

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



**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES  
CONTRA *Ehrlichia canis* EN PERROS DEL BARRIO  
ALVARADO, DEL MUNICIPIO DE LA CEIBA, HONDURAS”**

**DIEGO ANDRÉ ALVARADO TURCIOS**

**Médico Veterinario**

**GUATEMALA, ABRIL DEL 2018**

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



**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA  
*Ehrlichia canis* EN PERROS DEL BARRIO ALVARADO, DEL  
MUNICIPIO DE LA CEIBA, HONDURAS”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD**

**POR**

**DIEGO ANDRÉ ALVARADO TURCIOS**

Al conferírsele el título profesional de

**Médico Veterinario**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, ABRIL DE 2018**

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

DECANO:	M. A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO:	Dr. M. V. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I:	Msc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III:	M. V. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV:	Br. Brenda Lisette Chávez López
VOCAL V:	Br. Javier Augusto Castro Velázquez

**ASESORES**

**M. A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA HERNÁNDEZ**

**M. V. ALEJANDO JOSÉ HUN MARTÍNEZ**

## HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA  
*Ehrlichia canis* EN PERROS DEL BARRIO ALVARADO, DEL  
MUNICIPIO DE LA CEIBA, HONDURAS”**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar por el título de:

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO QUE DEDICO A:**

- A mi mamá:** Por haberme dado todo su amor y apoyo en todas las decisiones de mi vida, por ser la persona más alegre y abierta conmigo.
- A mi papá:** Por ser siempre la voz de la razón y la tranquilidad cuando más la necesitaba y por darnos el mejor hogar que hubiéramos deseado.
- A mi hermana:** Por haberme aconsejado en muchas fases de mi vida y siempre estar conmigo en los momentos donde más lo necesitaba.
- A mi abuela:** Por ser siempre una abuela amorosa conmigo y por haberme enseñado con tus experiencias.
- A mi abuelo:** Por ser el reflejo del trabajo duro, del máximo esfuerzo y gracias por haberme enseñado que, para cumplir nuestras metas, debemos de poner todo nuestro esfuerzo y disciplina.
- A mi tía y primas:** Por siempre haber estado con nosotros, en las buenas y en las malas.
- A Xavier:** Fuiste el primero que me hizo conocer la medicina veterinaria, y aunque partiste antes de este mundo sin poderte tener como padrino, te dedico esta tesis en honor a tu memoria y a todos los momentos compartidos.

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Dra. Barrientos:** Por haber sido la primera persona en confiar en mí y haberme abierto las puertas de su clínica.
- Al Dr. Calderón y su familia:** Por haberme abierto las puertas de su hogar y por haberme enseñado todo lo que necesitaba para poder desarrollarme como un médico veterinario exitoso y ser un ejemplo de vida.
- A Óscar:** Por haberme enseñado un mundo nuevo de la medicina veterinaria de primer nivel, por haberme motivado a siempre aprender más y a no conformarme con nada.
- A Juan José:** Por enseñarme que un buen médico veterinario se forma también con buenas relaciones interpersonales, buena atención al cliente y que la honestidad debe de ir siempre de la mano con el trabajo duro.
- A mis asesores:** Por haberme ayudado a realizar mi tesis y por soportar todos los momentos en los cuales los estuve molestando para poder terminarla.
- A mis amigos y colegas:** Por haberme brindado toda la amistad, buenos momentos y haberme ayudado a salir adelante en la carrera; la experiencia universitaria fue la mejor experiencia de mi vida gracias a ustedes.

# ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	01
II.	HIPÓTESIS.....	03
III.	OBJETIVOS.....	04
	3.1 General.....	04
	3.2 Específico.....	04
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	05
	4.1 EHRLICHIOSIS CANINA.....	05
	4.1.1 Sinónimos.....	05
	4.1.2 Etiología.....	05
	4.1.3 Antecedentes.....	05
	4.1.4 Distribución.....	06
	4.1.5 Especies susceptibles.....	06
	4.1.6 Transmisión y ciclo biológico.....	06
	4.1.7 Patogenia.....	07
	4.1.8 Signos clínicos.....	08
	4.1.8.1 Fase aguda.....	09
	4.1.8.2 Fase subclínica.....	09
	4.1.8.3 Fase crónica.....	10
	4.1.9 Lesiones.....	11
	4.1.9.1 Lesiones macroscópicas.....	11
	4.1.9.2 Lesiones microscópicas.....	11
	4.1.10 Diagnóstico.....	12
	4.1.10.1 Citología.....	12
	4.1.10.2 IFA.....	12
	4.1.10.3 Técnica de ELISA.....	13
	4.1.10.3.1 Fundamento teórico.....	14
	4.1.10.3.2 Tipos de técnicas de ELISA.....	14
	4.1.10.3.2.1 ELISA directo.....	14

