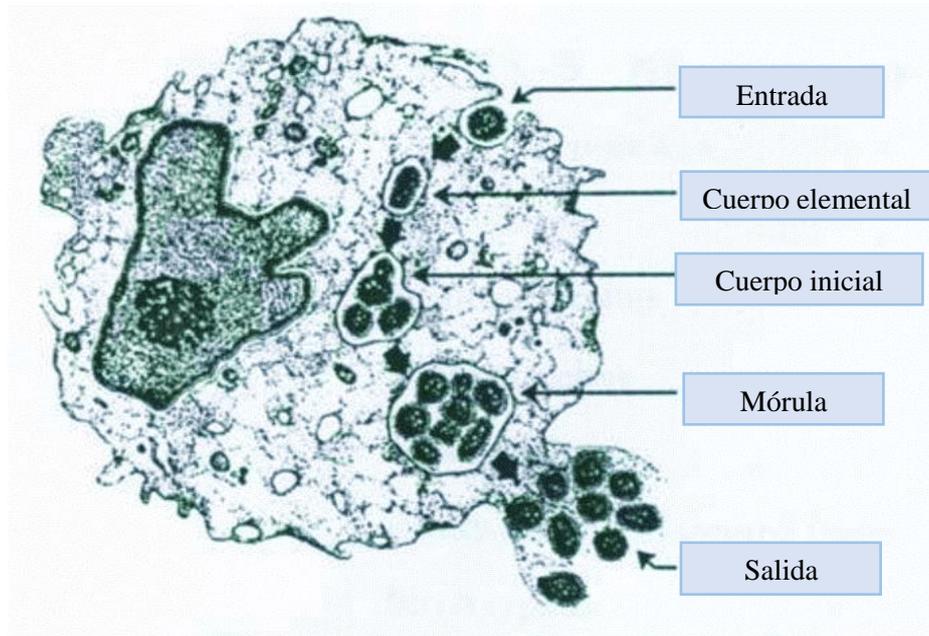


Figura 1: Representación esquemática del ciclo de crecimiento de *Ehrlichia* en una célula infectada.

1.2.4. Epidemiología

Las especies de *Ehrlichia* que infectan a los animales están distribuidas en la mayoría de las regiones del mundo, principalmente en los climas tropicales y templados. Para algunas especies de este microorganismo, la distribución geográfica no ha sido totalmente determinada. Debido a la infección crónica, las manifestaciones de la enfermedad pueden desarrollarse años después de la transmisión por garrapatas y después de que el perro haya sido trasladado a una región no endémica donde la enfermedad podría no ser considerada (30). Se han notificado diferentes tasas de seroprevalencia de la ECM en todo el mundo; 17-26% en Israel (40), 32% en Camerún (41), 44% en México (42), 24% en Granada (43), 3% en Sudáfrica, 52% en Zimbabue (44) y 10-31,9 en Brasil (45). Debido a la infección crónica, las manifestaciones de la enfermedad pueden

desarrollarse años después de la transmisión por garrapatas y después de que el perro haya sido trasladado a una región no endémica donde la enfermedad podría no considerarse (30). Así como en los países mencionados, se ha reportado en muchos otros alrededor del mundo, con mayor o menor frecuencia.

1.2.5. Ciclo de transmisión

La garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, actúa como vector primario de *E. canis* que transfiere el patógeno entre los huéspedes durante las comidas de sangre. Los perros, tanto domésticos y salvajes, actúan como reservorios de este patógeno y son los principales huéspedes de las garrapatas, entonces, las garrapatas del perro se convierten en portadoras del patógeno cuando se alimentan de la sangre de un perro con raquitismo. Se almacenan en el intestino medio y en las glándulas y *E. canis* se transfiere a través de la saliva de las garrapatas portadoras del patógeno durante las comidas de sangre (46). Si se infecta en la fase larvaria, la garrapata retiene el patógeno durante las dos etapas siguientes de su vida y puede inocular a los huéspedes durante las comidas de sangre tanto en la fase de ninfa como en la de adulto en transmisión transestadial (46).

Debido a que el vector de *E. canis* utiliza la especie canina como huésped primario, esta bacteria se asocia más comúnmente con los perros, pero se han reportado múltiples casos en humanos (47). Los gatos, aunque son raros se han descubierto anticuerpos contra *E. canis* (48, 49) lo que implica que ellos también pueden potencialmente contraer la infección.

1.2.6. Patogenicidad

Las paredes celulares de los organismos Ehrlichiosis carecen de peptidoglicano y el lipopolisacárido típicamente presente en al menos pequeñas cantidades en la mayoría de las demás bacterias gramnegativas, lo que se cree que contribuye a su capacidad para resistir la respuesta inmunitaria del huésped. La falta de estos dos materiales reduce la rigidez de la pared celular permitiendo que el exterior de la pared celular sea dinámico facilitando a su vez la evasión de las células de *E. canis* de los anticuerpos en el cuerpo de su organismo huésped. Las células de *E. canis* carecen de estructuras internas complejas que permitan la síntesis de azúcares y, a su vez, utilizan aminoácidos como fuente de energía (50). La patogénesis consiste en un periodo de incubación de 8 a 20 días, seguido de la fase aguda, subclínica y, en algunos casos, crónica. Como las *Ehrlichia* no contienen *pili*, el proceso de entrar en el huésped y facilitar la infección se produce una vez que la *Ehrlichia* se une a la célula del huésped a través de su membrana externa. Después de que la bacteria se envuelva dentro de la célula huésped, la *Ehrlichia* forma compartimentos con membrana (endosomas) que ayudan a mantener sus compartimentos citoplásmicos diferenciados. Una vez transmitida, *E. canis* se dirige a las células fagocíticas mononucleares y las infecta. Los más infectados son los monocitos, dentro del humanos o caninos. Sin embargo, se supone que, debido a su mayor frecuencia y mayores tasas de infección, los fagocitos mononucleares son capaces de mantener la infección productiva dentro de sus células (51).

Normalmente, un monocito infectado contiene aproximadamente 1 o 2 mórulas. Las *Ehrlichia* mantienen y asegura su supervivencia multiplicándose en las endosomas del huésped. En consecuencia, estos patógenos son capaces de garantizar su supervivencia porque poseen la capacidad de reprogramar los sistemas y mecanismos de defensa empleados por la célula huésped (52).

1.2.7. Trastorno plaquetario

La trombocitopenia se considera la anormalidad hematológica más común y consistente de los perros infectados natural o experimentalmente con *E. canis* (53). La trombocitopenia en la ECM se atribuye a diferentes mecanismos en las distintas fases de la enfermedad. Los mecanismos que se cree que están implicados en la patogénesis de la trombocitopenia en la fase aguda de la enfermedad incluyen el aumento del consumo de plaquetas debido a los cambios inflamatorios en el endotelio de los vasos sanguíneos, el aumento del secuestro esplénico de las plaquetas y la destrucción o lesión inmunológica que da lugar a una disminución significativa de la vida de las plaquetas (54). Los estudios realizados con radioisótopos han demostrado que el tiempo de supervivencia de las plaquetas disminuyó de una media de 9 días a 4 días después de la infección con *E. canis* (55). Además, se aisló y caracterizó un factor de inhibición de la migración de las plaquetas. Se ha propuesto que este factor desempeña un papel en el aumento del secuestro y la estasis de las plaquetas, lo que conduce a la reducción del recuento de plaquetas en la sangre periférica (56).

