



Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas
Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE
EHRlichiosis CANINA ASOCIADO A FACTORES DE
RIESGO DURANTE LOS MESES DE VERANO FEBRERO Y
MARZO DEL AÑO 2019 EN EL DISTRITO DE CHORRILLOS,
LIMA, PERÚ”**

Tesis para Optar el Título Profesional de:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Presentado por:
Bach. GIACOMO MARTÍN ESPICHAN HERRERA

LIMA-PERÚ
2019

Acta de Sustentación de Tesis

Siendo las 14:00 horas del 15 de Julio de 2019, en el Aula M 201 (Campus Villa II), bajo la presencia del jurado examinador nombrado por **Resolución Directoral Académica de Carrera N° 055-DACMVZ-DAFCVB-U. CIENTÍFICA-2019**, presidido por la Mg. Nancy Gamboa Barrón, M.V. Eric León Misha, M.V.Z. Gino Montoya Arauco y la M.V. Eva Consuelo Casas Astos como Director – Observador. Se procedió en acto público a la sustentación de la tesis titulada: **"DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE EHRlichiosis CANINA ASOCIADO A FACTORES DE RIESGO DURANTE LOS MESES DE VERANO FEBRERO Y MARZO DEL AÑO 2019 EN EL DISTRITO DE CHORRILLOS, LIMA, PERÚ"**.

La presidente concedió el uso de la palabra al Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia **Espíchan Herrera Giacomo Martín**, para la sustentación de su tesis. Luego de la exposición, el bachiller absolvió las preguntas del Jurado y del público asistente.

El Jurado acordó otorgarle la nota de:

Dieciachut (18)

La presidente del Jurado dio por culminado el acto de sustentación y levantó la sesión a las 15:00hrs.


Mg. Nancy Gamboa Barrón
Presidente


M.V. Eric León Misha
Miembro


M.V.Z. Gino Montoya Arauco
Miembro


M.V. Eva Consuelo Casas Astos
Director - Observador

008-2019

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a mi tía Vicky y a mis padres por brindarme su apoyo durante todos los años de estudios universitarios, por ser el motor que me impulsa a ser cada día mejor persona y mejor profesional. Mis logros y triunfos siempre serán los de ellos.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento para todas las personas e instituciones que colaboraron en la elaboración del presente trabajo de investigación, quienes en todo momento me brindaron su apoyo para la recolección de muestras, aportaron con algunos datos y entendieron que la esencia de este trabajo es contribuir a la mejora de la salud de nuestras mascotas. Mi agradecimiento especial a mi directora de tesis Eva Casas Astos por los consejos, aportes y múltiples correcciones durante toda la elaboración de mi tesis. También agradecer a mi enamorada Solange Maticorena por su incondicional apoyo durante todas las campañas veterinarias. Por último, agradecer a mis asesores por los consejos y aportes, y por orientarme en cada una de las etapas del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE GRAFICOS	4
ÍNDICE DE CUADROS	5
ÍNDICE DE ANEXOS	6
RESÚMEN	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	11
2.2. MARCO TEÓRICO	
2.2.1 Antecedentes.....	11
2.2.2. Agente etiológico.....	15
2.2.2.1. Taxonomía.....	15
2.2.2.2. Ciclo Biológico.....	18
2.2.3. Epidemiología.....	20
2.2.3.1. Epidemiología de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	20
2.2.3.2. Epidemiología del hospedero.....	21
2.2.3.3. Epidemiología del medio ambiente.....	22
2.2.3.4. Epidemiología de la enfermedad.....	22
2.2.4. Patogénesis de la enfermedad.....	24
2.2.5. Signos clínicos.....	26
2.2.6. Métodos diagnósticos.....	28
2.2.6.1. Diagnóstico laboratorial.....	28
2.2.6.2. Diagnóstico serológico.....	30
2.2.6.3. Diagnóstico molecular.....	33
2.2.7. Tratamiento.....	34

	Página
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1. Localización y ambiente.....	36
3.2. Diseño de investigación.....	38
3.3. Diseño experimental.....	38
3.4. Materiales de muestreo y procesamiento.....	39
3.5. Análisis de datos.....	40
3.6. Procedimiento metodológico.....	42
IV. RESULTADOS.....	46
V. DISCUSIÓN.....	57
VI. CONCLUSIONES.....	61
VII. RECOMENDACIONES.....	62
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
IX. ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Ciclo biológico de la garrapata <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	19
Figura 2. Mórula <i>Ehrlichia canis</i>	19
Figura 3. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> macho y hembra.....	21
Figura 4. Mapa de Chorrillos, Lima 2019.....	36
Figura 5. Temperatura de Chorrillos febrero y marzo de 2019.....	37
Figura 6. Materiales de muestreo.....	39
Figura 7. Procedimiento de toma de muestra de la vena cefálica.....	43
Figura 8. Procedimientos de apertura del kit Anigen Rapid <i>E.canis</i> Ab (a) y adición de sangre entera (b).....	44
Figura 9. Adición de diluyente (a) y procedimiento de espera de resultados (b) de sangre entera.....	45
Figura 10. Resultado negativo (a) y positivo (b) del kit Anigen Rapid <i>E.canis</i> Ab.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Página

Gráfico 1.	Seroprevalencia de ehrlichiosis canina en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019.....	46
Gráfico 2.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al sexo en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019.....	48
Gráfico 3.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la edad en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019.....	49
Gráfico 4.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en el animal, distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	50
Gráfico 5.	Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	51
Gráfico 6.	Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019.....	54
Gráfico 7.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a los canes con antecedentes de infestación por garrapatas en el distrito de Chorrillos. Febrero - marzo 2019.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1.	Seroprevalencia de ehrlichiosis canina asociado a factores de riesgo en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019	47
Cuadro 2.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al sexo en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019.....	48
Cuadro 3.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la edad en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	49
Cuadro 4.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en el animal, distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	50
Cuadro 5.	Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	51
Cuadro 6.	Odds Ratio de los seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	52
Cuadro 7.	Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	53
Cuadro 8.	Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a los canes con antecedentes de infestación por garrapatas en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019.....	55

ÍNDICE DE ANEXOS

Página

Anexo 1.	Encuesta de recolección de datos del paciente.....	73
Anexo 2.	Kit de <i>Ehrlichia canis</i> Anigen Rapid <i>E.canis</i> Ab.....	74
Anexo 3.	Consentimiento de toma de muestra sanguínea.....	74
Anexo 4.	Experiencia en las campañas veterinarias realizadas.....	75

RESUMEN

La ehrlichiosis canina se define como una enfermedad infecciosa de escala global transmitida por la garrapata denominada *Rhipicephalus sanguineus*, el cual genera daños severos en los animales infectados, como los canes domésticos, debido a que presentan una signología inespecífica. Por ello, en la siguiente investigación tuvo como objetivo determinar la frecuencia de animales seropositivos a ehrlichiosis canina, así como la asociación de factores de riesgo para la presentación de la enfermedad, la presencia de garrapatas en el animal y en el entorno, el medio ambiente donde habita el animal, antecedentes de infestación con garrapatas en el can, la edad y sexo. El estudio se realizó durante el verano durante el año 2019 en el distrito de Chorrillos. Con este fin se tomaron muestras de sangre a 45 canes seleccionados al azar, presentados voluntariamente por sus propietarios, las cuales fueron procesadas en los consultorios de las clínicas veterinarias, mediante el uso de un Kit veterinario especializado en el cual cuenta con una sensibilidad del 97.6% y especificidad del 99.0%, para dar a conocer la presencia de anticuerpos contra la bacteria *Ehrlichia canis*. La seroprevalencia hallada fue de 31.1% (14/45) en los canes muestreados, en donde el único factor de riesgo que se encontró relacionado estadísticamente fue el medio ambiente en el que vivía el can, es decir si habita dentro del hogar o expuesto al medio ambiente, hallado con una confianza del 95% y con un valor $p=0.003$ mediante la prueba Chi-Cuadrado; además presentó un Odds Ratio de 10.88. En conclusión, para el distrito de Chorrillos en el 2019, el factor de riesgo asociado a la presentación de la ehrlichiosis canina fue el medio ambiente en el que habita el can, teniendo un 10.88 veces mayor riesgo de generar la enfermedad al vivir expuesto al medio ambiente (fuera del hogar).

PALABRAS CLAVES: Seroprevalencia, ehrlichiosis, canes, factores de riesgo, Lima

ABSTRACT

Canine ehrlichiosis is defined as an infectious disease on a global scale transmitted by the tick called *Rhipicephalus sanguineus*, which causes severe damage to infected animals, such as domestic dogs, due to their non-specific signology. For that reason, in the following investigation it had as objective to determine the frequency of seropositive animals to canine ehrlichiosis, as well as the association of risk factors for the presentation of the disease, the presence of ticks in the animal and in the environment where the animal lives, history of infestation with ticks in the dog, the age and sex. The study was conducted during the summer months in the period of 2019 in the district of Chorrillos. For this purpose, blood samples were taken from 45 randomly selected dogs, voluntarily presented by their owners, which were processed in the veterinary clinics' offices, using a specialized veterinary kit with a sensitivity of 97.6% and specificity of 99.0%, to know the presence of antibodies against the bacterium *Ehrlichia canis*. The seroprevalence found was 31.1% (14/45) in the dogs sampled, where the only risk factor that was statistically related was the environment in which the dog lived, ie if it lives in the home or exposed to the environment, found with a confidence of 95% and with a value $p=0.003$ through the Chi-Square test, also presented an Odds Ratio of 10.88. In conclusion for the district of Chorrillos in 2019, the risk factor associated with the presentation of canine ehrlichiosis was the environment in which the dog lives, having a 10.88 times greater risk of generating the disease when living exposed to the environment (outside the home).

KEYWORDS: Seroprevalence, ehrlichiosis, dogs, risk factors, Lima

INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad que se ha distribuido por el mundo y afecta principalmente a los canes (Font *et al.*, 1988). Asimismo, se caracteriza por ser una enfermedad de carácter inmunodepresiva de los caninos domésticos, silvestres y de distribución mundial (Adrianzén, 2003). Por su parte, los síntomas varían y, en algunos casos, suele ser inespecíficos. No obstante, la principal sintomatología son: fiebre, exudación ocular y nasal, depresión en el animal, disminución del peso, agrandamiento del vaso y de los ganglios linfáticos. Además, un porcentaje de canes pueden generar lesiones en la piel, hemorragias, petequias y epistaxis, y lesiones en membranas mucosas (Neer, 2000; Waner y Harrus, 2000). Incluso, en los casos clínicos severos en los animales infectados pueden llegar a diseminarse a los pulmones, riñones y meninges provocando lesiones inflamatorias y vasculitis (Sainz *et al.*, 2000).

Es frecuente que la enfermedad se reporte en la época de verano debido al cambio climático. Por ello, la enfermedad se presenta durante las cuatro estaciones del año y con mayor frecuencia en climas húmedos; existiendo una mayor prevalencia de la ehrlichiosis canina en países con climas templados como el Perú donde la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*; también conocida como “garrapata marrón del perro”, tiene una alta prevalencia (Ettinger, 1992; Bustamante, 1998).

En consecuencia, surge la siguiente investigación tuvo como objetivo determinar la frecuencia de animales seropositivos a ehrlichiosis canina, así como la asociación de factores de riesgo para la presentación de la enfermedad, presencia de garrapatas en el animal y en el entorno, el medio ambiente donde habita el animal, antecedentes de infestación con garrapatas en el can, la edad y sexo durante los meses de verano en el distrito de Chorrillos para el año en curso.

Cabe destacar que, las garrapatas que son ectoparásitos portadores de la bacteria *Ehrlichia canis* generan la enfermedad ehrlichiosis canina.

De acuerdo a Adrianzén *et al.*, el año 2003 en las localidades de La Molina, San Juan de Miraflores y Chorrillos la prevalencia de *E. canis* fue de 16.5%. Luego, Sahurie 2016 realizó una investigación similar en Las Delicias de Villa de Chorrillos determinando que el 63% de 587 canes estaban infestados con *Rhipicephalus sanguineus* (Adrianzén *et al.*, 2003; Sahurie Boggio, 2016).

Sin embargo, existen escasos estudios de seroprevalencia en ehrlichiosis canina del distrito de Chorrillos, debido a que el estudio más reciente respecto a la prevalencia de la enfermedad en el distrito mencionado cuenta con 16 años de antigüedad, realizada por Adrianzen en el año 2003.

La información obtenida contribuye con el mapa epidemiológico de la misma y brinda nuevos datos para el registro nacional, así como conocer el grado asociación con algunos factores de riesgo. Adicionalmente, el mismo se considera como un aporte al conocimiento acerca de la prevalencia de la enfermedad y ayuda a concientizar sobre el peligro al que están expuestos los canes y los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de infectarse con la bacteria *Ehrlichia canis* transmitida por la garrapata.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Antecedentes

En 1996, en Castilla-León se realizó un estudio de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* a perros de la comunidad Autónoma de Castilla Y León. Se analizaron un total de 308 muestras de suero, colectadas entre enero de 1993 y mayo de 1994. Los resultados oscilan entre $19.2 \pm 2.24\%$ de seroprevalencia. La distribución de animales seropositivos no fue homogénea en las diferentes provincias; Salamanca tuvo la mayor seroprevalencia ($53.3 \pm 25.2\%$). En las localidades rurales se observó una prevalencia de 25.4 ± 8.1 ; en cambio, en las áreas urbanas (17.3 ± 5.9) y los perros de las perreras (9.5 ± 8.8). Los perros de guardia y pastoreo tenían una mayor seroprevalencia ($28.5 \pm 7.8\%$) que los perros de caza ($15.3 \pm 7.6\%$) y compañeros ($10.3 \pm 6.1\%$) (Sainz, 1996).

Por otro lado, a mediados de 1988 en la ciudad de Barcelona se presentaron 10 casos clínicos de ehrlichiosis canina en forma aguda. La presencia de *E. canis* vinculada a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, ixódido muy extendido en climas cálidos. En los meses de verano la incidencia de ehrlichiosis es mayor, coincidiendo con la máxima actividad de las garrapatas. Dado lo inespecífico de los signos: anorexia, depresión, fiebre, petequias, anemia, trombocitopenia, se requirió realizar el diagnóstico mediante pruebas objetivas como son la titulación de anticuerpos anti-*E. canis* (Font *et al.*, 1988).

Un estudio en donde se evaluó la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y su relación con parámetros clínicos y hematológicos, realizado en la ciudad de Ibagué examinaron clínicamente a 398 canes de diferentes clínicas, empleando un test de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para identificar anticuerpos para *E. canis*. Por último, se confirmó que no hubo asociación de la Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* con el sexo, edad y raza (Salazar *et al.*, 2014).

En Colombia, en la ciudad de Cali para el año 2008, se realizó un informe sobre *Ehrlichia canis* según su raza, sexo y edad de los perros, mediante el método ELISA para la detección de anticuerpos específicos contra *Ehrlichia canis*. Para ello, seleccionaron 101 muestras de sangre indicando como resultado que los caninos de raza labrador, Schnauzer y Poodle fueron las razas con mayor anticuerpos frente a

enfermedad. Los perros de raza Labrador fueron los más afectados por el parásito, así como los machos en edad adulta (Silva, 2008).

