

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE VETERINARIA

“Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador en el período comprendido entre Noviembre 2008–Enero 2009”



KARLA MARIA PAREDES HERNANDEZ

GUATEMALA, MARZO DE 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE VETERINARIA

“Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador en el período comprendido entre Noviembre 2008–Enero 2009”

TESIS

**PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

POR

KARLA MARIA PAREDES HERNANDEZ

AL CONFERIRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICA VETERINARIA

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Decano:	Med. Vet. LEONIDAS ÁVILA PALMA
Secretario:	Med. Vet. MARCO VINICIO GARCIA URBINA
Vocal I:	Med. Vet. YERI EDGARDO VÉLIZ PORRAS.
Vocal II:	Mag. Sc., MV. FREDY ROLANDO GONZALEZ GUERRERO
Vocal III:	Med. Vet. y Zoot. MARIO ANTONIO MOTTA GONZÁLEZ
Vocal IV:	Br. SET LEVÍ SAMAYOA LÓPEZ
Vocal V:	Br. LUIS ALBERTO VILLEDA LANUZA

ASESORES

Med. Vet. CARLOS DE LEÓN GARCIA
Med. Vet. JACQUELINE ESCOBAR
Med. Vet. GUSTAVO TARACENA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

EN CUMPLIMIENTO DE LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, PRESENTO A
CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS TITULADO

**“Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia*
canis en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio
de Soyapango, San Salvador, El Salvador en el período
comprendido entre Noviembre 2008–Enero 2009”**

QUE FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR POR EL TITULO PROFESIONAL DE

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por darme la oportunidad de vivir y crecer cada día.

A MIS PADRES

William Alfredo Paredes y Bersabé Hernández de Paredes

A MIS HERMANOS

Bersy, Mirna y Edwin.

A MIS ABUELOS

Aminta Franco, Jorge Hernández y Olimpia de Hernández

A MIS TIOS, TIAS, PRIMOS Y PRIMAS

A UNA FAMILIA MUY ESPECIAL

Calderón Roveló

A MIS AMIGOS Y AMIGAS

De Guatemala y El Salvador

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme la sabiduría, fortaleza e inteligencia necesaria para alcanzar mis metas.

A MIS PADRES

Quienes con su esfuerzo y dedicación me guiaron por los caminos del saber. Por brindarme su amor y apoyo incondicional en todo momento.

A MIS HERMANOS

Por su apoyo y estímulo a seguir adelante

A MIS ABUELOS

Por su amor y por siempre estar pendientes de mis logros

A MIS TIOS, TIAS, PRIMOS Y PRIMAS Por su apoyo incondicional.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS

Por estar siempre acompañándome en cada paso de mi vida.

A LA FAMILIA CALDERON ROVELO

Por ser mi familia en este país y por haberme brindado su apoyo y cariño en todo momento.

A LA FAMILIA DE LEON BOTELO

Por su valiosa amistad y apoyo.

A MIS ASESORES

Por su valiosa colaboración para la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
	3.1 General	4
	3.2 Específicos	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
	4.1 Enfermedades rickettsiales	5
	4.2 Descripción de la enfermedad	5
	4.3 Descripción del agente etiológico	6
	4.3.1 Ciclo biológico de <i>E. canis</i>	6
	4.4 Distribución de la enfermedad	7
	4.5 Vector	7
	4.5.1 Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	7
	4.5.2 Hospederos	8
	4.5.3 Localización en el huésped	8
	4.5.4 Distribución	9
	4.6 Patogenia	9
	4.7 Presentación clínica	10
	4.8 Diagnóstico	12
	4.8.1 Visualización de mórulas en monocitos	13
	4.8.2 Pruebas serológicas	13
	4.8.2.1 Prueba de inmunofluorescencia indirecta	13
	4.8.2.2 ELISA	14
	4.8.3 Otros métodos	15
	4.9 Tratamiento	15
	4.10 Control y prevención	16
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
	5.1 Materiales	18
	5.2 Metodología	19
	5.2.1 Definición de la muestra	19
	5.2.2 Criterios de inclusión y exclusión	19
	5.2.3 Toma de la muestra	19
	5.2.4 Procedimiento de la prueba	20
	5.2.5 Evaluación de la muestra	21
	5.2.6 Análisis y método estadístico	21
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
	6.1 Resultados	23
	6.2 Discusión	27

VII.	CONCLUSIONES	29
VIII.	RECOMENDACIONES	30
IX.	RESUMEN	31
X.	BIBLIOGRAFÍA	32
XI.	ANEXOS	34
11.1	Cuadros de resultados	35
	Cuadro 1. Resultados serológicos de los caninos muestreados con garrapatosis durante la toma de la muestra. Grupo A	35
	Cuadro 2. Resultados serológicos de los caninos muestreados sin garrapatosis durante la toma de la muestra. Grupo B	36
	Cuadro 3. Perfil hematológico de caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> por medio del método de ELISA	37
	Cuadro 3.1 Recuento de Glóbulos Rojos y plaquetas	37
	Cuadro 3.2 Recuento de Glóbulos Blancos	37
11.2	Documentos varios	38
	Encuesta	38
	Ficha clínica	39
XII.	APÉNDICES	40
12.1	Tablas	41
	Tabla 1. Resumen de algunas enfermedades rickettsiales	41
	Tabla 2. Genogrupos de <i>Ehrlichia</i> y sus propiedades	42
	Tabla 3. Progresión de la enfermedad	43
12.2	Esquemas	44
	Esquema 1. Infecciones transmitidas por garrapatas en el perro.	44
	Esquema 2. Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	45
	Esquema 3. Distribución de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en América	46
	Esquema 4. Fundamento de la prueba de ELISA rápida	47

I. INTRODUCCIÓN

La Ehrliquiosis Monocítica Canina es una enfermedad rickettsial, cuyo agente etiológico es la *Ehrlichia canis*, la cual parasita el citoplasma de los monocitos circulantes en la sangre del huésped (perro). Esta rickettsia es transmitida por la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*).

Se considera una enfermedad infecciosa y en ocasiones fatal para los perros y otros miembros de la familia Canidae. *Ehrlichia canis* guarda una homogenicidad genética del 98.2% con la especie responsable de la Ehrliquiosis Monocítica Humana (*Ehrlichia chaffeensis*) (Waner y Harrus, 1997), siendo el perro y el humano los principales reservorios de estas rickettsias (Morgan et al, 2004). Se considera que la Ehrliquiosis Monocítica Canina tiene importancia en la salud pública, por la posibilidad de ser una entidad zoonótica.

La distribución de la enfermedad está relacionada con la presencia del vector, el cual puede sobrevivir en su fase adulta de 155 a 568 días y transmitir la infección 155 días después de infectarse (Waner y Harrus, 2000), por lo que la diseminación de la enfermedad en áreas con sobrepoblación canina y con sobreinfestación de garrapatas ocurre de manera acelerada.

El municipio de Soyapango, está ubicado en el centro de la región metropolitana del departamento de San Salvador, con una extensión territorial de 29.72 km². El centro de Soyapango, esta situado a 648 metros sobre el nivel del mar; cuya población asciende a más de medio millón de personas conformado en su mayor parte por empleados y obreros. En dicho municipio, debido a sus condiciones climáticas, al poco desarrollo cultural, económico e higiénico sanitario de sus habitantes, a la presencia del vector y a la alta población de caninos se aumenta el riesgo de que los perros padezcan la enfermedad.

Con el desarrollo del presente trabajo se demostró la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en los perros, a través de la técnica directa de ELISA. Estos datos son de suma utilidad para los clínicos de pequeñas especies y dueños de mascotas, con el fin que éstos puedan emplear medidas exhaustivas en el control de la garrapatosis canina y disminuir la incidencia de esta enfermedad.

II. HIPOTESIS

Existe la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador.

III. OBJETIVOS

3.1 General:

3.1.1 Generar información sobre la presencia de Ehrliquiosis Monocítica Canina en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador.

3.2 Específicos:

3.2.1 Determinar si existe la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador.

3.2.2 Establecer la asociación en referencia a la historia de infestación de garrapatas y la presencia de las mismas durante el examen clínico, con respecto a la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* por medio de la técnica de ELISA.

3.2.3 Determinar parámetros hematológicos y plaquetarios de los caninos con anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Enfermedades rickettsiales

Se denominan enfermedades rickettsiales a aquellas causadas por organismos de la familia Rickettsiaceae; éstos son microorganismos bacterianos cocobacilares, pleomórficos, gramnegativos, aerobios, diminutos (0.3×1 a $2 \mu\text{m}$) e intracelulares obligados. Se encuentran los géneros *Rickettsia* y *Ehrlichia*, de los cuales existen numerosas especies patógenas para los animales y el ser humano.¹ (1,9)

Las enfermedades por rickettsias patógenas se pueden subdividir en seis grupos: Fiebre maculosa, Tifus, Tifus de los matorrales, Fiebre Q, Fiebre de las trincheras y Ehrlichiosis, cada grupo comprende una o más entidades patológicas. Estos agentes se encuentran en todo el mundo; pueden ser transmitidos por vectores como garrapatas, pulgas o niguas e inducir enfermedad que varía en intensidad desde subclínica hasta crónica. (1,9)

4.2 Descripción de la enfermedad

La Ehrliquiosis, en su forma monocítica es una enfermedad infecciosa del perro, caracterizada por la reducción de los elementos celulares de la sangre. Es causada por el microorganismo, *Ehrlichia canis*, cuyo vector y reservorio primario es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*). (1,14)

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. (14)

¹ Ver tabla 1 y 2

4.3 Descripción del agente etiológico

El género *Ehrlichia* consiste en tres genogrupos: genogrupo *E. canis*, formado por *E. canis*, *E. chaffensis*, *E. ewingii*; el genogrupo *E. phagocytophyla*, formado por *Anaplasma phagocytophilum* (antes *E. phagocytophila/equi*); el genogrupo *E. sennetsu*, formado por *E. risticii* y *E. sennetsu*. (1,6)

Históricamente, se pensaba que las especies de *Ehrlichia* infectaban a un rango de huéspedes muy estrecho. Actualmente la evidencia indica que varias especies de *Ehrlichia* pueden infectar a múltiples especies de hospedadores.