	4.1.10.3.2.2 ELISA indirecto.....	15
	4.1.10.3.2.3 ELISA competitivo.....	15
	4.1.10.3.3 Prueba Snap 4Dx Plus de Idexx®.....	16
	4.1.10.3.3.1 Fases de una prueba Snap.....	16
	4.1.10.4 PCR.....	16
	4.1.11 Diagnóstico diferencial.....	17
	4.1.12 Tratamiento.....	17
	4.1.13 Prevención.....	18
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
	5.1 MATERIALES.....	19
	5.1.1 Recursos humanos.....	19
	5.1.2 Recursos biológicos.....	19
	5.1.3 Recursos de laboratorio.....	19
	5.1.4 Centros de referencia.....	20
	5.2 MÉTODOS.....	20
	5.2.1 Área de estudio.....	20
	5.2.2 Selección de la muestra.....	20
	5.2.3 Procedimiento de la prueba rápida de ELISA.....	20
	5.2.4 Interpretación de Resultados.....	21
	5.2.5 Análisis estadístico.....	21
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
VII.	CONCLUSIONES.....	33
VIII.	RECOMENDACIONES.....	34
IX.	RESUMEN.....	35
	SUMMARY.....	36
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
XI.	ANEXOS.....	40



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	
Ficha de registro para los animales muestreados.....	41
<b>Anexo 2.</b>	
Caninos positivos a la prueba Snap 4dx Plus.....	42
<b>Anexo 3.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> .....	42
<b>Anexo 4.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Anaplasma sp.</i> .....	42
<b>Anexo 5.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> y <i>Anaplasma sp.</i> .....	42
<b>Anexo 6.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> según sexo.....	43
<b>Anexo 7.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> según edad.....	43
<b>Anexo 8.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> según raza.....	43
<b>Anexo 9.</b>	
Caninos muestreados con garrapatoxis.....	44
<b>Anexo 10.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> con garrapatoxis.....	44
<b>Anexo 11.</b>	
Caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> con signología clínica.....	45
<b>Anexo 12.</b>	
Signos clínicos presentados por caninos seropositivos a <i>Ehrlichia canis</i> .....	45
<b>Anexo 13.</b>	
Signos clínicos presentados por caninos seronegativos a <i>Ehrlichia canis</i> .....	45

## I. INTRODUCCIÓN

La erlichiosis canina es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas, cuyo agente etiológico es *Ehrlichia canis*. Este microorganismo es una bacteria intracelular obligada con tropismo por los leucocitos del huésped. Esta localización propia del microorganismo facilita una infección crónica que no responde a antibioterapia. El microorganismo ingresa en el huésped cuando la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* inserta su aparato bucal en la piel del perro e inocula la bacteria, la cual alberga en su saliva. Por consiguiente, es una enfermedad con alta prevalencia en climas tropicales y templados. La *E. canis* infecta frecuentemente monocitos circulantes y células fagocíticas mononucleares en nódulos linfáticos, bazo, hígado y médula ósea, resultando en anomalías hematológicas, hiperplasia linfocítica y organomegalia del órgano afectado. La fase aguda de la enfermedad inicia una a tres semanas luego de la picadura de garrapata, y los signos clínicos pueden durar de dos a cuatro semanas, desde una manifestación leve hasta una severa. Entre los signos de la fase aguda se pueden mencionar fiebre, anorexia, letargia, descargas oculonasales, linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia. Otros signos menos frecuentes son uveítis anterior, corioretinitis, signos neurológicos, edema en los miembros, edema en el escroto, petequias o equimosis. Algunos perros pueden mantener una infección subclínica persistente luego de la aparición aguda de la enfermedad, con síntomas de aparente recuperación. Sin embargo, luego de meses o años, pueden manifestar síntomas de la fase crónica de la enfermedad. Algunos de estos signos son fiebre, pérdida de peso, sangrados espontáneos, meningoencefalomielitis, poliartritis y edema en el tren posterior.

El diagnóstico de la enfermedad se puede realizar mediante varios métodos. La inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFA) es un método altamente sensible y confiable. Otro método es mediante la prueba de ELISA, la cual detecta anticuerpos circulantes en perros expuestos a la enfermedad con alta especificidad

y sensibilidad. Por dicha razón, en esta investigación se utilizará un dispositivo comercial basado en la tecnología ELISA para diagnosticar pacientes seropositivos a la ehrlichiosis canina.

Hasta la fecha, se ha documentado solamente un estudio sobre la ehrlichiosis canina en la República de Honduras, específicamente en la ciudad de San Pedro Sula. Dicho estudio comparó la eficacia de dos métodos diagnósticos para la enfermedad únicamente, mas no determinó el estatus de la ehrlichiosis canina en el territorio. La realización del presente estudio para la determinación de anticuerpos contra *E. canis* tiene como objetivo principal conocer el estatus de la enfermedad en uno de los principales barrios de la ciudad de La Ceiba, Honduras.

