



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
BIOLÓGICAS

CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis*,
mediante una prueba diagnóstica rápida en un consultorio
veterinario de Lima entre los meses de enero a marzo del
2019”

Tesis para optar el título profesional de:
Médico Veterinario Zootecnista

Presentado por:

Jocelyne Nicole Galarreta Bezancon (0000-0002-4668-5186)

Asesor:

Eglinton Rubén Villacaqui Ayllón (0000-0001-7819-4528)

Lima – Perú

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 03 de diciembre del 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE
Miembro: M.V. EVA CONSUELO CASAS ASTOS
Miembro: M.V. JESUS ALBERTO CHANAME PARRAGUEZ

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

"FRECUENCIA DE CANES CON ANTICUERPOS CONTRA *Ehrlichia canis*, MEDIANTE UNA PRUEBA DIAGNÓSTICA RÁPIDA EN UN CONSULTORIO VETERINARIO DE LIMA ENTRE LOS MESES DE ENERO A MARZO DEL 2019"

Presentada por la bachiller:

JOCELYN NICOLE GALARRETA BEZANCON

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario y Zootecnista**

Aseorada por: **M.V. EGLINTON RUBEN VILLACAQUI AYLON**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la bachiller de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple (--) calificar a:

Tesis: JOCELYN NICOLE GALARRETA BEZANCON		Nota (en letras): Dieciocho	
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE
Presidente



M.V. EGLINTON RUBEN VILLACAQUI AYLON
Asesor



M.V. EVA CONSUELO CASAS ASTOS
Miembro 1



M.V. JESUS ALBERTO CHANAME PARRAGUEZ
Miembro 2

Frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, mediante una prueba diagnóstica rápida en un consultorio veterinario de Lima entre los meses de enero a marzo del 2019

Frequency of dogs with antibodies against *Ehrlichia canis*, through a rapid diagnostic test in a veterinary clinic in Lima between the months of January to March 2019

Jocelyne Nicole Galarreta Bezancon¹

RESUMEN

La ehrlichiosis canina es conocida como una enfermedad infecciosa importante de distribución mundial; en el Perú fue reportada en el año 1982, teniendo una prevalencia de 16.5% en la ciudad de Lima. Es potencialmente mortal para los caninos debido a que presentan signos clínicos inespecíficos y además genera daños severos en los animales infectados. Es generada por la bacteria intracelular *Ehrlichia canis*, esta enfermedad es transmitida por la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio retrospectivo para determinar la frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis* atendidos en una clínica veterinaria de Lima. Con este fin se utilizaron datos de historias clínicas entre los meses de enero a marzo del 2019, los cuales fueron agrupados según raza, sexo, edad, historial de garrapatas, tipo de pelaje, uso de antiparasitario externo y analizados mediante la prueba de Chi cuadrado, Shapiro- Wilk y Kolgomorov-Smirnov para determinar la asociación entre las variables. Se determinó que la frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis* fue de 15.57% (33/212). Los factores de riesgo asociados con la enfermedad fueron historial de garrapatas con un 69.79% (23/33) y uso de antiparasitario externo 63.64% (21/33) los caninos que recibieron antiparasitario de 30 a 90 días, 24.24% (8/33) antiparasitario de 90 días a más y 12.12% (4/33) antiparasitario mensual. El sexo de los canes, edad y tipo de pelaje no presentaron relación con el diagnóstico de anticuerpos de *Ehrlichia canis*.

Palabras clave: *Ehrlichia canis*, Ehrlichiosis monocítica canina, Anticuerpos, Canes

ABSTRACT

Canine ehrlichiosis is known worldwide as a very important and potentially fatal infectious disease, in Peru it was reported in 1982, having a prevalence of 16.5% in the city of Lima. It is potentially lethal for canines due to the fact that it shows nonspecific clinical signs and it also causes severe damage in infected animals. It's caused by *Ehrlichia canis* and transmitted by the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. The objective of this retrospective study was to determine the frequency of dogs with antibodies against *Ehrlichia canis* that were treated in a veterinary clinic in Lima. For this reason, data obtained from medical records between the months of January to March of 2019. The data were grouped by breed, sex, age, history of ticks, type of coat (short hair breed and long hair breed), use of external antiparasitic and was analyzed using the Chi-square test, Shapiro-Wilk and Kolgomorov-Smirnov to determine the association between the variables. The frequency of canines with antibodies against *Ehrlichia canis* was 15.57% (33/212). The risk factors associated with the disease were a history of ticks with 69.79% (23/33) and the use of external antiparasitic with 63.64% (21/33). The canines that received external antiparasitic from 30 to 90 days, 24.24% (8/33) from 90 days to more and 12.12% (4/33) monthly.