La demostración de anticuerpos plaquetarios (APA) en suero en perros tras una infección experimental con *E. canis* apoya la suposición de que la destrucción inmunitaria también puede contribuir a la patogénesis de la trombocitopenia en la Ehrlichiosis aguda (8). La detección más temprana de APA se realizó el día 7 en uno de los seis perros, el día 13 en tres, y el día 17 en los dos perros restantes. También se ha demostrado la presencia de APA en el 80% de las muestras de suero de pacientes humanos infectados con Ehrlichiosis Granulocítica. El estímulo para la producción de estos autoanticuerpos no se comprende del todo; sin embargo, se han propuesto dos teorías. La aparición temprana de APA antes de la aparición de *E. canis* sugirió que las células B portadoras de receptores naturales de autoanticuerpos podrían ser inducidas a la proliferación y maduración por la interacción con antígenos Ehrlichianos que son antigénicamente similares a los antígenos propios. La teoría alternativa propone que la APA se desarrolla de forma secundaria a los componentes de las plaquetas que se destruyen y a la liberación masiva de las proteínas estructurales de las plaquetas provocada por la destrucción no inmunológica de las mismas (53). Se demostró que el consumo de complemento ocurre durante la fase trombocitopénica de la Ehrlichiosis aguda, y la descomplementación parcial de los sueros de los perros infectados moderó la gravedad de la trombocitopenia, lo que corrobora aún más el argumento a favor de un componente inmunopatológico en la patogenia de la trombocitopenia en la ECM (57). Paralelamente al desarrollo de la trombocitopenia durante la fase aguda, suele observarse un aumento significativo del volumen medio de

plaquetas que refleja una trombopoyesis activa. En la fase crónica grave de la enfermedad, se considera que la disminución de la producción de plaquetas debido a la hipoplasia de la médula ósea es la causa de la trombocitopenia (58). En esta fase, los perros suelen presentar pancitopenia como resultado de esta médula ósea hipoplásica, lo que complica aún más su estado clínico.

Se demostró que la adhesividad de las plaquetas disminuía en perros con infección aguda por *E. canis* (57). Además, se demostró que el suero de perros infectados con *E. canis* inhibía la agregación plaquetaria cuando se incubaba con plaquetas de un perro sano, seronegativo para ECM. Estos hallazgos sugieren que la disfunción plaquetaria puede ocurrir en la etapa aguda de la ECM y, junto con la trombocitopenia, puede ser un factor que contribuya a la tendencia hemorrágica observada en la enfermedad. La presencia de concentraciones máximas de APA sérico concurrente con disfunción plaquetaria (en los días 17 a 24 después de la infección experimental) sugirió que el APA desempeñó un papel en causar disfunción plaquetaria en la etapa aguda de la Ehrlichiosis Canina. Se propuso que la interacción de APA con las glicoproteínas de la membrana plaquetaria causaba la disfunción plaquetaria (8).

1.2.8. Respuesta inmune

Cada vez hay más pruebas que respaldan la suposición de que los mecanismos inmunitarios están involucrados en la patogenia de la ECM aguda. Esta evidencia incluye la infiltración extensa de células plasmáticas

de los órganos parenquimatosos, la aparición de hipergammaglobulinemia policlonal que no se correlaciona con los títulos de anticuerpos específicos de *E. canis*, las pruebas de Coomb y de autoaglutinación positivas, y la inducción de la producción de APA después de la infección experimental por *E. canis* en perros (8). No hay predilección por edad o sexo, y todas las razas pueden estar infectadas con ECM; sin embargo, los pastores alemanes (GSD) parecen ser más susceptibles a la ECM que otras razas. Además, la enfermedad en GSD es más grave y tiene peor pronóstico que en otras razas (59).

Las diferencias en la susceptibilidad de raza se pueden atribuir a las diferencias de raza en la capacidad de generar respuestas inmunitarias celulares y/o humorales adecuadas. Se ha documentado que la respuesta inmune celular contra *E. canis* está deprimida en GSD en comparación con los perros beagle (60). En el mismo estudio, no se observaron diferencias significativas en la respuesta humoral entre las dos razas. Estos hallazgos sugieren que la respuesta inmunitaria celular es el componente más importante del sistema inmunitario que brinda protección contra *E. canis*. En perros infectados experimentalmente, se demostró que los títulos persistentemente altos de anticuerpos después del tratamiento y la eliminación de la rickettsia no tienen valor protector cuando los perros fueron desafiados con cepas homólogas o heterólogas de *E. canis* (61). Por tanto, la respuesta inmunitaria humoral no parece desempeñar un papel importante en la protección frente a *E. canis*; por el contrario, se ha propuesto contribuir a la patogenia de la enfermedad (62).

Se cree que se produce un estado de premunición (inmunidad protectora) en perros infectados de forma subclínica con *E. canis* y también en perros infectados después de un tratamiento a corto plazo con oxitetraciclina (63). Parece que la inmunidad protectora en ECM se mantiene principalmente a través de la respuesta inmune celular en lugar de la respuesta humoral (31).

Se sospechó que la respuesta del huésped a la infección por *E. canis* desempeñaba un papel importante en la patogenia de la enfermedad, y se ha demostrado que la alteración del sistema inmunitario del huésped mediante el uso de ciclofosfamida y suero antilinfocitario altera las manifestaciones patológicas y clínicas de la infección experimental por *E. canis*. Para determinar el papel del bazo en la patogenia de la CME, se investigó el efecto de la esplenectomía en el curso de la fase aguda de la CME experimental (64). Los hallazgos clínicos y hematológicos del estudio indicaron que el proceso de la enfermedad fue considerablemente más leve en los perros esplenectomizados que en los perros intactos. No parecía haber ninguna diferencia en el tiempo de aparición o en el título de anticuerpos de inmunoglobulina G de *E. canis* entre perros esplenectomizados e intactos a lo largo del estudio (56). Durante la etapa aguda, el consumo de alimentos fue significativamente mayor en el grupo esplenectomizado que en el grupo intacto. Durante este periodo, se midieron temperaturas corporales significativamente más altas en el grupo intacto en comparación con el grupo esplenectomizado. El hematocrito, el recuento de eritrocitos, las concentraciones de hemoglobina y el recuento de plaquetas fueron significativamente más altos en el grupo esplenectomizado que en el

grupo intacto durante todo el curso del estudio. El bazo juega un papel importante en la patogenia de las enfermedades inmunomediadas, y en los casos refractarios al tratamiento médico puede estar indicada la esplenectomía (65). La eliminación del órgano dominante que produce anticuerpos y la eliminación de uno de los sitios principales del sistema fagocítico monocítico se consideran los principales objetivos logrados por la esplenectomía. El bazo es un sitio importante para la síntesis de tuftsin y omdina, que sirven como opsoninas y promueven la fagocitosis. El bazo también es un sitio importante para la síntesis de los componentes del complemento. Mediante la eliminación de los macrófagos esplénicos y la reducción de los componentes del complemento y las opsoninas, se compromete la fagocitosis posterior a la esplenectomía (66). Los resultados de nuestro estudio reciente sugieren que el bazo juega un papel clave en la patogénesis de la ECM y respaldan aún más la idea de que los mecanismos inmunitarios están involucrados en la patogénesis de la ECM (64).