E. canis difiere del resto de los organismos de su grupo en algunos aspectos como, su replicación dentro de los fagosomas de la célula hospedadora, su ultraestructura, su tropismo por los leucocitos circulantes, su composición antigénica y su transmisión exclusiva, en la mayoría de las especies, por picadura de garrapata. (McDade, 1990) (1)

Estructuralmente, son parecidos a los bacilos gramnegativos, contienen ADN y ARN, así como enzimas para el ciclo de Krebs y ribosomas para la síntesis de proteínas, se multiplican mediante fisión binaria y son inhibidas por antibióticos del grupo de las tetraciclinas. (9)

4.3.1 Ciclo biológico de *E. canis*

En su ciclo biológico las diferentes especies de Ehrlichias se introducen en el animal hospedador como cuerpos elementales y una vez en el torrente sanguíneo, dependiendo de la especie que se trate, buscan la célula diana (granulocitos, monocitos, plaquetas, etc), se introducen en ella por endocitosis mediada por un receptor o por fagocitosis, se multiplican pasando a cuerpos iniciales y posteriormente a mórulas. Las mórulas se disgregan en cuerpos elementales una vez que la célula infectada se rompe, e invaden nuevas células hasta instaurar la parasitemia. (McDade, 1990)

4.4 Distribución de la enfermedad

La distribución de la Ehrliquiosis guarda relación con la del vector, *Rhipicephalus sanguineus*, la cual está ampliamente distribuida en el norte de Europa, Norteamérica, África, Centro y sur América y el Caribe.

Debido a la infección subclínica crónica, un perro puede ser transportado de una región endémica a otra no endémica y luego desarrollar las manifestaciones patológicas de la enfermedad años después de la infección inicial. (1,14)

4.5 Vector

La importancia de las garrapatas, desde el punto de vista epidemiológico radica en su capacidad para transmitir enfermedades, tanto a los animales domésticos, como al hombre.²

El término garrapata se aplica tanto a las blandas (argásidos) como las duras (ixódidos). Las especies que parasitan con mayor frecuencia a los carnívoros domésticos, son principalmente ixódidos o garrapatas duras, ya que se caracterizan por tener un escudo, pequeño en las hembras y grande en los machos. La especie *Rhipicephalus sanguineus* pertenece al grupo de las garrapatas duras y es el vector de la Ehrliquiosis Monocítica Canina. (11,13)

4.5.1 Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus*

El ciclo de *R. sanguineus*³ es de tres hospedadores, las hembras repletas realizan una puesta aproximadamente de unos 4000 huevos, tras un período de preoviposición variable de 3-83 días, en lugares protegidos de la luz y de la desecación. Las larvas eclosionan entre los 8-67 días y después de un período de maduración, están capacitadas para fijarse a un primer hospedador; esta fase presenta un período de supervivencia que, en condiciones favorables, puede sobrepasar los 253 días. Entre los 3 y 7 días post fijación, la larva se suelta una vez repleta o alimentada, y busca un lugar resguardado donde realizar su primera muda.

² Ver esquema 1

³ Ver esquema 2

Las ninfas aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva repleta y, casi de forma inmediata, están preparadas para subir a un segundo hospedador con el fin de volver a alimentarse. El tiempo que necesita para alcanzar la repleción varía entre 4-9 días, pasados los cuales la ninfa repleta se suelta de su hospedador, cae al suelo y busca un sitio resguardado para realizar la segunda muda a partir de la cual emergerán los adultos entre los 12-129 días después de la caída de la ninfa repleta; pueden sobrevivir más de 568 días en espera de un hospedador. Tanto los machos como las hembras se fijarán a un tercer hospedador para realizar la ingestión de sangre. Las hembras sólo se fijan y succionan sangre una vez, mientras que los machos se alimentan en forma intermitente y persisten más tiempo sobre el hospedador, para que la mayoría de las hembras queden fecundadas. Estas, una vez alimentadas, caen al suelo y buscan un refugio donde realizar la puesta. En condiciones favorables, el ciclo de *R. Sanguineus* puede completarse en 63 días. (13)

4.5.2 Hospederos

La existencia de una gran diversidad de especies de garrapatas descritas en los carnívoros domésticos, no significa que todas ellas utilicen de forma habitual a estos hospedadores. (13)

La especie *Rhipicephalus sanguineus* ataca exclusivamente al perro; y, cuando se encuentra en otro huésped como el caballo, ganado o el hombre, es porque está muy asociada a perros. En otras áreas del mundo, ha sido reportada en una amplia variedad de mamíferos de tamaño medio y grande, así como en aves terrestres, reptiles y el hombre. (12)

4.5.3 Localización en el huésped

En el perro, el estadio adulto es comúnmente encontrado en las orejas, a lo largo de la nuca, del cuello y en el espacio interdigital. Los estadios inmaduros atacan el cuello. En altas infestaciones, todos los estados activos pueden ser encontrados atacando partes del cuerpo con pelo. (12)

4.5.4 Distribución

Es una de las garrapatas más distribuidas en el mundo. Se cree que es nativa de África, fue probablemente introducida en las Américas en la época de la colonización. Se ha encontrado a través del trópico y de áreas templadas del mundo, originado por la migración del hombre y sus perros.

La distribución geográfica de las garrapatas obedece a varios factores, algunos son: presencia del huésped, humedad, tipo de suelo y vegetación.

La región zoogeográfica Neotropical⁴ está constituida por las islas del Caribe, sur de México, América Central y Sudamérica, donde se reconoce que están establecidas alrededor de 115 especies de Ixódidos.

Debido a su íntima asociación con el perro y la ausencia de restricciones climáticas, *R. sanguineus* debe ser considerada como establecida en todo el Neotrópico. Esta especie de garrapatas es la predominante en áreas urbanas donde puede infestar hasta al 30 % de los perros. (3,12)

4.6 Patogenia

Ehrlichia canis es transmitida por la especie de garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. La transmisión en la garrapata ocurre entre estados de desarrollo y no transováricamente; las larvas y las ninfas se infectan al alimentarse de perros con enfermedad aguda, además los perros en estadio subclínico también son una fuente de infección. (14)

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 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse y desprenderse del huésped. Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos de EMC ocurren durante esos períodos. Debido a que la transmisión de *Ehrlichia* es

⁴ Ver esquema 3

mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la rickettsia. (1,14)

La patogénesis de EMC incluye un período de incubación de 8 a 20 días, seguido de una fase aguda, subclínica y a veces crónica. La fase aguda, dura entre 2-4 semanas. En esta, el microorganismo ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los monocitos 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 vía sanguínea hacia otros órganos del cuerpo, especialmente pulmones, riñones y meninges. Las células infectadas se adhieren al epitelio vascular, produciendo una vasculitis e infección en el tejido subendotelial. El consumo, secuestro y destrucción de las plaquetas contribuyen a la trombocitopenia. Los recuentos leucocitarios son variables y la anemia, posiblemente relacionada con la supresión de la eritrogénesis y destrucción eritrocítica acelerada, se desarrolla en forma progresiva. (1,14)

4.7 Presentación clínica⁵

La presencia de la enfermedad en el huésped puede manifestarse con una gran variedad de signos clínicos; debido a 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. (7,13)

La fase subclínica ocurre a las 6-9 semanas posinoculación y se caracteriza por la persistencia variable de la trombocitopenia moderada (cuenta de plaquetas generalmente mayor a 50,000), la cual es un hallazgo común en esta fase; leucopenia y un descenso en el número de los neutrófilos. Los parámetros eritrocíticos no son afectados normalmente en esta etapa de la enfermedad y no se manifiestan signos clínicos. A nivel experimental, los perros con inmunocompetencia adecuada erradican al parásito y no ingresan a la fase crónica. (1,10,14)

⁵ Ver tabla 3

En la fase aguda es común encontrar garrapatas en el perro. En esta fase los signos pueden ser leves y no específicos, aunque en algunos casos pueden ser severos. Los signos aparecen después del período de incubación y pueden durar de 1 a 2 semanas, estos incluyen: depresión, letargia, anorexia, fiebre, disnea, linfadenomegalia, esplenomegalia y pérdida de condición corporal. La trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común y consistente en la EMC aguda, ocurren 10-20 días posinfección. En la fase aguda de la enfermedad es común la leucopenia y la anemia moderada (usualmente normocítica, normocrómica, no regenerativa). A pesar de la trombocitopenia moderada a intensa la hemorragia ocurre en menos del 50% de los casos, estas pueden ser petequias y equimosis de la piel y membranas mucosas, y ocasionalmente epistaxis. Pocas veces hay ictericia en las infecciones por *E. canis* y se reporta más a menudo en perros con infección concurrente con *Babesia canis*. (1,2,6,8,14)

Pueden observarse signos oculares como uveítis anterior, caracterizada por conjuntivitis, edema corneal, brillo acuoso, precipitados de queratina y miosis; opacidad corneal, hipema, tortuosidad de vasos retinales y lesiones corio-retinales focales. En ocasiones, desprendimiento de retina y ceguera debido a hemorragias subretinales. Se pueden presentar otros signos clínicos como vómitos, descarga oculonasal serosa a purulenta, claudicación, espasmos musculares y ataxia. (1, 2, 14)