Key word: *Ehrlichia canis*, Canine monocytic ehrlichiosis, Antibodies, Canine

¹Universidad Científica del Sur

INTRODUCCIÓN

La Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) es una enfermedad infecciosa ocasionada por la bacteria *Ehrlichia Canis* reportada por Donatien y Lestoquard en el país de Argelia en el año 1935. Ellos observaron una bacteria tipo rickettsial en el interior de monocitos de canes denominándolo *Rickettsia Canis*, para luego ser nombrado en 1945 como *Ehrlichia canis* en honor al bacteriólogo Paul Ehrlich (López *et al.*, 2003). En nuestro país fue identificada en el año 1982, en perros de raza Pastor Alemán que fueron importados de EEUU para la policía Nacional (Hoyos, 2005).

El agente causal es una bacteria gram negativa, intracelular obligada, pleomórfica del género *Ehrlichia* (orden *Rickettsiales*, familia *Anaplasmataceae*) (Ferrovalho *et al.*, 2016) la cual infecta células mononucleares (monocitos y linfocitos) formando agregados intracitoplasmáticos unidos a la membrana, llamados mórulas (Mylonakis y Theodorou, 2017). Se transmite por la picadura de garrapatas del tipo *Rhipicephalus sanguineus* (Dantas-Torres, 2008).

Ehrlichia canis tiene un período de incubación de 8-20 días (Atanaskova., *et al.*, 2018), se divide en tres fases: aguda, subclínica y crónica (Neer *et al.*, 2002). Los signos clínicos de la enfermedad son diversos, pero con mayor frecuencia se presentan depresión, anorexia, pirexia, epistaxis, petequias y equimosis (Skotarczak, 2003). Dentro de las alteraciones hematológicas, la trombocitopenia es el hallazgo más común en la ehrlichiosis monocítica canina (Perez *et al.*, 1996)

El diagnóstico de ehrlichiosis canina se define en base a la anamnesis, hallazgos patológicos al examen clínico y se confirma con las pruebas de laboratorio (Harrus y Waner, 2011) como la técnica de inmunocromatografía directa, prueba de tipo cualitativa con una sensibilidad de 97.6 % y especificidad de 99.0% (Bionote, 2015), detecta anticuerpos de *E. canis* dando un resultado positivo, negativo o inválido (Martínez, 2015)

Si durante la exploración clínica al paciente presenta garrapatas o el conocimiento de una infestación previa en un animal enfermo o sano es suficiente para sugerir una probable infección por *Ehrlichia canis*, en especial, en áreas con una alta tasa de prevalencia (Woody y Hoskins, 1991). La presencia del artrópodo *Rhipicephalus sanguineus* tiene mayor impacto en épocas cálidas como el verano debido a que el ciclo biológico va a depender de la temperatura y humedad; lo ideal es un rango de temperatura de 20 °C a 30° C mientras que la humedad puede ser desde 20% a 90%. (Siadén, 2017).

En estos últimos años, se encontró una seroprevalencia del 16.5% para *Ehrlichia canis* en tres distritos de Lima (Jorge Adrianzén *et al.*, 2003), en la Reserva Nacional de Paracas–Ica 20.7% (Velásquez, 2008), en Sullana-Piura hasta de 76% (San Miguel, 2006), en Talara–Piura 70% (Carpio, 2008) y en la provincia de Huánuco 51,3% (Huerto y Dámaso, 2015).

Existen varias cepas que circulan en el interior del país, como la cepa oklahoma y la cepa europea (Hoyos, 2005), esto generaría la posibilidad que el Test Rápido Anigen para *E. Canis A* ® no detecte específicamente *Ehrlichia canis*.