1.2.9. Persistencia de la infección

Tras la fase aguda de la enfermedad, la infección por *E. canis* puede persistir después de una recuperación clínica espontánea o un tratamiento ineficaz, y estos animales pueden entrar en la fase subclínica de la ECM. Estas anomalías incluyen una trombocitopenia leve y una disminución significativa de los recuentos de leucocitos en comparación con los valores previos a la infección, debido a una reducción de los recuentos de neutrófilos; sin embargo, los perros no estaban leucopénicos ni

neutropénicos durante esta fase (67). Estos resultados sugieren que la trombocitopenia leve y la reducción de los recuentos de leucocitos pueden ser indicativos de cambios patológicos continuos y, por tanto, no deben pasarse por alto, ya que estos animales pueden ser portadores subclínicos de *E. canis* (31).

Algunos perros que padecen la etapa subclínica de ECM pueden desarrollar la etapa crónica grave y potencialmente mortal de la enfermedad. Las condiciones que conducen al desarrollo de la etapa crónica no se comprenden completamente; sin embargo, pueden estar relacionados con la raza, el estado inmunológico del animal, las condiciones de estrés, las coinfecciones con otros parásitos, la ubicación geográfica, la cepa del parásito o la reinfección persistente (61). El riesgo de desarrollar la forma crónica y grave de la enfermedad debe considerarse en casos subclínicos y no debe ignorarse. Se recomienda diagnosticar y tratar a estos perros subclínicos para prevenir una mayor progresión de la enfermedad (64).

1.2.10. Manifestaciones de la enfermedad

La enfermedad puede manifestarse con una amplia variedad de signos clínicos, de los cuales la depresión, el letargo, la pérdida de peso, la anorexia, la pirexia, la linfadenomegalia, la esplenomegalia y la tendencia a la hemorragia son los más comunes. Las principales anomalías hematológicas incluyen trombocitopenia, anemia leve y leucopenia leve durante la fase aguda, trombocitopenia leve en la fase subclínica y pancitopenia en la fase crónica. Las principales anomalías bioquímicas

incluyen hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia (59).

1.2.11. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo de la ECM requiere la visualización de mórulas dentro de los monocitos en la citología, la detección de anticuerpos séricos con *E. canis* la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA), la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y/o el gel blotting (Western immunoblotting) (31).

Citología

En la citología, las Ehrlichias se tiñen de azul oscuro a púrpura con la tinción de cielo de Romano. Las mórulas son cuerpos bien definidos, redondos u ovalados, entre eosinófilos y basófilos, que se encuentran en vacuolas revestidas de membrana del huésped dentro del citoplasma de las células mononucleares (30). La mayor limitación del examen de frotis con respecto a tecnologías como la PCR y la serología es la baja sensibilidad, de un máximo del 66%, y el largo tiempo que se tarda en examinar con éxito un frotis.

Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA)

En los perros infectados experimentalmente con *E. canis*, la prueba IFA ha detectado anticuerpos séricos a partir de los 7 días después de la infección inicial, aunque algunos perros no se vuelven positivos hasta los 28 días

después de la infección. Si se sospecha clínicamente de Ehrlichiosis en un perro seronegativo, la serología debe repetirse en 2-3 semanas. En el pasado, los títulos de anticuerpos IgG de >1:80 se han considerado diagnósticos (30), pero las investigaciones más recientes han indicado que los títulos <1:80 deben considerarse sospechosos y la serología debe repetirse en 2-3 semanas o debe considerarse una PCR o una inmunoblotting Western. Se debe hacer un diagnóstico e instituir un tratamiento cuando se encuentren signos clínicos y anomalías clínico patológicas consistentes con la Ehrlichiosis Canina (68).

El uso de la prueba IFA para el diagnóstico de la infección por *E. canis* puede tener algunos inconvenientes. Una de las principales preocupaciones existe en las zonas endémicas con perros que están infectados crónicamente y tienen un título positivo, pero que por lo demás están sanos o muestran signos clínicos no específicos. En estos perros, un título positivo de anticuerpos indica una exposición pasiva a *E. canis*, pero no demuestra que la Ehrlichiosis sea necesariamente una infección activa o la causa de los signos clínicos que presentan. Los anticuerpos IgM e IgG no son detectables hasta al menos 1-3 semanas después de la infección. En los perros con signos clínicos inespecíficos, la repetición de la prueba IFA después de 1 o 2 semanas puede ser beneficiosa para diferenciar entre la infección primaria por *E. canis* y otra enfermedad secundaria. Los títulos de anticuerpos contra *E. canis* deberían aumentar con la infección activa. Además, hay que tener en cuenta la coinfección con múltiples enfermedades transmitidas por garrapatas causadas por agentes como otras *Ehrlichia*, especies de

Rickettsia, especies de *Bartonella* y *Babesia canis*. Las enfermedades causadas por cualquiera de estos agentes pueden ser clínica, hematológica y serológicamente indistinguibles entre sí. Además, se ha demostrado que las proteínas inmunodominantes de *E. canis* presentan una reacción serológica cruzada con las de *E. chaffeensis* (el agente causante de la Ehrlichiosis Monocítica Humana). Los estudios han demostrado que las pruebas serológicas por IFA no pueden distinguir de forma consistente entre las infecciones de estas dos especies. La interpretación de la serología de *E. canis* debe incluir la consideración del proceso de la enfermedad, las reacciones cruzadas con otras especies de *Ehrlichia*, la posibilidad de múltiples infecciones transmitidas por garrapatas y la persistencia de los títulos de anticuerpos de la IFA después del tratamiento. Los títulos de anticuerpos se utilizan para medir el éxito o el fracaso del tratamiento de la ECM. El éxito del tratamiento debe basarse en la remisión de los signos clínicos, la disminución de los títulos de anticuerpos contra *E. canis* y la disminución simultánea de las concentraciones de gammaglobulina (69).

Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La amplificación por PCR también es un método sensible para la detección de *E. canis*, aunque actualmente existen varias limitaciones potenciales. Se recomienda utilizar este método además de la serología para el diagnóstico inicial de la Ehrlichiosis, no en lugar de ella (68). La PCR es una prueba fiable y rápida para el diagnóstico de las primeras fases de la Ehrlichiosis Canina, lo que es imprescindible para garantizar el éxito del tratamiento de

esta enfermedad. La PCR puede detectar la presencia de *Ehrlichia* incluso después de un tratamiento antibiótico específico. Se trata de una herramienta muy eficaz para evaluar la eliminación de los organismos tras la terapia antibiótica. Puede utilizarse como herramienta para evaluar la eficacia de la terapia antibiótica mediante el análisis de varias muestras de tejido.