La sintomatología relacionada con la fase crónica se caracteriza como leve o inexistente en algunos perros, pero grave en otros. 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. La trombocitopenia severa (recuento menor a 50,000 plaquetas), leucopenia y anemia se presentan más comúnmente durante la fase crónica de la EMC. (1,8, 10, 14)

Debido a la inmunosupresión, pueden documentarse infecciones bacterianas secundarias y por protozoarios, neumonía intersticial, falla renal y pancitopenia pueden presentarse durante la enfermedad crónica severa. Combinaciones de tendencias hemorrágicas y algunos desórdenes reproductivos, como sangrado prolongado durante el estro, infertilidad, aborto y muerte neonatal, pueden estar asociados con EMC. (1,14)

La polimiositis y artritis se relaciona con infecciones con *E. canis*. En los exámenes radiográficos se observan derrames articulares e inflamación de los tejidos blandos. 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. (1,2, 14)

Las principales anormalidades bioquímicas vistas en los perros infectados con EMC son la hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergamaglobulinemia. 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. Un aumento transitorio moderado en la actividad de la aminotransferasa y de la fosfatasa alcalina puede presentarse. (14)

4.8 Diagnóstico

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). (14)

4.8.1 Visualización de mórulas en monocitos.

Las mórulas consisten en microorganismos empaquetados que se tiñen de rojo púrpura con tinción de Wright y de azul con la de Giemsa. Las células con mórulas se aprecian con más facilidad en la sangre de la vasculatura periférica, como los márgenes de las orejas y se detectan mejor en la parte más delgada del frotis. 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. Además, las intracitoplasmáticas se reconocen en la evaluación citológica de la médula ósea, pulmones, ganglios linfáticos y muestras aspiradas de bazo. Por lo tanto se debe evaluar cuidadosamente la sangre y los frotis sanguíneos. Por su rareza en las muestras clínicas, la falta de mórulas detectables no elimina el diagnóstico de Ehrliquiosis y se debe recurrir a otra prueba diagnóstica para confirmar la enfermedad. (2,14)

4.8.2 Pruebas serológicas

Es probable que las pruebas serológicas sean el método más útil y exacto desde el punto de vista clínico para detectar animales infectados con Ehrliquiosis.(14)

4.8.2.1 Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA)

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; ya que como son derivadas del mismo genogrupo, la *E. canis*, *E. chaffeensis*, y *E. ewingii* producen anticuerpos de reacción cruzada. Esta técnica utiliza sistemas de cultivos celulares infectados como antígeno y es muy

sensible y específica para *E. canis*. 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 sustanciales. (1,2,14)

4.8.2.2 ELISA

La prueba de ELISA se ha desarrollado recientemente para usar en clínica. Estas pruebas requieren un equipo mínimo y permitirán un diagnóstico serológico de EMC ampliamente disponible. Es una prueba clínica auxiliar de diagnóstico serológico, cuya sensibilidad es del 99% y especificidad del 100%. Es un método diagnóstico de gran valor para la Ehlquiosis canina; debido a la reacción cruzada el examen será positivo en perros previamente expuestos a *E. canis* o *E. chaffeensis*. El fundamento de la misma será explicado en 5 pasos:

Paso 1. El antígeno es ligado cuando el anticuerpo de la enzima específica del conjugado y la muestra de sangre son combinados en el vial para ser introducido al dispositivo de la prueba, la matriz es presembrada con anticuerpos específicos del antígeno.

Paso 2 y 3. El antígeno y el conjugado se unen en la matriz ligada de anticuerpo activando el dispositivo.

Paso 4. La fase de lavado remueve los componentes no ligados y no específicos del conjugado y la muestra de sangre del fondo de la matriz para el paso final.

Paso 5. El sustrato se mueve a través de la matriz limpia y este reacciona con el conjugado para amplificar la presencia del antígeno para incrementar la sensibilidad y eliminar errores, la lectura es de color azul, la cual varía en su intensidad desde muy suave a fuerte. ⁶ (4)

⁶ Ver esquema 4

4.8.3 Otros métodos

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 Ehrliquiosis. No obstante, se necesitan entre 14 a 34 días para obtener resultados positivos, por lo que no es un método conveniente. (14)

4.9 Tratamiento

El tratamiento de la Ehrliquiosis canina consiste en antirickettsiales y tratamiento de sostén. El tratamiento de elección para la fase aguda de la EMC es la doxiciclina a una dosis de 10 mg/kg una vez por día (o 5 mg/kg dos veces por día) durante tres semanas. Un tratamiento a corto plazo con doxiciclina (10 mg/kg, una sola toma diaria durante 7 días) no ha tenido buenos resultados, mientras que la administración durante 10 días fue exitosa.

El pronóstico para la Ehrlichiosis canina por lo común es bueno. Una llamativa mejoría clínica suele ocurrir dentro de las 24-48 horas de iniciar la doxiciclina en perros en fase aguda o crónica leve. (1, 8,14)

El dipropionato de imidocarb (5mg/Kg, una o dos inyecciones por vía IM con un intervalo de 14 días) puede ser usado conjuntamente con la doxiciclina. A pesar de que estudios previos han demostrado la eficacia del tratamiento con imidocarb in vivo, un estudio reciente in vitro indicó que puede no ser efectiva. Una ventaja adicional del uso de esta droga en los perros es que elimina otras enfermedades transmitidas por garrapatas, como la babesiosis, que puede ser concurrente a la EMC. Las quinolonas tienen ciertos efectos antirickettsiales. Sin embargo, se ha demostrado que la enrofloxacin oral (5 o 10 mg/kg cada 12 h por 21 días) no fue efectiva para la eliminación de la rickettsia en perros infectados experimentalmente. (6,14)

Otras drogas con eficacia conocida contra *E. canis* incluye a la tetraciclina (22 mg/kg cada 8 h), oxitetraciclina (25 mg/kg cada 8 h), minociclina (20 mg/kg cada 12 h) y cloranfenicol (50 mg/kg cada 8h). (14)

Algunos perros no responden a la terapéutica antimicrobiana estándar. El tratamiento de la forma crónica severa de la enfermedad no es grato y el pronóstico de esos perros pancitopénicos es grave. Hay un solo caso descrito de tratamiento exitoso en un perro con EMC severa crónica, usando una combinación de factores de crecimiento hematopoyéticos (factor estimulante de la colonia recombinante granulocítica humana y eritropoyetina recombinante humana), bajas dosis de vincristina, doxiciclina, terapia prolongada con glucocorticoides y en algunos casos transfusiones sanguíneas. No obstante, el uso de factores de crecimiento en el tratamiento de la ehrlichiosis crónica no ha sido probado eficazmente y requiere ser investigado. (6,14)

4.10 Control y prevención

Hasta la fecha, no se ha desarrollado ninguna vacuna eficaz contra *E. canis* y el control de las garrapatas sigue siendo la medida de prevención más eficaz contra la infección.

Los tratamientos para el control de las garrapatas pueden realizarse de tres formas: aplicaciones directas sobre el pelo o la piel (aerosoles, polvos, spot on), mediante baños y colocación de collares. Los organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretrinas, piretroides, fenilpirazoles y formamidinas abarcan casi en su totalidad los acaricidas en uso en el mercado. Algunos de los ingredientes activos más utilizados son la cipermetrina, permetrina, amitraz y fipronil.

El control de *Rhipicephalus sanguineus* presenta características propias que derivan de su peculiar biología. Se trata de una garrapata muy bien adaptada al perro (monotropa) y al ambiente doméstico en el que éste vive. Un importante rasgo que se debe considerar para el control de *R. sanguineus* es que el 95 % de la población de garrapatas está en el ambiente que rodea a los perros y sólo el 5% sobre ellos. Fuera de su hospedador, su ciclo biológico se realiza en el interior de

la perrera y viviendas humanas, escondida entre grietas y cámaras de aire de las paredes. Por ello la planificación de las medidas de control deben tener en cuenta tanto al hospedador como al ambiente. La aplicación de acaricidas en ambientes infestados puede hacerse mediante fumigaciones con permetrinas y piretrinas, entre otros. En las perreras es importante que los tratamientos vayan acompañados de un adecuado mantenimiento de las instalaciones, con el propósito de evitar que las garrapatas tengan acceso a lugares escondidos donde realizar sus mudas y estén al abrigo de los acaricidas. (3, 7,14)

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Materiales

- Recursos humanos
 - Estudiante
 - Personal de las clínicas veterinarias
 - Asesores
- Recursos biológicos
 - 40 muestras sanguíneas de perros
- Recursos de campo
 - Realización de examen físico
 - Estetoscopio
 - Termómetro
 - Guantes de examen clínico
 - Fichas clínicas
 - Lapicero
 - Toma de la muestra y realización de la prueba:
 - Algodón
 - Alcohol
 - Tubos con EDTA
 - Jeringas
 - Kits de prueba ELISA
 - Reloj

5.2 Metodología

5.2.1 Definición de la muestra

Se sometieron a examen físico y sanguíneo a 40 perros, los cuales se dividieron en dos grupos de 20 animales cada uno. El grupo A incluía perros con presencia de garrapatas al momento de la toma de la muestra y el grupo B incluía perros sin presencia de garrapatas en el momento de la toma de la muestra, pero con antecedentes de garrapatosis durante los últimos 18 meses.