Hoyos Sifuentes (2005) indica que las investigaciones sobre enfermedades vectoriales son de alta consideración en nuestro país, sobre todo por la amplia distribución de agentes con potencial zoonótico sobretodo de aquellos vectores biológicos que contribuyen en su propagación (p.83). Por esta razón, se llevó a cabo el presente estudio para determinar la frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis* atendidos en una clínica veterinaria de Lima durante los meses de enero a marzo del 2019 y analizar si presenta asociación estadística significativa ($p > 0.05$) con las variables sexo, edad, tipo de pelaje (raza de pelo largo y raza de pelo corto), frecuencia de aplicación de antiparasitario externo e historial de garrapatas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de Historias Clínicas

Se hizo un estudio retrospectivo de casos de ehrlichiosis canina en la Clínica Veterinaria Rondón ubicada en el distrito de Santiago de Surco, Lima-Perú. En esta investigación se revisaron 212 historias clínicas entre los meses de enero a marzo del 2019 de caninos sin distinción en raza, sexo y mayores de 4 meses de edad que no hayan sido diagnosticados ni haber recibido tratamiento contra *Ehrlichia Canis*, además se verificó que las historias clínicas tengan información sobre historial de garrapatas y aplicación de antiparasitario externo.

Obtención y procesamiento de la muestra

Las historias clínicas revisadas fueron autorizadas por el responsable de la clínica veterinaria, manteniendo los datos de reserva del paciente y propietario; los datos fueron proporcionados solo para los fines de investigación del presente trabajo. Los canes fueron manejados bajo criterios estrictos de bienestar animal considerando una adecuada sujeción y manejo de vía aérea sin generar estrés a la mascota. Para esto el personal procuró tomar la muestra en un ambiente tranquilo, sin ruidos excesivos con ayuda de personal calificado, de esta manera se garantizó que los canes no sufran maltrato durante el procedimiento de sujeción y toma de muestra.

El Médico Veterinario responsable siguió detalladamente el procedimiento sugerido por el laboratorio BIONOTE para Test Rápido Anigen para E. Canis Ab ® teniendo los resultados de la prueba a los 20 minutos.

Los datos colectados se transfirieron a una tabla en Excel separando los distintos factores relacionados con la presentación de ehrlichiosis de la siguiente manera: raza de pelo largo, raza de pelo corto sexo, edad, historia de garrapatas y frecuencia de aplicación de antiparasitario externo.

Análisis estadístico

Se analizaron las variables sexo, tipo de pelaje, uso de antiparasitario externo e historial de garrapatas mediante la prueba de Chi 2, la cual nos indicó si hubo o no asociación estadística entre la seropositividad de *Ehrlichia canis* y las variables anteriormente mencionadas.

La variable edad al ser cuantitativa continua escala de razón se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la distribución no normal la cual nos permitió utilizar la prueba Kolgomorov–Smirnov de dos muestras para evaluar si la mediana de la edad de los grupos evaluados de diagnósticos de *Ehrlichia canis* son iguales ($p>0.05$).

RESULTADOS

La frecuencia de ehrlichiosis canina hallada en el presente estudio en un consultorio veterinario en Lima fue de 15.57% (33/212) (Cuadro 1)

Cuadro 1. Número de casos positivos a anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en caninos atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

Diagnóstico de <i>Ehrlichia canis</i>	Caninos muestreados	%
Positivos	33	15.57
Negativos	179	84.43
Total	212	100

En cuanto a la presentación de la enfermedad asociado al factor de riesgo sexo (Cuadro 2), edad (Cuadro 3) y tipo de pelaje (Cuadro 4) se halló que no hay asociación estadística significativa ($p > 0.05$) con el diagnóstico de *Ehrlichia canis*.

Cuadro 2. Número de casos positivos a anticuerpos contra *Ehrlichia canis* según sexo en caninos atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

		Macho	Hembra	Total
Positivo	n	20	13	33
	%	60.61	39.39	100
Negativo	n	100	79	179
	%	55.87	44.13	100
Total	n	120	92	212
	%	56.6	43.4	100

Cuadro 3. Edad de caninos evaluados a anticuerpos contra *Ehrlichia canis* atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

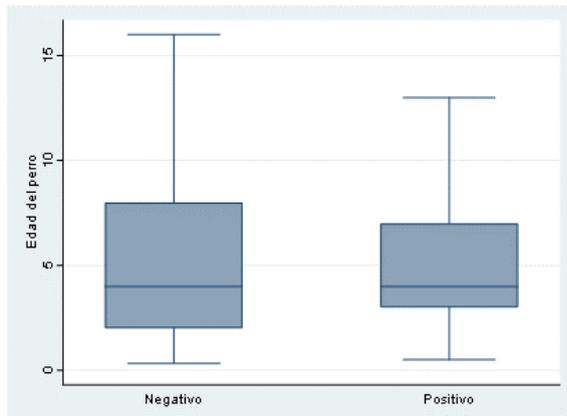
Estadísticos	Diagnóstico		Total
	Positivo	Negativo	
Media	5.24	5.20	5.21
D.E.	3.83	4.1	4.05
Mediana	4	4	4
C.V.	0.73	0.79	0.78
Edad*			
Mínima	0.5	0.33	0.33
Máxima	13	16	16

D.E. : Desviación estándar

C.V. : Coeficiente de variación

*Edad en años

Figura 1. Dispersión de la edad según diagnóstico de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.