Asimismo, otro estudio realizado en Colombia en el 2010, donde se evaluó la prevalencia de garrapatas en caninos reportando que se identificaron garrapatas duras, las cuales representaron riesgos poblacionales por *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Amblyomma maculatum*. Se concluyó en el reconocimiento de 34 garrapatas, una por animal, correspondiendo a un 4,25% de tasa de infestación (Mondragón, 2011).

A nivel internacional, otro estudio en la ciudad de Arica (Chile), reportó el primer caso clínico de ehrlichiosis en un canino hembra de 10 años, quien presentó un cuadro de hematomas y sangrado bucal profuso. En los análisis de laboratorio destacaron la presencia de trombocitopenia y en la ampliación y la secuencia de un fragmento del gen denominado “16S ARNr”. A partir de una muestra de sangre, se evidenció un 100 % de homología con la *E. canis* de Perú (López *et al.*, 2012).

En 1999, una investigación realizada por López, indicó que *Ehrlichia canis* es un cocoide aeróbico gram negativo que no se desarrolla en medios bacteriológicos; además se caracteriza por ser un microorganismo pleomórfico intracelular obligado en el hospedero vertebrado y el invertebrado, es decir, se replica en células mononucleares del torrente sanguíneo en donde las células infectadas se diseminan a otros órganos, principalmente meninges, pulmones y riñones. Además, se evidencia que la trombocitopenia en animales infectados se debe a un alto consumo, secuestro y destrucción de plaquetas. Asimismo, la anemia se debe a una supresión en la producción de eritrocitos y la variación constante de leucocitos (López *et al.*, 1999).

Estudios realizados en tres distritos de la ciudad de Lima en donde recolectaron muestras de sangre de 140 canes al azar en los meses de febrero y marzo del 2003, determinaron el predominio de los denominados *Dirofilaria immitis* y *Ehrlichia canis* en las zonas de Chorrillos, La Molina y San Juan de Miraflores. Además, dichos resultados fueron reportados por el uso del Kit comercial de ELISA “IDEXX” snap combo canino (Adrianzén *et al.*, 2003).

Otro estudio en el distrito de Chorrillos durante el verano 2016, donde se aplicó un muestreo probabilístico polietápico, obtuvieron una muestra de 587 canes de 250 casas escogidas al azar. De cada can se extrajeron cinco pulgas y cinco garrapatas para luego conservarlos apropiadamente. El resultado arrojado, un 63% de canes estaban infestados de *Rhipicephalus sanguineus* (Sahurie Boggio, 2016).

Asimismo, un estudio epidemiológico efectuado en Perú 2013, realizó un muestreo de 180 canes donde se consideró el Kit del Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab Centrífuga para la obtención de los resultados más precisos. La prevalencia de ehrlichiosis canina por distritos en la zona urbana de la ciudad de Tacna, por edad, sexo y factores epidemiológicos fue del 37.78%, 15.5% en caninos de 2-3 años y según sexo presentaron una igualdad de 18.8% (Condori, 2013).

En Chimbote, se evaluó la frecuencia de *Ehrlichia canis* según edad y sexo en 30 perros. Se logró determinar la seroprevalencia de la enfermedad empleándose un test de ELISA, se utilizó sangre entera y procediendo de acuerdo a los lineamientos del fabricante. Se obtuvo como resultado, un 23,3% fueron positivas y un 76,4% arrojó negativo. (Jara, 2014).

Por otro lado, en el Perú, en el año 2009 se realizó un estudio donde una prueba de inmunofluorescencia indirecta que detecta el IgG y el Ig total para diagnosticar la ehrlichiosis humana. Se evaluó 130 muestras de suero de pacientes febriles negativos para *Rickettsiosis* y enfermedad de Carrión estaban vinculados con la provincia de Ancash, los cuales ingresaron al Instituto Nacional de Salud para los años 2004 y 2006. Los resultados fueron que 12 de 130, correspondieron al 9,2% de sueros positivos a ehrlichiosis. La recomendación general es la vigilancia de la Ehrlichiosis en el Perú, así como realizar estudios epidemiológicos (Anaya *et al*, 2009).

Otra investigación realizado a través del la técnica de ELISA directa y el examen hematológico para el diagnóstico de ehrlichiosis canina se analizaron 77 muestras sanguíneas de canes con una signología compatible a Ehrlichiosis canina y fueron 20 canes control clínicamente normales de la Clínica de Animales Menores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. En los resultados registrados se evidenció que un $84.7 \pm 11.0\%$ de grado coincidiendo con la prueba de Kappa. Por su parte, la disminución de globulos rojos y balandos , ademas de la trombocitopenia y el contacto previo con ectoparasitos (garrapatas) muestra cierta relación cona presentación de la enfermedad ($p < 0.05$). En pocas palabras, el resultado de la hematología es sumamente importante para poder diagnosticar la Ehrlichiosis canina como la técnica ELISA directo, el cual es una excelente prueba diagnóstica de la enfermedad (Hoyos, 2007).

2.2.2 Agente etiológico

El agente etiológico de la Ehrlichiosis canina es la *Ehrlichia canis*, familia *Rickettsiae*, que se describió por primera vez en Argelia en 1935 (Benavides, J y Ramírez, G., 2003), desencadenando la enfermedad de ehrlichiosis canina la cual se encuentra distribuida en el mundo y afecta principalmente a los canes (Font *et al.*, 1998).

De esta manera, la ehrlichiosis canina es una patología infecciosa la cual se transmite por la garrapata. Mayormente la enfermedad es endémica en regiones tropicales y subtropicales, sin embargo, factores como el calentamiento global y traslado de mascotas alrededor del mundo ha contribuido a que la enfermedad se presente en lugares teóricamente no endémicos. Por su parte, debido a la ausencia de una vacuna contra la ehrlichiosis canina, se recomienda el uso de ectoparasiticidas (Gutierrez, C y Pérez, L., 2016).

En relación a la enfermedad en animales y en el hombre, la Ehrlichiosis canina es una enfermedad que afecta especialmente a caninos pero también a seres humanos, équidos y venados (Benavides, J y Ramírez, G., 2003).

2.2.2.1 Taxonomía

La clasificación básica se basa en características ecológicas, epidemiológicas y morfológicas del microorganismo (Dumler *et al.*, 2001). Por su parte, el desarrollo de métodos sencillos han facilitado la clasificación genética, como el análisis de aminoácidos de proteínas en la membrana externa de la célula y los análisis antigénicos, debido a esto se generó una reorganización taxonómica, demostrando la imperfección de la anterior clasificación taxonómica (Dumler *et al.*, 2001).

- Phylum: Proteobacteria (Paul Ehrlich, 1854-1915)
- Clase: Alphaproteobacteria (Paul Ehrlich, 1854-1915)
- Orden: Rickettsiales (Paul Ehrlich, 1854-1915)
- Familia: Anaplasmataceae (Paul Ehrlich, 1854-1915)
- Género: *Ehrlichia* (Paul Ehrlich, 1854-1915)
- Especie: *Ehrlichia canis* (Paul Ehrlich, 1854-1915)

A. Clasificación de especies según Neer (2000) de acuerdo a la “célula blanco o diana”:

a) Monocitotrópicas

- *Ehrlichia canis*: Afecta mayormente a los caninos infectando las células mononucleares.
- *Ehrlichia chaffeensis*: Afectan mayormente a humanos, perros y venados, infectando las células mononucleares y neutrófilos.
- *Neorickettsia sennetsu*: Afecta naturalmente a humanos. Infecta células monucleares.

b) Granulocitotrópicas

- *Ehrlichia ewingii*: Afecta a perros y venados atacando a los neutrófilos y eosinófilos.
- *Anaplasma phagocytophilum*: Al involucrar los tres géneros se describe por separado cada uno de ellos
 - *Ehrlichia equi*: Afecta a caballos, perros y llamas infectando a los neutrófilos y eosinófilos.
 - *Ehrlichia phagocytophila*: Afecta principalmente a los ovinos y visones en la cual genera una infección en los neutrófilos, eosinófilos y monocitos.

c) Trombocitotrópicas

- *Anaplasma platys*: Afecta a los perros. Infecta principalmente a las plaquetas.

d) Otros

- *Ehrlichia ruminantium*: Afecta a los bovinos infectando las células endoteliales, macrófagos y neutrófilos.

Por otro lado, las enfermedades ehrlichiales que inician en la célula blanca, actualmente se realiza una clasificación mediante genogrupos, los cuales construyen un árbol filogenético (Parnell, 2004).

Por su parte, se ha actualizado información sobre la biología molecular de las especies Ehrlichiales. Inclusive, se han estudios sobre *Ehrlichia spp* que afecta a los canes y sobre la *Anaplasma spp* que afecta al ganado (De Morais *et al.*, 2004).

B. Clasificación por genogrupos según la publicación realizada por Dumler *et al* en el 2001:

- a. Genogrupo 1, denominado como el género *Ehrlichia* conformado por *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ruminantium* y *Ehrlichia canis* (Dumler *et al.*, 2001). Estos microorganismos tienden a formar masivas mórulas con millones de bacterias, que por lo general se encuentran suspendidas en una matriz de tipo fibrilar, de esta forma se puede encontrar el retículo endoplasmático y la mitocondria de la célula infectada en diversos agregados muy adyacentes a la mórula, además de encontrarse en contacto con su membrana (Vadillo *et al.*, 2002).

- b. Genogrupo 2, es denominado el género *Anaplasma*, el cual se encuentra conformado por *Ehrlichia equi*, *E. phagocytophilum*, el cual es el agente de la *ehrlichiosis granulocítica humana* (EGH) y *Ehrlichia platys* (Yu *et al.*, 2001). Incluye al *Anaplasma marginale* (*A. marginales*).

- c. Genogrupo 3, conformado por el *E. sennetsu*, *E. risticii*, el agente *Stellantchasmus falcatus* (Agente SF) el cual fue aislado del parásito *S. falcatus* (parásitos de peces) en el país de Japón y *Neorickettsia*.

2.2.2.2 Ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*

Con relación al ciclo biológico de la garrapata, Paiva, S y Giset, M. (2015) explica que el ciclo biológico depende de la temperatura y humedad. Lo ideal es que la temperatura sea de 30°C; mientras que la humedad puede ser desde 20% al 93%. En estas condiciones el ciclo se completa en aproximadamente 63 días. Si los factores ambientales no son óptimos los días se pueden prolongar hasta por varios meses.

a) La fijación en el primer hospedero: una vez que las hembras pone unos 4000 huevos (aproximadamente), las larvas van desarrollando en el interior los huevos de garrapata, los cuales eclosionan entre los 8 y 67 días. Luego de la eclosión, las larvas pasan por un período de maduración y están capacitadas para fijarse a un primer hospedero y alimentarse en un periodo de 3 a 7 días. Luego la larva se suelta y busca un lugar resguardado donde entre los 6 y los 23 días se transforman en ninfas y están preparadas para subir a un segundo hospedero.

b) La fijación en el segundo hospedero: donde las ninfas se vuelven a alimentar por 4 a 9 días y luego se suelta del hospedero, una vez en el suelo, vuelve a un lugar de resguardo donde realizara una segunda muda, donde posteriormente emergerán los adultos entre los 12 a 129 días posteriores.

c) La fijación en el tercer hospedero: en esta fijación se diferencian machos y hembras. Las hembras luego que se alimentan caen al suelo. Las garrapatas machos se adhieren a su tercer hospedero por mas tiempo, de esta manera poder fecundar mayor cantidad de hembras; además se alimentan intermitentemente del hospedero. La hembra fecundada cae al piso y busca un lugar resguardado en donde poder de desovar, reiniciando nuevamente el ciclo (Paiva y Giset, 2017).



Figura 1. Ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Por Serrano, R. y Arellanes, F.(2015).

Durante el ciclo biológico del Anaplasmatocae, se introduce en el hospedero el cual es llamado como “cuerpos elementales”. El mismo tiene un diametro de 0.5 a 0.9. nm el cual al ingresar al sistema circulatorio, se concentra en la búsqueda de sus células blancas (plaquetas, granulocitos, monocitos, etc). Luego, ingresan en la célula gracias a endocitosis, la cual es mediada por un receptor o además, podria ingresar a la célula mediante fagocitosis de la misma. Posteriormente, se replican mediante fisión binaria para posteriormente convertirse en cuerpos iniciales, los cuales presentan un diametro de 1.5 a 2.5 nm, posteriormente pasan a formarse las mórulas que presentan de 4-5 nm, las cuales se encuentran formadas por 40 a más cuerpos elementales. Por último, estas mórulas se descomponen en cuerpos elementales y de esta manera cuando la célula infectada por la bacteria se rompe, se inicia su proceso de invasión a células nuevas del torrente sanguíneo en donde se genera una parasitemia (López *et al.*, 1999; Sainz *et al.*, 2000).



Figura 2. Mórula *Ehrlichia canis*. Por Serrano, R. y Arellanes, F.(2015)

2.2.3 Epidemiología

2.2.3.1 Epidemiología de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*

La transmisión de *Ehrlichia canis* se da por la garrapata parda del perro denominada *R. sanguineus* (Rodríguez-vivas *et al.*, 2004). Recientemente, se ha verificado que también la garrapata *Dermacentor variabilis* también es una especie transmisora del virus. La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* no cuenta con una transmisión transovárica, su transmisión se da durante sus estadios de desarrollo, debido a que la *Ehrlichia canis* no se transmite de una garrapata hembra infectada a sus huevos, es decir, en todos los estadios de la garrapata, tanto adulto, ninfa y larva, tienen la capacidad de transmitir la enfermedad. Por otra parte, se ha llegado a confirmar que los ectoparasitos adultos (garrapatas) pueden llegar a sobrevivir entre 155 hasta 568 días sin tener que alimentarse y pueden transmitir la enfermedad hasta por 155 días luego de infectarse con la bacteria. Este fenómeno ocurre mayormente en periodos de invierno y la infección es transmitida en periodos de verano (Warner y Harrus, 2000).

Partiendo de un perro infectado con *Ehrlichia*, las garrapatas en el animal se alimentan de la sangre, por esta sangre ingiere las ehrlichias que pasan a faringe, esófago y llegan a intestino. Las ehrlichias al llegar al intestino tiene dos vías: la primera es que son expulsadas en las heces y la segunda es que atraviesan el intestino, distribuyéndose por los tubos de Malpigio y glándulas salivales. Al llegar a esta última ya la garrapata puede transmitir la enfermedad a un perro sano (Font *et al.*, 1988). El potencial de la garrapata como vector es muy elevado. Luego de que la garrapata ingiere la sangre infectada por *Ehrlichias*, puede transmitir la infección mínimo 155 días después (Paiva y Gislet, 2017).

La garrapata pasa por tres etapas: larva, ninfa, adulto. Pero no se transmite de una generación a otra. También ha sido descrita la transmisión accidental en casos de transfusiones sanguíneas (Font *et al.*, 1988).