5.2.2 Criterios de inclusión y exclusión

- Se sometieron a estudio muestras de perros mayores de 1 año, de cualquier raza y sexo que presentaron garrapatosis o antecedentes de haber presentado garrapatas en los últimos 18 meses; con o sin presencia de signos clínicos específicos (epistaxis, petequias, equimosis, hematuria) o inespecíficos (depresión, fiebre, anorexia, pérdida de peso, letargo) de la enfermedad.
- Las muestras fueron tomadas de perros que asistieron a 3 clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, para garantizar que se le realizará un adecuado examen físico y obtener una buena reseña de parte del propietario.
- Los pacientes debían vivir en el municipio comprendido en el estudio.

5.2.3 Toma de la muestra

Se colectaron 2 ml de sangre de la vena cefálica o yugular en tubos con EDTA, para la realización de la prueba ELISA y así determinar si existía o no la presencia de anticuerpos contra *E. canis* mediante la prueba de ELISA; posteriormente se realizó el examen hematológico en caso que se obtuviera un resultado positivo de la misma. Se realizó una encuesta⁷ dirigida a los propietarios de cada paciente orientada a determinar la presencia de garrapatas en su mascota. Además, se empleó una ficha clínica para cada animal, indicando los

⁷ Ver en documentos varios: encuesta

datos generales (sexo, edad, raza), así como el antecedente de garrapatas y la evaluación clínica completa.⁸

5.2.4 Procedimiento de la prueba

Componentes del kit

- 1 frasco de conjugado
 - Dispositivo de la prueba
 - o Reactivos contenidos en cada dispositivo:
 - Solución de lavado
 - Solución de sustrato
 - Pipetas de transferencia
 - Tubos de muestra
1. Usando la pipeta, se transfieren 3 gotas de la muestra a un tubo de muestra.
 2. Manteniendo el frasco en posición vertical, añadir 4 gotas de conjugado al tubo de muestra.
 3. Se debe tapar el tubo de muestra y mezclar bien invirtiendo el tubo de 3 a 5 veces.
 4. Colocar el dispositivo sobre una superficie plana. Añadir el contenido del tubo de muestra a la cubeta de muestra, teniendo cuidado de no salpicar el contenido fuera de la cubeta. La muestra fluirá a través de la ventanilla de resultados llegando al círculo de activación en 30 a 60 segundos aproximadamente. Parte de la muestra pueda quedar en la cubeta de la muestra.
 5. Cuando comience a aparecer color en el círculo de activación pulsar firmemente el activador hasta que esté a nivel con el cuerpo del dispositivo
 6. Se debe mantener el dispositivo en posición horizontal para asegurar resultados precisos. La lectura debe realizarse a los 8 minutos. (4)

⁸ Ver en documentos varios: ficha clínica

5.2.5 Evaluación de la muestra

Para la detección serológica de anticuerpos contra *E. canis* se utilizó una prueba comercial, basada en la técnica de ELISA, utilizando los pasos mencionados anteriormente. El kit a utilizar se considera una prueba de diagnóstico rápido, de uso práctico en clínicas veterinarias de especies de compañía, por lo que la duración de la misma es de ocho a diez minutos. Se interpretó con la ayuda de los parámetros de referencia propios del kit.

Las muestras que resultaron positivas a anticuerpos contra *E. canis*, se enviaron a un Laboratorio Clínico autorizado para la realización de un examen hematológico que consistirá en el conteo de células y hematocrito.

Los resultados se anotaron en los cuadros de registro correspondientes para su posterior análisis.⁹

5.2.6 Análisis y método estadístico a utilizar

Las variables utilizadas en el desarrollo de la parte experimental y durante el análisis estadístico de los resultados obtenidos fueron:

- Presencia de garrapatosis
- Antecedentes de garrapatosis
- Presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*
- Perfil hematológicos de los caninos con anticuerpos circulantes contra *E. canis*.

Para el análisis estadístico del presente trabajo de investigación se utilizó:

- Estadística descriptiva para las variables:
 - Presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros atendidos en clínicas veterinarias del municipio de Soyapango, San Salvador, El Salvador.
 - Determinación del perfil hematológico de los caninos seropositivos a *E. canis*.

⁹ Ver cuadro 1 y 2

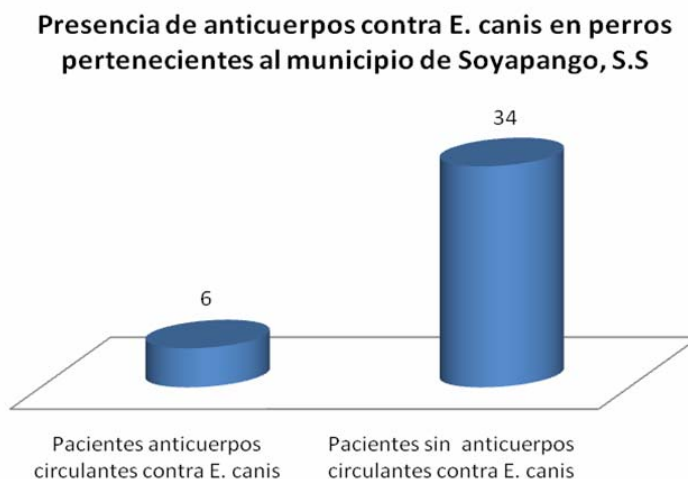
- La prueba de Chi^2 para establecer la asociación en referencia a la historia de garrapatos y presencia de garrapatas durante el examen clínico con respecto a la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* por medio de la técnica de ELISA.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Resultados

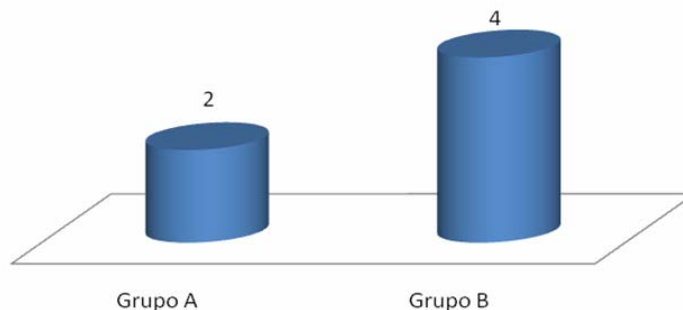
El total del número de pacientes muestreados entre los dos grupos fue de 40 perros, el 50% de las muestras fueron tomadas de perros con garrapatoxis (grupo A) y el 50% restante de perros sin garrapatoxis pero con antecedentes de haber tenido garrapatas durante los últimos 18 meses (grupo B).

- Del total de cuarenta muestras sometidas a estudio, seis perros (15%) presentaron anticuerpos circulantes contra *E. canis*.



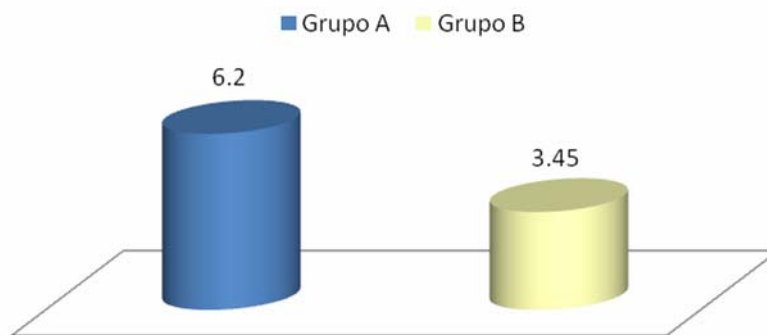
- De las muestras tomadas pertenecientes al grupo A, dos fueron positivas y de las pertenecientes al grupo B cuatro fueron positivas.

Casos positivos a la presencia de anticuerpos contra *E. canis* en perros pertenecientes al municipio de Soyapango por grupos.



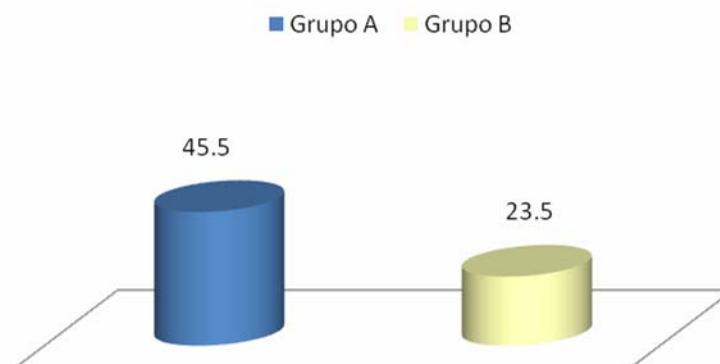
- Para buscar asociación entre las variables presencia de garrapatas y la presencia de anticuerpos contra *E. canis* se utilizó la prueba de χ^2 , la cual determinó que no hay asociación entre las variables (0.78).
- En cuanto al recuento de Glóbulos Rojos (millones/ml) se obtuvo la media aritmética por cada grupo, siendo de 6.2 para el grupo A y 3.4 para el grupo B.

Media aritmética del recuento de Glóbulos rojos (millones/mm³) de los caninos con presencia de anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al



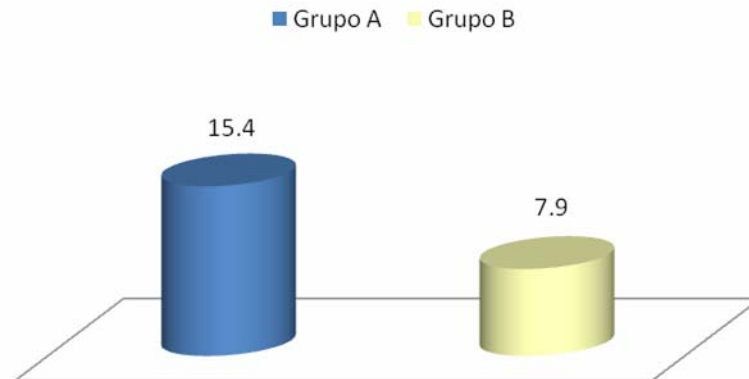
- Referente al valor de Hematocrito (%), para el grupo A la media aritmética obtenida es de 45.5 y para el grupo B de 23.5.