1.2.12. Tratamiento

La doxiciclina, una tetraciclina semisintética, ha sido el fármaco de primera línea en el tratamiento de la ECM. Aunque en la ECM aguda la doxiciclina ha demostrado ser muy eficaz para eliminar la infección (70), su eficacia en la infección subclínica y crónica por *E. canis* sigue siendo controvertida (71). La recomendación de dosificación para la doxiciclina en la ECM es de 5 mg/Kg, por vía oral, dos veces al día, durante al menos 28 días (68), aunque puede ser necesaria una administración más prolongada para los perros con infección crónica (64). Las náuseas y los vómitos que se observan ocasionalmente con la doxiciclina oral pueden mejorarse mezclándola con la comida. En la actualidad, la justificación del uso de otras tetraciclinas (minociclina, tetraciclina, oxitetraciclina), cloranfenicol, enrofloxacin o dipropionato de imidocarb en el tratamiento de la infección por *E. canis* es limitada. Recientemente se ha descubierto que este último es ineficaz para eliminar las infecciones naturales y experimentales de *E. canis* (72); por lo tanto, ya no está indicado, a menos que se documente o se sospeche una coinfección susceptible de ser tratada con este fármaco (por ejemplo, *Babesia canis*). Curiosamente, en un informe reciente, la rifampicina a 15

mg/kg, por vía oral, dos veces al día, durante 7 días, fue tan eficaz como la doxiciclina en la eliminación de la infección experimental subclínica por *E. canis* en dos perros (36).

1.2.13. Medidas preventivas

La prevención en zonas endémicas puede lograrse manteniendo programas estrictos de control de garrapatas en perros y locales. Los métodos no químicos consisten en retirar las garrapatas de los perros a mano con un único movimiento de presión lenta cerca del lugar de fijación sin retorcer ni aplastar (73). También es importante cambiar el hábitat reduciendo al mínimo las zonas de refugio como grietas en el suelo, residuos de jardín y hierba larga. Si se sabe que una perrera está infectada por *Ehrlichia*, las nuevas incorporaciones a la perrera deben someterse a pruebas de serología IFA y, si son positivas, deben ser tratadas con un tratamiento de doxiciclina antes de ser alojadas con los demás perros. Además, se debe realizar un control exhaustivo de la presencia de garrapatas y tratar a los perros con acaricidas. También hay productos que son preventivos contra las garrapatas como Frontline o incluso collares antigarrapatas como Preventic, puede utilizar estos productos y asegúrese de seguir los consejos de su veterinario sobre cómo aplicar estos medicamentos. Mantenga los arbustos y la hierba recortados en su jardín, ya que son lugares en los que a las garrapatas les encanta quedarse y multiplicarse. Cuando se frecuenta una zona endémica, el tratamiento con doxiciclina a 3 mg/kg V.O. c/24h disminuye el potencial de infección, pero puede acabar provocando una resistencia a los

antimicrobianos (74). Los perros pueden volver a infectarse con *E. canis* después de un tratamiento eficaz anterior, y la recuperación no equivale necesariamente a una inmunidad permanente.

1.3. Definición de términos básicos

Anigen Rapid E. canis Ab: Es un ensayo inmunocromatográfico para detectar cualitativamente anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en sangre entera, suero o plasma de caninos (75).

Anticuerpos: Proteínas producidas por células plasmáticas en respuesta a un antígeno (sustancia que hace que el organismo produzca una respuesta inmunitaria específica). Cada anticuerpo puede unirse a un solo antígeno específico. El propósito de esta unión es ayudar a destruir el antígeno. Algunos anticuerpos destruyen los antígenos directamente. Otros facilitan que los glóbulos blancos destruyan el antígeno. Los anticuerpos son tipos de inmunoglobulinas (76).

Ehrlichiosis canina: *Ehrlichia canis* (*E. canis*) es una rickettsia Gram negativa, pleomórfica, intracitoplasmática, obligada, miembro de la familia *Anaplasmataceae*. Este patógeno es responsable de causar Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) en caninos y probablemente en felinos, a nivel mundial. Es transmitida exclusivamente por la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus* (1).

Frecuencia: Eventos de una enfermedad desencadenada en una misma o diferente población a través del tiempo (77).

Inmunocromatografía: Es un método de prueba para detectar una enfermedad dejando caer la muestra que contiene un analito en una tira reactiva. Esta es una técnica rápida y simple que produce resultados de diagnóstico en 10 a 15 minutos después de dejar caer la muestra. Los resultados de las pruebas del uso de la inmunocromatografía generalmente se juzgan mediante una verificación visual (78).

Vector biológico: Cualquier criatura viviente que puede transmitir una infección a otra criatura viviente. Los humanos son técnicamente vectores, pero el término se aplica más comúnmente a organismos no humanos (79).

Zoonosis: Es una infección o enfermedad infecciosa que puede transmitirse de animales vertebrados (p. ej., un roedor) a humanos (79).

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Ubicación geográfica

La presente investigación se ejecutó en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, ubicado en la ciudad de Chimbote, provincia del Santa, región Áncash, Perú. El distrito de Chimbote cuenta con las siguientes características geográficas y meteorológicas*:

-	Altitud	: 4 msnm
-	Latitud Sur	: 09° 04' 15''
-	Longitud Oeste	: 78° 35' 27''
-	Temperatura máxima anual	: 32 °C
-	Temperatura mínima anual	: 14 °C
-	Precipitación pluvial promedio anual	: 40 mm
-	Humedad relativa mínima anual	: 72 %
-	Humedad relativa máxima anual	: 92 %
-	Superficie	: 1461,44 km ²

*SENAMHI - Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú, Provincia del Santa – 2021

2.2. Diseño de la investigación

El presente, es un estudio de corte longitudinal en el que se trabajó con 100 caninos (*Canis lupus familiaris*), divididos en dos grupos con igual número de individuos, el primero, Grupo A, 50 cachorros de 0 a 12 meses de edad y Grupo B con 50 perros adultos, mayor a 12 meses de edad.

Tabla 1: Distribución de los pacientes.

N	Grupos	
	A	B
100	50	50

Con todas las medidas de bioseguridad (Apéndice 1), desde el momento en que los pacientes caninos ingresaron a la Clínica Veterinaria, los propietarios completaron y firmaron un formulario de consentimiento del uso de sus animales en la presente investigación (Apéndice 2). Los animales se identificaron mediante ficha clínica (Apéndice 3), a los cuales se les extrajo sangre de la vena cefálica, para su procesamiento en el Laboratorio de la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, de la ciudad de Chimbote.

2.3. Métodos de investigación

La obtención de la sangre fue mediante punción de la vena cefálica. Se sujetó el perro adecuadamente y se procedió con la asepsia del área craneal del antebrazo empleando alcohol etílico de 70°. Luego, se realizó hemostasia del miembro anterior en donde flexiona el codo y usando aguja hipodérmica N° 21G x 1 ½",

con bisel hacia los ojos del clínico en un ángulo de 45° se introdujo en dirección hacia la vena hasta llegar a la misma extrayendo 1 mL de sangre, la cual fue depositada en un tubo con anticoagulante EDTA y se procedió a homogenizar lentamente. El diagnóstico de la presencia de *E. canis* fue mediante ensayo inmunocromatográfico, usando el kit diagnóstico Anigen Rapid *E. canis* Ab siguiendo las instrucciones de fábrica (Apéndice 4) (74).

2.4. Población, muestra y unidad de análisis

Población: Todos los perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet de la ciudad de Chimbote.