## II. HIPÓTESIS

Existe presencia de anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis* en perros provenientes del Barrio Alvarado, del municipio de La Ceiba, Honduras.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General:

- Contribuir al estudio epidemiológico de las enfermedades caninas transmitidas por garrapatas en el municipio de La Ceiba, Honduras

#### 3.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis* a través de la prueba rápida de ELISA en perros con garrapatosis o historial de garrapatosis previa provenientes del Barrio Alvarado, del municipio de La Ceiba, Honduras.
- Determinar el porcentaje de perros del Barrio Alvarado seropositivos a la infección por *E. canis*.
- Determinar el porcentaje de perros del Barrio Alvarado seropositivos a coinfecciones por *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Dirofilaria immitis* y/o *Borrelia burgdorferi*.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Ehrlichiosis Canina

#### 4.1.1 Sinónimos

Ehrlichiosis monocítica canina, enfermedad del perro rastreador, pancitopenia canina tropical, fiebre canina hemorrágica, tifus canina (Huerto & Dámaso, 2015).

#### 4.1.2 Etiología

La enfermedad es producida por la *Ehrlichia canis*, una bacteria intracelular obligada, gram negativa y pleomórfica con un tropismo por las células mononucleares circulantes del organismo que infecta. Esta bacteria pertenece a la familia *Anaplasmataceae*. Una vez infectados los monocitos, se establecen y se multiplican por fisión binaria dentro de vacuolas en el citoplasma que por su aspecto se denominan mórulas (Cartagena et al., 2014; Martínez, et al., 2015).

#### 4.1.3 Antecedentes

La ehrlichiosis canina fue descrita por primera vez en 1935 en Algeria por Donatien y Lestoquard. Inicialmente se llamó *Rickettsia canis*, pero en 1945 fue renombrado como *E. canis* en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich. En 1938 se describió en Sudáfrica; en 1957 Bool y Stumoller la diagnosticaron en perros provenientes de la Isla de Aruba; en 1962 se describió por primera vez en Estados Unidos. En Brasil, fue descrita por primera vez por Costa en Belo Horizonte en 1973, luego en Curitiba por Kavinski en 1988 (Pontes et al., 2003; León et al., 2008; Dolz et al., 2013).

#### **4.1.4 Distribución**

Esta enfermedad es de distribución mundial, exceptuando Australia y Nueva Zelanda. Sin embargo, presenta mayor prevalencia en áreas con climas tropicales y subtropicales donde la población de garrapatas se mantiene relativamente estable (Kelly, 2000).

#### **4.1.5 Especies susceptibles**

La *E. canis* puede infectar a cánidos domésticos, así como a cánidos silvestres. Entre los cánidos silvestres se pueden mencionar lobos, zorros, coyotes, chacales y perros salvajes africanos, aunque es improbable que estas especies jueguen un rol significativo en la epidemiología de la enfermedad en perros domésticos (Kelly, 2000; Huerto & Dámaso, 2015).

#### **4.1.6 Transmisión y Ciclo Biológico**

La garrapata actúa como vector biológico de la ehrlichiosis canina, siendo la especie *Rhipicephalus sanguineus* la principal transmisora de la enfermedad. Actualmente se ha comprobado que *Dermacentor variabilis* también puede transmitir la enfermedad experimentalmente. El microorganismo se transmite transestadialmente en la garrapata, mas no así transováricamente. Esto significa que una garrapata que no ha sido expuesta al microorganismo, debe de alimentarse con la sangre de un perro en la fase aguda de la enfermedad para infectarse con *E. canis*. El macho de *R. sanguineus* puede alimentarse múltiples veces y puede adquirir y transmitir *E. canis* en la ausencia de la hembra (Nelson & Couto, 2009; Dolz et al., 2013).

La garrapata adquiere el agente al alimentarse de animales en la fase aguda de la enfermedad y, probablemente, en la fase subclínica. Una vez dentro del vector,

el microorganismo pasa del intestino hacia las glándulas salivales. Al momento de alimentarse de un nuevo hospedador, la garrapata inocula el agente infeccioso en el organismo del animal. Diversos estudios han demostrado que una garrapata puede sobrevivir desde 155 días hasta 568 días sin alimentarse, con la capacidad de transmitir el agente infeccioso hasta 155 días post infección (Dolz et al., 2013).

#### **4.1.7 Patogenia**

Hasta el momento se continúan realizando estudios para comprender con mayor exactitud la fisiopatología de la enfermedad causada por *E. canis*. Es posible que la patogenia de la enfermedad esté relacionado a los efectos citopáticos del propio organismo, la reacción del organismo al agente infeccioso o a una combinación de ambos. Sin embargo, parece estar relacionada principalmente a una excesiva reacción inmunológica del organismo al microorganismo. Evidencia de esta afirmación se ha visto en perros estudiados en la fase aguda de la enfermedad en la que se encontró una hipergammaglobulinemia en ellos. La *E. canis* forma microcolonias dentro de una vacuola intracelular (llamada mórula), principalmente en monocitos y macrófagos del huésped. El patógeno se replica únicamente en el citoplasma de células monocíticas y la formación de la mórula es una característica definitiva (Waner et al., 1999; Straube, 2010).