Media aritmética del valor de Ht (%) de los caninos con presencia de anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al municipio

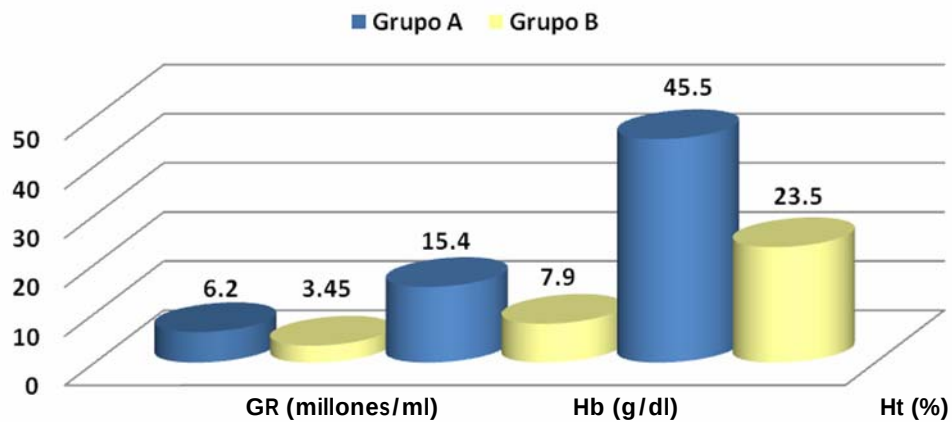


- Las medias aritméticas obtenidas del valor de hemoglobina (g/dl) para el grupo A fue de 15.4 y para el grupo B de 7.9.

Media aritmética del valor de Hb (g/dl) de los caninos con presencia de anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al municipio

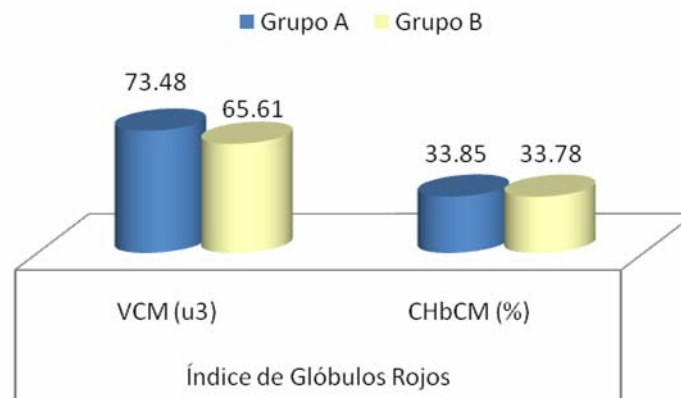


Medias de GR, Hb y Ht de los pacientes con anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al



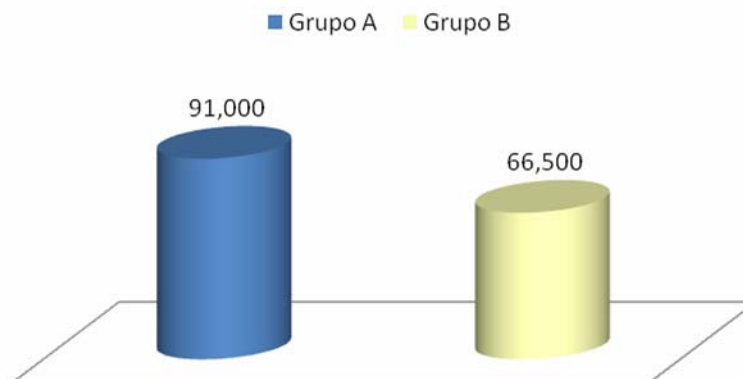
- Referente a las medias aritméticas de los Índices de Glóbulos Rojos, el Valor Corpuscular Medio (μ^3) del grupo A fue de 73.48, y del grupo B de 65.61; la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (%) del grupo A fue de 33.85 y del grupo B de 33.78.

Media aritmética de los Índices de GR de los caninos con presencia de anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al municipio



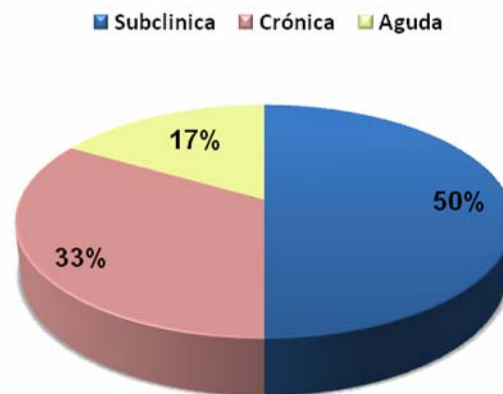
- Las medias aritméticas obtenidas del recuento de trombocitos para el grupo A es de $91 \times 10^3 / \mu\text{l}$ y para el grupo B de $67 \times 10^3 / \mu\text{l}$.

Media aritmética del recuento de Trombocitos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$) de los caninos con presencia de anticuerpos contra *E. canis* pertenecientes al



- Según el nivel de trombocitopenia, tres (50%) de los pacientes con presencia de anticuerpos contra *E. canis* se encontraban en la fase subclínica; dos (33.33%), se presentó en fase crónica y uno (16.66 %), en la fase aguda de la enfermedad.

Determinación de la fase de los pacientes con presencia de anticuerpos contra *E. canis* de acuerdo al nivel de trombocitopenia.



6.2 Discusión

De un total de 40 muestras, se obtuvieron seis casos positivos a la presencia de anticuerpos contra *E. canis*. Por ser una enfermedad altamente infecciosa y de fácil propagación debe tomarse en cuenta, ya que el mayor número de perros con anticuerpos circulantes no presentaban garrapatosis durante la toma de la muestra, por lo que se desconoce desde hace cuanto tiempo estaban infectados ya que estos habían presentado garrapatosis recurrentes durante su vida.

Dentro del Grupo B se presentó el mayor número de casos seropositivos (66.66%), siendo los pacientes que clínicamente se encontraban padeciendo la enfermedad debido a la cronicidad de la infección ya que la duración de la misma está altamente relacionada con la evolución de la enfermedad; además se relaciona con la cepa del microorganismo, enfermedades concomitantes, susceptibilidad de raza y la edad del animal; lo que nos confirma la presencia de anticuerpos contra *E. canis* en los perros del municipio de Soyapango. (2)

Dentro de los hallazgos que sustentan esta aseveración tenemos los siguientes: los recuentos de glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina son menores en los pacientes seropositivos pertenecientes al grupo B, los cuales nos permiten obtener los índices de glóbulos rojos y clasificar la anemia como no regenerativa que al compararlos con los valores hematológicos de referencia según, Morgan 2004, corresponde al tipo normocítica normocrómica característica de la diseritropoyesis producida por *E. canis* obteniéndose valores menores en los animales del grupo B que en los pertenecientes al grupo A los cuales aun presentan valores dentro del rango normal.¹⁰

En cuanto al recuento plaquetario, los pacientes con trombocitopenia marcada (33%) se clasifican dentro de la fase crónica de la enfermedad, los pacientes con trombocitopenia de ligera a moderada (50%) en fase subclínica y los que presentaron trombocitopenia leve en fase aguda (17%); hallazgos característicos de dichas fases según Warner, T; Harrus, S. 2000; Rebar, A. 2005.¹¹

Referente al recuento de glóbulos blancos, las alteraciones observadas son propias del cuadro clínico de cada paciente al momento del muestreo, como por ejemplo en la muestra del paciente B14 se observó una linfocitosis asociada a una cardiopatía crónica debido a que presentó el antígeno de *Dirofilaria immitis* diagnosticada con el mismo kit de ELISA (3Dx®: Ag *D. immitis*, Ac. *E. canis*, Ac. *B. burgdorferi*); por lo que el leucograma¹² no representa datos importantes para esta enfermedad.

El resultado positivo en el Kit rápido de ELISA indicó que los caninos positivos tuvieron contacto con *Ehrlichia canis*; sin embargo la Ehrliquiosis tiene un efecto más crónico que agudo en los pacientes, epidemiológicamente no presenta brotes, aunque para esta población de perros se puede considerar como una enfermedad endémica.

¹⁰ Ver cuadro 3.1

¹¹ Ver cuadro 3.1

¹² Ver cuadro 3.2

VII. CONCLUSIONES

1. En el estudio realizado en 40 perros pertenecientes al municipio de Soyapango, se comprobó la presencia de anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis*.
2. La enfermedad se confirmó en 5 de los caninos seropositivos por medio de los hallazgos clínicos y pruebas rutinarias de laboratorio.
3. No hubo asociación estadística en referencia a la historia de infestación por garrapatas y la presencia de estas durante el examen clínico con respecto a la existencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*.
4. Cuatro (66.66%) de los casos positivos se presentaron en pacientes sin garrapatosis durante el muestreo (grupo B).
5. Los valores hematológicos de los pacientes seropositivos pertenecientes al grupo B fueron los más afectados debido a la cronicidad de la infección.
6. La sintomatología relacionada con la Ehrliquiosis canina es muy variable y en la mayoría de los casos inespecífica por lo que la historia de garrapatosis es parte indispensable para el diagnóstico de la enfermedad.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Utilizar El Test De ELISA SNAP 3Dx[®] (IDDEXX Lab.) como un examen de monitoreo, en conjunto con una evaluación hematológica y clínica del paciente como una forma adecuada de diagnóstico.
2. Utilizar IFA o PCR para descartar definitivamente la infección, debido a que se pueden seguir presentando anticuerpos contra *E. canis* en el Test de ELISA SNAP 3Dx[®] un año después de un resultado positivo a pesar de un tratamiento adecuado.
3. El monitoreo periódico de los caninos, por lo menos una vez al año por la alta población de garrapatas en el municipio.
4. Implementar medidas de control de garrapatas en los caninos por medio de tratamientos de acción residual prolongada y en el medio ambiente, realizando fumigaciones periódicas; así como la menor exposición a animales con garrapatosis.
5. Realizar un muestreo con un mayor número de perros y comprobar la asociación en referencia a la historia de garrapatosis y la presencia de garrapatas durante el muestreo.