Muestra: 100 perros, indistintamente de la raza y sexo.

Unidad de análisis: 1 mL de sangre de cada perro.

2.5. Técnicas e instrumentos de recolección de información

Los resultados positivos/negativos se registraron en la sección “DX. FINAL” de la ficha clínica elaborada por la tesista (Apéndice 3).

La frecuencia de la presencia de *Ehrlichia canis* se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$Frecuencia = \frac{N^{\circ} \text{ total de muestras positivas}}{N^{\circ} \text{ total de muestras evaluadas}} \times 100$$

2.6. Técnicas para el procesamiento y análisis de la información

Los resultados se ordenaron en una hoja de Microsoft Excel 2019 (versión 17.0) para su procesado haciendo uso de estadística descriptiva.

Modelo estadístico: Estadística descriptiva mediante porcentajes.

2.7. Equipos, materiales e insumos

Equipos: Kit diagnóstico Anigen Rapid *E. canis* Ab

Materiales: Biológicos (muestras de sangre de 100 perros, indistintamente de raza y sexo), de campo (Mandil, ligadura para hemostasia, mascarilla KN 95, guantes de látex, agujas hipodérmicas N° 21 G x 1 ½", jeringas, tubo EDTA y algodón), desinfectante (Alcohol etílico 70°), de escritorio (Computadora de escritorio, cinta masking, plumón indeleble, lapiceros, papel bond A-4 e impresora).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia hallada de *E. canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, Chimbote – Perú, durante los meses de noviembre 2022 – febrero 2023, se muestra en las Tablas 1, 2 y 3 y Gráfica 1.

Tabla 2. Frecuencia de *E. canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet.

Número de animales	Positivos	%	Negativos	%	I.C.
100	50	50	50	50	9,8

La frecuencia de *Ehrlichia canis* en el presente estudio es de $50\% \pm 9,8$ (50/100) en la ciudad de Chimbote, a lo estudiado por Jara (28) hace ocho años, es mayor la hipótesis planteada quien determinó 23,3 % en 30 canes de la misma ciudad. En Huánuco, la frecuencia fue de 51,3%, en el norte de Lima Metropolitana la seroprevalencia de Ehrlichiosis Canina fue de 59,4%, más alta en comparación con la actual investigación.

Por otro lado, en Venezuela, se confirma una seropositividad del 69% en canes domésticos y llega al 80% en los que estrictamente tenían garrapatas (18). Un reporte completamente distinto en Río de Janeiro, que, pese a también situarse en el litoral del Océano Atlántico, la presencia de anticuerpos en 390 canes fue de 24,8%; sin embargo, es importante el análisis de los factores de riesgo asociados a la infección con *E. canis*, ya que más probabilidad de contraer la enfermedad son los perros con acceso a la calle y al barrio, infestados de garrapatas y que viven en malas condiciones higiénicas (2).

Tabla 3. Frecuencia de los casos hallados en perros de 0 a 12 meses de edad.

Grupo A				
Edad (meses)	N	Positivos	Frecuencia (%)	I.C.
0 – 12	50	20	40	13,5
Total	50	20	40	13,5

De 50 animales menores a un año de edad, se detectaron 20 casos positivos a *E. canis*.

Tabla 4. Frecuencia de los casos hallados en perros mayores a 12 meses de edad.

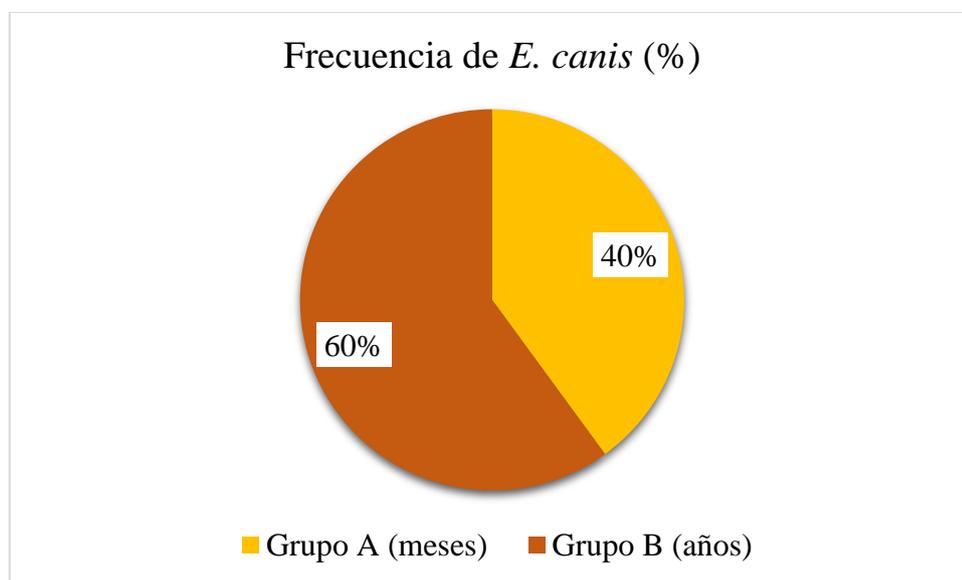
Grupo B				
Edad (años)	N	Positivos	Frecuencia (%)	I.C.
1 a más	50	30	60	13,5
Total	50	30	60	13,5

De la muestra comprendida por 50 animales mayores a un año de edad, se detectaron 30 casos positivos a *E. canis*.

Similar porcentaje de infectados se reportó en Huánuco, donde la frecuencia fue de 51,3% y la presentación de anticuerpos se correlacionó directamente con la edad de los perros (adultos principalmente), la infestación con garrapatas y el estado de salud del animal al momento de la prueba (14). En el norte de Lima Metropolitana, la seroprevalencia de Ehrlichiosis Canina fue de 59,4%, y se comprobó una asociación estrecha en caninos mestizos y mayores a los 2 años de edad (15).

En Paraguay, los grupos etarios superiores a dos años, sumado a la baja recurrencia al servicio veterinario y la ausencia de garrapaticidas de los mismos perros, los volvía más propensos de infectarse por *E. canis* y propagar la bacteria con los demás canes del mismo hogar (22). Fenómeno distinto a lo acontecido en Chimbote, donde los

animales de 1 a 2 años de edad resultaron con mayor cantidad de individuos seropositivos. A pesar de lo presentado, es importante realizar mayores estudios a nivel de todo Perú, correlacionando factores ambientales y geográficos con la presentación del vector de *E. canis* y también algunas condiciones adicionales que promueven el riesgo de infección en las poblaciones caninas.



Gráfica 1. Frecuencia total combinada de ambos grupos, A y B.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

- 4.1. La frecuencia de *Ehrlichia canis* fue $50\% \pm 9,8$ en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Orejitas Vet, Chimbote – Perú.

- 4.2. La frecuencia de *Ehrlichia canis* es mayor en perros mayores a 12 meses de edad ($60\% \pm 13,5$), en comparación a perros menores a 12 meses de edad ($40\% \pm 13,5$).