Cuadro 4. Número de casos positivos contra *Ehrlichia canis* según tipo de pelaje (raza pelo corto y raza pelo largo) en caninos atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

		Pelo Corto	Pelo Largo	Total
Positivo	n	15	18	33
	%	45.45	54.55	100
Negativo	n	82	97	179
	%	45.81	54.19	100
Total	n	97	115	212
	%	45.75	54.25	100

Se encontró que los 33 caninos que tuvieron resultados positivos, el 60.60% (20/33) fueron machos y el 39.39% (13/33) fueron hembras, 54.54% (18/33) fueron caninos con pelo largo y 45.45% (15/33) caninos de pelo corto, se observó que el promedio de edades de perros evaluados es 5.2 años, con una desviación estándar de 4.1, la mediana de las edades es 4 años; siendo la edad mínima de los canes 4 meses y la edad máxima 16 años (Figura 1).

En relación a la presentación de la enfermedad asociado al factor de riesgo uso de antiparasitario externo e historial de garrapatas (cuadro 6) se observó que hay asociación estadística significativa ($p > 0.05$) con el diagnóstico de *Ehrlichia canis*.

Cuadro 6. Número de casos positivos a anticuerpos contra *Ehrlichia canis* según uso de antiparasitario externo en caninos atendidos en una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

		< 30 días	30 a 90 días	> 90 días	Total
Positivo	n	4	21	8	33
	%	12.12	63.64	24.24	100
Negativo	n	137	37	5	179
	%	76.54	20.67	2.79	100
Total	n	141	58	13	212
	%	66.51	27.36	6.13	100

Se encontró que de los 33 caninos que fueron positivos el 69.79% (23/33) tuvieron historial de garrapatas y el 30.30% (10/33) no tuvieron historial de garrapatas (Cuadro 6), 63.64% (21/33) recibieron antiparasitario de 30 a 90 días, 24.24% (8/33) antiparasitario de 90 días a más y 12.12% (4/33) antiparasitario mensual (Cuadro 7)

Cuadro 7. Número de casos positivos a anticuerpos contra *Ehrlichia canis* según historial de garrapatas en caninos atendidos una Clínica Veterinaria de Lima entre los meses de enero a marzo del año 2019.

Resultado		Historial		Total
		Si	No	
Positivo	n	23	10	33
	%	69.7	30.3	100
Negativo	n	28	151	179
	%	15.64	84.36	100
Total	n	51	161	212
	%	24.06	75.94	100

DISCUSIÓN

Adrianzen et al., (2003) afirma en su investigación realizada entre los meses de febrero y marzo del año 2001, que la prevalencia encontrada en Lima fue de 16.5%. Si se considera este valor como referencia para Lima y se compara con los resultados encontrados en esta investigación, donde la seroprevalencia de ehrlichiosis canina fue de 15.57% (33/212), la incidencia de la enfermedad se sigue manteniendo a lo largo de los años, esto posiblemente se deba al trabajo de los Médicos Veterinarios al educar y concientizar a los propietarios de los canes sobre la importancia del uso de antiparasitarios externos y la tenencia responsable de mascotas.

La seroprevalencia hallada en la presente investigación difiere con los encontrados por Villaverde (2017) en Maynas-Iquitos donde se determinó la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* mediante inmunocromatografía obteniendo una seroprevalencia de 60%; además San Miguel (2006) encontró una seroprevalencia de 76% en Sullana-Piura y Pinedo (2018) en Tumbes 67,30%. Estas seroprevalencias altas pueden ser debido a las altas temperaturas tanto de Iquitos, Piura y Tumbes donde el promedio es de 28°C (máxima 34°C y mínima 22°C) y la humedad ambiental oscila entre 46 % y 90%, (SENAMHI); por lo tanto, el vector encontraría un clima propicio para su reproducción generando que el ciclo biológico sea más corto.