IX. RESUMEN

La Ehrliquiosis, en su forma monocítica es una enfermedad infecciosa del perro, caracterizada por la reducción de los elementos celulares de la sangre. Es causada por el microorganismo, *Ehrlichia canis*, cuyo vector y reservorio primario es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*). Esta enfermedad puede presentar tres fases; la fase subclínica, aguda y crónica.

El estudio consistió en el muestreo de cuarenta perros pertenecientes al municipio de Soyapango, los cuales se dividieron en dos grupos de veinte cada uno. El grupo A comprendió muestras de perros con garrapatas durante la toma de la muestra y el grupo B sin garrapatas durante el muestreo pero con antecedentes de haber presentado garrapatos en los últimos dieciocho meses. Con la realización del presente estudio se demostró la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en el municipio.

De los seis perros seropositivos, cuatro pertenecieron al grupo B siendo los pacientes que estaban padeciendo la enfermedad en la fase crónica. Los dos pacientes positivos del grupo A se encontraron en la fase subclínica y aguda.

El resultado positivo al SNAP indica que el paciente tuvo contacto con *Ehrlichia canis*; sin embargo el diagnóstico de la Ehrliquiosis canina se basa en la anamnesis, hallazgos al examen clínico y con la realización de un perfil hematológico. En la mayoría de los casos los propietarios relataron una infestación previa con garrapatas y los pacientes positivos no presentaron garrapatas durante el muestreo.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Ettinger, SJ; Feldman, EC. 2002. Tratado de Medicina Interna Veterinaria: Enfermedades del perro y gato. 5 ed. Estados Unidos de Norteamérica. Elsevier. Volumen I p. 443-447
2. Greene, CE. 1993. Enfermedades infecciosas, perros y gatos. Trad. AF Martínez, MT Valenzuela. México, D. F. McGraw-Hill-Interamericana. 1020 p.
3. Guglielmone. et al. s.f. Garrapatas de importancia Médica y Veterinaria América Latina y el Caribe (en línea). Consultado 30 jun. 2008. Disponible en http://www.senasa.go.cr/Documentos/Boletin_parasitologia/Bolet%C3h%ADn4-2.pdf
4. IDEXX Laboratorios. 2008. (a) Test uses ELISA technology (en línea). Consultado 11 mayo 2008. Disponible en <http://www.idexx.com/animalhealth/testkits/3dx/technology.jsp>
5. _____. 2008. (b) *E. canis* is being discovered everywhere. (en línea). Consultado 11 mayo 2008. Disponible en <http://www.idexx.com/animalhealth/testkits/3dx/specifications.jsp>
6. Kirk, RW; Bonagura, JD. 1997. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. Trad. J Orizaba Samperio. México. McGraw-Hill-Interamericana. p. 317-320
7. Lorenzana, C. 2005. Infestación por garrapatas en el perro (en línea). Consultado 30 jun. 2008. Disponible en <http://www.virbac.com.mx/publicaciones/alDia/no-04/pdf.pdf>
8. Morgan, Rv. et al. 2002. Clínica de pequeños animales. 4 ed. España. Elsevier. p 1122-1124.
9. Murria, PR. et al. 1997. Microbiología médica. 2 ed. España. Harcourt Brace. p. 359-370.
10. Rebar, AH. et al. 2005. Interpretación del Hemograma: introducción, leucocitos, eritrocitos, plaquetas (en línea). Consultado 1 jun. 2008. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Rebar/Chap11_es/chapter.asp?LA=2
11. Rojas, E. 2001. (a) Las garrapatas IV (en línea). Consultado 30 jun 2008. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/merial/Garrapatasiv.pdf>

12. _____ 2001. (b) Las garrapatas II Consultado 30 jun. 2008. Disponible en <http://www.webveterinaria.com/merial/GarrapataII.pdf>
13. Vázquez, R. et al. 1999. Parasitología veterinaria. Madrid, ES. McGraw-Hill -Interamericana. p. 711-713
14. Waner, T; Harrus, S. 2000. Ehrlichiosis monocítica canina (en línea). Consultado 11 mayo 2008. Disponible en <http://www.ivis.org/advances/Infect Dis Carmichael/waner es/ivis.pdf>.

XI. ANEXOS

11.1 Cuadros de resultados

Cuadro 1. Resultados serológicos de los caninos muestreados con garrapatosis durante la toma de la muestra

Grupo A

No. De muestra	Edad (años)	Raza	Resultado
1	8	SRD	Negativo
2	5	Pastor alemán	Negativo
3	1.5	Labrador	Negativo
4	1.3	Poodle	Negativo
5	6	Poodle	Negativo
6	1.5	Poodle	Positivo
7	7	Poodle	Negativo
8	1.7	Poodle	Positivo
9	11	SRD	Negativo
10	12	Poodle	Negativo
11	2	Poodle	Negativo
12	3	Poodle	Negativo
13	1	Rottweiler	Negativo
14	4	Rottweiler	Negativo
15	8	SRD	Negativo
16	9	SRD	Negativo
17	2	Cocker spaniel	Negativo
18	3	Chow chow	Negativo
19	3	Cocker spaniel	Negativo
20	8	Rottweiler	Negativo

**Cuadro 2. Resultados serológicos de los caninos muestreados
sin garrapatos durante la toma de la muestra
Grupo B**

No. De muestra	Edad (años)	Raza	Resultado
1	6	Rottweiler	Positivo
2	4	Doberman	Positivo
3	3	Gran danés	Positivo
4	7	SRD	Negativo
5	2	Doberman	Negativo
6	4	Pitt bul	Negativo
7	2	Schnauzer	Negativo
8	2	Poodle	Negativo
9	3	SRD	Negativo
10	3	Rottweiler	Negativo
11	1	Poodle	Negativo
12	7	Samoyedo	Negativo
13	7	Pastor alemán	Negativo
14	7	Pastor belga	Positivo + dirofilaria
15	2	SRD	Negativo
16	6.1	SRD	Negativo
17	9	SRD	Negativo
18	8	Cocker spaniel	negativo
19	1.6	Rottweiler	negativo
20	8	Pastor alemán	negativo

Cuadro 3. Perfil hematológico de caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* por medio del método de ELISA

Cuadro 3.1 Recuento de Glóbulos Rojos y plaquetas

No. muestra	Glóbulos rojos (millones / mm ³) (5.5-8.5)	Ht (%) (37-55)	Hb (g/dl) (12-18)	Índice de Glóbulos Rojos		Trombocitos (x 10 ³ /μl) (175-500)
				VCM (u ³) (60-77)	CHbCM (%) (32-36)	
A6	6.0	46	15.4	76.66	33.48	50,000
A8	6.4	45	15.4	70.31	34.22	132,000
B1	2.1	11	3.9	52.38	35.45	82,000
B2	3.7	23	7.7	62.16	33.48	80,000
B3	3.2	22	7.1	68.75	32.27	46,000
B14	4.8	38	12.9	79.16	33.95	58,000

*VCM= Volumen corpuscular medio; CHbCM= concentración de hemoglobina corpuscular media.

*Rangos de referencia según Morgan, RV, et al.

Cuadro 3.2 Recuento de Glóbulos Blancos

No. De muestra	Glóbulos blancos (/ mm ³) (6,000-17,000)	Formula diferencial leucocitaria (valor absoluto mm ³)				
		Neutrófilos (/ mm ³) (3,000-11,500)	Linfocitos (/ mm ³) (1000-4,800)	Basófilos (/ mm ³) (0-65)	Monocitos (/ mm ³) (150-1350)	Eosinófilos (/ mm ³) (100-750)
A6	8,850	4,425	4,159.5	---	88.5	177
A8	12,150	7,654.5	4,252.5	---	---	243
B1	66,000	42,900	23,100	---	---	---
B2	15,350	3,377	11,359	---	---	614
B3	11,450	9,503.5	1,946.5	---	---	---
B14	22,050	6,835.5	15,214.5	---	---	---

*Rangos de referencia según Morgan, RV, et al.

11.2 Documentos Varios

Encuesta

No. De muestra _____
Paciente: _____ Edad: _____ Raza: _____ Sexo: _____
Propietario: _____
Dirección y teléfono: _____

1. ¿Ha presentado garrapatosis anteriormente?

☐ Si ☐ No

2. ¿Desde hace cuanto tiempo observo garrapatas en su mascota?

3. ¿Dónde usted vive hay excesiva presencia de garrapatas?

4. ¿Ha observado decaimiento, falta de apetito o debilidad en su mascota?