La fisiopatología inicia con un período de incubación entre ocho a 20 días. Durante este período, los microorganismos se multiplican en los macrófagos del sistema monocítico fagocitario, diseminándose por todo el organismo. Consecuente a esto, la enfermedad se divide en tres fases: aguda, subclínica y crónica. Diferentes mecanismos inmunológicos intervienen en la patogenia de la enfermedad. Entre los días cuatro y siete posteriores a la infección, aparecen las IgM y las IgA y la IgG aumenta a partir del día 15. Esta respuesta humoral tiene un efecto mínimo en la eliminación del microorganismo intracelular y no proporciona protección ante una nueva infección. En cambio, produce efectos perjudiciales en el desarrollo de la



enfermedad debido a las consecuencias inmunopatológicas. Durante el curso de la enfermedad, ocurren recombinaciones repetidas en los genes antigénicos proteicos de la membrana externa de las ehrlichias, que conduce a la generación de variaciones en epítopes inmunogénicos permitiendo que los microorganismos evadan los mecanismos de defensa del huésped y se produzcan infecciones persistentes (Greene, 2008; Waner, 2008).

La fase aguda se caracteriza por una trombocitopenia que puede ser moderada o severa. Se presenta una anemia moderada normocrómica normocítica no regenerativa y se observan megaplaquetas en la sangre periférica. Perros no tratados o tratados inadecuadamente entran luego de esto a la fase subclínica. Durante la fase subclínica, los perros aparentemente se observan clínicamente sanos, aunque hematológicamente se puede observar una leve trombocitopenia. El microorganismo presumiblemente se aloja en el bazo durante esta etapa. Los perros en la fase subclínica pueden volverse portadores persistentes de la enfermedad. Algunos perros en la fase subclínica entran en la fase crónica pancitopénica de la enfermedad. En su forma severa, esta enfermedad se caracteriza por hipoplasia de la médula ósea e incapacidad de la misma para producir todos los elementos sanguíneos, resultando en una pancitopenia. Perros en esta etapa sufren de una anemia severa no regenerativa, leucopenia y trombocitopenia. El pronóstico en esta etapa es malo. Los perros mueren eventualmente de infecciones secundarias y/o sangrado ya que no responden al tratamiento con doxiciclina (Waner, 2008).

#### **4.1.8 Signos clínicos**

La manifestación clínica de la enfermedad puede ocurrir en cualquier perro, pero la severidad de la misma depende del organismo, factores del huésped y la presencia de coinfecciones. Se cree que la virulencia varía con diferentes cepas de campo de *E. canis*. Perros con una inmunidad celular deprimida desarrollan cuadros severos (Nelson & Couto, 2009).

#### **4.1.8.1 Fase Aguda**

La fase aguda de la enfermedad comienza una a tres semanas luego de la picadura de una garrapata infectada. Los signos clínicos varían de leves a severos, y duran de dos a cuatro semanas. Durante esta fase, generalmente se encuentran garrapatas en el huésped, y aunque la fiebre se puede observar en ambas fases clínicas (aguda y crónica), es más común durante la fase aguda de la enfermedad. Petequias y otros tipos de sangrados son causados por una leve trombocitopenia y vasculitis. El sangrado espontáneo no es común, y cuando ocurre, es debido a una vasculitis y baja función plaquetaria (Birchard, 2006; Nelson & Couto, 2009).

Se puede observar anorexia, letargia, descargas oculonasales, linfadenopatía generalizada, esplenomegalia, y hepatomegalia. Manifestaciones menos severas que se pueden observar en casos severos son signos neurológicos debidos a una meningoencefalitis (ataxia, paresis, hiperestesia, temblores, déficits del nervio craneal); uveítis anterior y corioretinitis; disnea o intolerancia al ejercicio por neumonía y edema de los miembros posteriores y del escroto. Cuando ocurre una infección por *Ehrlichia ewingii*, se observa una poliartritis neutrofílica con claudicación, rigidez, dolor articular e inflamación (Birchard, 2006).

#### **4.1.8.2 Fase Subclínica**

La mayor parte de los perros sobreviven a la fase aguda de la enfermedad y se recuperan en una a cuatro semanas. Posteriormente, entran a la fase subclínica, en la cual no evidencian signos clínicos, pero continúan infectados con *E. canis*. En perros experimentalmente infectados, esta fase puede tardar tan poco como 4 meses. Sin embargo, en los perros infectados naturalmente, esta etapa puede durar hasta 10 años. Un hallazgo reciente importante es que algunos perros pueden eliminar *E. canis* durante la fase subclínica, según diversos estudios. Según un estudio realizado, el 33% de los perros infectados experimentalmente con *E. canis*

resultaron negativos a PCR y a serología, sin anormalidades en sus parámetros hematológicos (Kelly, 2000).