Respecto al sexo, en este estudio no se encontró diferencia significativa entre machos y hembras, al igual que los estudios de Pinedo (2018) y Hoyos (2005). A pesar de esto, la tendencia de seropositividad fue mayor en machos esto podría deberse al marcaje territorial que presentan, generando que el área de desplazamiento sea mayor por lo tanto tendrían mayor probabilidad de tener contacto con el vector. Sin embargo, Silva *et al* (2010) y Weinborn *et al.* (2012) sostienen que la inmunodepresión de las hembras durante el celo, preñez o el parto puede favorecer el riesgo de infección por *Ehrlichia canis*.

Para la edad Mathewman *et al.*, (1993), Harrus *et al.*, (1997), Hoyos Sifuentes (2003) y Navarrete *et al.*, (2018) indican en estudios anteriores que no existe asociación entre la edad y la presencia de *Ehrlichia canis*. Rodríguez-Vivas *et al.*, (2005) determinó estadísticamente que los canes mayores a 2 años presentaron asociación a padecer la enfermedad alegando que el estado inmune, así como la mayor exposición al vector puede explicar el mayor número de casos. En el presente trabajo no se encontró dicha asociación lo que sugiere que los perros de todas las edades tienen las mismas posibilidades de contagiarse y poder contraer la ehrlichiosis canina. Estos hallazgos pueden ser relacionados a que actualmente no existe vacuna contra *Ehrlichia canis* por lo que todos los perros sean cachorros, adultos o gerontes tienen las mismas probabilidades de contagiarse.

Asimismo, con el tipo de pelaje, se hizo una investigación en el año 2008 en la Habana Cuba, en el que se estudio la seropositividad por razas donde se encontró al pastor alemán con la mayor frecuencia de presentación, seguido del labrador retriever y el cocker spaniel (León *et al.*, 2008). Esto quiere decir que no hay predilección de la garrapata por perros de pelo corto (Pastor Alemán y Labrador) o pelo largo (cocker spaniel); esto se debe a que las garrapatas encuentran a sus anfitriones u hospederos al detectar el aliento de los animales y los olores corporales, o al sentir el calor corporal, la humedad y las vibraciones (Centers for Disease Control and Prevention, 2020) para realizar su ciclo biológico, el cual consiste en su pronta reproducción, para que de esta manera se repita el ciclo biológico (Siadén, 2017).

Las dos variables que resultaron ser significativas estadísticamente ($p < 0.05$) fueron historial de garrapatas y uso de antiparasitario. La significancia estadística encontrada en historial de garrapatas al igual que las investigaciones realizadas por Villaverde (2017) en Iquitos y Hoyos (2005) en Lima. Estos hallazgos demuestran que el artrópodo, *Rhipicephalus sanguineus*, tiene relación directa con la presencia de la ehrlichiosis canina. Según Woody y Hoskins (1991) una infestación previa en un animal enfermo o sano es suficiente para sugerir una probable infección por *Ehrlichia canis*, en especial, en áreas con una alta tasa de prevalencia (p.81), como en Lima Metropolitana, que tiene una prevalencia del 16.5% en el año 2002 (Jorge Adrianzén *et al.*, 2003).

El control de garrapatas en perros es importante para reducir las infestaciones, disminuir el riesgo de transmisión de patógenos y limitar las poblaciones de garrapatas en el medio ambiente (Allen, *et al.* 2020). Además, Fourie *et al.*, (2013) realizaron un estudio donde demostraron que el uso de antiparasitario externo mensual disminuye drásticamente las infestaciones de garrapatas, específicamente evaluaron a *Rhipicephalus sanguineus*.

Contrastando esta información con el estudio que se realizó, del total de pacientes que resultaron positivos el 63.64% (21/33) recibieron antiparasitario externo entre 30 a 90 días el 24.24% (8/33) fueron caninos que recibieron de 90 días a más y por último 12.12% (4/33) los pacientes que recibieron mensualmente antiparasitario. Esto quiere decir que el diagnóstico de Ehrlichiosis está relacionado al uso de antiparasitario; cumplir con un rol mensual disminuye la probabilidad de infestación del vector lo que también disminuye la infección de *Ehrlichia canis*.