Las posibilidades de la garrapata como el potencial de la garrapata como agente principal de la Ehrlichiosis canina es muy elevado (Sainz *et al.*, 2000). Además, las ratas, ratones y otros mamíferos se convierten en reservorios de la enfermedad, los cuales se encuentran expuestos a diversos insectos que actúan como agentes transmisores de la enfermedad infecciosa a otro individuo que esté sano (Hendricks y Wilson, 1996). Además de los caninos, animales como el zorro, el coyote y el chacal son animales portadores y transmisores de la misma (Simón, 2003).



Figura 3. *Rhipicephalus sanguineus*. Por Serrano, R. y Arellanes, F.(2015)

2.2.3.2 Epidemiología del hospedero

Esta enfermedad no está determinada por raza, ni por el rango de edad, ni por el sexo de los canes (Sainz *et al.*, 2000). Es decir todas la razas de canes presentan cierto riesgo de desencadenar la enfermedad. Asimismo, existe una gran cantidad de razas caninas, como las llamadas “razas mixtas”, en las cuales han contraído la erlichiosis canina (Hendricks y Wilson, 1996). Investigaciones afirman que razas como el Springer spaniel y el Pastor Alemán han presentado cuadros clínicos de la enfermedad más graves (Sainz *et al.*, 2000).

Por otro lado, la enfermedad afecta esencialmente al perro doméstico, aunque también ha sido descrita ocasionalmente en lobos, coyotes y perros salvajes. En zonas endémicas los perros indígenas, pasan la enfermedad con alteraciones benignas e incluso, desapercibidas, por motivos como adaptación o de orden inmunológico, pero son portadores permanentes. La infección experimental se consigue inoculando sangre de animales infectados o triturados de garrapatas a animales sensibles. En el hombre se describió el primer caso de *E. canis* en 1986 confirmado por morfología y estudios serológicos. (Font *et al.*, 1988).

2.2.3.3 Epidemiología del medio ambiente

Las condiciones climatológicas como una elevada temperatura, la humedad y la permanencia en la intemperie; aumenta la presencia de garrapatas generando un alto riesgo a que presente la Ehrlichiosis canina en el can (Nuñez, 2002). Cabe destacar, que dicha que la Ehrlichiosis canina se encuentra presente en países con climas templados, subtropicales y templados, los cuales contribuyen con al propagación de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Ettinger, 1992). En Perú, la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* presenta una alta prevalencia oscilando en un 2.8% a un 30%, dependiendo mucho de la época del año y de la zona (Bustamante, 1998; Liberato, 1998; Estares, 1999).

2.2.3.4 Epidemiología de la enfermedad

La investigación y la información de la enfermedad han sido expuestos en los últimos años. Actualmente, Asa, Sud América, Canadá, Estados Unidos y África han reportado casos similares sobre la enfermedad (Hendricks y Wilson, 1996). La Ehrlichiosis canina fue reportada por primera vez en 1935 en caninos de Algeria (Simón, 2003). Al inicio, esta enfermedad se consideraba no maligna hasta el desencadenamiento de la infección en 24 canes por *Ehrlichia chaffeensis*, 19 con *Ehrlichia ewingii*, 21 con *Ehrlichia canis* 10 con *A. platys*, 1 con *A. phagocytophilum* y 24 canes por *E. chaffeensis* (Liddell *et al.*, 2003).

Además, el primer caso de ehrlichiosis canina en México fue registrado a mediados de 1996. Este acontecimiento se evidenció posterior del análisis sanguineo de 2395 caninos de los 25 estados de la República Mexicana, incluyendo la capital. Se observó a través de la prueba diagnóstica de ELISA para obtener mayor detalle. Posteriormente, se determinó que la presencia de seropositivos a la enfermedad fue de 33.1%. Los animales seropositivos no tuvieron límite de edad y se manifestó en 58 razas caninas. Entre los animales seropositivos a la enfermedad, el 79% tuvieron garrapatas, 77% de los canes vivían fuera del hogar, el 79% presentaron garrapatas, y el 54% presentaban signología y un 13% realizó viajes a zonas enzoóticas anteriormente. Por otra parte, una investigación similar realizada en Yucatán en la cual, 120 canes fueron seropositivos a *Ehrlichia canis* y los síntomas observados en la investigación fueron: trombocitopenia, edad y hemorragias, el cual se encuentra muy relacionado con la pérdida de plaquetas (Rodríguez-vivas *et al.*, 2004).

Asimismo, dentro de los países sudamericanos con cercanía a Perú, se encuentra Brasil, en donde por primera vez la Ehrlichiosis canina se diagnosticó, por Belo-Horizonte Minas Gerai. En el 2003, un estudio retrospectivo entre los años 1998 y 2001, se analizaron aspectos como características clínica, hematológicas y aspectos demográficos. Fueron 194 los animales seleccionados como muestra para el análisis, un grupo de 31 estaban infectados con *E. canis* y otro grupo de 21 con *Anaplasma platys*. Los casos reportados acaecieron en canes entre los 24 y 13 meses de edad. La signología observada incluyó anorexia, dolor abdominal, apatía, fiebre, disnea y linfadenopatía (Moreira *et al.*, 2003). El Latinoamérica-Chile, el primer caso de Ehrlichiosis canina se presentó a inicios del año 1999 (López *et al.*, 1999), por otro lado en Perú, uno de los primeros casos fueron en el año 1982 (Chavera *et al.*, 1982). Además, se halló un prevalencia de Ehrlichiosis canina en tres distritos diferentes de Lima Metropolitana (Adrianzen, 2003) y se asociaban con el haber presetado garrapatas anteriormente, leucopenia y anemia (Hoyos, 2005).

2.2.4 Patogenia de la enfermedad

La enfermedad se incuban en un periodo aproximado de 8 a 20 días (Sainz *et al.*, 2000), en la cual pasa por 3 fases. La primera, es la fase aguda, luego, pasa por una segunda fase subclínica y de esta manera pasar a una etapa crónica (Harrus *et al.*, 1997; Neer, 2000).

a. Fase inicial de la enfermedad

La primera fase ocurre cuando la *Ehrlichia canis* infecta a las garrapatas en el momento en el que estas se alimentan de la sangre de canes con Ehrlichiosis canina (hospedador) en el periodo de las dos primeras semanas. A partir de allí, se inicia el proceso de la enfermedad. Luego, la bacteria se replica en diversas células sanguíneas, tales como las del intestino y en las glándulas salivales del ectoparasito infectado (garrapata) (Ettinger, 1992). Posteriormente, las garrapatas inoculan secreciones de sus glándulas salivales, las cuales se encuentran contaminadas por la bacteria *E. canis* (Waner y Harrus, 2000). Dichas secreciones producidas por las garrapatas e inflamación causada por la picadura de la misma genera una alteración en los leucocitos y de esta manera facilita el ingreso de *Ehrlichia canis* en el torrente sanguíneo (Sainz *et al.*, 2000).

b. Periodo de incubación

El periodo de incubación de Ehrlichiosis canina es 1 a 3 semana. Ocurre cuando la bacteria se multiplica en el interior de los fagocito mononucleares, alojándose en los nódulos linfáticos, bazo y hígado, causando una hiperplasia, es decir, un incremento en las dimensiones de los órganos (Sainz *et al.*, 2000).

c. Daños fisiológicos en el infectado

E. canis afecta los pulmones, los riñones y los meninges provocando daños inflamatorios como vasculitis (Sainz *et al.*, 2000). Progresivamente, se destruyen las plaquetas dando como resultado la trombocitopenia de la fase aguda. En consecuencia, se alteran los leucocitos y genera anemia agravando el estado del animal (Bockino *et al.*, 2003).

Si los canes son inmunocompetentes, durante 6 a 9 semanas, podrían expulsar o eliminar el parásito transmisor. En cambio, si no desarrollan mecanismos inmunes, la parasitemia convierte el proceso en cuadros clínicos severos. En resumen, los canes que no llegan a manifestar cierta respuesta inmune, podrían enfermarse crónicamente (Bockino *et al.*, 2003). No obstante, dependerá de cada proceso inmunológico de cada animal.

d. Mecanismos inmunopatológicos

Nuevos hallazgos respecto al mecanismo inmunopatológico en la patogénesis de Ehrlichiosis monocítica canina en experimentos basados en infecciones en canes esplenectomizados en donde los resultados fueron que la enfermedad se manifiesta de forma menos severa en comparación con los perros enteros. Lo que indica es el peligro en el bazo durante el proceso infeccioso de la EMC (Waner y Harrus, 2000). El agrandamiento del bazo se debe al secuestro y a la destrucción de plaquetas causado por los macrófagos (Pantanowitz, 2003).

La autoinmunidad se observa en diversas patologías transmitidas por ectoparásitos como las garrapatas. Debido a que se demostró anticuerpos antiplaquetarios en los sueros de canes que presentaron un cuadro infeccioso con *E. canis*, respondiendo a la interrogante de que la destrucción inmune influye en la disminución de plaquetas (Harrus *et al.*, 1999). Por esa razón, el porcentaje de incidencia respecto a desórdenes autoinmunes en canes con Ehrlichiosis canina es elevada. Esto va acompañado de una disminución de plaquetas, junto con una disminución del sistema inmune lo cual complica el cuadro viral (Pantanowitz, 2003).

2.2.5 Signos de la enfermedad

El cuadro clínico es poco específico y su signología aparece en múltiples patologías y no siempre se presentan conjuntamente durante la Ehrlichiosis canina (Ettinger, 1992).

El detectar ectoparasitos como garrapatas, tanto en canes sanos como enfermos, aumenta la probabilidad de infección por *Ehrlichia spp.* (Woody y Hoskins, 1991; Keefe *et al.*, 1982).

a. Fase Aguda

Durante la fase aguda suele aparecer una signología inespecífica y variada como pérdida de peso, exudado óculonasal, aumento del bazo, anorexia, incremento en el tamaño de los ganglios linfáticos, fiebre. Además, los canes podrían presentar equimosis en la piel, hemorragias, petequias e incluso epistaxis (Neer, 2000; Waner y Harrus, 2000).

Se pueden manifestar signos oculares como opacidad corneal, uveítis anterior, lesiones corio-retinales, hifema e incluso edema. En algunos casos, podría ocurrir el desprendimiento de la retina causando ceguera, la cual es consecuencia de las hemorragias subretinales. Existen otros signos clínicos como claudicación, disnea, ataxia y vómitos. (Waner y Harrus, 2000). Además, podría generar abultamientos y lesiones en los miembros del animal o en el escroto (Woody y Hoskins, 1991; Breitschwerdt, 1995).

b. Fase Subclínica

En la fase subclínica no suele observarse signología notorias. Aunque ocurren más cambios a nivel sanguíneo, es decir, alteraciones hematológicas. (Ettinger, 1992).

Si el animal afectado no logra realizar una respuesta inmune eficiente contra la bacteria *E. canis* en la fase aguda, pasaría a desarrollar una fase crónica (Ettinger, 1992). Para esta fase, no se conocen detalladamente cuáles son los mecanismos o alteraciones para el paso a una fase crónica (Greene, 1997).

c. Fase Crónica

Los signos clínicos se manifiestan a través de ciertas modificaciones fisiológicas y patológicas que se dan duran el proceso anémico y debido a la alteración de ciertos órganos por sus plasmocitos y células linforreticulares (Ettinger, 1992).

Asimismo, la signología viene acompañada de una serie de multiples infecciones por protozoarios y bacterias, ademas de fallas renales, artritis y neumonias intersticiales que pueden acelerar el proceso (Waner y Harrus, 2000).

Se presentan manifestaciones respiratorias, oculares y cutáneas cutáneas, las cuales son claramente observadas en esta fase crónica, a pesar de que ya se evidencian en la fase aguda (Gelatt, 1991). Cabe destacar, que si se manifiesta la disnea es un factor clave para detectar la anemia (Sainz, 1996).

d. Signos Oftalmológicos

Es frecuente que durante la etapa crónica de la Ehrlichiosis canina se presenten signos como opacidad corneal, hipema, uveítis anterior, e incluso fotofobia (Troy *et al.*, 1980). Dichos signos oftalmológicos se encuentran netamente relacionados con la hiperviscosidad sanguínea secundaria a la gammapatía monoclonal evidenciando mayor claridad de la presencia de la enfermedad (Harrus *et al.*, 1998).

2.2.6 Métodos diagnóstico de la enfermedad

La detección de la Ehrlichiosis canina ocurre posterior al registro exhaustivo de signos a través de la presentación clínica. Luego, se asocian con los resultados del examen clínico para posteriormente confirmarlo mediante pruebas laboratoriales (Warner y Harrus, 2000).

2.2.6.1 Diagnóstico laboratorial

A. Examen hematológico

La anemia no regenerativa y la disminución de plaquetaas son los hallazgos en sangre más invariables, tanto en casos crónicos como agudos (Ettinger, 1992). La disminución de plaquetas puede presentarse entre 2 y 3 semanas (postinfección), pudiendo permanecer latente durante todas las fases de la Ehrlichiosis canina (Codner y Farris-Smith, 1986).

El diagnóstico laboratorial para la detección de *Ehrlichia canis* en el frotis sanguíneo de globulos blancos no tiene demasiada significancia en la práctica diaria de la clínica debido a la presencia variable del patógeno en la sangre periférica (Ettinger, 1992)

La bioquímica sanguínea y hematología son claves para la fase del diagnóstico de la enfermedad (Adrianzén *et al.*, 2003) ya que las alteraciones hematológicas comprueban mejor la existencia patógena del *E. canis* acompañado de anemia, arregenerativa, trombocitopenia y leucopenia (Greene, 2000).

B. Composición química sanguínea

El incremento de proteínas en sangre junto con la hipoalbuminemia, hipergammaglobulinemia e hiperglobulinemia, se deben a alteraciones bioquímicas preponderantes en perros con Ehrlichiosis canina (Harrus *et al.*, 1996).

La disminución de la temperatura corporal en el can se debe a un aumento anormal de globulina el cual se produce por un estímulo de tipo antigénico crónico (Troy *et al.*, 1980; Codner y Farris-Smith, 1986; Weiser *et al.*, 1991). Esto se debe a un incremento de las globulinas el cual no se encuentra relacionado con el porcentaje de anticuerpos que son producidos al presentarse la *Ehrlichia canis* (Reardon y Pierce, 1981). A través de electroforesis tersa se llega a lograr visualizar un aumento de la globulinas policlonales, sin embargo, se presentan casos donde ocurren gammapatías de tipo monoclonal (Neer, 2000).

C. Exámen de orina

Las alteraciones en la orina generalmente se evidencian en el transcurso de la fase aguda de la Ehrlichiosis canina, tales como hematuria y proteinuria (Codner y Maslin, 1992).