#### **4.1.8.3 Fase Crónica**

Luego de una aparente recuperación en la fase aguda, y de una fase subclínica que se puede prolongar de meses a años, los perros con una infección persistente desarrollan una variedad de afecciones crónicas acompañadas por una hiperplasia reticular y una disfunción de la médula ósea (Birchard, 2006).

Los signos clínicos pueden ser leves o severos, y pueden incluir pérdida de peso, fiebre, sangrados espontáneos (petequias y equimosis, epistaxis, melena, hematuria, hifema), palidez debida a anemia, linfadenopatía generalizada, esplenomegalia, hepatomegalia, uveítis (uveítis anterior, corioretinitis, hemorragias retinales o desprendimientos), meningoencefalomielitis (ataxia, paresia, convulsiones, estupor, signos vestibulares, etc.), poliartritis y edema del tren posterior intermitente. La fase crónica puede ser más severa en pastores alemanes y doberman pinschers. La palidez de mucosas usualmente solo ocurre en la fase crónica durante el desarrollo de pancitopenia. La hepatomegalia, esplenomegalia y linfadenopatía son causadas por una estimulación inmune crónica y son detectadas con mayor frecuencia en perros durante esta etapa. También se puede presentar tos o disnea causada por edema alveolar o intersticial secundaria o una vasculitis o inflamación, así como a infecciones secundarias. Poliuria, polidipsia y proteinuria son reportados en perros que desarrollan una insuficiencia renal (Birchard, 2006; Nelson & Couto, 2009).

## **4.1.9 Lesiones**

### **4.1.9.1 Lesiones Macroscópicas**

Macroscópicamente, se puede encontrar un agrandamiento de diversos órganos. Se puede observar hepatomegalia, esplenomegalia no congestiva en la fase aguda de la enfermedad, linfadenomegalia, necrosis de la médula ósea y petequias en el tejido cutáneo. En el ojo se pueden hallar lesiones en prácticamente todas las estructuras del ojo: uveítis anterior bilateral, ulceración corneal y celulitis orbitaria. En el sistema cardiopulmonar se pueden observar hemorragias en el miocardio y neumonía intersticial (Waner & Harrus, 2013).

### **4.1.9.2 Lesiones Microscópicas**

En histopatología se han hallado infiltraciones linfocíticas, células plasmáticas y de monocitos en diversos órganos, incluyendo hígado, bazo, riñones, sistema nervioso central, ojos, vejiga urinaria, próstata, testículos, páncreas y nódulos linfáticos (Waner & Harrus, 2013).

En el hígado se han encontrado acumulaciones de células plasmáticas alrededor de las venas centrolobulares y la tríada portal; en bazo una proliferación difusa de linfocitos en la pulpa roja y blanca. En la fase aguda de la enfermedad se puede observar una acumulación de plasmocitos en la médula ósea, con abundancia de megacariocitos. En la fase crónica, se ha observado una baja marcada en el número de células eritroides y mieloides con una mínima presencia de megacariocitos. En el sistema nervioso central se ha encontrado principalmente plasmocitosis en las meninges, con abundantes células plasmáticas y pocos linfocitos. En casos crónicos, se han encontrado agregados focales formados por células mononucleares, mientras que en casos agudos se han hallado más acumulaciones de células difusas alrededor de los vasos sanguíneos. Los sitios de

predilección son el tallo cerebral, el cerebro medio y la corteza cerebral. En algunos casos se pueden encontrar hemorragias en el cerebro (Waner & Harrus, 2013).

#### **4.1.10 Diagnóstico**

El diagnóstico de ehrlichiosis canina debe de realizarse mediante la asociación de los diversos signos clínicos, exposición a garrapatas, hallazgos hematológicos (anemia, linfopenia, leucopenia, trombocitopenia) y confirmarse mediante el uso de serología principalmente. Actualmente hay diferentes alternativas para confirmar el diagnóstico (Kelly 2000).

##### **4.1.10.1 Citología**

Es el método más simple, rápido y económico para detectar la bacteria, visualizando la mórula en frotis de sangre periférica del pabellón auricular. Sin embargo, es la menos sensible y la más inespecífica, ya que no detectará bajas cantidades de la bacteria en la sangre ni permite diferenciarla de otras especies de la familia *Anaplasmataceae*. Las mórulas pueden observarse en células de la médula ósea, leucocitos del fluido cerebroespinal, leucocitos del líquido sinovial, o aspiraciones con aguja fina del bazo o nódulos linfáticos. En un estudio retrospectivo, solamente el 4% de los perros serológicamente positivos a la enfermedad con hallazgos clínicos y hematológicos consistentes a la enfermedad tenían mórulas detectables en los frotis sanguíneos. Por dicha razón, no debe de ser utilizada como principal herramienta diagnóstica (Kelly, 2000; Birchard, 2006; Dolz et al., 2013).