Actualmente hay dos cepas de *Ehrlichia canis* circulando en Perú, la cepa Oklahoma y la cepa Europea (Hoyos, 2015); esto podría generar que las pruebas rápidas, como el ensayo inmunocromatográfico, tengan resultados falsos negativos. Aunque el laboratorio indica que esta prueba tiene una alta especificidad de 99% y sensibilidad de 97.6% (Laboratorio Bionote, 2015)

En el año 2013 en Lima - Perú se encontró que el 14,3% de propietarios de caninos domésticos con antecedentes de Ehrlichiosis resultaron seropositivos a *Ehrlichia canis* (Barrios *et al.*, 2013). Es por eso la importancia del Médico Veterinario en para educar a los propietarios de mascotas sobre el vector y la relevancia enfermedad para la salud pública. Es importante el uso correcto de antiparasitario externo para disminuir la probabilidad de contagio con el vector, revisar de manera rutinaria a las mascotas para detectar garrapatas porque pueden llevarlas al hogar, lo que aumentaría el riesgo de exposición humana.

CONCLUSIONES

- La frecuencia de canes con anticuerpos contra *Ehrlichia canis* atendidos en un consultorio veterinario de Lima Metropolitana durante los meses de enero a marzo del 2019 fue de 15.57% (33/212).
- El sexo de los canes, edad y tipo de pelaje no presentaron asociación estadística significativa ($p > 0.05$) con el diagnóstico de anticuerpos de *Ehrlichia canis*.
- El uso de antiparasitario externo e historial de garrapatas presentaron asociación estadística significativa ($p > 0.05$) con el diagnóstico de anticuerpos de *Ehlichia canis*

LITERATURA CITADA

1. Adrianzén J, Chávez A, Casas E, Li O. (2003). Seroprevalencia De La Dirofilariosis Y Ehrlichiosis Canina En Tres Distritos De Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 14(1), 43–48
2. Allen, K., Little, S., Petersen, M., Gruntmeir, J., Barrett, A., Herrin, B., Starkey, L., Sun, F., & Guerino, F. (2020). Evaluation of oral fluralaner (Bravecto®) for efficacy against nymphs of *Amblyomma americanum* and *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & vectors*, 13(1), 315.
3. Atanaskova E, Ulcar I, Celeska I, Ilievska K, Spasovska P, Novakov T, Krstovski K, Dovenski T y Stefanovska J. (2018). Effects of doxycycline treatment on hematological and blood biochemical parameters in dogs naturally infected with *Ehrlichia Canis*. *Mac Vet Rev*, 41 (1): 99-105.
4. Barrios, L., Lí, O., Suárez, F., Manchego, A., & Hoyos, L. (2013). 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*, 24(1), 64-71.
5. Bionote inc, (2015). Anigen Rapid, E. Canis Ab.
6. Carpio L. (2008). Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en caninos domésticos infestados con garrapatas en el distrito de Máncora, Piura. (Tesis de Médico Veterinario Zootecnista): Univ. Peruana Cayetano Heredia.
7. Centers for Disease Control and Prevention. (26 de marzo de 2020) How ticks spread disease. https://www.cdc.gov/ticks/life_cycle_and_hosts.html
8. Dantas-Torres F. (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary parasitology*, 152(3-4), 173–185.
9. Ferrolho, J., Simpson, J., Hawes, P., Zwegarth, E., & Bell-Sakyi, L. (2016). Growth of *Ehrlichia canis*, the causative agent of canine monocytic ehrlichiosis, in vector and non-vector ixodid tick cell lines. *Ticks and tick-borne diseases*, 7(4), 631–637.
10. Fourie, J., Ollagnie, C., Beugnet, F., Luus, H., Jongejan, F. (2013). Prevention of transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* tick to dogs treated with combination of fipronil, amitraz and (S)-methoprene (CERTIFECT). 193, 223-228.
11. Groves, M. G., Dennis, G. L., Amyx, H. L., & Huxsoll, D. L. (1975). Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *American journal of veterinary research*, 36(7), 937–940.
12. Harrus, S., & Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*, 187(3), 292–296.
13. Harrus, S., Kass, P. H., Klement, E., & Waner, T. (1997). Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *The Veterinary record*, 141(14), 360–363.
14. Hoyos S. (2005). Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de elisa en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis Canina. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
15. Huerto E y Dámaso B. (2015). Factores asociados a la infección por *Ehrlichia Canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(4), 756-760.
16. León, A., Demedio, J., Marquez, M., Castillo, E., Perera, A., Zuaznaba, O., Canibal, J., Gonzales, B., Reynaldo, L., Vega, N., Blanco, D., Ronda, M., Peña, A., y Seija, V. (2008). Diagnóstico de Ehrlichiosis en caninos en la ciudad de La Habana. *Revista electrónica de Ciencias Veterinarias*, 3(5), 1-18.
17. López D, Javier, Rivera S, Marisol, Concha G, Juan Carlos, Gatica Q, Silvana, Loeffeholz, Mike, & Barriga V, Omar. (2003). Ehrlichiosis humana en Chile: evidencia serológica. *Revista médica de Chile*, 131(1), 67-70.
18. Matthewman, L. A., Kelly, P. J., Mahan, S. M., Semu, D., Tagwira, M., Bobade, P. A., Brouqui, P., Mason, P. R., & Raoult, D. (1993). Western blot and indirect fluorescent antibody testing for antibodies reactive with *Ehrlichia canis* in sera from apparently healthy dogs in Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association*, 64(3), 111–115.

19. Martínez Castro, D. (2015). Comparación de frotis sanguíneo y serología como métodos de diagnóstico en Ehrlichiosis canina. Universidad de la Salle, Bogota-Colombia.
20. Mylonakis M, Theodorou K. (2017). Canine Monocytic Ehrlichiosis: An update on diagnosis and treatment. *Acta Veterinaria-Beograd*, 67 (3), 299-317.
21. Navarrete, M. G., Cordeiro, M. D., Silva, C. B., Massard, C. L., López, E. R., Rodríguez, J., Ribeiro, C., Rodríguez, O. F., & Fonseca, A. H. (2018). Serological and molecular diagnosis of *Ehrlichia canis* and associated risk factors in dogs domiciled in western Cuba. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 14, 170–175.
22. Neer, T. M., Breitschwerdt, E. B., Greene, R. T., & Lappin, M. R. (2002). Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 16(3), 309–315.
23. Perez, M., Rikihisa, Y. & Wen, B. (1996). *Ehrlichia canis* -Like Agent Isolated from a Man in Venezuela: Antigenic and Genetic Characterization. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9), 2133–2139.
24. Pinedo K, (2018). Prevalencia de Anticuerpos de *Ehrlichia canis*, determinado por ensayo inmunocromatográfico, en *Canis Lupus Familiaris* del caserío de “Pechical” – Tumbes (Tesis de Médico Veterinario): Universidad Nacional de Tumbes.
25. Rodriguez-Vivas, R. I., Albornoz, R. E., & Bolio, G. M. (2005). *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary parasitology*, 127(1), 75–79.
26. San Miguel S, (2006). Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la provincia de Sullana-Piura (Tesis de Médico Veterinario): Univ. Alas Peruanas.
27. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). <https://www.senamhi.gob.pe/?p=pronostico-meteorologico>
28. Siadén M. (2017). Perfil de las proteínas sanguíneas en perros positivos con *Ehrlichia Canis* Agosto 2015. Febrero 2016, Ciudad de Chiclayo Departamento de Lambayeque. Tesis de Médico Veterinario. Lambayeque: Univ. Nac. Pedro Ruiz Gallo. 23 p.
29. Silva, J., Ferreira, A., Cruz, E., Goncalves, A., Ferreira, L., Moura, D., Franco, V. (2010). Seroprevalencia de anticuerpos anti- *Ehrlichia canis* en canes de Cuiabá, Mato Grosso. *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria*. 19(2), 108-111.
30. Skotarczak, B. (2003). Canine Ehrlichiosis. *Ann Agric Environ Med*, 10, 137–141.
31. Velásquez T. (2008). Evidencia Serológica de *Ehrlichia canis* en los Caninos Domésticos de la Reserva Nacional de Paracas. (Tesis de Médico Veterinario Zootecnista) Lima: Univ. Peruana Cayetano Heredia.
32. Villaverde C. (2017). Evidencia serológica de *Ehrlichia spp.* en canes con cuadros de trombocitopenia en Iquitos. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia
33. Weinborn, R., Toro, I., Leporati, M. y Castillo, D. (2012) Hallazgos serológicos de *Ehrlichia spp.* en caninos de la ciudad de Talca, Chile. *Hospitales Veterinarios*. 4(2), 29-35
34. Woody, B. J., & Hoskins, J. D. (1991). Ehrlichial diseases of dogs. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 21(1), 75–98.