CAPÍTULO V

SUGERENCIAS

- 5.1. Se recomienda a las instituciones, propietarios de perros y profesionales interesados a realizar estudios combinados entre inmunocromatografía y la detección directa de *Ehrlichia canis*, mediante PCR, de esta manera se podrá detectar si el paciente está infectado activamente o se encuentra en estado subclínico, permitiendo obtener un panorama más amplio y claro de la problemática.

- 5.2. Se recomienda vigilancia y control del vector *Rhipicephalus sanguineus*, con fines de evitar zoonosis masiva.

REFERENCIAS

1. Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P.J., Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: Unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *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 Syst Evol Microbiol*. 2001 Nov 1;51(6):2145–65.
2. Gonzaga Paulino P., Sandes Pires M., Bezerra da Silva C., Peckle M., Lins da Costa R., Vivas Vitari G. Epidemiology of *Ehrlichia canis* in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Prev Vet Med*. 2018 Nov 1;159:135–42.
3. Da Costa Vieira R.F., Welker Biondo A., Marcia A., Sá Guimarães A.M., Pires dos Santos A., Pires dos Santos R. Ehrlichiosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2011 Mar;20(1):01–12.
4. Little S.E. Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 2010 Nov 1;40(6):1121–40.
5. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasit Vectors*. 2010 Apr 8;3(1):1–11.
6. Skotarczak B. Canine Ehrlichiosis. *Ann Agric Environ Med*. 2003 Jan 1;10(2):137–41.
7. Harrus S., Waner T. Diagnosis of Canine Monocytotropic Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*. 2011 Mar 1;187(3):292–6.
8. Harrus S., Waner T., Weiss D.J., Keysary A., Bark H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 1996 May 1;51(1–2):13–20.

9. Waner T., Leykin I., Shinitzky M., Sharabani E., Buch H., Keysary A. Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. *Vet Immunol Immunopathol.* 2000 Nov 23;77(1–2):145–50.
10. Waner T., Harrus S., Bark H., Bogin E., Avidar Y., Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Vet Parasitol.* 1997 May 1;69(3–4):307–17.
11. Mylonakis M.E., Koutinas A.F., Breitschwerdt E.B., Hegarty B.C., Billinis C.D., Leontides L.S. Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2004 May 1;40(3):174–84.
12. Iqbal Z., Rikihisa Y. Reisolation of *Ehrlichia canis* from blood and tissues of dogs after doxycycline treatment. *J Clin Microbiol.* 1994;32(7):1644–9.
13. Ramos C.A.N., Ramos R.A.N., Araújo F.R., Guedes D.S., Souza I.I.F., Ono T.M. Comparação de nested-PCR com o diagnóstico direto na detecção de *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* 2009 Dec;18(SUPPL.1):58–62.
14. Huerto-Medina E., Dámaso-Mata B. Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2015 Dec 6;32(4):756–60.
15. Cusicanqui J., Zúñiga R. Frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en caninos sospechosos de Ehrlichiosis en los distritos de Lima Norte, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 2020 Aug 10;31(3):e18164.
16. Namboopha B., Rittipornlertrak A., Tattiyapong M., Tangtrongsup S., Tiwananthagorn S., Chung Y.T. Two different genogroups of *Ehrlichia canis* from dogs in Thailand using immunodominant protein genes. *Infection, Genetics and Evolution.* 2018 Sep 1;63:116–25.

17. Ojeda-Chi M.M., Rodriguez-Vivas R.I., Esteve-Gasent M.D., Pérez de León A.A., Modarelli J.J., Villegas-Perez S.L. *Ehrlichia canis* in dogs of Mexico: Prevalence, incidence, co-infection and factors associated. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2019 Dec 1;67:101351.
18. Martínez A.M. del C., Arraga-Alvarado C.M., Triana-Alonso F.J., Ruiz C.J.A., Gutiérrez G.C.N. Estudio Serológico y Molecular de *Ehrlichia canis* en Perros de una Comunidad del Estado Aragua, Venezuela. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 2015 Dec 31;26(4):648–56.
19. Forero-Becerra E., Patel J., Martinez-Diaz H.C., Betancourt-Ruiz P., Benavides E., Duran S. Seroprevalence and Genotypic Analysis of *Ehrlichia canis* Infection in Dogs and Humans in Cauca, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2021 May 5;104(5):1771–6.
20. López J., Abarca K., Mundaca M.I., Caballero C., Valiente-Echeverría F. Molecular identification of *Ehrlichia canis* in a dog from Arica, Chile. *Revista chilena de infectología.* 2012 Oct;29(5):527–30.
21. Sebastian P.S., Mera y Sierra R., Neira G., Hadid J., Flores F.S., Nava S. Epidemiological link between Canine Monocytic Ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis* and the presence of *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto in Argentina. *Parasitol Res.* 2021 Feb 1;120(2):725–9.
22. Pérez-Macchi S., Pedrozo R., Bittencourt P., Müller A. Prevalence, molecular characterization and risk factor analysis of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in domestic dogs from Paraguay. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2019 Feb 1;62:31–9.
23. Félix M.L., Muñoz-Leal S., Carvalho L.A., Queirolo D., Remesar Alonso S., Nava S. Molecular characterization of novel *Ehrlichia* genotypes in *Ixodes auritulus* from Uruguay. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases.* 2021 Jan 1;1:100022.

24. Anaya-Ramírez E., Palacios-Salvatierra R., Mosquera P., Álvarez C., Peralta C., Gonzales R. Prevalencia de anticuerpos a Rickettsias y Ehrlichias en cuatro departamentos fronterizos del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2017 Jun 30;34(2):268–72.
25. Contreras S.A.M., Gavidia Ch.C., Li E.O., Díaz C.D., Hoyos S.L. Estudio retrospectivo de caso-control de Ehrlichiosis Canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Periodo 2002-2005. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2009 Dec 31;20(2):270–6.
26. Barrios A.L., Li E.O., Suárez A.F., Manchego S.A., Hoyos S.L. Evidencia hematológica y serológica de *Ehrlichia spp* en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de Ehrlichiosis en Lima Metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2013 Mar 18;24(1):64–71.
27. Paulino R.A., Li E.O., Hoyos S.L., Suárez A.F., Díaz C.D. Detección serológica de *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* en personal de clínicas veterinarias en Lima metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2013 Jun 10;24(2):217–21.
28. Jara M. Frecuencia de *Ehrlichia Canis* en caninos de la ciudad de Chimbote - 2013. Universidad Nacional de Cajamarca. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2014.
29. Beall M.J., Alleman A.R., Breitschwerdt E.B., Cohn L.A., Couto C.G., Dryden M.W. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. *Parasit Vectors*. 2012;5(1).
30. Andrić B. Diagnostic Evaluation of *Ehrlichia canis* Human Infections. *Open J Med Microbiol*. 2014 May 16;4(2):132–9.