##### **4.1.10.2 IFA**

La inmunofluorescencia indirecta ha sido la herramienta diagnóstica más utilizada desde su desarrollo en 1972. Aunque es un método altamente sensible, el

procedimiento consume mayor tiempo, es costosa y puede tomar hasta dos meses. Por lo tanto, reduce su utilización clínica. Títulos de anticuerpos >1:64 son considerados indicativos de una infección anterior o activa. Sin embargo, los títulos diagnósticos pueden no ser detectados hasta dos a cuatro semanas luego de la infección, además que algunos perros manifiestan signos clínicos antes de desarrollar títulos positivos. Los anticuerpos a una de las especies de *Ehrlichia* pueden o no mostrar reacción cruzada con otras especies. Los títulos de *E. canis* son positivos en la mayoría de los perros con una infección por *E. chaffeensis*, pero solamente la mitad de los perros con *E. ewingii* resultan positivos (Kelly, 2000; Birchard, 2006).

#### **4.1.10.3 Técnica de ELISA**

Los ensayos inmunológicos son procedimientos en los cuales se utilizan anticuerpos como reactivos enlazantes “específicos”. Se pueden utilizar para determinar o cuantificar fármacos, sustancias biológicas, sustancias infecciosas o anticuerpos de respuesta del huésped en el suero, orina, sangre, saliva y en cualquier líquido biológico donde se encuentre la sustancia a investigar (Guzmán, 2004).

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA por sus siglas en inglés) utiliza una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. El marcador enzimático que se emplea se conjuga con un ligando, el cual puede ser un antígeno, un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anticuerpo para el anticuerpo primario. Casi todas las pruebas de ELISA son ensayos en fase sólida en los cuales se adsorbe un antígeno o un anticuerpo sobre un soporte sólido. Algunos protocolos se basan en reacciones de enlace competitivo, otros en reacciones de enlace no competitivo, sin embargo, en todas las pruebas de ELISA se requiere de un paso de separación para eliminar el conjugado enzimático libre antes de proceder a determinar la cantidad de conjugado

enzimático enlazado. Para eso se añade sustrato enzimático y se mide la reacción catalítica entre la enzima y el sustrato. Esto produce un cambio de color amplificado y fácilmente detectable (Guzmán, 2004).

#### **4.1.10.3.1 Fundamento Teórico**

La prueba de ELISA se basa en varias teorías:

- 1.) El antígeno y el anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su reactividad inmunológica.
- 2.) Las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligando.
- 3.) La actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento.
- 4.) Las enzimas no están presentes en el líquido biológico que se va a analizar (Guzmán, 2004).

#### **4.1.10.3.2 Tipos de Técnicas de ELISA**

Las pruebas de ELISA se dividen entre tres principales tipos de formatos: Directa, indirecta y competitiva (Guzmán, 2004).

##### **4.1.10.3.2.1 ELISA Directo**

En el tipo directo, el antígeno es capturado entre anticuerpos que cubren la placa y un conjugado que ha sido marcado con una enzima determinada. El conjugado del anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. La adición de una enzima sustrato-cromógeno causa que se desarrolle el color. El color es

directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra (IDEXX, 2010).

#### **4.1.10.3.2.2 ELISA Indirecto**

En el formato indirecto, el anticuerpo de la muestra es capturado entre el antígeno que cubre la placa y un conjugado que ha sido marcado con una enzima. La adición de una enzima sustrato-cromógeno causa que se desarrolle el color. El color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo ligado de la muestra. A mayores anticuerpos presentes en la muestra, más intenso se desarrollará el color. Este formato es adecuado para determinar los niveles totales de anticuerpos en las muestras (IDEXX, 2010).

#### **4.1.10.3.2.2 ELISA Competitivo**

En este formato, los anticuerpos específicos de la muestra compiten con, o bloquean, el anticuerpo específico marcado con una enzima en el conjugado. La adición de una enzima sustrato-cromógeno causa que se desarrolle el color. El color es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra. A mayores anticuerpos presentes en la muestra, menos se desarrolla el color en las placas (IDEXX, 2010).

#### **4.1.10.3.3 Prueba Snap 4Dx Plus de Idexx®**

Actualmente hay disponible en el mercado un kit de diagnóstico in vitro basado en la prueba de ELISA (Snap 4Dx Plus de Idexx®), el cual detecta antígeno de *Dirofilaria immitis*, anticuerpos frente a *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia ewingii* en suero, plasma o sangre total canina. Esto es posible realizarlo en solamente 8 minutos. Dado el poco



tiempo requerido, alta sensibilidad y especificidad, esta prueba rápida es la más utilizada por médicos veterinarios en todo el mundo (IDEXX, 2012).