Mediante pruebas de laboratorio, se ha observado pérdida de proteínas via urinarias, de las cuales la principal es la albúmina, entre las 2-3 iniciales semanas luego de la inoculación y pudiendose llegar a resolver luego de las 6 semanas inmediatamente de la infección (Neer, 2000). La presencia de sangre en orina y proteinuria no se evidencian durante la etapa subclínica de la enfermedad, sin embargo si se presenta en la fase crónica, la cual esta muy relacionada con a presencia de lesiones glomerulares de tipo inmunomediadas (Troy *et al.*, 1980)

2.2.6.2. Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico especializado para poder diagnosticar la Ehrlichiosis canina son la inmunofluorescencia de tipo indirecta (IFI) y las prueba de enzimoimmunoensayo (ELISA). IFI fue considerada como la prueba de oro para la detección de la *Ehrlichia spp*, sin embargo, actualmente no es la prueba de primera elección ya que se requiere personal con experiencia y adicionalmente no es económica. En cambio, ELISA es una prueba sencilla de aplicar y se ha determinado eficiencia de los resultados de la técnica ELISA y IFI en un 71% y una especificidad que puede llegar al 100%. No obstante, se ha recomendado repetir la prueba en un lazo de tiempo breve (Guerrero, 2016).

a. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Por otro lado, al determinarse el título de los anticuerpos contra *Ehrlichia canis* mediante la prueba de IFI en los canes, se requiere que el clínico tenga en consideración las reacciones cruzadas que pueden generar confusión para llegar a un diagnóstico certero. Especies de la familia *Anaplasmataceae* en áreas endémicas se podría generar reacciones cruzadas entre *Ehrlichia ewingii*, *A. phagocytophilum*, *N. risticii* o *Ehrlichia canis* (Waner y Harrus, 2000). Existen proteínas de tipo inmunodominantes de *Ehrlichia canis* que han confirmado presentar una reacción cruzada serológica con las proteínas de *Ehrlichia chaffensis*. Diversos estudios, manifestaron que la serología mediante la técnica de IFI podría no diferenciar entre infecciones de las dos especies previamente mencionadas (Bockino *et al.*, 2003). Cabe recalcar, hasta el momento sigue sin reportarse alguna reacción cruzada entre *A. platys* y *Ehrlichia canis* (Waner y Harrus, 2000).

b. Inmunoabsorbancia ligada a enzima (ELISA)

La prueba de Inmunoabsorbancia ligada a enzima (ELISA), permite detectar el antígeno que se encuentra inmovilizado sobre una fase de tipo sólida anclado con anticuerpo que de forma indirecta o directa permiten producir un reacción, en donde el resultado puede ser evaluado mediante espectrofotometría (Paddock y Childs, 2003).

En los últimos años, se han comercializado pruebas serológicas de muestreo muy similar al método de ELISA, para el uso común de las clínicas veterinarias, con un valor cualitativo y no cuantitativo, es decir, es un resultado de referencia. No obstante, se ha observado eficiencia en los resultados con la técnica de ELISA y la inmunofluorescencia indirecta en un 71% y con una especificidad que puede alcanzar hasta el 100%.

Sobre esta clase de pruebas, se han analizado muestras para poder determinar la especificidad y sensibilidad de la técnica de ELISA en clínicas para identificar la presencia de *Ehrlichia canis*, cuyos resultados han confirmado que puede usarse de manera confiable en condiciones clínicas típicas para identificar perros expuestos, específicamente en un estudio publicado en la Revista de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria se encontró 97.8% de sensibilidad y 92.3% de especificidad. Por lo que es una prueba de detección serológica integral (Stillman *et al.*, 2014).

c. Inmunocromatografía directa

Como plantea Martínez en su investigación, hace referencia a las pruebas comerciales disponibles en Colombia y menciona que en el mercado existen diversos kits de venta comercial para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina: el SNAP® 4Dx, el SNAP® 3Dx El SNAP, el kit diagnóstico ANIGEN *E. canis* Ab del laboratorio y proveedor BIONOTE. El kit ANIGEN tiene como objetivo el diagnóstico de la bacteria mediante el uso de la inmunocromatografía directa. Esta prueba es considerada de tipo cualitativo ya que sus posibles resultados para detectar anticuerpos de *E. canis* son positivo, negativo o inválido (Martínez, 2015).

Para el diagnóstico mediante la inmunocromatografía directa existe una membrana de nitrocelulosa, en la cual se encuentra adherido el antígeno específico para *E. canis*, asimismo se ubica una proteína específica para poder realizar la verificación del ensayo. En caso que la muestra sanguínea contenga las inmunoglobulinas específicas para *E. canis*, estos anticuerpos se uniran con su antígeno adherido a la membrana de nitrocelulosa dando como resultado una coloración característica e evidenciando la positividad de la muestra (Tuemmers *et al.*, 2013).

La prueba Anigen Rapid *E. canis* Ab del laboratorio Bionote consiste en un inmunoensayo de tipo cromatográfico para el pronto diagnóstico de anticuerpos contra la bacteria *E. canis*. La prueba detecta los anticuerpos de *Ehrlichia canis* en las muestras. La exactitud de la prueba es alta, aunque puede ocurrir una baja incidencia de resultados falsos. Su sensibilidad es de 97.6% y su especificidad es de 99.0% con relación al IFI (Insuvet, 2009) (Bionote, 2019).

d. Otros métodos diagnósticos

Las pruebas de rápido diagnóstico pretenden brindar un valor referencial, ya que cuentan con una especificidad y sensibilidad superior, tales como en el caso de la IFI (Waner *et al.*, 2000).

La prueba de Inmunoelectrotransferencia (EITB) o Wester blot parece ser menos eficaz que la técnica de PCR en el diagnóstico precoz del agente *Ehrlichia canis*. Normalmente esta prueba es utilizada para confirmar resultados inmunofluorescencia (Dagnone *et al.*, 2001).

2.2.6.3. Diagnóstico molecular

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La prueba de reacción en cadena de polimerasa, es una técnica que trabaja a nivel molecular, la cual permite analizar ciertas propiedades bioquímica de la codificación de ADN, la cual va asociado a la secuencia de los nucleótidos y composición en los tejidos del hospedero, el cual puede portar el agente infeccioso.

Para la detección del agente infeccioso se utilizan cebadores los cuales pueden ser de dos tipos, especie específicos o genéricos. Se emplean los cebadores especie-específicos cuando los cebadores genéricos son detectados (Cohn, 2003).

Ahora bien, se reconoce la importancia y la fiabilidad del diagnóstico molecular en relación al diagnóstico de organismos pero además se ha observado que cuenta con limitaciones. Ante la gran sensibilidad con la que cuentan estas pruebas, podría arrojar resultados como falsos positivos por causa de contaminación (Sellon, 2003).

En un estudio comparativo entre Western immunoblotting, PCR, IFA y cultivo del parásito para la detección temprana del patógeno, se logró evidenciar en el aislamiento del patógeno y en el cultivo celular que fueron pruebas muy eficientes en el diagnóstico del mismo. No obstante, para determinar con detalles al patógeno se requiere entre 2 y 5 semanas para poder evidenciar resultados positivos y definitivos para establecer el diagnóstico final (Waner y Harrus, 2000).

2.2.7 Tratamiento de la enfermedad

Se emplean gran variedad de fármacos, en su gran mayoría antimicrobianos. En cuanto a los principales indicados son: Cloranfenicol, doxiciclina, dipropionato de imidocarb y tetraciclina (Adrianzén, 2003).

La razón por la cual la doxiciclina es un antibiotico de eleccion es debido a que la bacteria *Ehrlichia canis* presenta un mecanismo el cual inhibe la fusion fagosoma-lisosoma permitiendole sobrevivir dentro de la célula, sin embargo la doxiciclina restaura el efecto de inhibición de la bacteria (Dolz *et al.*, 2013)

La aplicación intramuscular del hemoparasitocida dipriopionato de imidocarb es efectiva durante el tratamiento contra la Ehrlichiosis canina (Rikihisa, 1991). Frecuentemente, se administra 2 inyecciones con una dosis de 5 mg/kg del hemoparasitocida, ambas inyecciones se aplican con un intervalo de 14 dias entre ambas (Sainz *et al.*, 2000). Además, es recomendable la administración de atropina, con el objetivo de evitar o disminuir los efectos indeseables que se podrian producir por el imidocarb, como el exudado nasal, disena, salivación excesiva y diarrea (Simón, 2003). El beneficio de este farmaco en lo canes es que permite eliminar no solo a la *Ehrlichia canis*, sino tambien diversas enfermedades transmitidas por las garrapatas, pero tiene ciertas contraindicaciones que deben ser observadas (Waner y Harrus, 2000).

Por su parte, el color amarillento y erupciones en los dientes de los canes se produce por las tetraciclinas utilizadas como tratamiento (excepto doxiciclina) (Merck *et al.*, 2000), estudios recomiendan el uso farmacológico de cloranfenicol en canes cachorros menores de 5 meses de edad (Greene, 2000). La dosis de cloranefenicol específica es de 50 mg/kg cada 8 horas para Ehrlichiosis canina (Adrianzén, 2003).

En los casos que se encuentre el can en una etapa crónica severa de la enfermedad, se recomienda el uso de terapias coadyuvantes (Adrianzén, 2003). La terapia de fluidos es clave en los todos los animales que se encuentren en un estado de deshidratación o con patologías renales como las insuficiencias, las transfusiones sanguineas en animales con anemias severas, ademas del uso de anntibióticos son netamente necesarios. Igualmente, es importante el constante control de ectoparasitos (garrapatas) (Morgan, 1999).

Los canes vulnerables y los cuales no pasaron por la fase grave; tienden a presentar una respuesta positiva entre los 2 y 3 días después del diagnóstico (Morgan, 1999). En cambio, los canes que se encuentran en una fase subclínica requieren de un tratamiento mucho mas largo a diferencia de los canes que se encuentran en una fase aguda (Warner y Harrus, 2000). Por último, los canes con una infección de tipo crónica llegan a responder, pero en la gran mayoría de los casos, sigue siendo un resultado desfavorable (Morgan, 1999).

Por otro lado, se halló que la descenso paulatino de la concentración de las gammaglobulinas séricas colabora en la destrucción de los microorganismos (Warner y Harrus, 2000).

En síntesis, tanto la recuperación y el tratamiento del paciente, no garantizan que la prueba diagnóstica de IFI sea negativo. Por lo tanto, se recomienda realizar un tratamiento rápido y de manera constante a todos los canes que den un resultado positivo a la enfermedad mediante la técnica diagnóstica de IFI, sin importar la titulación de los anticuerpos (López *et al.*, 1999).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- LOCALIZACIÓN Y AMBIENTE

El presente trabajo de investigación se realizó durante el verano (febrero-marzo) en el distrito Chorrillos, departamento de Lima, 2019

El distrito de Chorrillos se encuentra ubicado en el Departamento de Lima, Provincia de Lima, en la Costa Peruana a orillas del Mar (Océano Pacífico), a una distancia aproximada de 20 km. del centro de la ciudad de Lima, Capital del Perú. Chorrillos se encuentra a 43 m. sobre el nivel del mar. Limita por el norte, con el distrito de Barranco; por el noreste, con el distrito de Santiago de Surco; por el este, con el distrito de San Juan de Miraflores; por el sureste, con el distrito de Villa El Salvador; y por el oeste con el Océano Pacífico (Municipalidad Distrital de Chorrillos, 2019).

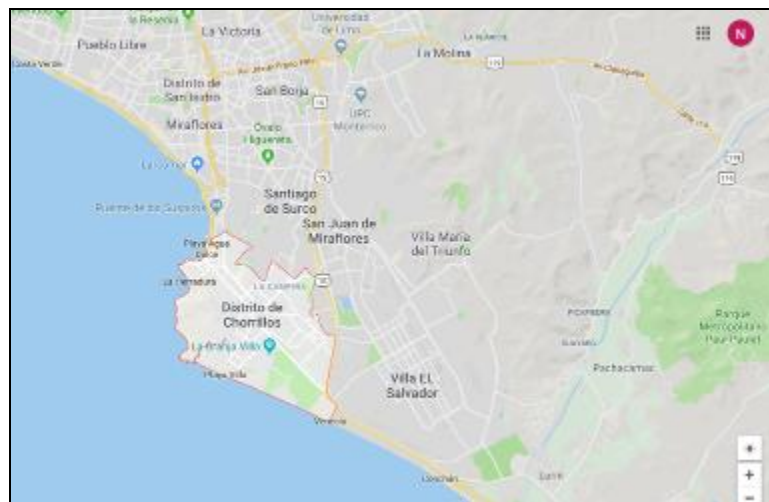


Figura 4. Mapa de Chorrillos, Lima. Por (Municipalidad Distrital de Chorrillos, 2019)

Además, la localidad presenta un clima variable, siendo generalmente templado y húmedo. Se caracteriza por una temperatura entre los 13 y 16° C llegando a una máxima de 32° C en la época de verano. Además, la humedad relativa oscila entre un máximo de 92% en el mes de agosto y mínimo de 72% en el mes de febrero (Municipalidad de Chorrillos, 2016).

De acuerdo a AccuWeather, en año 2019, las temperaturas de febrero y marzo se puede visualizar en la siguiente figura:

Gráfico de temperaturas febrero 2019

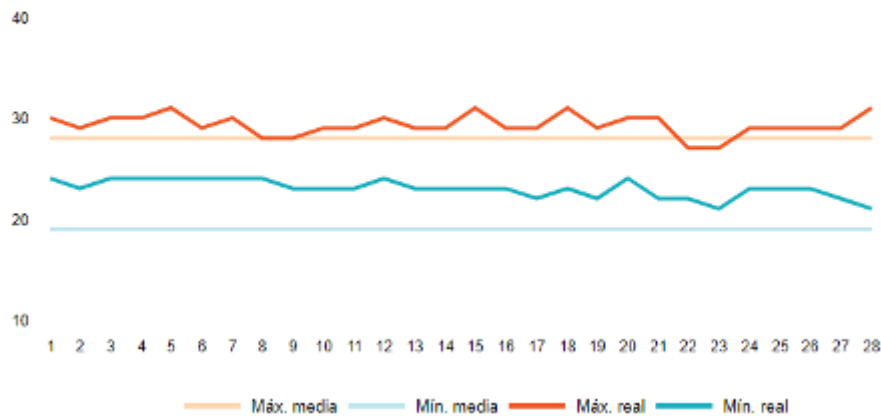


Gráfico de temperaturas marzo 2019

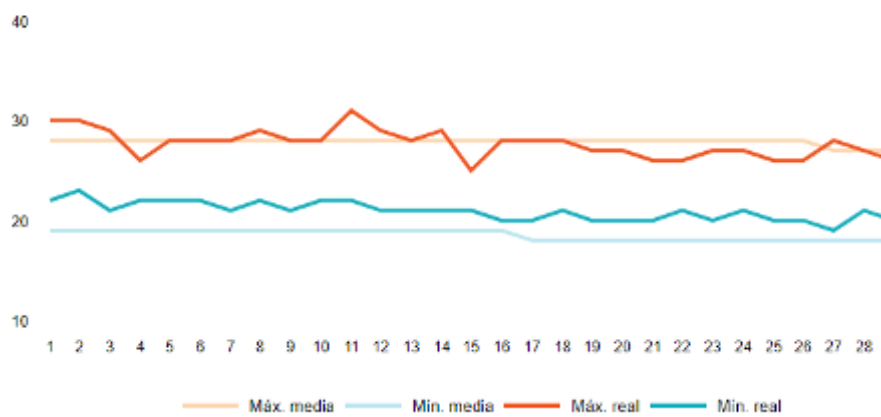


Figura 5. Temperatura de Chorrillos febrero y marzo de 2019. Por Accu Weather, (2019)

La ubicación cuenta con un clima húmedo debido a la cercanía al océano pacífico, que predispone la proliferación de garrapatas tanto en zonas rurales como urbanas e incrementa la probabilidad de infestación por garrapatas en canes, las cuales son portadores de la bacteria *Ehrlichia canis* causante de la enfermedad a evaluar.