31. Dubie T., Mohammed Y., Terefe G., Muktar Y., Tesfaye J. An insight review on canine ehrlichiosis with emphasis on its epidemiology and pathogenesis importance. *Global Journal of Veterinary Medicine and Research*. 2014 Oct 24;2(4):059–67.
32. Groves M.G., Dennis G.L., Amyx H.L., Huxsoll D.L. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *Am J Vet Res*. 1975 Jul 1;36(7):937–40.
33. Johnson E.M., Ewing S.A., Barker R.W., Fox J.C., Crow D.W., Kocan K.M. Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol*. 1998 Jan 31;74(2–4):277–88.
34. Sykes J., Greene C. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Greene C, editor. *Infectious diseases of the dog and cat*. *Veterinary Medicine: Penny Rudolph*; 2011. 227–238 p.
35. McClure J.C., Crothers M.L., Schaefer J.J., Stanley P.D., Needham G.R., Ewing S.A. Efficacy of a doxycycline treatment regimen initiated during three different phases of experimental ehrlichiosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Dec;54(12):5012–20.
36. Schaefer J.J., Kahn J., Needham G.R., Rikihisa Y., Ewing S.A., Stich R.W. Antibiotic clearance of *Ehrlichia canis* from dogs infected by intravenous inoculation of carrier blood. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1149:263–9.
37. Mahan S., Kelly P.J., Mahan S.M. A preliminary study to evaluate the immune responses induced by immunization of dogs with inactivated *Ehrlichia canis* organisms. *Onderstepoort J Vet Res*. 2005;72(2):119–28.
38. Krauss H. *Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans*. 3rd ed. Amer Society for Microbiology, editor. *Amer Society for Microbiology*; 2003. 456 p.

39. Forbes B.A., Sahm D.F., Weissfeld A.S. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 10 ed. Mosby Inc, editor. American Journal of Computational Mathematics. St. Louis Missouri: Mosby Inc; 1998. 751–765 p.
40. Baneth G., Aroch I., Tal N., Harrus S. Hepatozoon species infection in domestic cats: a retrospective study. *Vet Parasitol.* 1998 Oct 1;79(2):123–33.
41. Ndip L.M., Ndip R.N., Esemu S.N., Dickmu V.L., Fokam E.B., Walker D.H. Ehrlichial infection in Cameroonian canines by *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia ewingii*. *Vet Microbiol.* 2005 Nov 30;111(1–2):59–66.
42. Rodriguez-Vivas R.I., Albornoz R.E.F., Bolio G.M.E. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet Parasitol.* 2005 Jan 4;127(1):75–9.
43. Yabsley M.J., McKibben J., Macpherson C.N., Cattan P.F., Cherry N.A., Hegarty B.C. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia spp.* in dogs from Grenada. *Vet Parasitol.* 2008 Feb 14;151(2–4):279–85.
44. Matthewman L.A., Kelly P.J., Bobade P.A., Tagwira M., Mason P.R., Majok A. Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *Vet Rec.* 1993;133(14):344–6.
45. Oliveira B.C.M., Ferrari E.D., Viol M.A., André M.R., Machado R.Z., De Aquino M.C.C. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: *Ehrlichieae*) DNA in Tissues From *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) Ticks in Areas Endemic for Canine Monocytic Ehrlichiosis in Brazil. *J Med Entomol.* 2019 May 1;56(3):828–31.

46. Bowman D., Little S.E., Lorentzen L., Shields J., Sullivan M.P., Carlin E.P. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. *Vet Parasitol.* 2009 Mar 9;160(1–2):138–48.
47. Perez M., Bodor M., Zhang C., Xiong Q., Rikihisa Y. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:110–7.
48. Braga Í.A., dos Santos L.G.F., Ramos D.G. de S., Melo A.L.T., Mestre G.L. da C., de Aguiar D.M. Detection of *Ehrlichia canis* in domestic cats in the central-western region of Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2014 Apr 1;45(2):641.
49. Hegarty B.C., Quorollo B.A., Thomas B., Park K., Chandrashekar R., Beall M.J. Serological and molecular analysis of feline vector-borne anaplasmosis and ehrlichiosis using species-specific peptides and PCR. *Parasit Vectors.* 2015 Jun 12;8(1):1–9.
50. Mavromatis K., Doyle C.K., Lykidis A., Ivanova N., Francino M.P., Chain P. The Genome of the Obligately Intracellular Bacterium *Ehrlichia canis* Reveals Themes of Complex Membrane Structure and Immune Evasion Strategies. *J Bacteriol.* 2006 Jun;188(11):4015.
51. Paddock C.D., Childs J.E. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Jan;16(1):37–64.
52. Ismail N., Bloch K.C., McBride J.W. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clin Lab Med.* 2010 Mar;30(1):261–92.
53. Waner T., Harrus S., Weiss D.J., Bark H., Keysary A. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995;48(1–2):177–82.

54. Kakoma I., Carson C.A., Ristic M., Stephenson E.M., Hildebrandt P.K., Huxsoll D.L. Platelet migration inhibition as an indicator of immunologically mediated target cell injury in canine ehrlichiosis. *Infect Immun.* 1978;20(1):242–7.
55. Smith R.D., Ristic M., Huxsoll D.L., Baylor R.A. Platelet kinetics in canine ehrlichiosis: evidence for increased platelet destruction as the cause of thrombocytopenia. *Infect Immun.* 1975;11(6):1216–21.
56. Harrus S., Waner T., Bark H., Jongejan F., Cornelissen A.W.C.A. Recent Advances in Determining the Pathogenesis of Canine Monocytic Ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 1999;37(9):2745.
57. Lovering S.L., Pierce K.R., Adams L.G. Serum complement and blood platelet adhesiveness in acute canine ehrlichiosis. *Am J Vet Res.* 1980 Aug 1;41(8):1266–71.
58. Woody B.J., Hoskins J.D. Ehrlichial diseases of dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1991;21(1):75–98.
59. Harrus S., Kass P.H., Klement E., Waner T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Vet Rec.* 1997 Oct 4;141(14):360–3.
60. Nyindo M., Huxsoll D.L., Ristic M., Kakoma I., Brown J.L., Carson C.A. Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. *Am J Vet Res.* 1980 Feb;41(2):250–4.
61. Breitschwerdt E.B., Hegarty B.C., Hancock S.I. Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two *Ehrlichia canis* strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 Feb;42(2):362–8.

62. Hildebrandt P.K., Huxsoll D.L., Walker J.S., Nims R.M., Taylor R., Andrews M. Pathology of canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia). *Am J Vet Res.* 1973 Oct;34(10):1309–20.
63. Leeflang P. Relation between carrier-state oxytetracycline administration and immunity in *Ehrlichia canis* infections. *Vet Rec.* 1972;90(25):703–4.
64. Harrus S., Waner T., Keysary A., Aroch I., Voet H., Bark H. Investigation of splenic functions in Canine Monocytic Ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998 Mar 18;62(1):15–27.
65. Lewis D.C., Meyers K.M. Canine idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Vet Intern Med.* 1996;10(4):207–18.
66. Eichner E.R. Splenic function: normal, too much and too little. *Am J Med.* 1979;66(2):311–20.
67. Codner E.C., Farris-Smith L.L. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1986 Jul 1;189(1):47–50.
68. Neer T.M., Breitschwerdt E.B., Greene RT, Lappin M.R. Consensus Statement on Ehrlichial Disease of Small Animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM*. *J Vet Intern Med.* 2002 May 1;16(3):309–15.
69. Waner T., Harrus S., Jongejan F., Bark H., Keysary A., Cornelissen A.W.C.A. Significance of serological testing for Ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of Canine Monocytic Ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Vet Parasitol.* 2001 Feb 5;95(1):1–15.
70. Gal A., Loeb E., Yisaschar-Mekuzas Y., Baneth G. Detection of *Ehrlichia canis* by PCR in different tissues obtained during necropsy from dogs surveyed for naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. *Vet J.* 2008 Feb;175(2):212–7.