#### **4.1.10.3.3.1 Fases de una Prueba Snap**

- El antígeno queda fijado cuando el anticuerpo conjugado ligado a enzima y la muestra de sangre se combinan.
- La matriz ha sido tapizada previamente con anticuerpos específicos frente al antígeno.
- El conjugado y el antígeno se unen al anticuerpo ligado a la matriz formando un “sándwich”.
- Se activa el dispositivo.
- La etapa de lavado elimina de la matriz inespecificidades, el conjugado y los componentes de la muestra de sangre no ligada, dejando “vía libre” para el último paso.
- El sustrato fluye por la matriz limpia. El sustrato reacciona con el conjugado para amplificar la presencia del antígeno, incrementando la sensibilidad y ofreciendo una lectura inconfundible (IDEXX, 2012).

A pesar de que las pruebas serológicas son las más utilizadas en la actualidad, presentan importantes limitaciones. No son útiles para determinar el estado de la enfermedad ni para confirmar la eliminación del agente en el organismo luego del tratamiento, ya que los perros pueden mantenerse seropositivos mucho tiempo luego de haber eliminado al microorganismo. Muchos perros se seroconvierten, pero nunca desarrollan manifestaciones clínicas de la enfermedad (Perea et al., 2009).

#### 4.1.10.4 PCR

Las técnicas moleculares han ganado mayor valor diagnóstico, especialmente en investigaciones, para detectar ADN de la *E. canis* en muestras de sangre y tejidos mediante la amplificación de PCR. Presentan mayor sensibilidad y especificidad que las técnicas serológicas, sin embargo, están disponibles únicamente en laboratorios. La técnica de PCR puede dar un diagnóstico definitivo de ehrlichiosis canina, por lo que se debe de usar como complemento a la serología, mas no en lugar de esta última. Pueden ocurrir falsos negativos en perros tratados recientemente con antibióticos, y en algunos perros aspiraciones de médula ósea y bazo han resultado positivos a PCR cuando muestras de sangre han resultado negativas. Un paciente positivo a PCR indica que está activamente infectado por el microorganismo (Kelly, 2000; Birchard, 2006).

#### 4.1.11 Diagnóstico Diferencial

Dada la gran variedad de signos y cuadros clínicos que produce la ehrlichiosis canina, esta debe de ser diferenciada de otras enfermedades transmitidas por garrapatas y enfermedades inmunomediadas. En el perro ocurre con mayor frecuencia coinfecciones con diversas especies de *Ehrlichia*, *Babesia*, *Rickettsia*, *Borrelia* y *Bartonella spp.* En general, se debe de sospechar de coinfecciones con estas enfermedades transmitidas por vectores cuando el perro presenta cuadros inusuales severos con historial de exposiciones a garrapatas y moscas. Por ejemplo, un perro con *E. canis* y *Bartonella* tiene mayor tendencia a desarrollar epistaxis. Los signos clínicos, hallazgos físicos y las anormalidades de laboratorio de la fase crónica son similares a un mieloma múltiple o a una leucemia linfocítica crónica debido a que se ve afectada la médula ósea principalmente (Ettinger & Feldman, 2005; Birchard, 2006).

#### **4.1.12 Tratamiento**

Se ha demostrado que las tetraciclinas son los únicos antibióticos efectivos en la eliminación del agente en el organismo de perros infectados. De estas, la doxiciclina es la más eficiente en la eliminación de la infección debido a que tiene mayor liposolubilidad, se absorbe mejor en el tracto gastrointestinal y tiene mayor facilidad en la penetración de tejidos. Se debe administrar doxiciclina con dosis de 5 mg/kg PO cada 12 horas durante 28 días en pacientes con ehrlichiosis canina. El dipropionato de imidocarb se utiliza con frecuencia en áreas endémicas ya que elimina una posible coinfección con *Babesia*, además que ayuda en la mejoría de los signos clínicos de la ehrlichiosis canina. Sin embargo, no es capaz de eliminar la infección en el organismo. El imidocarb se administra a dos dosis de 5 mg/kg IM con 15 días de intervalo (Kelly, 2000; Birchard, 2006).

#### **4.1.13 Prevención**

Actualmente no se han fabricado vacunas efectivas en brindar protección inmunológica a perros. El único método efectivo disponible para prevenir la enfermedad de perros, principalmente aquellos que habitan en zonas endémicas al vector, es la utilización de productos ectoparasiticidas. Estos productos deben ser utilizados tanto en el animal, como en el ambiente de manera periódica (Straube, 2010).

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Materiales

#### 5.1.1 Recursos humanos:

- Un estudiante de Medicina Veterinaria
- Dos médicos veterinarios asesores de tesis

#### 5.1.2 Recursos biológicos

- Sangre de 50 perros (*Canis familiaris*) pertenecientes al Barrio Alvarado, del municipio de La Ceiba, Honduras.