3.2.- DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

La investigación realizada fue de tipo descriptivo, prospectivo y transversal.

Es descriptivo transversal porque el objetivo del estudio fue precisamente describir los factores de riesgos para el momento del estudio (Carrillo, 2007).

Asimismo, se considera una investigación prospectiva, debido a que los resultados permitiran realizar futuros estudios, con la finalidad de brindar mayor información (Delgado, 2001).

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL:

Unidad de análisis: Caninos ubicados en el distrito de Chorrillos

Criterio de inclusión: Caninos ubicados en el distrito de Chorrillos que visitaron en un fin de semana las clínicas antes mencionadas.

Población de estudio: 45 caninos

Criterio de exclusión: No aplica; sin distinción de sexo, raza y edad.

3.4. MATERIALES DE MUESTREO Y PROCESAMIENTO:

Los materiales utilizados para la toma de muestra y registro de los resultados fueron los siguientes:

- Ficha de identificación, bozal, guantes, plumón indeleble, algodón, alcohol, tubos vacutainer con anticoagulante EDTA, tubos de ensayo con diluyente, tubos capilar desechables, dispositivo para prueba rápida Anigen *E.canis* Ab, gradillas, cronómetro, folders manila, computadora



Figura 6. Materiales del muestreo

3.5. ANÁLISIS DE DATOS:

1. PREVALENCIA

Los cuestionarios fueron organizados Microsoft Excel y posteriormente transcritos en el programa estadístico Spss.

La prevalencia de este estudio se define como la proporción de canes de un grupo o población que presentaron la enfermedad en un período o tiempo determinado

La prevalencia se determinó mediante el cociente de número de canes seropositivos entre el número de canes inspeccionados.

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{Número de canes seropositivos}}{\text{Número de canes inspeccionados}} \times 100$$

$$\frac{14}{45} \times 100 = 31\%$$

2. CHI CUADRADO

Para analizar las variables sexo, edad, presencia de garrapatas en el animal, medio ambiente en el que habita el animal, presencia de garrapatas en el entorno e historial de haberse infestado anteriormente con garrapatas, con relación a la seroprevalencia se realizó un análisis descriptivo a través de tablas. Con la prueba estadística Chi Cuadrado se determinó con una confianza del 95% la relación de las variables.

La prueba de independencia del Chi-cuadrado, permite determinar que las variables (seroprevalencia y factor de riesgo) son independientes; es decir, que no existe ninguna relación causa-efecto entre ellas. Además, permite contrastar las hipótesis mediante el nivel de significación, por lo que si el valor de la significación es mayor o igual que el Alfa (0.05), se acepta la hipótesis; pero si es menor, se rechaza (Gómez, 2008).

3. ODDS RATIO

Se calculó el Odds Ratio del factor de riesgo si el animal vive dentro del hogar o expuesto al medio ambiente, debido a que fue el único factor que tuvo asociación con la presentación de la enfermedad, para ello se utilizó la siguiente fórmula (Pita, S., Vila, M y Carpena, J, 1997):

	Casos	Controles
Expuestos	a	b
No expuestos	c	d

- Odds de exposición en casos

$$\frac{a}{c} = \frac{\text{casos en expuestos}}{\text{casos en no expuestos}}$$

- Odds de exposición en controles

$$\frac{b}{d} = \frac{\text{no casos en expuestos}}{\text{no casos en no expuestos}}$$

Fórmula final de Odds Ratio:

$$OR = \frac{a/c}{b/d} = \frac{a * d}{b * c} \quad \Rightarrow \quad \text{Odds Ratio} = \frac{a * d}{b * c}$$

4. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados son presentados en tablas y gráficos que muestran el porcentaje de frecuencia de ehrlichiosis canina en el distrito de Chorrillos, Lima con relación al resto de las variables de estudio.

El análisis descriptivo de todas las variables en estudio, así como su relación se realizó utilizando el paquete estadístico Spss y su presentación a través de Microsoft Excel.

3.4. PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO

a. Campañas Veterinarias

Se realizaron 8 campañas gratuitas en 7 clínicas veterinarias ubicadas en el distrito de Chorrillos para el descarte de Ehrlichiosis canina (muestreo causal o accidental). Cada campaña tuvo una duración de 1 día, realizadas sábados y domingos en los meses de febrero y marzo. La muestra recolectada durante las campañas fue de 45 canes.

Las clínicas veterinarias donde se realizaron las campañas, están ubicadas en Chorrillos: Clínica veterinaria mis maskotas, consultorio veterinario medipets, clínica veterinaria animal clinic, clínica veterinaria petisos, clínica veterinaria SOS, clínica veterinaria the pet's corner y clínica veterinaria chips.

Los canes presentados voluntariamente por sus dueños fueron recibidos y analizados físicamente apuntando en un cuestionario los siguientes datos:

- Fecha de campaña, número de campaña, nombre de la clínica, número de muestra, nombre y raza de can, sexo, grupo de edad, presencia de garrapatas en el animal, medio ambiente en el que habita el mismo, presencia de garrapatas en el entorno, historial de haberse infestado anteriormente con garrapatas

Los propietarios firmaron un consentimiento de toma de muestra sanguínea (anexo 3) previo a la manipulación del animal, de esta forma estuvieron informados del procedimiento a realizar en todo momento.

b. Procesamiento de la muestra

Las muestras fueron procesadas en el consultorio de las clínicas veterinarias, mediante el uso del Anigen Rapid *E. canis* Ab Test Kit.

Se siguieron las recomendaciones de uso del kit comercial Anigen Rapid *E. canis* Ab Test Kit. Este producto nos permite conocer rápidamente si el paciente se encuentra infectado con la bacteria *Ehrlichia canis*; esta prueba puede detectar anticuerpos hasta 7 días después de la infección inicial; además, algunos canes pueden tornarse seropositivos incluso 28 días post-infección (Bionote, 2019).

c. Desarrollo de la aplicación del kit diagnóstico

1. Se realizó una limpieza y desinfección con alcohol previo a la toma de muestra sanguínea que se recolectó de la vena cefálica ubicada en el miembro anterior derecho o izquierdo; posteriormente se recolectó 10 ul (microlitros) de sangre entera en un tubo vacutainer con anticoagulante EDTA, el cual se invirtió unas 5 veces para mezclar la sangre con el EDTA, de esta manera evitar la coagulación de la muestra.

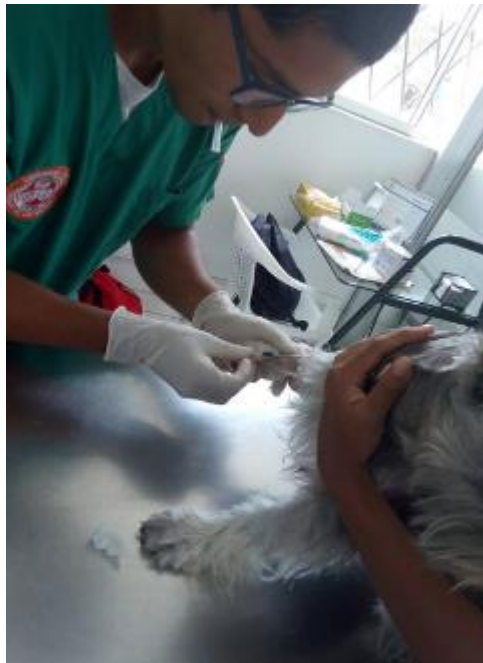
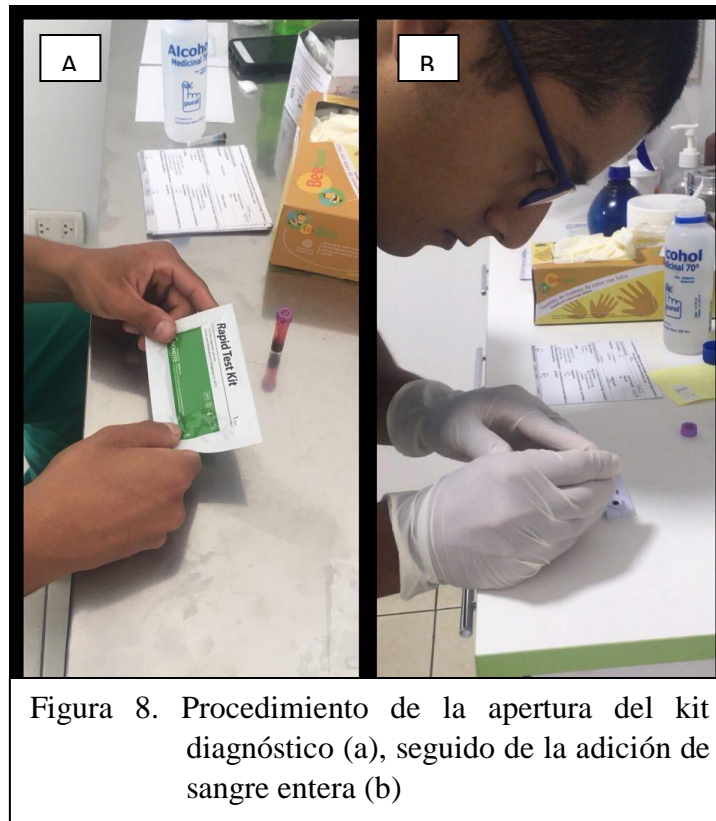


Figura 7. Procedimiento de toma de muestra de la vena Cefálica

2. Se procedió a abrir el kit de prueba (Anigen Rapid *E.canis* Ab) para detectar los anticuerpos de *Ehrlichia canis*, el kit de prueba se colocó sobre una superficie plana y seca.
3. Luego, se le adicionó 10ul (microlitros) de sangre entera con el uso de un tubo capilar a la ventana marcada con la letra “S” sobre el dispositivo de prueba.



4. Posteriormente se le adicionó 2 gotas del diluyente en la misma ventana del dispositivo de prueba.
5. Luego, se esperó 20 minutos para realizar la interpretación del resultado.
6. Transcurridos los 20 minutos, una banda de color rojo se apreciaba en la parte izquierda de la ventana de resultados, la cual es la banda control que nos indica que la prueba está funcionando correctamente. La parte derecha de la ventana es la que nos indica el resultado de la prueba. Será negativo cuando solo se aprecie la banda control; será positivo cuando se observe la presencia de dos bandas de color (“T” y “C”).
7. Se indicará un resultado inválido si no aparece la banda control dentro del estándar determinado para los resultados después de realizar la prueba (Insuvets, 2009).

El antígeno recombinante especialmente seleccionado de *Ehrlichia canis* son utilizados en cada banda de prueba como material de captura. Estos permiten que el kit de prueba Anigen Rapid *E.canis* Ab identifique anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en suero, plasma o sangre total canina con un alto grado de precisión

Finalmente, el resultado de la muestra fue anotado en el cuestionario correspondiente para el posterior análisis de los datos.

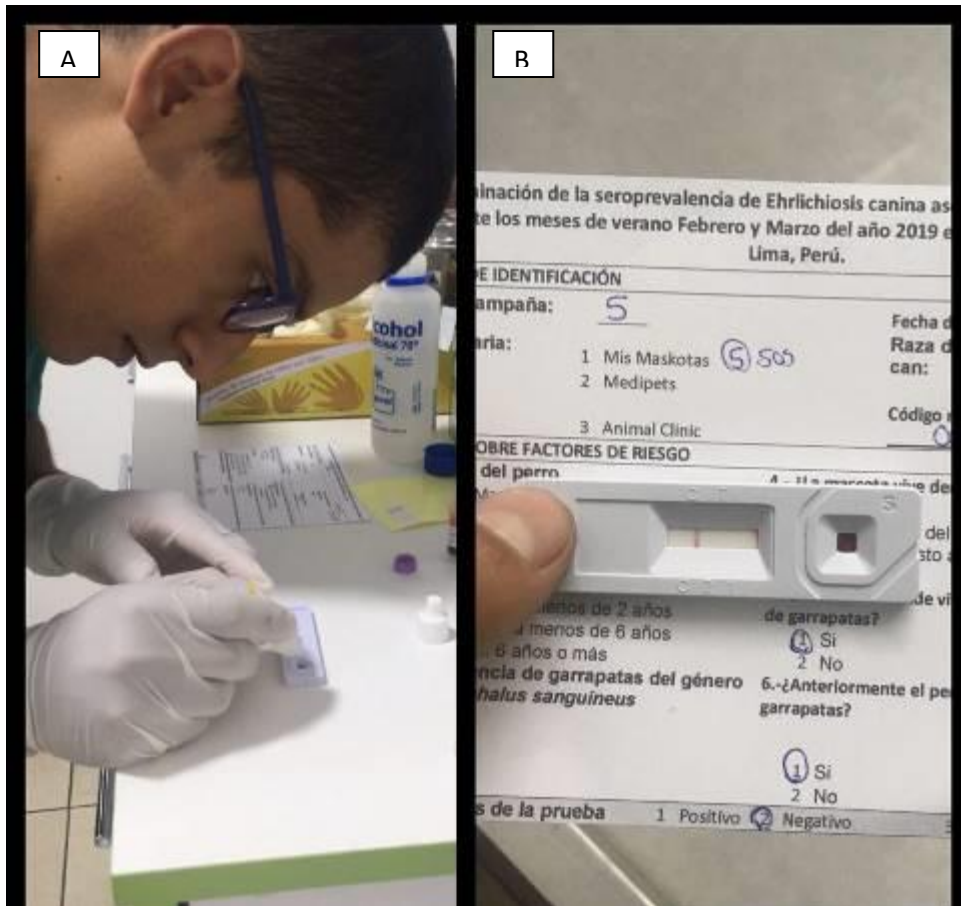


Figura 9. Adición de diluyente (a) y procedimiento de espera de resultados (b)

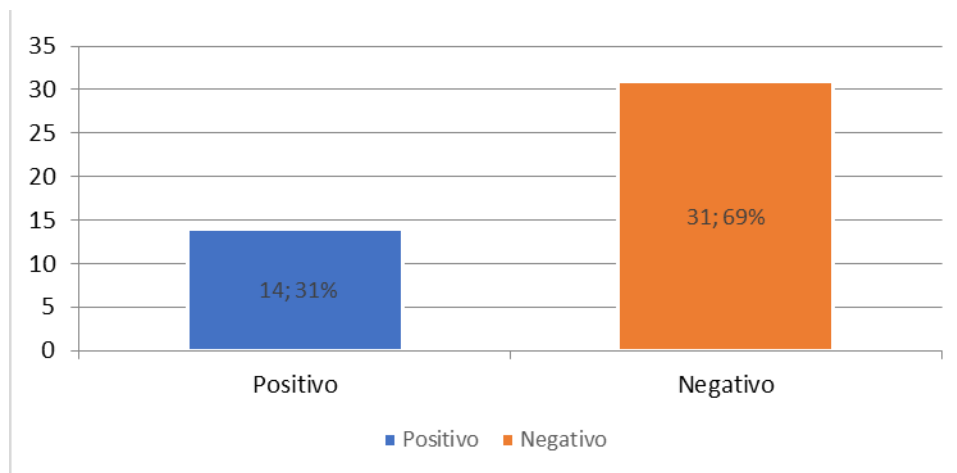


Figura 10. Resultado negativo (a) y positivo (b) del kit Anigen Rapid *E.canis* Ab

IV. RESULTADOS

1. La seroprevalencia ehrlichiosis canina hallada en el presente estudio en el distrito de Chorrillos fue del 31%, equivalente a 14/45 canes.