71. Eddlestone S.M., Diniz P.P.V.P., Neer T.M., Gaunt S.D., Corstvet R., Cho D. Doxycycline clearance of experimentally induced chronic *Ehrlichia canis* infection in dogs. J Vet Intern Med. 2007 Nov;21(6):1237–42.
72. Eddlestone S.M., Neer T.M., Gaunt S.D., Corstvet R., Gill A., Hosgood G. Failure of Imidocarb Dipropionate to Clear Experimentally Induced *Ehrlichia canis* Infection in Dogs. J Vet Intern Med. 2006 Jul 1;20(4):840–4.
73. Blagburn B.L., Dryden M.W. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2009 Nov;39(6):1173–200.
74. Goodman J.L. Ehrlichiosis-ticks, dogs, and doxycycline. N Engl J Med. 1999 Jul 15;341(3):195–7.
75. BioNote. Anigen Rapid E. canis Ab Test Kit [Internet]. 2105–1, 2009 [citado 23 enero 2023]. Disponible en: <http://www.bionote.co.kr>
76. National Cancer Institute. Definition of antibody - NCI Dictionary of Cancer Terms - NCI [Internet]. National Cancer Institute. [citado 23 enero 2023]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/antibody>
77. Moreno-Altamirano A., López-Moreno S., Corcho-Berdugo A. Principales medidas en epidemiología. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2007;45(1):337–48.
78. HAMAMATSU. Immunochromatographic technique | Immunochromato Reader (Lateral flow reader) | Hamamatsu Photonics [Internet]. HAMAMATSU. [citado 23 enero 2023]. Disponible en: <https://www.hamamatsu.com/us/en/product/life-science-and-medical-systems/immunochromato-reader-Lateral-flow-reader/immunochromatography.html>

79. Institute of Medicine (US). Appendix A Glossary and Acronyms. In: Burroughs T, Knobler S, Lederberg J, editors. The Emergence of Zoonotic Diseases [Internet]. Washington DC: National Academies Press (US); 2002 [citado 23 enero 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98100/>

ANEXOS

1. Protocolo de bioseguridad en el desarrollo de la investigación.

PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD EN PREVENCIÓN DEL COVID-19

INTRODUCCIÓN

El Director General de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el doctor Tedros Adhanom Ghebreyesus, anunció el 11 de marzo de 2020 que la nueva enfermedad por el coronavirus 2019 (COVID-19) puede caracterizarse como una pandemia.

El nuevo coronavirus (COVID-19), causado por el SARS-CoV-2, es una cepa no identificada previamente en humanos, que se propaga de persona a persona, a través de gotitas o partículas acuosas que se quedan en el ambiente al toser o estornudar, o al tener contacto con personas contagiadas.

En los casos confirmados con el COVID-19, el 80% de los infectados se recupera sin acceder a ningún tratamiento especial. Sin embargo, 1 de cada 6 personas lo desarrollan en nivel grave con dificultades al respirar y al 2% les causó la muerte.

En tal sentido, nuestro país siendo uno de los más afectados por esta pandemia, atraviesa uno de los momentos más duros en su historia, donde conservar la salud y la economía son objetivos primordiales de todas las familias.

Los distintos países en el mundo, afectados por esta pandemia, han establecido medidas para reducir al mínimo el contacto social (restricciones laborales, aislamiento social, etc.) con la finalidad de reducir el riesgo de contagio de COVID19 en su población.

Objetivo

Establecer las medidas preventivas sanitarias que se deben cumplir para evitar la propagación de la enfermedad en las personas involucradas en el presente estudio mitigando los factores de riesgo para garantizar el correcto desarrollo de la misma.

Riesgo

Por la naturaleza de la misma, la investigación tiene un riesgo medio. En consecuencia, para la ejecución de la presente, el protocolo de bioseguridad para los propietarios que llevan los canes a la veterinaria y el personal que labora en la veterinaria y laboratorio, según sea el caso, será el siguiente:

1. Visitas a la veterinaria

Por parte del personal de la veterinaria y laboratorio.

- a. Usar en todo momento y correctamente el uniforme en la veterinaria y laboratorio.
- b. Usar en todo momento doble mascarilla, asegurándose de cubrir nariz y boca.
- c. Uso de protector facial durante la toma de muestra.
- d. Uso de guantes de látex para la toma de muestra.
- e. Uso de alcohol al 70 % para la desinfección de manos.
- f. El investigador deberá desinfectar el área donde se hará la toma de muestra.
- g. Mantener como mínimo una distancia de dos metros (02 metros) entre el investigador y propietario.

Por parte del propietario

- a. Uso de doble mascarilla al ingresar a la veterinaria.
- b. Uso de protector facial durante y al finalizar la labor del investigador.
- c. Mantener una distancia como mínimo de dos metros (02 metros) entre el investigador y propietario en todo momento.
- d. Evitar la presencia innecesaria de familiares en la zona de trabajo del investigador.

Por parte del jurado evaluador

Se aplicarán las mismas medidas que el investigador del trabajo cuando se realicen visitas de supervisión.

2. FICHA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, identificado con DNI
 No....., con domicilio legal en
, con N° de celular y en
 calidad de propietario responsable del canino de nombre,
 edad

DECLARO QUE:

He sido invitado para que mi perro participe en la presente investigación, habiendo sido informado en forma detallada el procedimiento a realizar durante la toma de muestra para el uso del Kit de prueba Anigen Rapid E. canis Ab para el diagnóstico de Ehrlichia canis, y estando conforme AUTORIZO voluntariamente, a que mi mascota participe en la misma.

Firmo la presente en constancia a lo mencionado líneas arriba.

 Propietario

DNI N°

Ciudad de Chimbote,de.... del 202....

3. FICHA CLÍNICA

DATOS DEL PACIENTE		
NOMBRE:	SEXO:	COLOR:
ESPECIE:	EDAD:	
RAZA:	PESO:	
DATOS DEL PROPIETARIO		
NOMBRE:	TELEFONO:	DIRECCION:
CONSTANTES FISIOLÓGICAS		
T°:	FR:	TLLC:
FC:	PULSO:	
ANAMNESIS		
DX. PRESUNTIVO:		
PRUEBAS DE LABORATORIO:		
DX. FINAL:		

4. Anigen Rapid *E. canis* Ab Test Kit

Información general

Objetivo: Detección del anticuerpo de *Ehrlichia Canis*.

Principio: Ensayo de inmunocromatografía.

Muestra: Sangre entera, plasma y suero.

Materiales:

- Dispositivos para prueba rápida Anigen *E. canis* Ab.
- Tubos con anticoagulante.
- Tubos de ensayo con diluyente.
- Tubos capilares desechables.

Características especiales:

- Procedimiento de un solo paso: Rápido y preciso.

Alta sensibilidad y especificidad

- **Sensibilidad:** 97,6 % vs. IFA.
- **Especificidad:** 99,0 % vs. IFA.



Procedimiento:

