

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agrícolas

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“PREVALENCIA EN CASOS DE EHRLICHIOSIS CANINA EN
LOS SECTORES DE LA 2da y 3ra ETAPA DE
ARICA 2009”**

TESIS

Presentada por

Bach. KAREN IVONNE OBLITAS MIRANDA

Para optar el título de

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TACNA - PERÚ

2009

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA

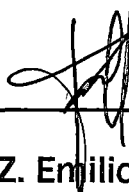
Facultad de Ciencias Agrícolas

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“PREVALENCIA EN CASOS DE EHRlichiosis CANINA EN LOS
SECTORES DE LA 2da Y 3ra ETAPA DE ARICA 2009”**

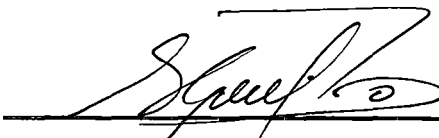
**TESIS SUSTENTADA Y APROBADA EL DIA 17 DE DICIEMBRE DE 2009
ESTANDO EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR:**

Presidente:



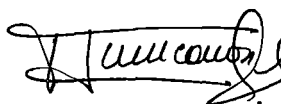
MsC. M.V.Z. Emilio Maquera Llano

Secretario:



Mgr. M.V.Z. Cecilio Hurtado Quispe

Vocal:



M.V.Z. Julia Condori Silvestre

Asesor:



M.V. Luis Barrios Moquillaza

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIÓN.....	39
RECOMENDACIONES.....	40
BIBLIOGRAFIA.....	42
ANEXOS.....	45

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la región de Arica y Parinacota, provincia de Arica, Distrito N° 1 (XV región) Población Raúl Siva Henríquez, teniendo como objetivos determinar la prevalencia de ehrlichiosis canina según la edad, prevalencia de ehrlichiosis canina según el sexo y caracterizar los factores epidemiológicos que permite la presencia de ehrlichiosis canina (presencia de garrapatas, tipo de vida del animal urbana- rural), el método que se realizó fue la obtención de la información de pacientes sospechosos a la enfermedad, siendo remitida en la ficha clínica (anexo 2) y luego se procedió a realizar la prueba de test serológico con el kit Inmunocomb de ehrlichiosis canina extrayendo sangre del paciente y remitida en el (anexo 2), obteniendo los siguientes resultados prevalencia de ehrlichiosis canina en la ciudad de Arica (2° y 3ª etapa) 44,25% con 77 casos positivos, según edad se obtuvo un mayor porcentaje de 17,24% en caninos de 3 - 4 años, según sexo se obtuvo el mayor porcentaje de 25,29% en machos y en hembras 18,97%, presencia de vector garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) con 71,22 % y tipo de vida del animal 92,21% en urbanos y 7,79% en rurales.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son de mucha importancia en la medicina veterinaria, la ejecución del presente estudio en la ciudad de Arica confirma que la presencia de garrapatas café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) en el paciente manifiesta en la mayoría de los casos cuadros de ehrlichiosis canina lo cual este vector transmite la bacteria *Ehrlichia canis*.

El primer agente ehrlichial fue observado en Argelia por Donatien y Lestoquard en 1935, quienes identificaron un microorganismo rickettsial en monocitos de caninos que cursaban con una enfermedad que ocasionaba pancitopenia severa, el cual fue denominado rickettsia canis, para luego ser renombrado en 1945 como *Ehrlichia canis* en honor del bacteriólogo Paúl Ehrlich (López et al., 2003).

En 1978 fue identificada por primera vez en Estados Unidos la *Ehrlichia Platys*, actualmente denominada *Anaplasma platys* y posteriormente se ha señalado en otros países americanos y europeos. Esta especie ha sido identificada además en Japón, Tailandia, Europa, Taiwán, Grecia, Israel y en Venezuela, a partir de 1996 han sido identificadas *E. canis*, *A. platys*, *E. Chaffensis* y *A. phagocytophilum* por técnicas Inmunofluorescencia indirecta y PCR.

En Brasil, se han detectado anticuerpos contra *E. canis* desde hace algunos años mediante técnicas de ELISA.

En Perú, recientemente se ha encontrado una seroprevalencia para ehrlichiosis canina detectándose anticuerpos *E. canis* mediante la técnica indirecta de ELISA. En Chile, en octubre de 1998 fueron reconocidos serológicamente los primeros casos de ehrlichiosis canina causada por *E.*

canis. Los perros eran provenientes del sur de Santiago de Chile. Desde ese año hasta la fecha a incrementado el numero de casos en toda la región Metropolitana, construyéndose hoy en día en una enfermedad cada vez mas común en los caninos, en los meses de primavera y verano.

Las pruebas serológicas más utilizadas para el diagnóstico de ehrlichiosis a nivel mundial son la inmunofluorescencia indirecta (IFA), inmunolectrotransferencia (ETT) y la técnica inmunoabsorbente ligada a enzimas (ELISA). En el país, se utilizan actualmente kits comerciales basados en la técnica indirecta de ELISA, que tienen como ventaja la rapidéz y facilidad para su realización.

Por tanto, se uso la técnica de test serológico indirecto de elisa con el Kit Inmunocomb ehrlichiosis canina obteniendo los resultados correspondientes.

I. MARCO TEÓRICO

La ehrlichiosis canina engloba diversas enfermedades sistémicas provocadas por múltiples microorganismos de orden Rickettsiales, que poseen características estructurales similares a las bacterias gram negativas, transmitidos por garrapatas (*Parnell 2004*).

La enfermedad se presenta en los países templados, tropicales y subtropicales del mundo, en correspondencia con el rango geográfico del hospedero definitivo, la garrapata vector y el agente rickettsial involucrado.

El primer agente ehrlichial fue observado en Argelia por Donatien y Lestoquard en 1935, quiénes identificaron un microorganismo rickettsial en monocitos de caninos que cursaban con una enfermedad que ocasionaba pancitopenia severa, el cual fue denominado *rickettsia canis* (*Sainz et al., 2000*) para luego ser renombrado en 1945 como *ehrlichia canis* en honor del bacteriólogo Paúl Ehrlich (*López et al., 2003*).

En 1978 fue identificada por primera vez en Estados Unidos la *Ehrlichia platys*, actualmente denominada *Anaplasma platys*, (*Dumler et al., 2001*) y posteriormente se ha señalado en otros países americanos y europeos (*Neer, 2000; Ettiner, 1992; Sainz et al., 2000*). Esta especie ha sido identificada además en Japón, Tailandia, Europa, Taiwán, Grecia, Israel y Venezuela (*Dumler et al., 2001*).

En Venezuela, a partir de 1996 han sido identificadas *E. canis*, *A. platys*, *E. Chaffensis* y *A. phagocytophilum* por técnicas Inmunofluorescencia indirecta y PCR (*De Moraes et al., 2004*).

En Brasil, se han detectado anticuerpos contra *E. canis* desde hace algunos años mediante técnicas de ELISA y fue identificada por primera vez por técnicas de PCR en el 2003 (Dagnone et al., 2003). Así también en el 2002, se detectaron anticuerpos contra *E. chaffensis* en el estado de Minas Gerais (De Moraes et al., 2004).

En Perú, recientemente se ha encontrado una seroprevalencia de 16,5% para ehrlichiosis canina detectándose anticuerpos *Ehrlichia canis* mediante la técnica indirecta de ELISA, en tres distritos de Lima, confirmándose la exposición a este agente (Adrianzen 2002), debiendo investigarse con mayor dedicación a fin de determinar la cinética de esta enfermedad.

En Chile, en octubre de 1998 fueron reconocidos serológicamente los primeros casos de ehrlichiosis canina causada por *E. canis*. Los perros eran provenientes del sur de Santiago de Chile. Desde ese año hasta la fechas incrementado el número de casos en toda la región Metropolitana, construyéndose hoy en día en una enfermedad cada vez mas común en los caninos, en los meses de primavera y veranos (López et al., 2003).

Últimamente, se ha diagnosticado otro agente causal de ehrlichiosis granulocítica humana, *Ehrlichia ewingii*, patógeno para perros (López et al., 2003).

El agente etiológico de la ehrlichiosis canina, la rickettsia *Ehrlichia canis*, es una bacteria gram negativa, cocoide pleomórfica pequeña, que parasita el citoplasma de los monocitos circulantes, en grupos de organismos denominados mórulas. La enfermedad es también conocida como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina, nombres que representan diferentes

aspectos de una misma enfermedad. Esta enfermedad es reconocida como una enfermedad infecciosa importante y potencialmente fatal de los perros y otros miembros de la familia Canidae. *E. canis* fue identificada por primera vez en Algeria en 1935. Históricamente la enfermedad cobró mucha importancia durante la guerra de Vietnam, causando la muerte de cientos de perros militares. Posteriormente se le prestó atención en 1987 cuando *E. chaffeensis*, un organismo muy emparentado, fue identificado como la causa de la erlichiosis monocítica humana. Subsecuentemente, en 1996, se demostró que *E. chaffeensis* causa signos de enfermedad en los perros indistinguible de la infección provocada por *E. canis*.

Patogénesis

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

secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *Ehrlichia canis*. Los tres estados (larva, ninfa y adulto), son capaces de transmitir la enfermedad. Se ha demostrado que las garrapatas pueden sobrevivir como adultos de 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse. Este fenómeno permite a las garrapatas sobrevivir durante el invierno e infectar a los huéspedes en la primavera siguiente. Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos de EMC ocurren durante esos períodos. Como la transmisión de *Ehrlichia* es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la rickettsia. Los perros de regiones endémicas y aquellos que viajan hacia o desde áreas endémicas deben ser considerados como candidatos potenciales a enfermarse. La distribución de la EMC está relacionada con la distribución del vector *Rhipicephalus sanguineus* y se ha descrito su ocurrencia en cuatro continentes incluyendo Asia, África, Europa y América. Los casos de EMC confirmados serológicamente deben ser declarados en la mayoría de los estados en Estados Unidos. Se ha demostrado que la seroprevalencia de anticuerpos contra *E. canis* en perros en Zimbabwe, Egipto e Israel es de 42%, 33% y 30% respectivamente.

La patogénesis de EMC incluye un período de incubación de 8 a 20 días, seguido de una fase aguda, subclínica y a veces crónica. Durante la fase aguda, el parásito ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los macrófagos del sistema retículo-endotelial del bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las rickettsias hacia otros órganos del cuerpo.

Los signos clínicos de la fase aguda varían en severidad, pero usualmente se resuelven espontáneamente aunque algunos perros pueden permanecer con infección subclínica. Puede haber recuperación espontánea del estadio subclínico, sin embargo otros animales pueden ser portadores persistentes durante meses o años. La identificación de ADN de *Ehrlichia* en aspirados esplénicos, obtenidos de 4 portadores persistentes después de 34 meses de la infección experimental, sugiere que el bazo es el órgano donde permanece la rickettsia en los casos subclínicos. Se cree que los perros inmunocompetentes son capaces de eliminar al agente durante la fase subclínica. Algunos perros persistentemente infectados pueden desarrollar subsecuentemente la fase severa crónica de la enfermedad. No todos los perros desarrollan la fase crónica de EMC, y las condiciones que llevan al desarrollo de la misma permanecen poco claras. El pastor alemán tiende a desarrollar la fase crónica mucho más frecuentemente que otras razas, posiblemente debido a una respuesta disminuida de la inmunidad celular en estos perros. La muerte en la EMC puede suceder como consecuencia de las hemorragias y/o infecciones secundarias.

Hay evidencias crecientes acerca de la intervención de mecanismos inmunológicos en la patogénesis de la enfermedad. Estas incluyen pruebas de Coombs y de autoaglutinación positivas en animales infectados y la demostración de anticuerpos antiplaquetas (APA) en perros infectados experimentalmente con *E. canis*. Tanto plaquetas libres como ligadas a anticuerpos (APA) han sido demostradas en la sangre de perros infectados, y se cree que cumplen un papel importante en la patogénesis de la trombocitopenia y la trombocitopatía.

Fueron demostradas nuevas evidencias sobre la intervención de mecanismos inmunopatológicos en la patogénesis de la EMC en infecciones experimentales realizadas en perros esplenectomizados. Estos fueron infectados con *E. canis*. La serología, los signos clínicos y los parámetros hematológicos fueron evaluados durante el curso de la enfermedad aguda. Los perros esplenectomizados presentaron una forma menos severa de la enfermedad aguda en comparación con los perros enteros. Los resultados sugieren un compromiso del bazo en la patogénesis de EMC. La típica esplenitis linfoplasmocítica, con la consecuente liberación de mediadores de la inflamación y/o sustancias esplénicas, ha sido propuesta como un elemento fundamental en la patogénesis de la enfermedad.

Enfermedades ehrlichiales en caninos

Ehrlichiosis monocítica canina (EMC)

La ehrlichiosis monocítica canina (EMC), es una enfermedad infecciosa causada principalmente por *E. canis* la cual infecta células mononucleares (monocitos y linfocitos). El agente causal es unos microorganismos intracelulares obligados, pertenecientes a la familia *Anaplasmataceae* (Dumler et al., 2001).

El vector principal es el *Rhipicephalus sanguineus* o garrapata café del perro (Groves et al., 1975), por lo tanto la enfermedad podría presentarse donde quiera que el vector se encuentre, principalmente en zonas de clima tropical o en las estaciones calurosas de los climas mediterráneos (Ettinge; Neer, 2000; Parnell, 2004).

La *E. canis* puede afectar a múltiples especies, entre ellas cualquiera de la familia *Canidae*, sosteniéndose que especies como el zorro, coyote y chacal son reservorios naturales (Neer, 2000). La ehrlichiosis es una enfermedad que no presenta ninguna afinidad por sexo (Harrus et al., 1997b), pero se ha descrito mayor sensibilidad en edades medias y en la raza Pastor alemán en donde también la sintomatología suele ser mas severa y de peor pronostico (Harrus et al., 1997b; Ristic y Holland, 1993 Nyindo et al., 1980).

La sintomatología inicialmente es inaparente y es probable confundirla con otras infecciones (*leptospirosis*, *babesiosis* y anemias deficitarias). Posterior a esta etapa viene una fase subclínica asintomático de duración variable. En esta fase el sistema inmune del animal juega un papel muy importante en la eliminación del agente. De no ser así, esta progresa a una etapa crónica caracterizada por pancitopenia debido a aplasia medular (Neer, 2000; Harrus et al., 1999; Ettinger, 1992).

Esta enfermedad cursa con diversas alteraciones hematológicas, tales como trombocitopenia, anemia y leucopenia de intensidades variables, dependiendo de la patogenicidad del agente y la susceptibilidad del hospedero (Parnell, 2004; Harrus et al., 1999; Ettiner, 1992; Neer, 2000).

La detección directa del microorganismo se realiza mediante el examen de un frotis teñido de sangre periférica de un animal con sintomatología clínica, siendo este poco sensible por el bajo porcentaje de pacientes con detección de formaciones modulares intracitoplasmaticas (4%) (Ettinger, 1992). La detección serológica se realiza mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos (IFA) o por la técnica indirecta de ELISA (De Morais et al., 2004).

La *E. chaffeensis* también pueden infectar a los caninos de manera natural (López *et al.*, 1999) pero en menor frecuencia, provocando signos clínicos agudos similares a los causados por *E. canis* (Kordick *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 1991). Según algunos autores la infección de caninos por otras especies ehrlichiales monocitotrópicas, producen manifestaciones clínicas leves en comparación a las que produce *E. canis* (López *et al.*, 1999).

Ehrlichiosis trombocítica canina (ETC)

La ehrlichiosis trombocítica canina (ETC) o trombocitopenia cíclica infecciosa canina, producida por la *E. platys*, (Dumler *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2001). La *A. platys*, fue reportada inicialmente en perros de Florida en los Estados Unidos (Harvey *et al.*, 1978).

La enfermedad puede ser transmitida por el *R. sanguineus* u otras garrapatas (Arraga-Alvarado *et al.*, 1997; Harvey, 1993).

Mediante la ampliación por técnicas de PCR y la secuenciación del gen *ARNr 16S*, se ha demostrado que la *A. platys* se relaciona con otras especies ehrlichiales pero infecta a plaquetas en lugar de leucocitos (Dumler *et al.*, 2001).

El microorganismo se multiplica solo en plaquetas de caninos y puede ser transmitido por la inoculación sanguínea de un perro infectado a un perro libre de anticuerpos contra *A. platys* (Ettinger, 1992). Este agente no es considerado como muy patógeno, ni como causante la enfermedad y signos clínicos en los caninos (Neer, 2000).

No se suelen apreciar manifestaciones clínicas o estas son mínimas, aunque la infección conjunta con otros patógenos transmitidos por

garrapatas (*E.canis* o *B. canis*) pueden potenciarlas. La fiebre puede ser el único signo clínico y es rara la presencia de petequias, equimosis y epistaxis. Puede producirse uveítis anterior en los animales afectados.

El diagnóstico se basa principalmente en las alteraciones hematológicas, (trombocitopenia y rara vez anemia) alteraciones bioquímicas (hipoalbuminemia) identificación del microorganismo en frotis sanguíneo (detección de inclusiones en plaquetas), inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos (IFA) y técnicas moleculares (PCR). Esta especie posee una reactividad muy baja o nula con *E. canis*.

Ehrlichiosis granulocítica canina (EGC)

La especie ehrlichial que infecta a los granulocitos de caninos de manera natural es la *E. ewingii*, que solo ha sido destacada en Estados Unidos. Esta es una enfermedad clínicamente importante cuyos signos son la cojera y la tumefacción articular con marcha rígida.

Los títulos de otras ehrlichias deben examinarse según el área geográfica y los signos clínicos, los anticuerpos a *E. ewingii* reaccionan de forma cruzada con *E. canis* y *E. chaffeensis* y el uso de uno de estos antígenos detectara la infección con cualquiera de los tres.

Presentación Clínica

La ocurrencia natural de EMC se puede manifestar con una amplia variedad de signos clínicos. Diferentes estudios han descrito una gran variación en los signos clínicos y esto puede ser debido a muchos factores, incluyendo diferencias en la patogenicidad entre las cepas de *Ehrlichia*, raza de perros, infecciones concomitantes con otras enfermedades transmitidas por garrapatas y el estado inmunitario del perro. No hay predilección sexual ni de edad en la infección con *E. canis* y todas las razas pueden ser infectadas. Sin embargo el pastor alemán parece ser el más predispuesto a desarrollar EMC clínica.

En la fase aguda es común encontrar garrapatas en el perro. En esta fase los signos clínicos pueden ser leves y no específicos, aunque en algunos casos pueden ser severos y comprometer la vida. Después del período de incubación que es de 8 - 20 días, los perros infectados entran en la fase aguda de la enfermedad que puede durar de 1 a 2 semanas. Los signos pueden incluir: depresión, letargia, anorexia, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia y pérdida moderada de peso. Los perros pueden presentar tendencia al sangrado, petequias y equimosis en la piel y membranas mucosas, y ocasionalmente epistaxis.

Los signos oculares son frecuentes e incluyen uveítis anterior con opacidad corneal (edema y/o depósito de precipitados celulares), hipema, tortuosidad de vasos retinales y lesiones corio-retinales focales (manchas pigmentadas rodeadas de áreas de hiperreflectividad). Puede haber desprendimiento de retina y ceguera debido a hemorragias subretinales.

Se pueden presentar otros signos clínicos como vómitos, descarga oculonasal serosa a purulenta, claudicación, ataxia y disnea.

Los signos clínicos más comunes en la enfermedad crónica son debilidad, depresión, anorexia, pérdida crónica de peso, palidez de mucosas, fiebre y edema periférico, especialmente en miembros posteriores y escroto.

Sangrado por trombopatía, como petequias y equimosis dérmicas y de membranas mucosas y epistaxis son hallazgos frecuentes. Infecciones bacterianas secundarias y por protozoarios, neumonía intersticial, falla renal y artritis pueden presentarse durante la enfermedad crónica severa. Algunos desórdenes reproductivos, como sangrado prolongado durante el estro, infertilidad, aborto y muerte neonatal, pueden estar asociados con EMC. La polimiositis también ha sido asociada con EMC crónica. Los signos neurológicos pueden ocurrir tanto en la enfermedad aguda como crónica. Estos incluyen signos de meningoencefalitis, como por ejemplo: lomo arqueado, dolor severo de cuello y lomo, paraparesia o tetraparesia, ataxia, déficit de nervios craneales y convulsiones. Los signos neurológicos pueden ser debidos a hemorragias, infiltración celular extensa y compresión perivascular de las meninges.

Hematología

La trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común y consistente en la EMC aguda. Un aumento concurrente y significativo del volumen medio de plaquetas es también usualmente visto, reflejando una trombopoyesis activa. En la fase aguda de la enfermedad es común la leucopenia y la anemia moderada (usualmente normocítica,

normocrómica, no regenerativa). La trombocitopenia moderada es un hallazgo común en la fase subclínica de la enfermedad. Puede haber un descenso en el número de los neutrófilos. Los parámetros eritrocíticos no son afectados normalmente en esta etapa de la enfermedad. La trombocitopenia severa, leucopenia y anemia se presentan más comúnmente durante la fase crónica de la EMC. La pancitopenia severa es la característica de la fase crónica grave y que ocurre como resultado de una médula ósea hipocelular suprimida.

Hallazgos bioquímicos

Las principales anormalidades bioquímicas vistas en los perros infectados con EMC son la hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergamaglobulinemia. La electroforesis proteica sérica usualmente revela gamapatía policlonal, sin embargo, en raras ocasiones los perros infectados pueden presentar gamapatía monoclonal la cual puede ser mal diagnosticada como para proteinemia. Los perros con pancitopenia presentan una significativa baja concentración de proteínas totales, globulinas totales y concentración de gammaglobulina en comparación con perros sin esta anormalidad. La baja concentración de gammaglobulinas asociada a la pancitopenia sugiere que el estado inmune del animal pancitopénico infectado con *E. canis* está más comprometido y, por lo tanto, las infecciones secundarias pueden ocurrir más frecuentemente en estos perros. Un aumento transitorio moderado en la actividad de la aminotransferasa y de la fosfatasa alcalina puede presentarse.

Diagnóstico

La mayoría de los casos de EMC ocurren en áreas endémicas durante la primavera y los meses de verano cuando la población de garrapatas es más activa. El diagnóstico de la EMC se basa en la anamnesis, presentación clínica, hallazgos patológicos al examen clínico y se confirma con las pruebas de laboratorio. Los propietarios pueden relatar una infestación previa con garrapatas o la visita reciente a un área endémica. El diagnóstico se confirma con la visualización de las mórulas en los monocitos circulantes, detección del aumento de anticuerpos en suero contra *E. canis*, o la demostración del ADN de *E. canis* mediante la reacción de cadena de polimerasa (PCR).

Actualmente, la prueba de inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFA) usando antígenos de *E. canis* es el test serológico más aceptable. La presencia de títulos de anticuerpos anti *E. canis* a una dilución mayor a 1:40 se considera evidencia de exposición. En la fase aguda de la enfermedad, cuando los perros están clínicamente enfermos, los títulos de anticuerpos aumentan rápidamente. En estudios experimentales se ha demostrado que en el momento de presentación, los perros clínicamente enfermos en la fase aguda de la enfermedad tienen títulos de anticuerpos substanciales.

La prueba Dot-Elisa se ha desarrollado recientemente para usar en clínica. Estas pruebas requieren un equipo mínimo y permitirán un diagnóstico serológico de EMC ampliamente disponible. Promete ser una prueba clínica auxiliar de diagnóstico serológico de gran valor para esta enfermedad.

Cuando se determina el título de anticuerpos contra *E. canis* mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA) en perros, es esencial que el clínico tenga en cuenta las reacciones cruzadas que se pueden presentar y que pueden confundir el diagnóstico. En áreas endémicas a otras especies de *Ehrlichia* las reacciones cruzadas entre *E. canis*, y *E. ewingii*, *E. equi* o *E. risticii* deben tenerse en cuenta. En un estudio reciente se demostró que perros artificialmente infectados con *E. canis* desarrollan anticuerpos que dan reacción cruzada con *E. equi* aproximadamente 4 meses después de la infección. No obstante, se observó que los anticuerpos contra *E. equi* eran considerablemente más bajos comparados con los de *E. canis*. La reactividad cruzada entre *E. canis*, *Neorickettsia helminthoeca* (el agente etiológico de la enfermedad del envenenamiento por salmón) también ha sido documentada. No hay reacción serológica cruzada entre *E. canis* y *E. platys*.

Debido a la confusión causada por las infecciones que dan reacción cruzada, sería deseable en condiciones óptimas probar el suero contra un número de agentes. Generalmente una diferencia cuatro veces mayor entre los títulos de anticuerpos contra los diferentes antígenos es considerada como inferencia etiológica cuando los pacientes reaccionan a varios antígenos. La posibilidad de infección con diferentes variedades de garrapatas puede confundir el uso de pruebas serológicas. Co-infecciones con *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*, *E. equi*, *E. platys*, especies de *Rickettsia*, especies de *Bartonella* y *Babesia canis* ha sido descrita en criaderos de perros con una alta carga de infección por garrapatas.

En aproximadamente el 4% de los casos durante la fase aguda de la enfermedad, se puede demostrar microscópicamente la mórula

intracitoplásmica de *E. canis* en los monocitos y es diagnóstico de la enfermedad. Por lo tanto se debe evaluar cuidadosamente la sangre y los frotis sanguíneos. Otros métodos, usados principalmente en investigación, son el cultivo del parásito, PCR y Western immunoblotting. En un estudio en el que se comparó PCR, cultivo del parásito, IFA y Western immunoblotting para la detección temprana del parásito se vio que el cultivo celular y el re-aislamiento es el método más sensible y definitivo para el diagnóstico temprano de la erlichiosis. No obstante, se necesitan entre 14 a 34 días para obtener resultados positivos, por lo que no es un método conveniente.

El diagnóstico de la enfermedad subclínica debe basarse en la anamnesis, ubicación geográfica del perro, persistencia de los títulos de anticuerpos contra *E. canis*, trombocitopenia moderada e hipergamaglobulinemia. El diagnóstico de la enfermedad en esta etapa es un desafío para el clínico. La importancia del diagnóstico temprano radica en el pronóstico relativamente bueno antes de que algunos de los perros entren en la fase crónica, fase en la que el pronóstico es grave. La enfermedad crónica es el estadio final del proceso de enfermedad y el diagnóstico se basa en la anamnesis, la típica pancitopenia severa, la presencia de títulos de anticuerpos contra *E. canis*, hipergamaglobulinemia sérica y falta de respuesta al tratamiento con doxiciclina.

2.1 Antecedentes

León, 2000. Experimentó con 155 canes con historia de garrapatas y manifestaciones hemorrágicas con test inmuno enzimático Inmunocomb (Inmuno-ensayo en fase sólida) se obtuvieron los siguientes resultados: *Ehrlichia canis* 80,90% positivos, mayor porcentaje en machos 88,55%, presenta una temperatura de 26°C, humedad 83% y el clima es tropical.

García 2003. Experimentó con 190 canes en estudio obteniendo un 42,34% positivos a *Ehrlichia canis* aplicando el test comercial Inmunocomb ehrlichiosis canine (ELISA). El clima de Alicante es tropical - árido, presenta una Temperatura de 20°C y 0° msnm.

Díaz 2004. Experimentó con 343 canes utilizados para la detección del microorganismo y relacionar la misma con factores de riesgo como: edad, sexo, raza, habitat por medio de hemogramas y técnicas de inmunofluorescencia (IFI) y enzimo-inmunoanálisis (ELISA) se obtuvieron los siguientes resultados: *Ehrlichia canis* 55,97% con una prevalencia en machos (58,3%) que se ven mas afectados que las hembras (41,7%). El clima de Catia - España es intertropical presenta una temperatura de 22,5°C.

Hoyos 2005. Experimentó con 97 canes utilizados para la detección del microorganismo y relacionar la misma con factores de riesgo como: edad, sexo, habitat, presencia del vector por medio de hemogramas y kit comercial Inmunocomb de *ehrlichiosis canina* (ELISA), se obtuvieron los

siguientes resultados: *Ehrlichia canis* 35,97% con una prevalencia de 72,88% en las hembras y (83,33%) en machos, edad 80,64% de 2 - 4 años, tipo de vida de un 78% en áreas urbanas y presencia de garrapatas en un 69,09%.

Cruz 2008. Experimentó con 55 canes utilizados para la detección del microorganismo y relacionar la misma con factores de riesgo como: edad, raza, por medio de hemogramas y prueba de IFI (ELISA), se obtuvieron los siguientes resultados: *Ehrlichia canis* 83,63% positivos, mayor porcentaje en edad 20,89% de 2 - 4 años. Presenta una temperatura de 27,8° C y el clima es tropical.

Martins 2007. Experimentó con 226 canes en tres zonas de Minas Gerais que son Lavras (n=85), Belo Horizonte (n=45) y Nanuque (n=96) utilizados para la detección del microorganismo, edad, sexo, se obtuvieron los siguientes resultados: *Ehrlichia canis*, Lavras 24,7%, Belo Horizonte 37,8% y Nanuque 65,6% positivos, con una mayor presentación en machos y en edades de 2 - 4 años. El clima de Minas de Gerais es tropical a sub-tropical con semi-aridéz y presenta una temperatura de 22°C - 25°C.

Kit Comercial INMUNOCOMB *Canine Ehrlichia Antibody Test Kit*

Se basa en el punto de fase sólida - principio ELISA (enzima-inmuno-adsorción), que asegura resultados cuantitativos, semi-cuantitativos y cualitativos. La fase sólida es una placa de plástico en forma de peine. Se obtiene resultados serológicos, midiendo en concreto el nivel de anticuerpos presentes en sangre o suero frente a agentes infecciosos específicos.

La *bandeja de reactivos* tiene múltiples compartimentos que contienen los reactivos necesarios para el desarrollo de la técnica.

.El *peine o tarjeta* tiene 12 dientes. Un dente para cada muestra de sangre o suero.

Ventajas del Inmunocomb de Biogal

Comparación con in ELISA estándar:

Inmunocomb de Biogal :

- Realización simple, ideal para trabajo *in situ*.
- Permite analizar muestras individuales
- Tiempo de prueba corto
- Fácil utilización, técnica fácil de aprender.

ELISA estándar:

- Requiere un laboratorio equipado con lector de placas ELISA
- Se necesita gran cantidad de muestras
- Tiempo de prueba muy superior
- Debe realizarlo un técnico de laboratorio con experiencia.

Procedimiento

1. Obtener sangre de animal o animales (canino)
2. Depositar la muestra en los compartimentos (A) de la bandeja
3. Introducir el peine o el número necesario de dientes del mismo en los compartimentos (A) de la bandeja de reactivos y dejar incubar el tiempo determinado.
4. Transferir el peine del compartimento A al F en una secuencia sincronizada:

- A 5 minutos
 - B 2 minutos
 - C 5 minutos
 - D 2 minutos
 - E 2 minutos
 - F 5 minutos
5. Dejar que el peine seque y lea los resultados. La intensidad del color de los puntos en el diente despeine se corresponderán con los niveles de anticuerpo de la muestra

PRINCIPIO ACTIVO

- Extracción Solutions A
- Washing Solutions B, D, E
- Labeled Antibody C
- Chromogen F

II. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

Lugar y época de ejecución del estudio

El presente trabajo se realizó en la ciudad de Arica en la población Raúl Silva Henríquez en la 2 y 3 etapa donde se encuentra ubicado la clínica veterinaria Ana Campos, los cuales se encuentran a una altitud de 2 m.s.n.m. respectivamente. Cuya región natural es la costa de clima Sub-tropical Desértico Costero con variaciones de temperaturas de 21°C, la precipitación total anual está por debajo de los 100 mm, con una humedad relativa de 68%. (Dirección Meteorología de Chile - INAMHI, Arica).

En la ciudad de Arica presenta alrededor de 10 poblaciones con sus diferentes nombres las cuales se dividen entre ellas en etapas, el estudio que se va a ejecutar es en la población Raúl Silva Henríquez que se divide en 5 etapas o sectores poblacionales la cual se encuentra ubicado la clínica veterinaria Ana Campos entre la 2da y 3 ra etapa, y en ella tiene registrado un total de 367 pacientes caninos de diferentes edades y sexo.

Latitud sur : 18 28' 41''S

Longitud oeste: 70 19'19''O

Parámetros climáticos promedio de Arica

Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Anual
Temperatura diaria máxima (°C)	26	26	26	24	22	20	19	18	19	21	22	24	22,2
Temperatura diaria mínima (°C)	20	20	19	17	16	15	14	15	15	16	17	18	16,8
Precipitación total (mm)	0,3	0,1	0,2	0	0	0,1	0,1	0,1	0	0	0,3	0,1	1,3

Dirección Meteorología de Chile - INAMHI, Arica

2. Población y Muestra

Para el siguiente estudio se considero una población de 367 caninos de los cuales se obtuvo 174 caninos como muestra del estudio de investigación.

3. METODOS

El método utilizado que el presente estudió fue:

- ⇒ Se realizó el examen clínico a 174 caninos sospechosos a la enfermedad (anexo 2).
- Examen clínico completo
- Edad
- Antecedentes de garrapatas
- Zona o procedencia
- ⇒ Se tomaron muestras de sangre a caninos obtenidas a través de la punción de la vena cefálica efectuando la previa desinfección de la zona, se uso jeringa de 3ml extrayendo 1 ml se sangre.
- ⇒ Luego se llevó a la bandeja del reactivo y se coloco 3 gotas de sangre con la pipeta al nivel A y se coloco la peineta con el reactivo anticuerpo, esperando 5 minutos, para luego ser trasladado al nivel B (2 min.), nivel D (5 min.), nivel E (2 min.) nivel C (2 min.) y finalmente el nivel F (5min.).

Después se revisó la peineta y se observo los resultados:

- **Resultado ehrlichia canina negativo:** cuando aparece solo el punto de control.
- **Resultado ehrlichia canina positivo:** aparece el punto de control y el punto de Ehrlichia.

Los datos para determinar la prevalencia (resultados de la prueba kit Inmunocomb ehrlichiosis canina fueron bajo 2 formas, **positivos** y como **negativos**, estos datos fueron registrados en el anexo 2.

Los resultados obtenidos en el estudio tenemos prevalencia de ehrlichiosis canina en la ciudad de Arica (2º y 3ª etapa) 44,25% con 77 casos positivos, según edad se obtuvo un mayor porcentaje de 17,24% en caninos de 3 - 4 años, según sexo se obtuvo el mayor porcentaje de 25,29% en machos y en hembras 18,97%, presencia de vector garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) con 71,22 % y tipo de vida del animal 92,21% en urbanos y 7,79% en rurales.

4. MATERIALES

Materiales Biológicos

- Test Inmunocomb Ehrlichiosis canina

Materiales Clínicos

- Termómetro
- Estetoscopio
- Cronómetro

- Algodón Hidrófilo
- Jeringas 3 ml 21 x 1 mm
- Papel toalla
- Guantes quirúrgicos
- Desinfectante (Alcohol medicinal)
- Anexos 2 y 3

(García 2003, Hoyos 2005, Martins 2007, León 2008)

III. RESULTADOS

3.1 Prevalencia de ehrlichiosis canina

Tabla 1: Total de los casos

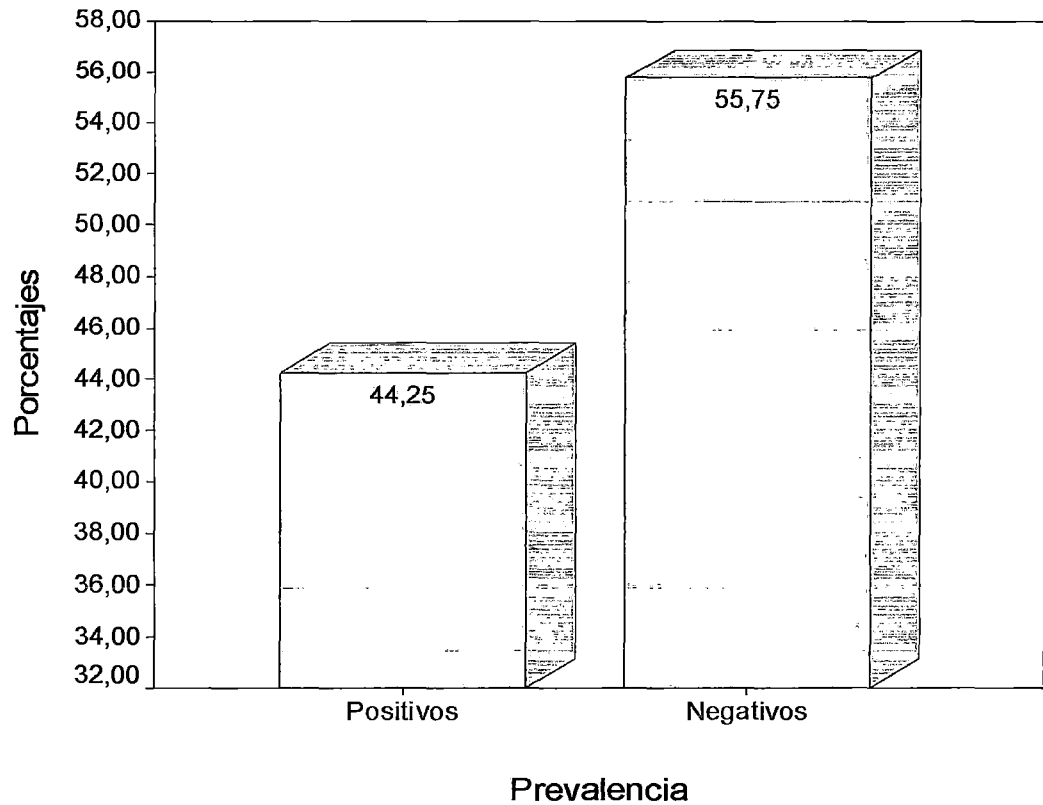
<i>Positivo</i>		<i>Negativo</i>		<i>TOTAL</i>
N	%	N	%	
77	44,25	97	55,75	174

Fuente: Elaboración propia

$$P = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ total de muestras seropositivas}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de muestras}} \times 100$$

En el cuadro 1, se observa que el mayor porcentaje corresponde a casos negativos con 55,75% y positivos con 44,25% respectivamente.

Figura 1: Casos de ehrlichiosis canina



Fuente: Elaboración propia

En la figura 1, se observa que el mayor porcentaje corresponde a casos negativos con un 55,75% y casos positivos con un 44,25%.

3.2. Prevalencia de ehrlichiosis canina según edad

Tabla 2: Casos de ehrlichiosis canina según Edad

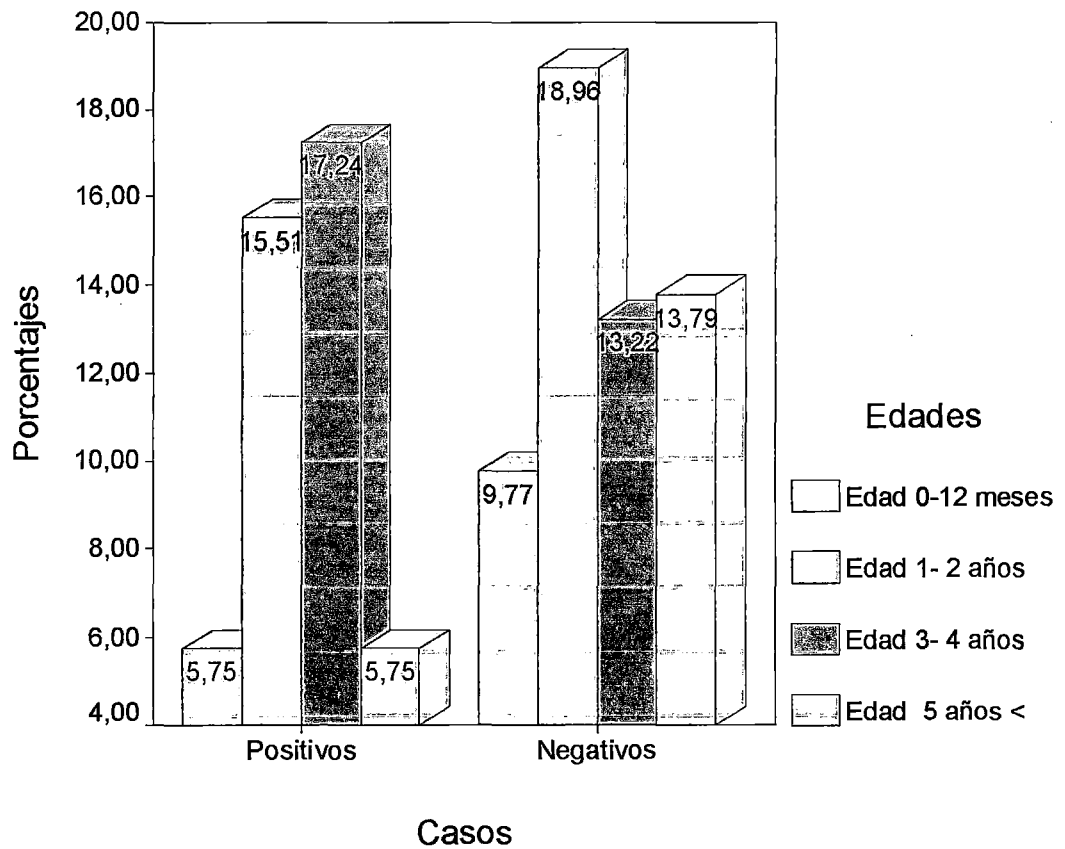
Muestras según Edad	Positivos		Negativos		Total	
	N	%	N	%	N	%
0 - 12 meses	10	5,75	17	9,77	27	15,52
1 - 2 años	27	15,51	33	18,96	60	34,48
3 - 4 años	30	17,24	23	13,22	53	30,46
5 años	10	5,75	24	13,79	34	19,54
Totales	77	44,25	97	55,75	174	100,00

Fuente: Elaboración propia

La tabla muestra que para los caninos en edad de 0- 12 meses de un total 27 muestras 5,75% resultaron positivas a *Ehrlichiosis canina*, dándose una prevalencia de 37,03%; asimismo para los caninos de edades de 1 - 2 años de un total de 60 muestras, resultaron 27 positivos representando una prevalencia de *Ehrlichiosis canina* 37,04%. En el caso de edades de 3 - 4 años de 53 muestras fueron 30 positivos a dicho parásito dando una prevalencia de 32,53%. En lo que respecta a edades de 5 años dieron un total 34 muestras 10 fueron positivos dando una prevalencia de 29,41% respectivamente.

PREVALENCIA/EDAD

Figura 2: Prevalencia de ehrlichiosis canina según Edad



Fuente: Elaboración propia

En la figura 2 muestra que la prevalencia de ehrlichiosis canina según edad presenta 17,24% de casos positivos de 3 - 4 años, 15,51% de casos positivos de 1 - 2 años, 5,75% de casos positivos de 0 -12 meses y de 5 años, 18,96% de casos negativos de 1 - 2 años, 13,79% de casos negativos de 5 años, 13,22% de casos negativos en edad de 3 -4 años, 9,77% de casos negativos de 0 - 12 meses.

3.3. Prevalencia de Ehrlichiosis canina según Sexo

Tabla 3: Casos de ehrlichiosis canina según Sexo

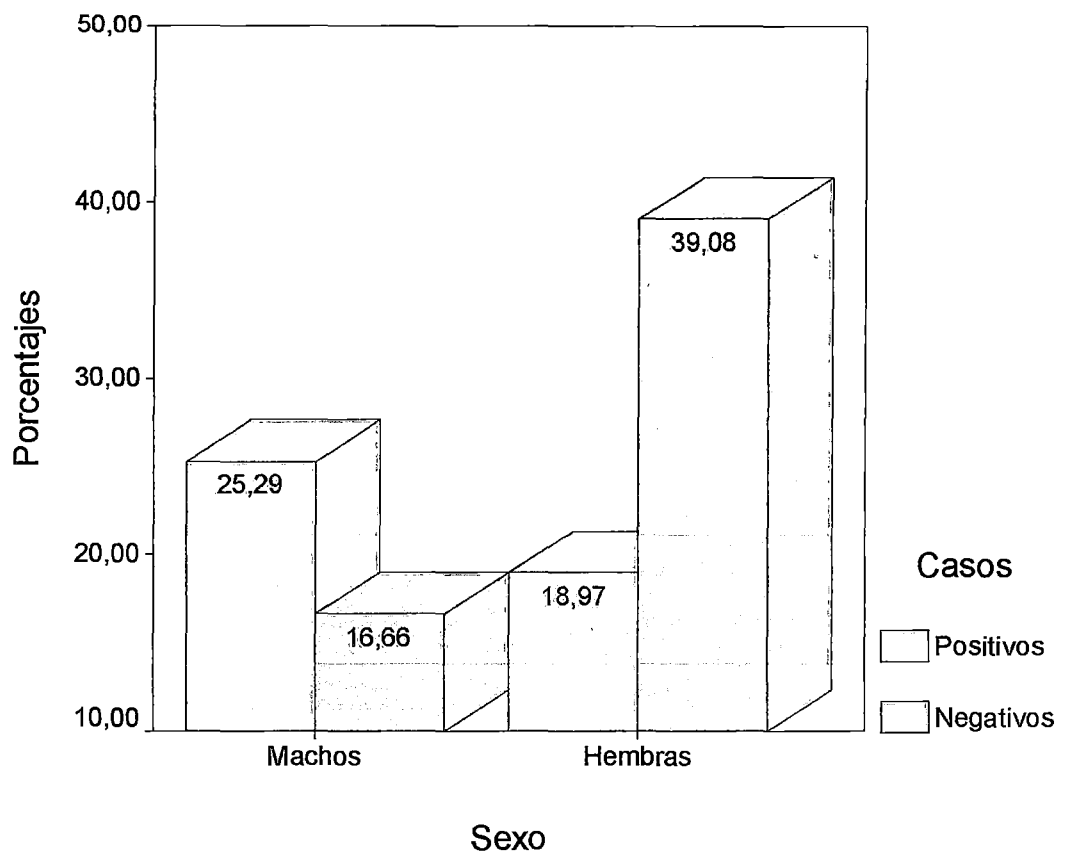
Sexo	Positivo		Negativo		N° total de caninos
	N° canes	%	N° canes	%	
Machos	44	25,29	29	16,66	73
Hembras	33	18,97	68	39,08	101
Totales	77	44,23	97	55,74	174

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3, muestra que según sexo de un total de 73 machos 44 resultaron positivos a *Ehrlichiosis canina*, dándose una prevalencia de 60,27%; asimismo de un total de 101 hembras 33 fueron positivas dando una prevalencia a dicho parasito de 32,67% respectivamente.

PREVALENCIA/SEXO

Figura 3: Prevalencia de ehrlichiosis canina según Sexo



Fuente: Elaboración propia

En la figura 3, muestra que la prevalencia de ehrlichiosis canina según sexo es de 25,29% de casos positivos en machos, 18,97% de casos positivos en hembras, 16,66% de casos negativos en machos y 38,09% de casos negativos en hembras.

3.4 Factores epidemiológicos que permite la presencia de ehrlichiosis canina

3. a Presencia de garrapatas

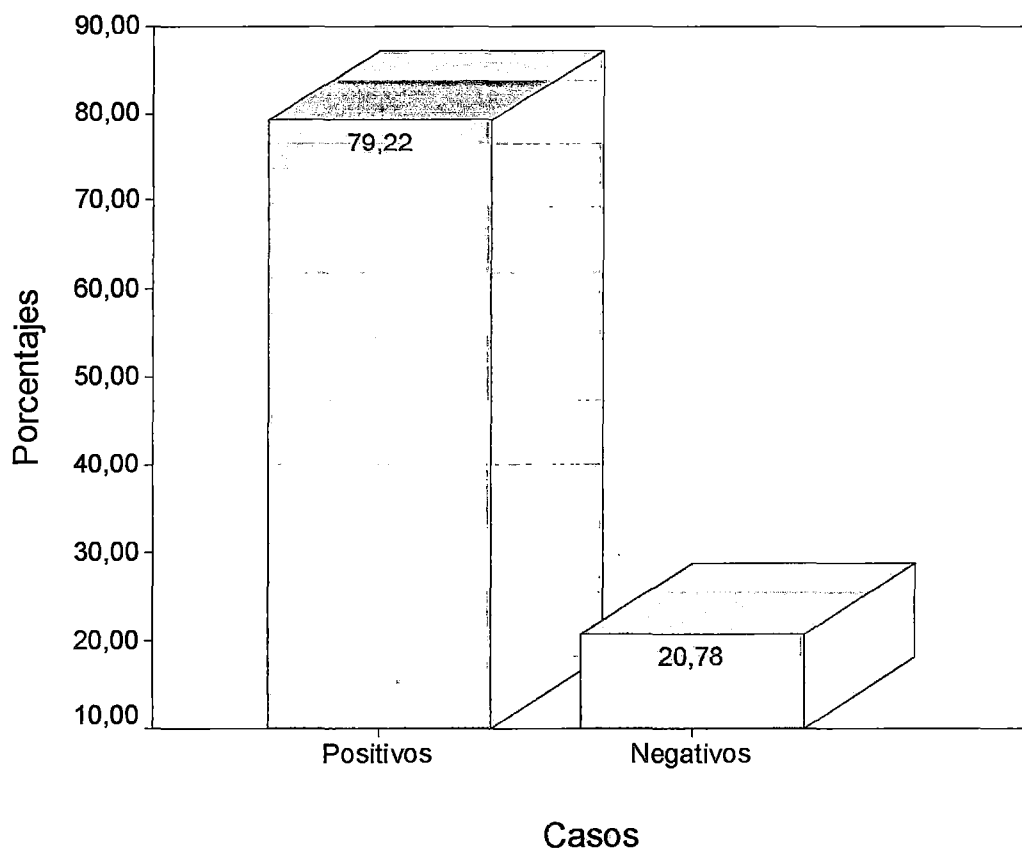
Tabla 3.a presencia de garrapatas

GARRAPATAS				
Positivo		Negativo		Total
Nº	%	Nº	%	
61	79,22	16	20,78	77

Fuente: Elaboración propia

La tabla 3.a muestra que de 77 canes positivos a ehrlichiosis canina, 61 canes presentan garrapatas con un 79,22% y 16 canes no presentan garrapatas con un 20,78%.

Figura 3.a: Casos de presencia de garrapatas



Fuente: Elaboración propia

La figura 3.a, muestra que de canes positivos con ehrlichiosis canina 79,22% presentan garrapatas y 20,78% no presentan garrapatas.

4. b Tipo de vida (urbano - rural)

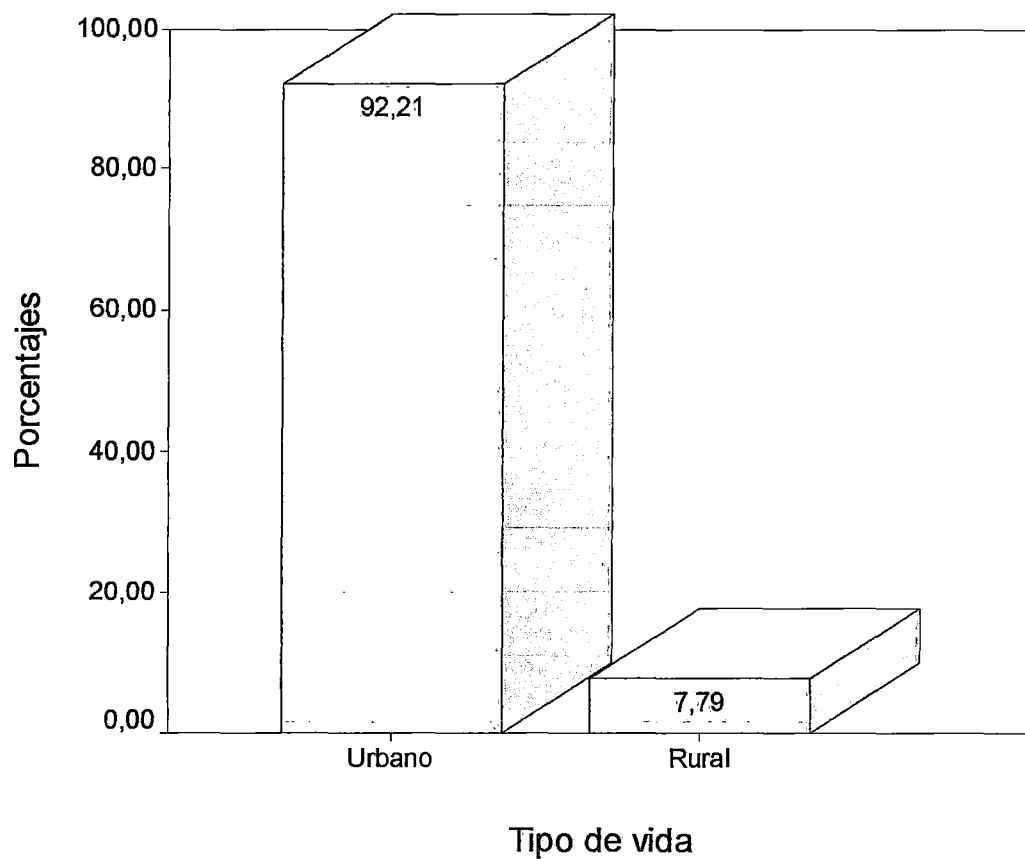
Tabla 4.b Tipo de vida (urbano - rural)

Tipo de vida				Total
Urbano		Rural		
Nº	%	Nº	%	
71	92,21	6	7,79	77,00

Fuente: Elaboración propia

La tabla 4.b, muestra que el mayor porcentaje de tipo de vida es urbana con 92,21% respectivamente y solamente 7,79% es de tipo rural respectivamente

Figura 4.b: Tipo de vida del animal urbano - rural



Fuente: Elaboración propia

En la figura 4.b, muestra casos positivos de ehrlichiosis canina de la zona urbana con un 92,21% y de la zona rural con un 7,79%.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Prevalencia de ehrlichiosis canina

La prevalencia de ehrlichiosis canina en la ciudad de Arica (2da y 3ra etapa) fue de 77 positivos a *Ehrlichia canis* con 44,25%, García (2003) obtuvo 42,34%, Díaz (2004) obtuvo una prevalencia de 55,97% , Hoyos (2005) obtuvo una prevalencia 35,97%, Martins (2007) obtuvieron los siguientes resultados: *Ehrlichia canis*, Lavras 24,7%, Belo Horizonte 37,8% y Nanuque 65,6% positivos, Cruz (2000) obtuvo un prevalencia 83,63% y León y col. (2008) obtuvo una prevalencia de 80,90%.

Comparando el resultado obtenido con los otros autores se observa una similitud en los porcentajes de prevalencia, con García y Hoyos esto se debe a que trabajaron con un tamaño de muestra cercano al de Arica, aunque, Hoyos trabajó con menor muestra obtuvo mas casos positivos, ambos trabajaron con el test Inmunocomb antibody ehrlichiosis canine y los lugares donde realizaron el estudio presentan climas tropical - árido, muy parecido al de Arica, y con temperatura promedio de 20° a 22.5° C, a diferencia de Martins que dentro de sus 3 localidades obtuvo en Lavras 24,7% y Nanuque 65,6% debido a que su estudio se realizó en un año y trabajó con un tamaño de muestra menor en Lavras y mayor en Nanuque, en el caso de Belo Horizonte el porcentaje fue un poco menor pero el tamaño de muestra es casi similar al de Arica y Cruz trabajó con un tamaño de muestra menor obteniendo casi el 90% de casos positivos realizándolo con la técnica de inmunofluorescencia IFI y enzima-inmunoanálisis (ELISA), los lugares donde se ejecutaron estos estudios

presentan un clima tropical con temperaturas de 22 a 26° C y una humedad de 86% por tanto es mas caluroso que Arica y hay mas presentación de la enfermedad.

4.2 Prevalencia de ehrlichiosis canina según edad.

La prevalencia de ehrlichiosis canina según edad se obtuvo 5,75% de 0 – 12 meses, 15.51% de 1 – 2 años, 17.54% de 3 – 4 años, 5.75% de 5 años, en comparación con otros resultados el autor Hoyos (2005) obtuvo 80,64% de 2 - 4 años de edad, Martins (2007) obtuvo mas casos positivos en edades de 2-4 años, Cruz (2008) obtuvo mayor casos positivos con 20,89% de 2- 4 años, comparando estos resultados que son muy similares, debido a la respuesta inmunológica presente en estas edades tenga dificultad para eliminar el agente ehrlichial por alguna disfunción inmune.

4.3 Prevalencia de ehrlichiosis canina según Sexo.

La prevalencia de ehrlichiosis canina según sexo se obtuvo 25,29% machos y 18,97% hembras, en comparación con otros resultados de autores como Díaz (2004) obtuvo en los machos 58,3% que se ven mas afectados que las hembras 41,7%, Hoyos (2005) obtuvo una prevalencia de 72,88% en los hembras y 83,33% en machos, León (2000) obtuvo 88,55% mayor en machos que en hembras, en relación a los resultados obtenidos en arica se observa similitud en la presentación de la enfermedad mayormente en machos que en hembras, esto sea posiblemente por los procesos de inmuno presión que se presentan mas en los machos y también influya el

fuera de la casa que las hembras, estando mas en contacto con el vector, sin embargo ambos sexos son susceptibles a presentar la enfermedad.

4.4 Según factores epidemiológicos.

4. a Presencia de garrapatas

La prevalencia de ehrlichiosis canina según presencia de garrapatas en los canes, se obtuvo 79,22%, Hoyos (2005) obtuvo 69,09% de presencia de garrapatas, los resultados son similares en porcentaje demostrando que la presencia de garrapatas tiene mucha relación con la presencia de la enfermedad sin descartar que también se transmite por transfusión sanguínea infectada con la enfermedad.

4. b. Tipo de vida del animal

La prevalencia de ehrlichiosis canina según tipo de vida del animal se obtuvo 92,21% en urbano y 7,79% en rurales, en comparación con Hoyos (2005) obtuvo 78% en áreas urbanas mas que en rurales, los resultados tienen similitud en porcentaje y tiene mucha relación con la presencia de la enfermedad en áreas urbanas ya que hay mas contacto con el vector debido a la mayor población de caninos.

V. CONCLUSIONES

- La prevalencia de ehrlichiosis canina en la ciudad de Arica (2° y 3° etapa) se obtuvo 44,25% con 77 casos positivos.
- La prevalencia de ehrlichiosis canina según edad el mayor porcentaje reobtuvo de 3 a 4 años con 17,24%.
- La prevalencia de ehrlichiosis canina según sexo el mayor porcentaje se obtuvo en machos 25,29% que en hembras con 18,97%.
- En los factores epidemiológicos, se obtuvo en presencia de garrapatas 79,22% con 61 casos positivos y 20,78% con 16 casos negativos, en el tipo de vida se obtuvo 92,21% en zonas urbanas con 71 casos positivos y 7,79% en zonas rurales con 6 casos positivos.

VI. RECOMENDACIONES

1. En los kits serológicos comerciales de Inmunocomb, se presentaron casos sospechosos a ehrlichiosis canina, resultando seronegativo pero positivos en el examen hematológico (trombocitopenicos) y con presencia de garrapatas, fueron considerados sospechosos a la enfermedad, por tanto se tomo como falsos negativos, esto indica que ambas pruebas presentan similitud y el examen hematológico seria de gran ayuda al diagnóstico en caso de falsos negativos serológico.
2. Los resultados serológicos negativos y a la vez positivos al examen hematológico, probablemente se deba a otras patologías que ocasionen esta alteración tal como la infección por *leptospira spp.*, *babesia spp.*, u otra especie ehrlichial que no sea detectada mediante la prueba comercial de Inmunocomb.
3. Existe la reacción cruzada ya que a veces existen anticuerpos dirigidos contra un antígeno y estos reaccionan de manera inesperada con un antígeno no relacionados como la *anaplasmosis phagocytophila* que pertenece a la familia de la rickettsias y esta muy relacionado con la ehrlichiosis.
4. Las ehrlichiosis es una enfermedad infecciosa, considerada zoonótica y emergente que afecta a diferentes mamíferos y al

hombre, transmitida principalmente por vectores del tipo garrapata y puede ser causada por diferentes especies de *Ehrlichia spp.*

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Arraga de Alvarado, CM. 1992, Ehrlichiosis canina en Maracaibo, Estado de Zulia, Venezuela. Reporte de 55 casos Rev. Cient. Univ., Zulia 2: 30-4
2. Hoyos Sifuentes, L.A., 2005, Evaluación de examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico laboratorial de ehrlichiosis canina, Univ. San Marcos Lima-Perú. 1-102
3. Vega García S., 2003, Importancia Epidemiológica de la infección por *Ehrlichia canis* de Alicante - España. Univer. Cardenal Herrera-CEU. 123:56-70
4. León A. y col. 2008, Diagnóstico de ehrlichiosis canina en la Ciudad de la Habana, Univ. La Agraria de la Habana-Cuba. 34-37.

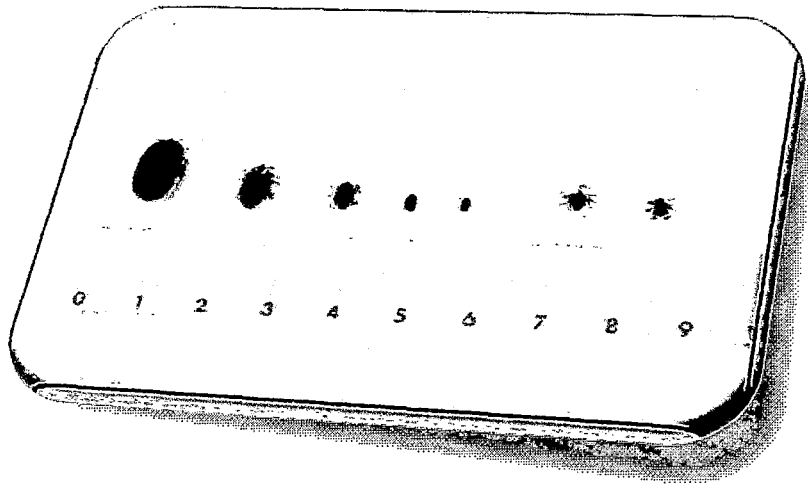
5. Díaz Luis Mv., 2004 Consultorio Veterinario Pro-Avícola Catia - Venezuela, Municipio Libertador, Distrito Capital, Caracas-Venezuela. 117;176;189.
6. T. Waner and S. Harrus, 2000 ehrlichiosis monocítica canina, Veterinary Teaching Hospital, School of Veterinary Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot.
7. Lorente Méndez C., 2005, Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la "ehrlichiosis Canina" evolución tras la administración de "Dipropionato de imidocarb", Univ. Complutense de Madrid-España. 11: 17-79.
8. Adrianzén J. y col., 2003, Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima-Perú. 22-26-28-30.

9. López J. y col., ehrlichiosis humana en Chile, evidencia serológica.,
Rev. Med. Chile 2003 131:67-70.
10. Neer T. Ehrlichiosis canine monocytic and granulocytic, In, Greene
Ce, ed. Infectious Diseases Dog and Cat. 2nd ed.
Philadelphia; W.B. Saunders co., 1998, 139-149.
11. Richard W. Y col., Medicina Interna de pequeños animales,
Harcourt 2001. 145-146-147.
12. Harrus S., Recent advances in determinig the patogénesis of canine
monocityc ehrlichiosis , 199 37;2745-2749.
13. Rojas M. Manual de investigación y redacción científica Lima-Perú
2002. 10;34.
14. Zea W. Estadística y Diseños experimentales Puno-Perú 1995
11;14:19.

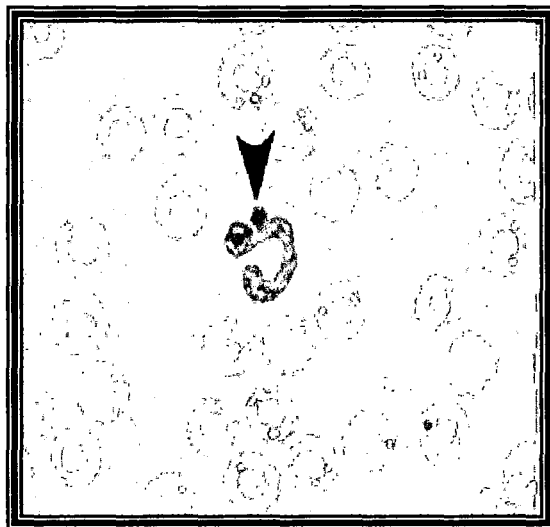
ANEXOS

ANEXO 1

Garrapatas café del perro o *Rhipycephalus sanguineus*



Morula de *Ehrlichia canis* en monocitos circulantes



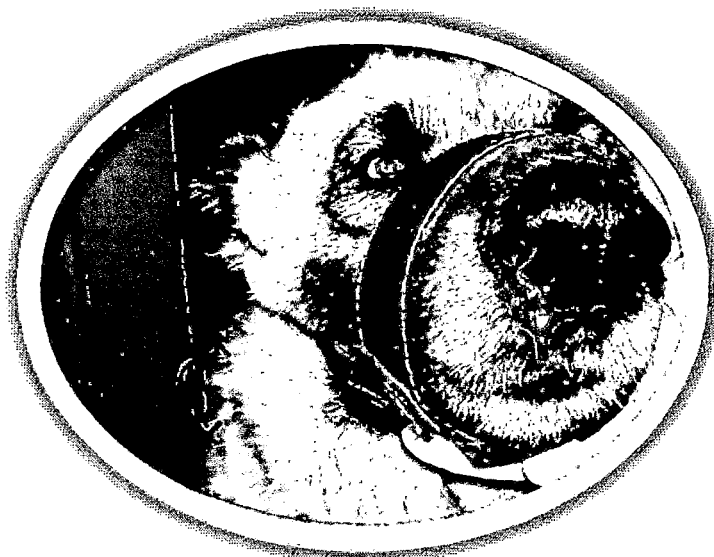
**Fotos de caninos con síntomas clínicos a la ehrlichiosis canina
Presencia de garrapatas**



Fiebre, Depresión y letargo



Epistáxis o hemorragia nasal



Epistâxis o hemorragia nasal



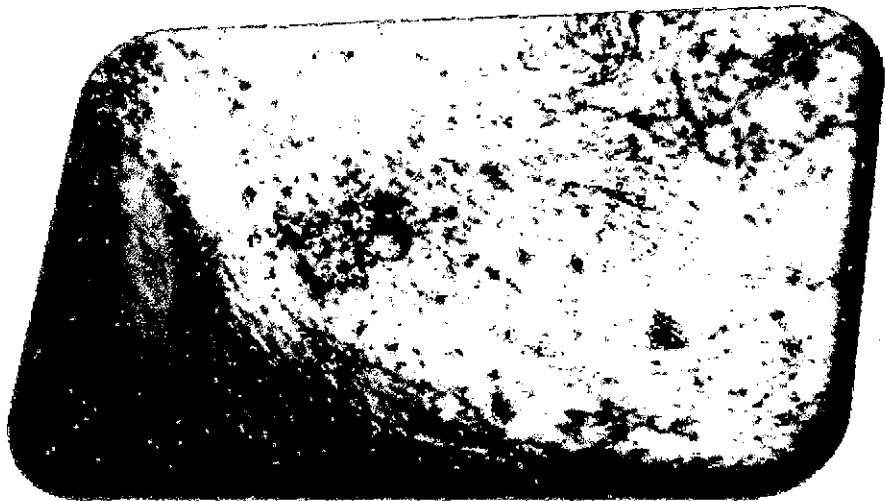
Ganglios linfáticos inflamados y presencia de petequias



Uveítis y conjuntivitis



Equimosis y petequias en la zona inguinal



ANEXO 2

Resultados de los exámenes según test Immunocomb antibody E.C.

Nº Canino y/o muestra	POSITIVO	NEGATIVO
1	•	
2		•
3	•	
4	•	
5		•
6	•	
7		•
8		•
9	•	
10		•
11		•
12		•
13	•	
14		•
15		•
16	•	
17		•
18	•	
19	•	
20	•	
21		•
22	•	•
23		•
24		•

Prosigue en la pág. sgte.

Proviene de la pág. Anterior

25	•	
26		•
27		•
28		•
29	•	
30		•
31		•
32	•	
33		•
34		•
35		•
36	•	
37		•
38	•	
39	•	
40		•
41	•	
42		•
43	•	
44		•
45		•
46	•	
47		•
48		•
49		•
50	•	
51	•	
52	•	
53	•	
54		•
55	•	
56		•
57	•	

Prosigue en la pág. sgte

Proviene de la pág. Anterior

58		•
59		•
60	•	
61	•	
62		•
63		•
64		
65	•	
66	•	
67		•
68		•
69	•	
70	•	
71		•
72		•
73		•
74	•	
75		•
76	•	
77		•
78		•
79		•
80	•	
81	•	
82		•
83		•
84	•	
85		•
86		•
87	•	
88		•
89	•	
90	•	

Prosigue en la pág. sgte

Proviene de la pág. Anterior

91		•
92		•
93	•	
94	•	
95	•	
96		•
97		•
98	•	
99		•
100		•
101	•	
102		•
103	•	
104	•	
105	•	
106		•
107		•
108	•	
109		•
110		•
111		•
112	•	
113		•
114		•
115		•
116	•	
117	•	
118	•	
119		•
120		•
121	•	
122		•
123		•

Prosigue en la pág. sète

Proviene de la pág. Anterior

124		
125	•	
126		•
127		•
128		•
129	•	
130		•
131	•	
132		•
133		•
134	•	
135		•
136		•
137	•	
138	•	
139		•
140	•	
141		•
142	•	
143		•
144		•
145		•
146	•	
147		•
148		•
149		•
150	•	
151		•
152	•	
153		•
154		•
155	•	
156	•	

Prosigue en la pág. sgte.

Proviene de la pág. Anterior

157		•
158	•	
159	•	•
160		•
161	•	
162		•
163	•	
164		•
165	•	
166		•
167		•
168	•	
169		•
170	•	
171	•	
172	•	
173		•
174	•	
Total	77	97

Ficha clínica (Anexo 3)

Nº	S	Edad				Garrapata		Tipo vida de		Observaciones
		0-12 meses	1-2 años	3-4 años	5 años	Si	No	urbano	Rural	
1	m	6 meses				®		■		Tª 40ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, ganglios inflamados, palidez de las mucosas, afección a la retina
3	m		1 año/3m				®	■		Tª 41ªC, depresión, anorexia, vomito, ictericia, palidez de las mucosas
4	m	7 meses				®		■		Tª 40ªC, depresión, anorexia, , ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados
6	m	8 meses					®	■		Tª 39ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, ganglios inflamados, palidez de las mucosas, afección a la retina
9	m		1 año			®		■		Tª 42ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados
13	m			3 años/7meses		®			■	Tª 40ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
16	h	7 meses					®		■	Tª 44ªC, depresión, anorexia, vomito, ictericia, palidez de las mucosas
18	h		1 año/5 m			®				Tª 40ªC, depresión, anorexia, , ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados
19	h	9 meses				®		■		Tª 41ªC, depresión, anorexia, , ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados
20	m		1año/7m			®		■		Tª 39ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, ganglios inflamados, palidez de las mucosas, afección a la retina
22	m		2 años			®		■		Tª 40ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
25	m		1 año			®			■	Tª 41ªC, depresión, anorexia, , ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados
29	m	9 meses				®			■	Tª 42ªC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis

60	h		1 año/9m			®	■	Tº 42ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
61	h		1 año/9m			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
65	h		2 años			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
66	h		1 año/9m			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
69	h		2 años			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
70	h		2 años/5m			®	■	Tº 42ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
74	h		1 año/9m			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
76	h		2 años/7m			®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
80	h		2 años/9m			®	■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
81	m			3 años		®	■	Tº 43ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
84	m			3 años		®	■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
87	m			3 años/1 mes		®	■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
89	m			3 años/5 m		®	■	Tº 44ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
90	m	9 meses				®	■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas,

									ganglios inflamados, epistaxis
93	m			4 años		®	■		Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
94	m			4 años		®	■		Tº 42ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
95	m			4 años/ 2 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
98	m			4 años/5 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
101	h			3 años		®	■		Tº 42ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
103	m			4 años / 6 meses		®	■		Tº 42ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
104	m			4 años /7meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
105	m			4 años /7meses		®	■		Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
109	m			4 años /7meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
112	m			4 años/5 meses		®	■		Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
116	h			3 años		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
117	h			3 años		®	■		Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
118	h			3 años/2 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis

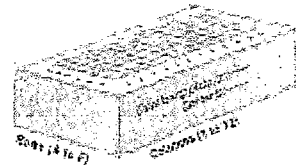
121	h			3 años/3 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
125	h			5 años		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
129	h			3 años/5 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
131	h			3 años/7 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
134	h			4 años		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
137	h			4 años		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
138	h				5 años	®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
140	h			4 años/4 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
142	m				5 años	®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
146	h			4 años/5 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
150	h			4 años/7 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
152	h				5 años	®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
155	h			4 años/7 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis

156	h			4 años/4 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
158	m				5 años	®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
159	m				5 años	®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
161	m			3 años/3 meses		®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
163	m				5 años	®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
165	h			4 años/7 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
168	h				5 años	®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
170	h				5 años	®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
171	h				5 años	®		■	Tº 41ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
172	h			4 años/2 meses		®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis
174	h				5 años	®		■	Tº 40ºC, depresión, anorexia, equimosis, ictericia, palidez de las mucosas, ganglios inflamados, epistaxis

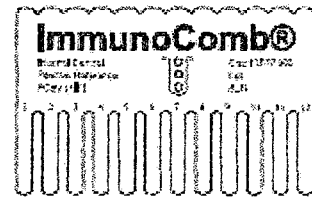
ANEXO 4

El ImmunoComb® de Biogal esta basado en el "punto" de fase sólida - principio ELISA que provee resultados de cantidad, semi-cantidad y calidad. La fase sólida es una placa de plástico en forma de peine. Provee un resultado serológico, midiendo principalmente el nivel de anticuerpos que se encuentran en la sangre o suero del animal para agentes específicos de la enfermedad.

La **bandeja de reactivos** tiene múltiples compartimientos, que contienen los reactivos necesarios para el desarrollo del peine.



- El **peine** tiene 12 dientes.
- Un diente para cada muestra de sangre/suero.
- Cada diente puede proporcionar hasta tres pruebas.



Ventajas del ImmunoComb® de Biogal

ImmunoComb® de Biogal	Standard ELISA
Puede ser realizado con una simple facilidad. Ideal para el trabajo en el terreno.	Requiere un laboratorio equipado de un lector de ELISA.
Puede analizar muestras individuales. Tiempo de prueba rapido.	Una gran cantidad de muestras son necesarias para una "prueba-funcion".
De uso facil, técnica fácil de aprender.	Tiempo de prueba mas largo Se debe realizar por un técnico de laboratorio entrenado.

Comparación con los kits de análisis de un solo paso

Proporciona resultados cuantitativos. Confiable y exacto.	La mayoría de las pruebas rapidas proporcionan resultados cualitativos solamente.
---	---

Proceso de desarrollo del kit:



Obtenga la sangre del animal(es).



Deposite la sangre o el suero en el compartimiento(s) A en la bandeja de reactivos.



Inserte el peine en el compartimiento(s) A. Se incuba por un tiempo especificado.



Transfiera el peine del compartimiento(s) A al compartimiento(s) F en una secuencia sincronizada. Los intervalos varían según el tipo de kit.



Deje el peine secar y lea los resultados. La intensidad del color de los puntos en el peine corresponde a los niveles del anticuerpo.