Gráfico 1. Seroprevalencia de ehrlichiosis canina en el distrito de Chorrillos.
Febrero- marzo 2019



La seroprevalencia de ehrlichiosis canina en Chorrillos durante los meses de febrero y marzo de 2019 fue de 31,1%. La mayor cantidad de canes evaluados seropositivos fueron machos (22.2%), en el grupo de edad de 2 a menos de 6 años (15.6%), los que no tuvieron garrapatas en el momento de la evaluación (24.4%), los que vivían dentro del hogar (17.8%), el entorno infestado por garrapatas (24.4%) y antecedentes de infestación anteriores con garrapatas (28.9%). Adicionalmente, en el cuadro 7 se puede observar que la única variable estadísticamente relacionada con la seroprevalencia de si vive en el hogar o expuesto al medio ambiente.

Cuadro 1. Seroprevalencia de ehrlichiosis canina asociado a factores de riesgo en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019

Factor	Categoría	Seropositivos		Relación entre seroprevalencia y factor de riesgo p_valor
		Frecuencia	Porcentaje	
	Total	14	31.1%	
Sexo	Macho	10	22.2%	0.392
	Hembra	4	8.9%	
Edad	Menos de 1 año	0		0.431
	De 1 a menos de 2 años	2	4.4%	
	De 2 a menos de 6 años	7	15.6%	
	De 6 años o más	5	11.1%	
Presencia de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Si	3	6.7%	0.283
	No	11	24.4%	
Ambiente donde vive el can	Vive dentro del hogar	8	17.8%	0.003
	Vive expuesto al medio ambiente	6	13.3%	
Presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal	Si	11	24.4%	0.593
	No	3	6.7%	
Antecedente de presentar garrapatas	Si	13	28.9%	0.412
	No	1	2.2%	

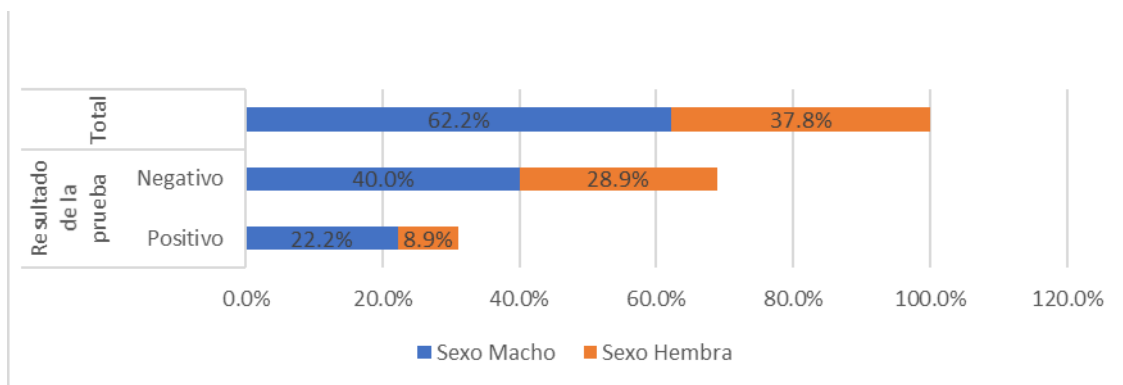
2. En cuanto a la presentación de la enfermedad asociado al factor de riesgo sexo, el 62.2% de los canes inspeccionados fueron machos, de los cuales el 22.2% fueron seropositivos a la enfermedad, el 37.8% fueron hembras, de los cuales 8.9% fueron seropositivos a la enfermedad.

La prueba estadística Chi-Cuadrado para estas variable arrojó como p valor 0.392. Siendo este valor mayor a 0.05, no existiendo evidencia para rechazar la hipótesis nula de independencia entre las variables, por lo tanto, al 95% de confianza se pudo concluir que no existe relación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y el sexo.

Cuadro 2. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al sexo en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Sexo	Macho	10	22.2	28
	Hembra	4	8.9	17
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 2. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al sexo en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019



3. En relación a la presentación de la enfermedad asociado a factor de riesgo edad, el grupo de edad más numeroso que acudieron a las campañas fue de 2 a menos de 6 años (42.2%), seguido del grupo más adulto con 28.9%.

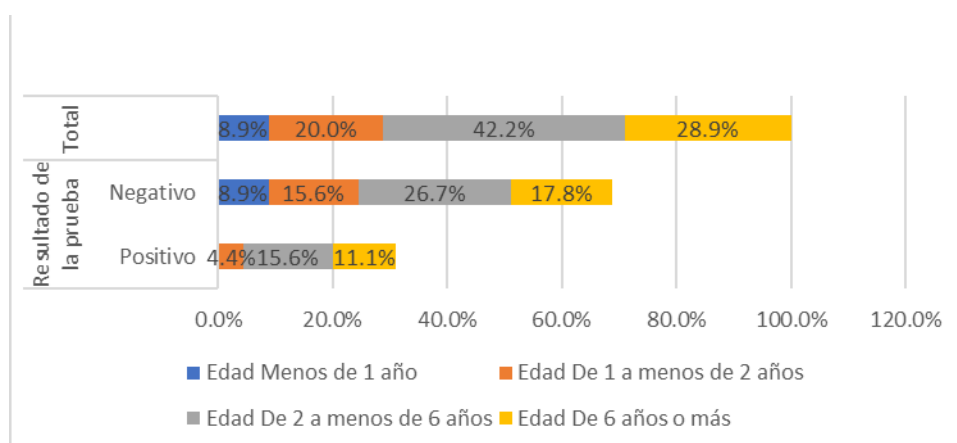
Los grupos de edades de 2 a menos de 6 años y los que tienen de 6 años o más fueron mayoritarios en los canes seropositivos con un 15.5% y 11.1% respectivamente.

En cuanto a la prueba Chi-Cuadrado para las variables seroprevalencia a ehrlichiosis canina y la edad, arrojó como p valor 0.431. Siendo este valor mayor a 0.05, no existiendo evidencia para rechazar la hipótesis nula de independencia entre las variables estudiadas, por lo que con un 95% de confianza se concluye que no existe asociación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y la edad.

Cuadro 3. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la edad en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Grupo de edad	Menos de 1 año	0	0	4
	De 1 a menos de 2 años	2	4.4	9
	De 2 a menos de 6 años	7	15.6	19
	De 6 años a más	5	11.1	13
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 3. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la edad en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019



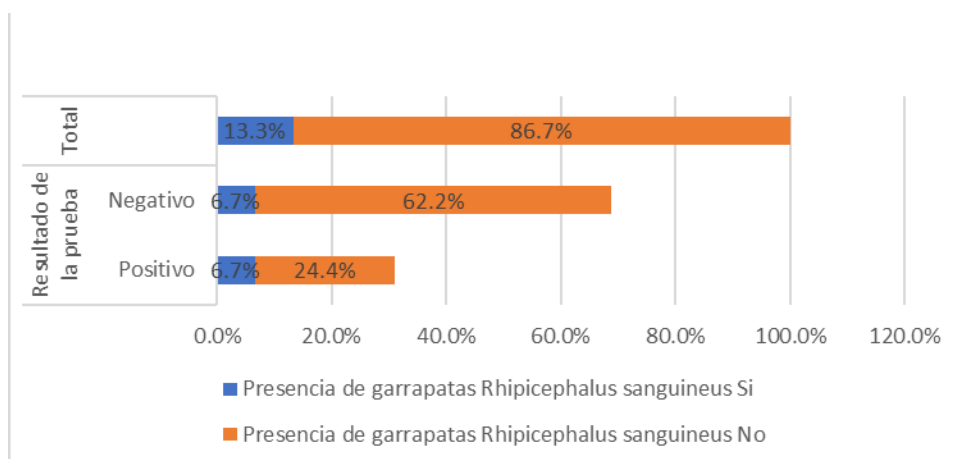
4. En cuanto a la presencia de garrapatas en el animal y la presentación de la enfermedad, el 86.7% de los canes no tenían garrapatas, 62.2% con resultado negativo y 24.4% fueron seropositivos. El 13.3% (6 perros) de los canes si presentaban garrapatas, de los cuales el 50% fueron seropositivos a la enfermedad y el otro 50% negativo.

En cuanto a la prueba Chi-Cuadrado para las variables presencia de garrapatas en el animal y la seroprevalencia a ehrlichiosis canina, arrojó como p valor 0.283. Siendo este valor mayor a 0.05, no existiendo evidencia para rechazar la hipótesis nula de independencia entre las variables estudiadas, por lo que con un 95% de confianza se concluye que no existe asociación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y la presencia de garrapatas.

Cuadro 4. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en el animal, distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Presencia de garrapatas <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	SI	3	6.7	6
	NO	11	24.4	39
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 4. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en el animal, distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019



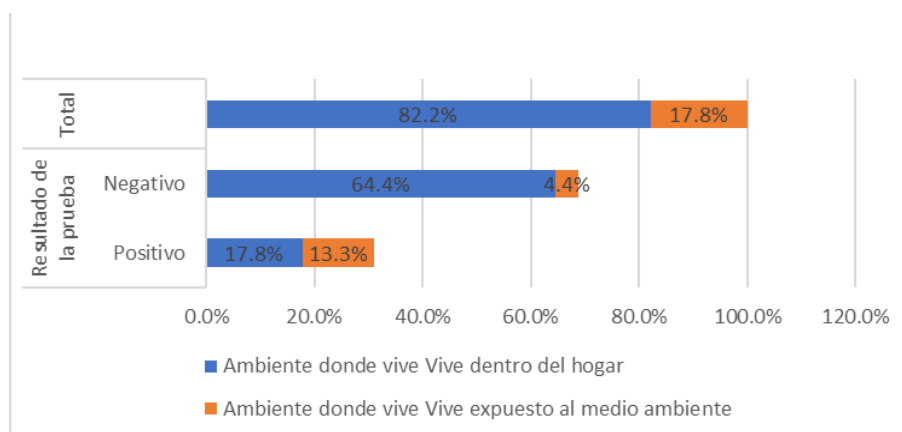
5. En cuanto al medio ambiente en el que habita el can y la presentación de la enfermedad, el 82.2% de los canes evaluados vivían dentro del hogar. Del total de canes inspeccionados seropositivos el 17.8% vivían dentro del hogar y el 13.3% vivían expuestos al medio ambiente. En cambio, del total de canes inspeccionados resultados negativos la gran mayoría (64.4%) vivían dentro del hogar.

En cuanto a la prueba Chi-Cuadrado se tiene un p valor igual a 0.003, el cual es menor a 0.05. En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula de independencia entre el medio ambiente en el que habita el can como factor de riesgo y la seroprevalencia a ehrlichiosis canina, y se concluye con un 95% de confianza que existe relación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y el ambiente donde vive el can, específicamente si está expuesto al medio ambiente o vive dentro del hogar.

Cuadro 5. Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero- marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Ambiente donde habita el can	Vive dentro del hogar	8	17.8	37
	Vive expuesto al medio ambiente	6	13.3	8
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 5. Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019



Cuadro 6. Odds Ratio de los seropositivos a ehrlichiosis canina asociado al ambiente donde habitan los canes en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019

			Resultado		Total
			Positivo	Negativo	
Ambiente donde habita el can	Vive dentro del hogar	Recuento	8	29	37
	Vive expuesto al medio ambiente	Recuento	6	2	8
Total		Recuento	14	31	45

En cuanto a la cuantificación el riesgo del factor de estar expuesto al medio ambiente, se tiene que el *Odds Ratio* = $\frac{6 \times 29}{2 \times 8} = 10,88$. Por lo que se interpreta que el riesgo de contraer la enfermedad cuando el can está expuesto al medio ambiente es 10,88 veces mayor respecto a los canes que viven dentro del hogar.

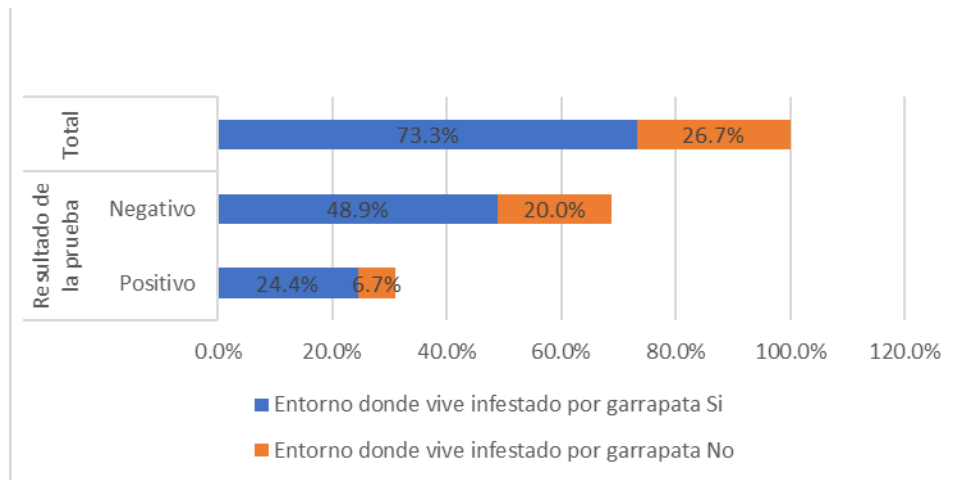
6. En cuanto a la relación entre la presencia de garrapatas en el entorno en donde vive el animal y la presentación de la enfermedad, el 73.3% de los canes vivían en un entorno infestado por garrapatas, 48.9% con resultado negativo y 24.4% fueron seropositivos. El porcentaje de canes con resultados positivos y que no vivían en un entorno infestado por garrapata fue de 6.7%, en cambio, el porcentaje de canes con resultados negativos y que tampoco vivían en un entorno infestado por garrapata fue de 20%.