☐ Si ☐ No

Ficha clínica

No. De muestra _____

Paciente: _____ Edad: _____ Raza: _____ Sexo: _____

Propietario: _____

Dirección y teléfono: _____

RESUMEN DE HISTORIA CLINICA Y EXAMEN FISICO:

XII. APÉNDICES

12.1 Tablas

Tabla 1. Resumen de algunas enfermedades rickettsiales

Especie de Rickettsia	Vector	Huésped	Célula parasitada en el huésped	Signos clínicos	Nombre de la enfermedad
<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perro	Monocitos y linfocitos	Fiebre, depresión, letargo, pérdida de peso, tendencia a hemorragias	Pancitopenia tropical, ehrlichiosis monocítica canina
<i>Ehrlichia ewingii</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Perro	Neutrófilos y eosinófilos	Enfermedad aguda leve, pero puede causar poliartritis	
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Humano (perro)	Monocitos y macrófagos	Puede ser subclínica en el perro	Ehrlichiosis monocítica humana
<i>Anaplasma phagocytophyllum</i> (<i>Ehrlichia phagocytophyla</i> , <i>E. equi</i> y agentes de la ehrlichiosis granulocítica humana)	<i>Ixodes ricinus</i>	Perro, humano (gato)	Neutrófilos	Perros: fiebre, depresión, rechazo al movimiento	Ehrlichiosis granulocítica
<i>Anaplasma platys</i> (<i>Ehrlichia platys</i>)	Posiblemente <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perro	Plaquetas	Fiebre, depresión, tendencia a hemorragias, la enfermedad puede ser leve	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor spp</i>	Perro, humano	Células endoteliales vasculares	Fiebre	Fiebre manchada de las montañas rocosas
<i>Rickettsia conorii</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perro, humano		El perro es asintomático, las personas presentan fiebre y la enfermedad puede ser grave	Fiebre manchada del mediterráneo

Fuente: Fisher, M; McGarry, J 2007.

Tabla 2. Genogrupos de *Ehrlichia* y sus propiedades

Microorganismo	Genogrupo	Vector(es)	Células infectadas	Hospedador(es)	Reacción cruzada con <i>E. canis</i>
<i>E. canis</i>	<i>E. canis</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Células mononucleares	Perros, otros cánidos, gatos, seres humanos	N/A
<i>E. ewingii</i>	<i>E. canis</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Granulocitos	Perros, seres humanos	±
<i>E. chaffeensis</i>	<i>E. canis</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Células mononucleares	Perros, seres humanos	+
<i>E. (Anaplasma) phagocytophila (E. equi)</i>	<i>E. (Anaplasma) phagocytophila</i>	<i>Ixodes pacificus</i>	Granulocitos	Perros, caballos, gatos. Seres humanos, llamas	±
<i>E. platys</i>	<i>E. (Anaplasma) phagocytophila</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Plaquetas	Perros	-
<i>E. risticii</i>	<i>E. sennetsu</i>	Posiblemente trematodos y caracoles	Células mononucleares	Perros, caballos, gatos	+
<i>Neorickettsia heminthaeca</i>	<i>E. sennetsu</i>	Trematodos, caracoles	Muchos tejidos	Perros	+

Fuente: Morgan, RV; Bright, RM; Swartout, MS. Clínica de pequeños animales.

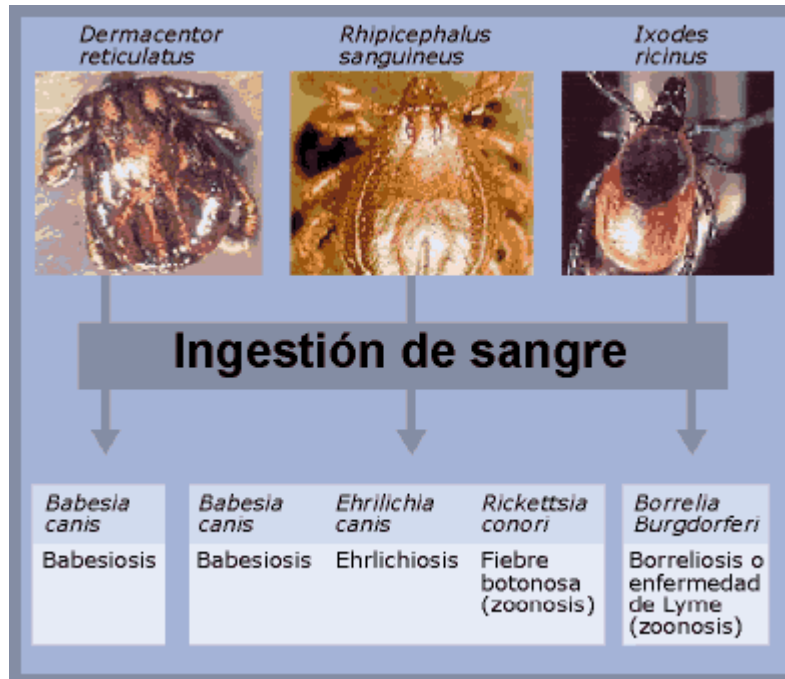
Tabla 3. Progresión de la enfermedad

Progresión de la enfermedad			
Picada de la garrapata y transmisión de <i>Ehrlichia canis</i> : 24-48 horas con un período de incubación de 1-3 semanas.			
Enfermedad clínica--- fases:			
Fase	Signos	Hallazgos de laboratorio	Duración de la fase
Aguda	Fiebre Anorexia Letargia Pérdida de peso Linfadenomegalia Edema Descarga nasal y ocular	± Serología positiva Trombocitopenia Conteo variable de leucocitos	7-21 días Puede ocurrir respuesta inmunológica Tratamiento
Subclínica	No se presentan signos	± Serología positiva Trombocitopenia Conteo variable de leucocitos Anemia	40-120 días (pueden ser años) Puede ocurrir respuesta inmunológica Tratamiento
Crónica	Anemia Pérdida de condición corporal Uveítis Hemorragias en retina Poliartritis	± Serología positiva Trombocitopenia Conteo variable de leucocitos Neutropenia por infección bacteriana secundaria Pancitopenia Hiperglobulinemia linfocitosis	La enfermedad se resuelve con el tratamiento Puede ser fatal Se debe considerar coinfecciones si no se observa respuesta la tratamiento

Fuente: IDEXX Laboratories

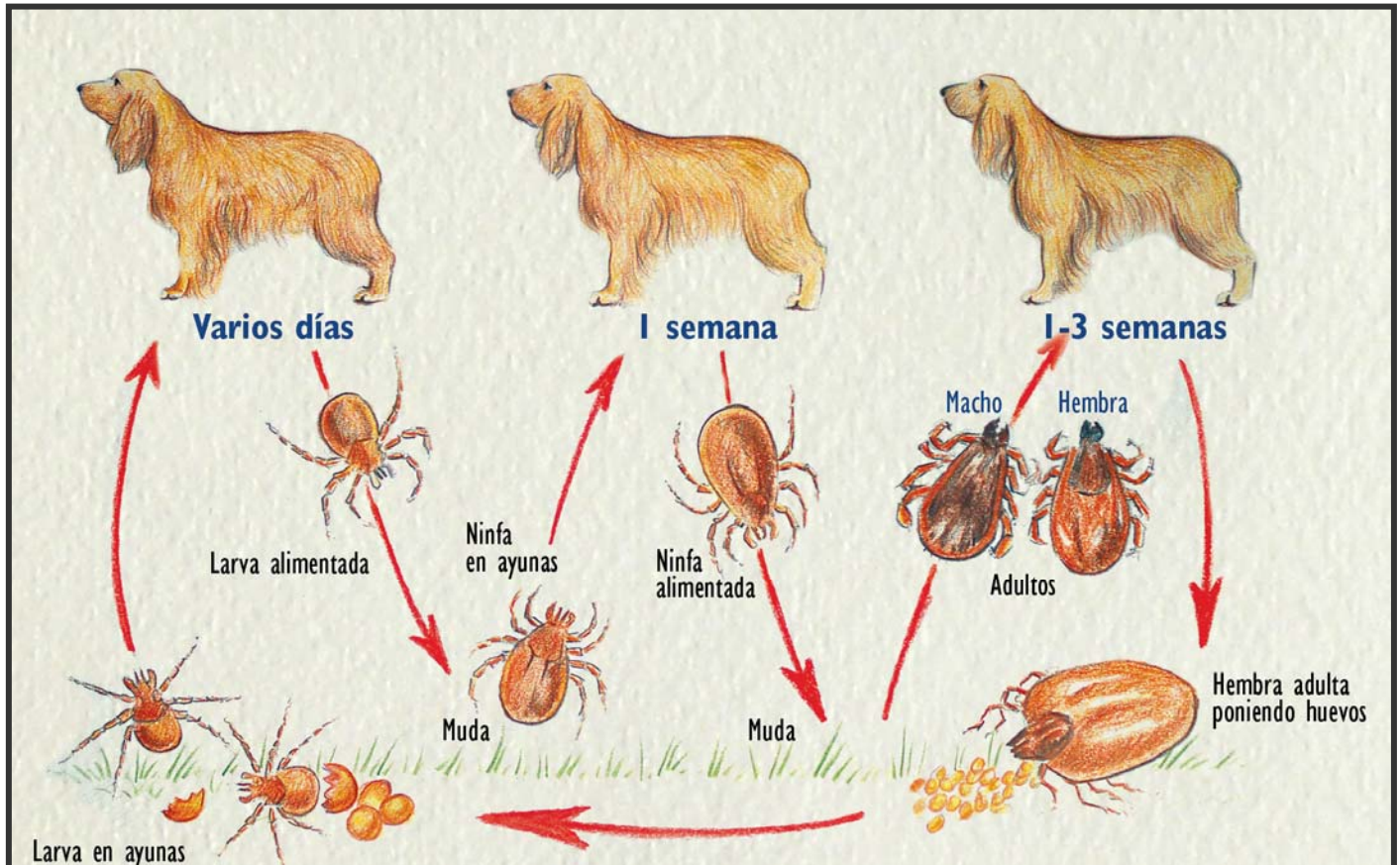
12.2 Esquemas

Esquema 1. Infecciones transmitidas por garrapatas en el perro.