En cuanto a la prueba Chi-Cuadrado para estas variable arrojó como p valor 0.593. Siendo este valor mayor a 0.05, no existiendo evidencia para rechazar la hipótesis nula de independencia entre la presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal como factor de riesgo y la seroprevalencia a ehrlichiosis canina, por lo que con un 95% de confianza se concluyó que no existe relación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y si viven o no en un entorno infestado por garrapata.

Cuadro 7. Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal	SI	11	24.4	33
	NO	3	6.7	12
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 6. Seropositivos de ehrlichiosis canina asociado a la presencia de garrapatas en el entorno donde vive el animal en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019



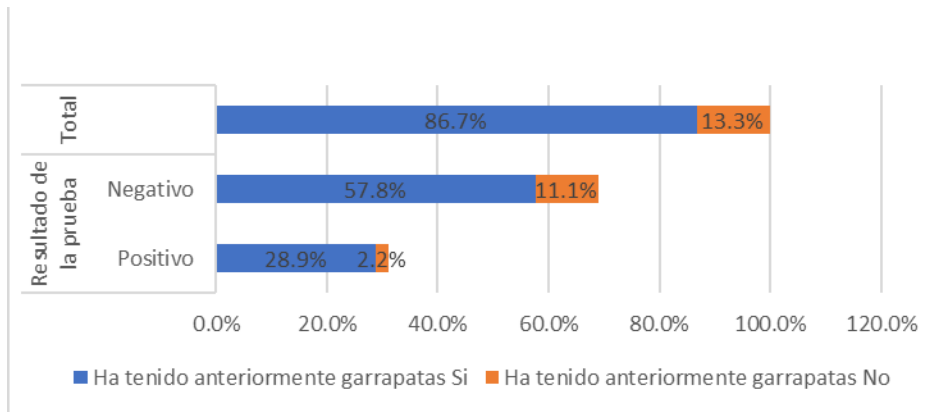
7. En cuanto a la asociación de presentar antecedentes de infestación por garrapatas en el can y la presentación de la enfermedad, la gran mayoría de los canes han tenido anteriormente garrapatas al momento de la inspección, 57.8% con resultado negativo y 28.9% seropositivos, haciendo un total de 86.7%. El porcentaje de canes con resultados positivos en la prueba que han tenido antecedentes de infestación por garrapatas fue de 2.2%.

El p valor asociado a la prueba Chi-Cuadrado para estas variable es de 0.412. Siendo este valor mayor a 0.05, no existiendo evidencia para rechazar la hipótesis nula de independencia entre antecedentes de infestación por garrapatas en el can como factor de riesgo y la seroprevalencia de ehrlichiosis canina. Con un 95% de confianza se concluyó que no existe relación entre los seropositivos a ehrlichiosis canina y los canes con antecedentes de infestación por garrapatas.

Cuadro 8. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a los canes con antecedentes de infestación por garrapatas en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019

		Positivo	% del total	Total de canes
Antecedentes de infestación por garrapatas	SI	13	28.9	39
	NO	1	2.2	6
TOTAL		14	31.1	45

Gráfico 7. Seropositivos a ehrlichiosis canina asociado a los canes con antecedentes de infestación por garrapatas en el distrito de Chorrillos. Febrero-marzo 2019



V. DISCUSIÓN

Adrianzén *et al.*, (2003), afirma en su investigación realizada en febrero y marzo de 2001 en los distritos de Chorrillos, La Molina y San Juan de Miraflores que la prevalencia de *E. canis* fue de 16.5%. Si se considera este valor como referencia sólo para Chorrillos y se compara con los valores de esta investigación cuyo resultado de la seroprevalencia de ehrlichiosis canina fue de 31%, la incidencia de la enfermedad habría aumentado casi el doble. Sin embargo, de acuerdo al estudio de Adrianzén *et al* (2003) sólo en el Distrito de Chorrillos la seroprevalencia fue del 19%, por lo que se concluyó que existe un aumento de la enfermedad en la zona estudiada. El aumento de prevalencia de Ehrlichiosis canina en el distrito evaluado posiblemente se deba a la falta de medidas preventivas contra parásitos externos en los últimos años.

En cuanto al estudio reciente de prevalencia de ectoparásitos de riesgo zoonótico en canes en la localidad de Chorrillos en el 2016, Sahurie (2016) determinó que el 63% de canes encontraban infestados con garrapatas. En este estudio, los resultados son diferentes ya que el 13% de los canes evaluados tuvo presencia de garrapatas y la mitad de ellos (6.7%) se le determinó seroprevalencia de la enfermedad, esto posiblemente se deba a que el estudio de Sahuri fue realizado en el AAHH Las Delicias de Villa en Chorrillos, un zona del distrito en donde abunda gran cantidad de tierra debio a que no cuenta con pistas asfaltadas, además de encontrarse cerca a las costas del Mar y al refugio de vida silvestre de los Pantanos de Villa, por lo tanto la alta humedad y la gran cantidad de tierra incrementa la prevalencia de ectoparasitos, específicamente la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*.

De acuerdo a los resultados del trabajo de Salazar *et al.*, (2014), se confirma que no existe significancia estadística entre la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* con la edad y el sexo. Comparando este resultado con el trabajo de investigación aquí presentado también se concluye con una confianza de 95% que no existe relación entre los canes seropositivos a ehrlichiosis canina y el sexo ni tampoco con la edad; esto se debe posiblemente a que la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* no selecciona a ningún hospedero por su sexo o edad, simple y llanamente busca realizar su ciclo biológico, el cual consiste en su pronta reproducción, para que de esta manera se repita el ciclo biológico (Paiva y Giset, 2017).

Otra comparación que se puede realizar es con relación a las conclusiones del trabajo de Condori (2013), donde las variables que estuvieron relacionadas con la seroprevalencia de ehrlichiosis canina fueron la presencia de garrapatas en el can y la presencia de garrapatas en el distrito donde vive en animal. Sin embargo, en el presente trabajo de investigación se concluyó con un 95% de confianza que los canes seropositivos a ehrlichiosis canina están asociados al ambiente en donde habitan los canes teniendo mayor riesgo de presentar la enfermedad aquellos que vivan expuestos al medio ambiente. Este resultado es similar a la investigación realizada por Adrianzén *et al* (2003) donde concluyó que la presentación de la enfermedad se encontraba asociado con el ambiente en donde habitaba el animal, tanto dentro o fuera del hogar.

Asimismo, en los resultados de Condori (2013), se concluyó que existe asociación entre la presentación de la enfermedad con la presencia de garrapatas en el animal y la presencia de garrapatas en el distrito donde vive el can, sin embargo ambas variables son subjetivas, debido a que no todas las garrapatas son portadoras de la bacteria *E. canis* y por lo tanto si el can presenta una mayor carga parasitaria al momento del muestreo, existirá mayor probabilidad de que presente una asociación estadística entre la enfermedad y la aparición de garrapatas. Por otro lado, la variable presencia de garrapatas en el distrito u entorno donde habita el animal dependerá del concepto sanitario que tenga el propietario del can muestreado, ya que estos datos son recolectados mediante cuestionarios.

A diferencia con la investigación realizada por Huerto (2015), quien concluye que los factores relacionados con la presencia *Ehrlichia canis* son el mal estado de salud del perro, los perros infestados por garrapatas y perros de edad adulta, en este trabajo de investigación no se concluye que hay una relación entre la seroprevalencia y la tenencia de garrapatas o la edad de perro.

Por otro lado, Contreras *et al.*, (2009), en su investigación de caso control llega a la conclusión que los factores de riesgo asociados con la enfermedad ehrlichiosis canina fueron razas grandes, raza Pastor alemán, de 2 a menos de 4 años de edad y con historial

de garrapatas. De estas variables, en esta investigación no se planteó estudiar las razas grandes como factores de riesgo, pero si la edad y el historial de garrapatas, sin embargo al igual que esta investigación no resultó ninguna asociación con la presencia de la enfermedad y el haber presentado garrapatas anteriormente, esto debiéndose posiblemente al hecho de que no todas las garrapatas son portadoras de la bacterias *Ehrlichia canis*.

Los resultados de esta investigación orienta a varios estudios en el futuro. Por ejemplo, sería interesante observar la seroprevalencia en un estudio longitudinal, observando los cambios tanto en la seroprevalencia como en los factores de riesgos. Otra forma de ampliar la investigación sera incorporando otros posibles factores de riesgos como raza, tamaño del pelo, grosor de la piel del can. Para estudios posteriores, pueden existir diversas variables, comprometidas con la presentación de ehrlichiosis canina (Contreras, 2009).

También sería interesante incluir en las investigaciones otras técnicas para el análisis de datos, como estudiar la asociación entre factores de riesgo, pues la relación entre la seroprevalencia y un factor de riesgo puede darse más porque está relacionada con otro factor de riesgo que influye sobre la enfermedad.

Para estudiar de forma simultánea y recíproca la relación de edad, sexo, raza y el tamaño del perro con la ehrlichiosis canina en un estudio denominado “Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014”, se efectuó una regresión logística binaria multivariada (Yarce *et al.*, 2015).

La prueba de regresión logística para *E. canis* pudo demostrar que existen diferencias para las variables de permanencia en el hogar y sexo, por lo que los perros que permanecen más tiempo fuera del hogar y hembras tienen mayor riesgo de adquirir la enfermedad (Adrianzén *et al.*, 2003).

Yarce *et al.*, (2015), en su trabajo de investigación mencionó que el método diagnóstico para erlichiosis canina mediante el uso de inmunocromatografía directa del Anigen Rapid *E.canis* Ab test kit presenta porcentajes tanto de sensibilidad y especificidad muy similares a la técnica de ELISA, garantizando su utilidad diagnóstica en estudios de investigación.

VI. CONCLUSIONES

1. De un total de 14 de 45 canes, correspondiente al 31%, fueron seropositivos a la enfermedad de ehrlichiosis canina.
2. No existió asociación entre la presentación de la enfermedad y los factores de riesgo sexo, edad, presencia de garrapatas, entorno donde vive el animal y antecedentes de infestación por garrapatas en el can.
3. Existió asociación entre el medio ambiente en el que habita el animal y la presentación de la enfermedad, teniendo un 10.88 veces mayor riesgo de presentar la enfermedad viviendo expuesto al medio ambiente.

VII. RECOMENDACIONES

- La alta prevalencia de ehrlichiosis canina en el distrito de Chorrillos, se recomienda evaluar la seroprevalencia de ehrlichiosis canina en distritos aledaños para conocer la epidemiología actual de la enfermedad.
- Uso de antiparasitarios contra ectoparasitos como medio preventivo contra la infestación de garrapatas y por lo tanto la presentación de la enfermedad en los canes.
- La tenencia de las mascotas durante el tiempo que se encuentren en el hogar dentro de la casa, de esta manera reducir la probabilidad de contacto con ectoparasitos portadores de la bacteria *Ehrlichia canis*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrianzén, J. (2002). Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en los distritos de Chorrillos, La Molina y San -Juan de Miraflores Lima. Tesis de Bachiller. Facultad de Medicina Veterinaria: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 68 p.
2. 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 Perú; 14(1), 43-4.
3. Anaya, E., Morón, C., Jaramillo, K., Mendoza, L., & Román, R. (2009). Evidencia serológica de Ehrlichiosis humana en Ancash, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública; 26(1), 54-57.
4. Benavides, J. A., & Ramírez, G. F. (2003). Ehrlichiosis canina. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias; 16(3), 268-274.
5. BIONOTE (19 de febrero de 2019). Rapid E.canis Ab. *Ehrlichia canis* antibody. Recuperado de: http://bionote.co.kr/eng/board/rapid/board_view.asp?search_category=1&page=2&num=261
6. Bockino, L.; P.M. Krimer; K.S. Latimer; P.J. Bain. 2003. Canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) an overview of canine ehrlichiosis.
7. Breitschwerdt, E. B., Hegarty, B. C., and Hancock, S. I. (1998). Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *J. Clin Microbiol.*; 36(9):2645-2651.

8. Bustamante, A. (1998). Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en la zona climática litoral de Lima Metropolitana en la estación de invierno. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 43 p.
9. Carrillo, M. (2007). Como plantear un problema de investigación y seleccionar un diseño de estudio apropiado. *Archivos en Medicina Familiar*, 9(3), 127-132.
10. Chavera, A., Viera, F. y Samamé, H. (1982). Ehrlichiosis Canina en el Perú. Anales del VII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Ica – Perú.
11. Codner, E. & Maslin, W. (1992). Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *Am. J. Vet. Res.* 53(3):264-269.
12. Codner, E. & Farris-Smith, L. (1986). Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. *J Am Vet Med Ass.* 189:47-50.
13. Cohn L.A. (2003). Ehrlichiosis and related infections. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract.* 33:863-884.
14. Condori, Q., & Dianeth, Y. (2013). Estudio epidemiológico de la prevalencia de Ehrlichiosis canina en la zona urbana de la ciudad de Tacna.
15. Contreras, S., María, A., Li, E., Díaz, C., & Hoyos, S. (2009). 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*, 20(2), 270-276.
16. Dagnone, A. S., De Morais, H., Vidotto, M., Jojina, F.S., Vidotto, O. (2003). Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a

Hospital population in South Brazil. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17:422-423

17. Dawson, J., Anderson, B., Fishbeid, D., Sanchez, J. (1991). Isolation and characterization of an *Ehrlichia* spp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 29:2741-2745.
18. De Morais H, Hoskins J, Pereira N, Labarthe N. (2004). Guidelines for diagnosis and management of dogs infected with *Ehrlichia* spp. *Clínica Veterinaria* 48:28-30.
19. Delgado, D. C. M. (2001). Estrategias de investigación. Diseños observacionales 1 parte. Estudios descriptivos. *La Revista Chilena*, 53(2), 229-233.
20. Dolz, G., Ábrego, L., Romero, L., Campos-Calderón, L., Bouza-Mora, L., & Jiménez-Rocha, A. (2013). Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*, 55(Suppl. 1), 34-40.
21. Dumler, J., Barbet, A., Bekker, C, Dasch, G., Palmer, G., Ray, S, Ray, Rikihisa Rurangirwa, F. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: unification of some especies of *Ehrlichia* with *Anaplasma*. *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new especies combinations and designation of *Ehrlichia equi* an HGE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocutophila*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 2145-2165.
22. Estares, L. A. 1999. Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en los distritos de San Juan de Lurigancho, San Martín de Porres, Comas e Independencia. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 18, 22-23, 30-31, 39 p.