Fuente: Estrada, A. Universidad de Zaragoza, Departamento de parasitología

Esquema 2. Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus*



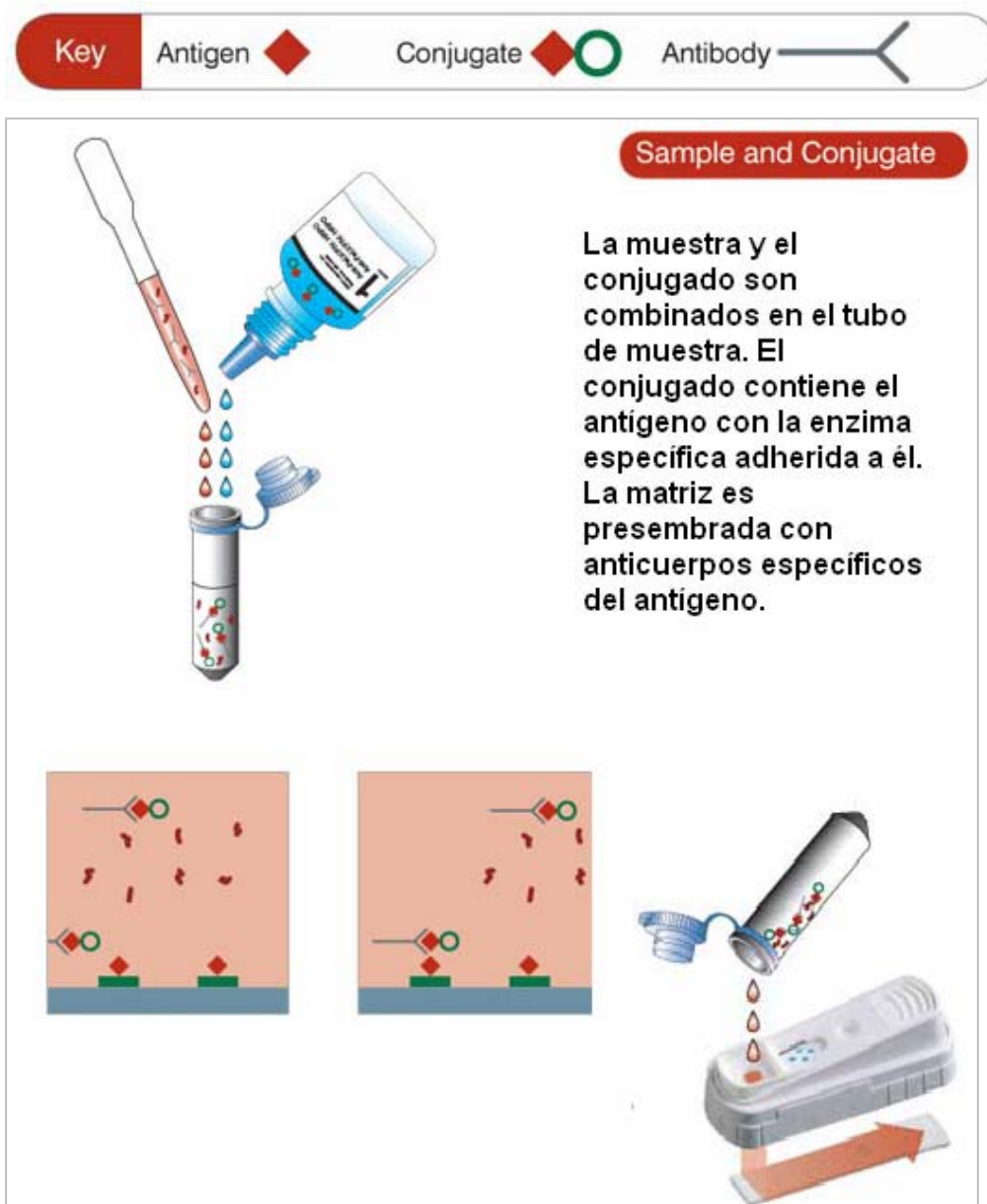
Fuente: Vega, Y. Blog de veterinaria.

Esquema 3. Distribución de *Rhipicephalus sanguineus*

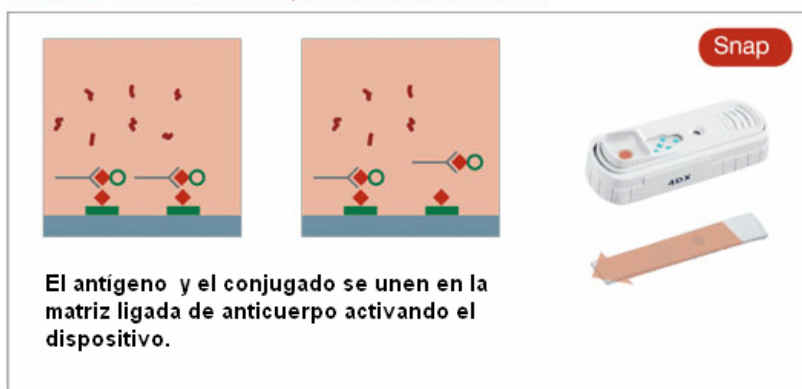


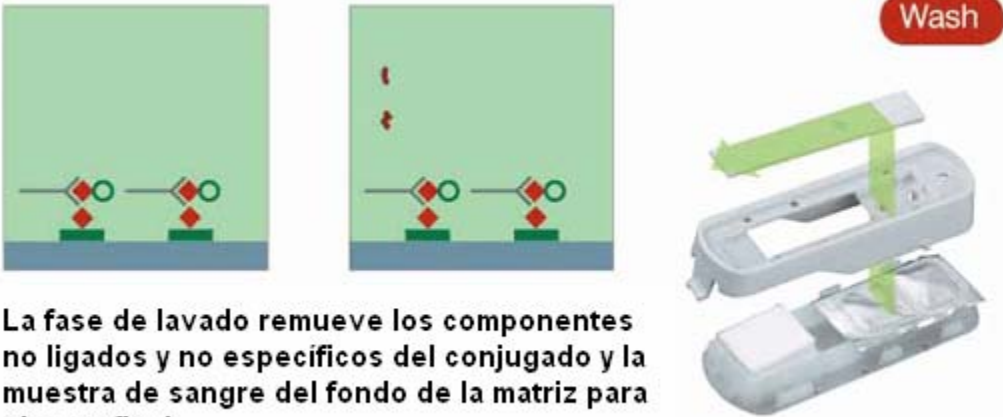
Fuente: Alberto A. Guglielmo et al. Garrapatas de importancia médica y Veterinaria: América latina y el caribe.

Esquema 4. Fundamentos de la prueba de ELISA rápida



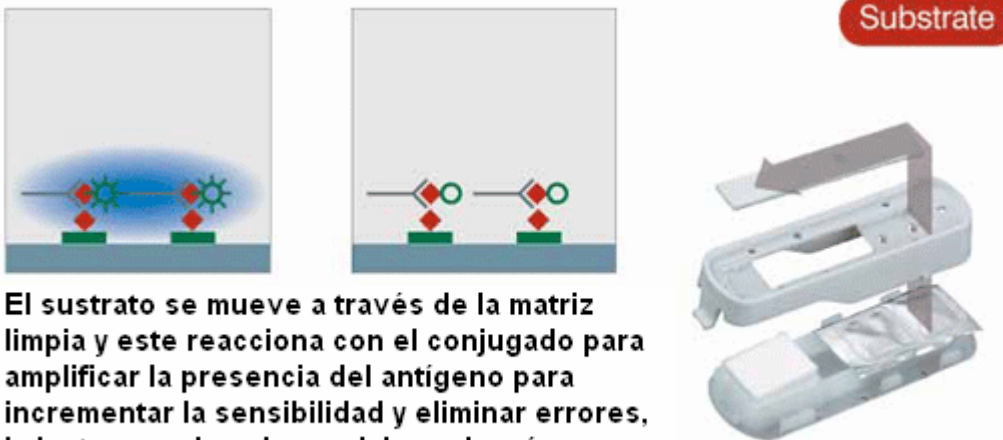
When SNAP device is activated, three distinct events occur:





Wash

La fase de lavado remueve los componentes no ligados y no específicos del conjugado y la muestra de sangre del fondo de la matriz para el paso final.

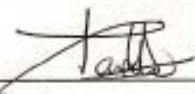


Substrate

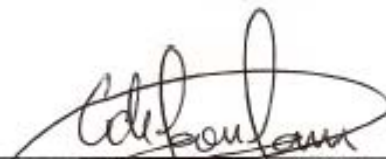
El sustrato se mueve a través de la matriz limpia y este reacciona con el conjugado para amplificar la presencia del antígeno para incrementar la sensibilidad y eliminar errores, la lectura es de color azul, la cual varía en su intensidad desde muy suave a fuerte.



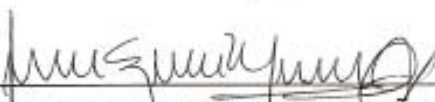
La reacción forma un punto azul que se visualiza en la ventana de resultado para su posterior lectura



BR. KARLA MARIA PAREDES HERNÁNDEZ



DR. CARLOS DE LEÓN GARCIA
(Asesor principal)



DRA. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ



DR. GUSTAVO TARACENA

IMPRÍMASE

**DR. LEONIDAS AVILA
DECANO**