23. Ettinger, F. 1992. Tratado de medicina interna veterinaria. 3a ed. p 297-299.
Ed Interamericana.
24. Ettinger, S. J. 1992. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del perro y del gato. Inter – medica p 297-299.
25. Font Grau, J., Cairó Vilagran, J., & Callés, A. (1988). Ehrlichiosis canina. Clínica veterinaria de pequeños animales; 8(3), 0141-148.
26. Gelatt, K. (1991). Canine anterior uvea. En: Veterinary Ophthalmology. Gelatt K.N. (ed). Lea and Febiger. Philadelphia. 374-375.
27. Gómez, O. T. (2008). Una aplicación de la prueba chi cuadrado con SPSS. Industrial data, 11(1), 73-77.
28. Greene, R. T. (1997). Ehrlichiosis canina: Implicaciones clínicas de factores humorales. En: Kirk, ed. Terapéutica veterinaria de pequeños animales. 12 va ed. Mc Graw – Hill interamericana. México. p 317 – 320.
29. Greene, R. T. (2000). Ehrlichiosis canina: Implicaciones clínicas de factores humorales. En: Kirk, ed. Terapéutica veterinaria de pequeños animales. 12 va ed. Mc Graw – Hill interamericana. México. p 317 – 320.
30. Guerrero Puentes, C. (2016). Problemática de la Ehrlichiosis canina vista desde el aspecto teórico y el aspecto clínico en una clínica veterinaria de Bogotá (Central de Urgencias Veterinarias)(Bachelor's thesis).
31. Gutierrez, C. N., & Perez Yabarra, L. (2016). Ehrlichiosis canina. Saber;28(4), 641-665.
32. Harrus, S., Waner, T., Keysary, A., Voet, I. H., and Bark, H. (1998). Amplication of *Ehrlichia* l DNA from dogs 34 months after infection with *Ehrlichia sis canis*. Journl of Clinical Microbiology. 36:73-76.

33. Harrus, S., Aroch, I., Lavy, E., and Bark, H. (1997). Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet Rec.* 141(10):247-250.
34. Harrus, S., P. H. Kass, T. Waner. (1997). Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Vet Rec.* 141(14): 360-3.
35. Harrus, S., Waner, T., Avidar, Y., Bogin, E., Peh, H., and Bark, H. (1996). Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. *Vet Parasitol.* 66(3-4):241-249.
36. Harrus, S., Waner, T., Bark, H., Jongejan, F., and Cornelissen, C, A. (1999). Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 37(9):2745-2749.
37. Hendricks, J; B Wilson.(1996) Ehrlichiosis a silent and deadly killer.
38. Hoyos, L. (2005). Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de ehrlichiosis canina. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 1-3, 54-56, 68-73, 76-81, 101-103 p.
39. Hoyos, S., Li, E., Alvarado, S., Suárez, A., & Díaz, C. (2007). Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú;* 18(2), 129-135.
40. Huerto-Medina, E., & Dámaso-Mata, B. (2015). Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública,* 32, 756-760.

41. Insuvets. (10 de abril de 2009). Prueba de un paso para detección de Anticuerpos de *E. canis*. Kit del Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab. Korea: BIONOTE. Recuperado de: https://www.insuvets.cl/pdf/bionote%20caninos/E_CANIS_Ab.pdf

42. Jara Acuña, M. A. (2014). Frecuencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la ciudad de Chimbote-2013.

43. Keefe, T., Holland, C., Salyer, P.E., and Ristic, M. (1982). Distribution of *Ehrlichia canis* among military working dogs in the world and selected civilian dogs in the United States. JAVMA. 181:236-238.

44. Liberato, W. (1998). Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 15, 19, 21 p.

45. Liddell, A. M., Stockham, S.L., Scott, M.A., Sumner, J.W., Paddock, C.D.; Gaudreault-Keener, M., Arens, M.Q., Storch, G.A. (2003). Predominance of *Ehrlichia ewingii* in Missouri dogs. J. Clin. Microbiol. 41(10): 4617-4622.

46. López, J., Abarca, K., Mundaca, M. I., Caballero, C., & Valiente-Echeverría, F. (2012). Identificación molecular de *Ehrlichia canis* en un canino de la ciudad de Arica, Chile. Revista chilena de infectología; 29(5), 527-530.

47. López, J., Castillo, A., Muñoz, M., & Hildebrandt, S. (1999). Hallazgo de *Ehrlichia canis* en Chile, informe preliminar. Archivos de medicina veterinaria; 31(2), 211-214.

48. Martínez Castro, D. (2015). Comparación de frotis sanguíneo y serología como métodos de diagnóstico en Ehrlichiosis canina.

49. Mondragón, E. J. A., Calixto, O. J., & Prieto, A. C. (2011). Garrapatas (Acari: Ixodidae) prevalentes en caninos no migrantes del noroccidente de Bogotá, Colombia. *Nova*; 9(16), 158-165.
50. Morgan, R.V. (1999). Infecciones por *rickettsias*. En: Clínica de pequeños animales. Cap. 113. J.D. Hoskins (ed). Ed. Harcourt Brace. España.
51. Municipalidad Distrital de Chorrillos. (2019). Disponible en: <http://www.munichorrillos.gob.pe/distrito/ubicacion-y-poblacion>
52. Municipalidad Distrital de Chorrillos. (2016) Plan Desarrollo concertado 2017-2021. Chorrillos.
53. Neer, T. (2000). Ehrlichiosis monocítica y granulocítica caninas. En: G. E. Greene, ed. Enfermedades infecciosas en perro y gatos. Mc. Graw – Hill Interamericana México. p 153- 162.
54. Núñez, L. Estudio de la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en México. 2002.
55. Paddock, C. D. and Childs, J.E. (2003). *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):37-64.
56. Paiva, S., & Giset, M. (2017). Perfil de las Proteínas Sanguíneas en Perros Positivos con *Ehrlichia canis* Agosto 2015. Febrero 2016, Ciudad de Chiclayo departamento de Lambayeque.
57. Pantanowitz, L. (2003). Mechanisms of thrombocytopenia in tick-borne diseases. *The internet journal of infectious diseases.* 2(2).
58. Pita Fernández, S., Vila Alonso MT, Carpente Montero J. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (España) *CAD ATEN PRIMARIA* 1997;4: 75-78.

59. Reardon, M. J., and Pierce, K. (1981). Acute experimental canine ehrlichiosis. II Sequential reaction of the hemic lymphoreticular systems of selectively immunosuppressed dog. *Veterinary Pathology*. 18: 384-396.

60. Ristic, M., and Holland, C. J. (1993). Canine ehrlichiosis. En: *Woldehiwet, R, ed. Rickettsial and Chlamydial. Diseases of Domestic Animals*. Pergamon Press, Oxford, United Kingdom. p 169-186.

61. Rodríguez-vivas, R.I.; R.E.F. Albornoz; G.M.E. Bolio. (2004). *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet. Parasitol*. 127(1): 75-9.

62. Sahurie Boggio, M. (2016). Prevalencia de ectoparásitos de riesgo zoonótico en canes del AAHH Las Delicias de Villa, Chorrillos en el verano del 2016.

63. Sainz, A. (1996). Aspectos clínicos y epizootológicos de la ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid (Ed).

64. Sainz, A., Delgado, S., Amusatogui, I., Tesouro, M. A., & Cármenes, P. (1996). Seroprevalence of canine Ehrlichiosis in Castilla-Leon (north-west Spain). *Preventive Veterinary Medicine*; 29(1), 1-7.

65. Sainz, A., Amusatogui, I., Rodríguez, F., Tesouro, M. A. (2000). La Ehrlichiosis en el perro: presente y futuro. *Profesión veterinaria* 12 (47): 22-28.

66. Salazar, H., Buriticá, E. F., Echeverry, D. F., & Barbosa, I. X. (2014). Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y su relación con algunos parámetros clínicos y hematológicos en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencia Animal*;7(1).

67. Sellon, R.K. (2003). Update on molecular techniques for diagnostic testing of infectious disease Vet Clin North Am Small Anim Pract. 33(4):677-693.
68. Serrano, R. y Arellanes, F.(2015). *Ehrlichia* . Patología y signos clínicos en perros y gatos. [Imagen]. Recuperado de [http://www.simposiodeespiroquetas.com/Ehrlichia %20canis.pdf](http://www.simposiodeespiroquetas.com/Ehrlichia%20canis.pdf)
69. Simón, C. (2003). Ehrlichiosis. Artículo 590. Mevepa.
70. Silva-Molano, R. F., Sánchez-Ucrós, N., & Loaiza-Echeverri, A. M. (2008). Reporte de presentación de *Ehrlichia canis* en muestras sanguíneas de caninos en la ciudad de Cali, Colombia. Vet y Zootec; 2(1), 27-31.
71. Stillman, BA, Monn, M., Liu, J., Thatcher, B., Foster, P., Andrews, B., y Chandrashekar, R. (2014). Rendimiento de un ELISA en el hospital disponible comercialmente para la detección de anticuerpos contra *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, y *Ehrlichia ewingii* y *Dirofilaria immitis* antigen en perros. Revista de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria , 245 (1), 80-86.
72. Troy, G. C.; Vulganot, J. C., and Turnwalt, G. H. (1980). Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. J Am Anim Hosp Assoc. 16:181-187.
73. Tuemmers, C., Lüders, C., Rojas, C., Serri, M., Castillo, C., & Espinoza, R. (2013). Detección de *Brucella canis* por método de inmunocromatografía en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, Chile, 2011. Revista chilena de infectología, 30(4), 395-401.
74. Vadillo S., Piiz S., Mateos E. (2002). Manual de Microbiología Veterinaria. México. McGraw-Hill 853p.
75. Waner, T., Leykin, I., Shinitzky, M., Sharabani, E., Buch, H., Keysary, A., Bark, H., and Harrus, S. (2000). Detection of platelet-bound antibodies in

beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. Vet Immunol Immunopathol. 77:145-150.

76. Waner, T.; S. Harrus. (2000). Canine Monocytic Ehrlichiosis.
77. Woody, B. J., and Hoskins, J. D. (1991). *Ehrlichia* 1 diseases of dogs. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 21(1):75-98.
78. Yarce, L. M. C., Osorio, L. A. R., & Arias, J. A. C. (2015). Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. *Revista de Medicina Veterinaria*, (29), 51-62.
79. Yu, X., McBride, J. W., Diaz, C. M., and Walker, D. H. (2000). Molecular cloning and characterization of the 120- kilodalton protein gene of *Ehrlichia canis* and application of the recombinant 120-kilodalton protein for serodiagnosis of canine ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 38(1):369-374.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Encuesta de recolección de datos del paciente

DATOS DE IDENTIFICACIÓN		Encuesta _____
N° de Campaña: _____		Fecha de Campaña: _____
Veterinaria:	1 Mis Maskotas 2 Medipets 3 Animal Clinic 4 Petisos 5 SOS 6 The Pest's Corner 7 Chips	Raza del can: _____
		Código muestra: _____
DATOS SOBRE FACTORES DE RIESGO		
1. Sexo del perro.	1 Macho 2 Hembra	4.- ¿La mascota vive dentro del hogar o expuesto al medio ambiente?
2.- Edad	1 Menos de 1 año 2 De 1 a menos de 2 años 3 De 2 a menos de 6 años 4 De 6 años o más	1 Vive dentro del hogar 2 Vive expuesto al medio ambiente
3.- Presencia de garrapatas del género <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	1 Si 2 No	5.- ¿El entorno donde vive el perro está infestado de garrapatas?
		1 Si 2 No
Resultados de la prueba	1 Positivo	2 Negativo
		3 Inválido

Anexo 2. Kit de *Ehrlichia canis* Anigen Rapid *E.canis* Ab



Figura 12. Materiales del *E.canis* Ab Test Kit

Anexo 3. Consentimiento de toma de muestra sanguínea

CONSENTIMIENTO DE TOMA DE MUESTRA SANGUINEA

Yo.....de.....años de edad, con D.N.I nº.....
 Dueño de mi mascota llamada..... de..... años de edad. DECLARO: Que el Bachiller Medicina Veterinaria y Zootecnia Giacomo Espichan Herrera me ha explicado el procedimiento de toma de muestras sanguínea, en donde se realizara la sujeción del animal, para posteriormente realizar una desinfección de la zona a extraer la muestra sanguínea y de esta forma iniciar el procesamiento de la muestra en el Kit diagnostico de Ehrlichiosis canina Anigen Rapid *E.canis* Ab del cual se tendrán los resultados en los posteriores 20 minutos.

.....

Firma del propietario

Fecha.....

Anexo 4. Experiencia en las campañas veterinarias realizadas



Figura 13. Campaña en clínica veterinaria medipets, distrito de Chorrillos 2019



Figura 14. Campaña en clínica veterinaria animal clinic, distrito de Chorrillos 2019

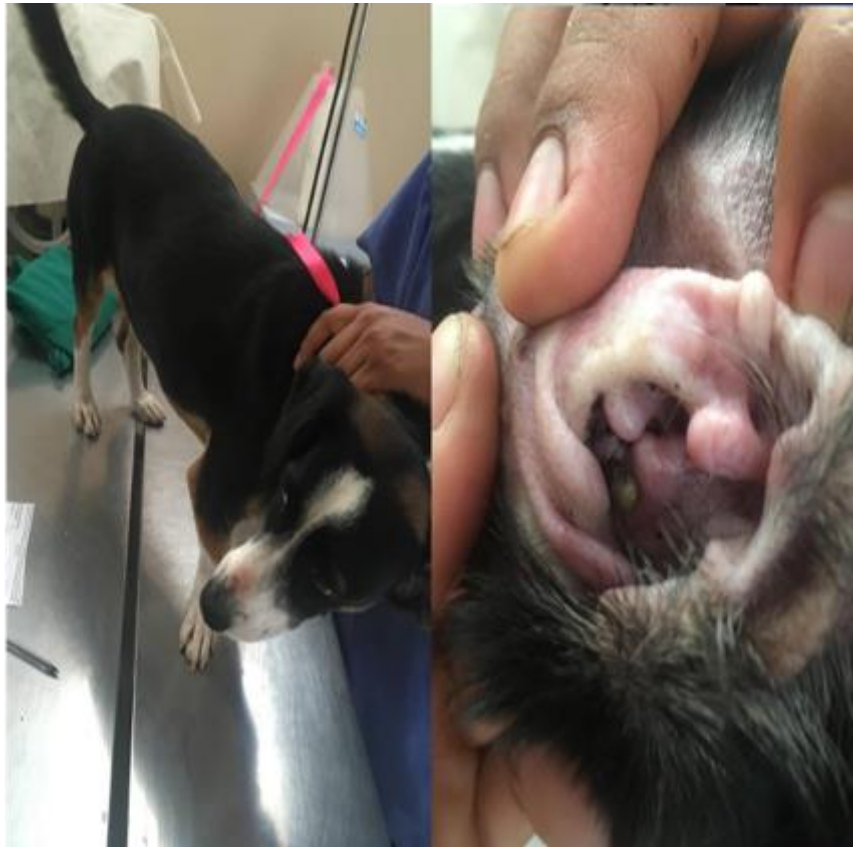


Figura 15. Campaña en clínica veterinaria petisos, distrito de Chorrillos 2019



Figura 16. Campaña en clínica veterinaria the pet's corner, distrito de Chorrillos 2019



Figura 17. Campaña en clínica veterinaria chips, distrito de Chorrillos 2019



Figura 18. Campaña en clínica veterinaria mis maskotas, distrito de Chorrillos 2019