#### 5.1.3 Recursos de laboratorio:

- 50 Kits de ELISA (Kit SNAP 4DX PLUS®)
- Pipeta
- Conjugado de anticuerpo
- Tubo de ensayo para mezcla
- Dispositivo 4DX
- Jeringas de 1 ml aguja G24 5/8"
- Un frasco de heparina
- Alcohol
- Algodón

#### **5.1.4 Centros de Referencia**

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de las Universidad de San Carlos de Guatemala
- Internet

### **5.2 Métodos**

#### **5.2.1 Área de estudio:**

La investigación se llevó a cabo en una clínica privada ubicada en el Barrio Mejía, del municipio de La Ceiba, del departamento Atlántida, Honduras.

#### **5.2.2 Selección de la muestra**

Se procedió a tomar muestras de sangre con anticoagulante (heparina) a 50 perros con infestación de garrapatas o historial de infestaciones previas provenientes del Barrio Alvarado, en una de las dos clínicas veterinarias de La Ceiba, Honduras. Posteriormente, se realizó el método rápido de ELISA con el Kit SNAP 4DX PLUS® con cada muestra extraída.

#### **5.2.3 Procedimiento de la prueba rápida de ELISA:**

- Previo a la toma de muestra, se extrajo 0.02 ml de un frasco de heparina utilizando una jeringa de tuberculina de 1 ml con aguja G24 5/8"
- Se tomó la muestra sanguínea de la vena cefálica o yugular, según la talla del paciente, utilizando la jeringa de tuberculina con heparina.
- En el tubo de ensayo que viene dentro del kit se dejaron caer tres gotas de sangre directamente de la jeringa de tuberculina, añadiendo posteriormente cuatro gotas del conjugado.

- La muestra se homogenizó invirtiendo el tubo cinco veces.
- El dispositivo se colocó sobre una superficie plana y se le añadió el contenido del tubo de ensayo.
- Se esperaron aproximadamente de 30-60 segundos para que la muestra fluyera hasta el círculo de activación, y se presionó el activador en su totalidad luego de esto.
- La lectura se realizó a los 10 minutos de haber activado el dispositivo.

#### **5.2.4 Interpretación de los resultados:**

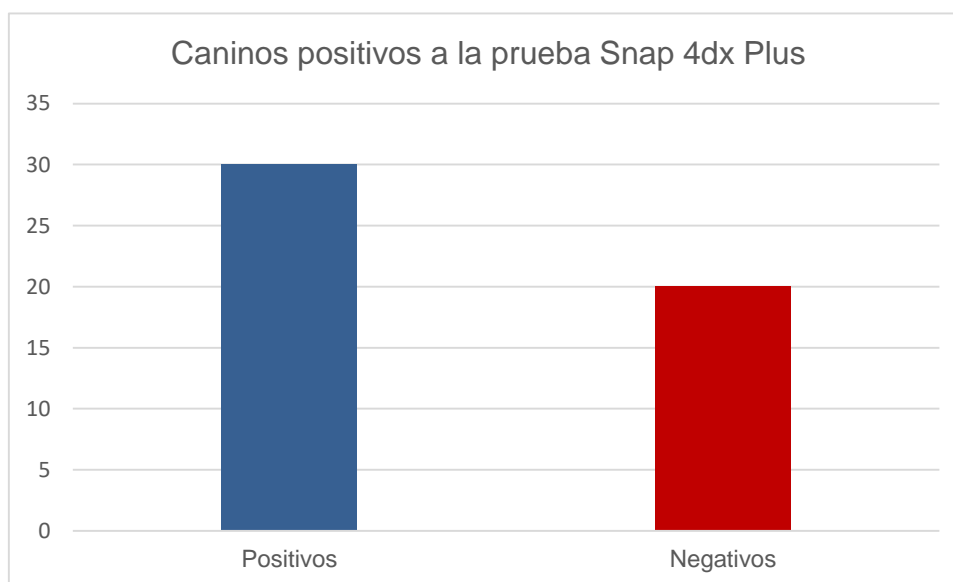
- Un resultado negativo se consideró así si se tiñó únicamente el punto de control positivo en la ventanilla.
- Un resultado positivo a *Ehrlichia canis* se consideró así si se tiñó el punto debajo del control positivo, del lado izquierdo de la ventanilla.
- Un resultado positivo a *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Dirofilaria immitis* y/o *Borrelia burgdorferi* se consideró así si se tiñó el punto respectivo para cada uno de ellos.

#### **5.2.5 Análisis Estadístico:**

Los resultados se anotaron en una ficha de registro, con su respectiva información para cada perro (ver anexo 1). Para la realización del estudio de corte transversal, se utilizó la estadística descriptiva.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

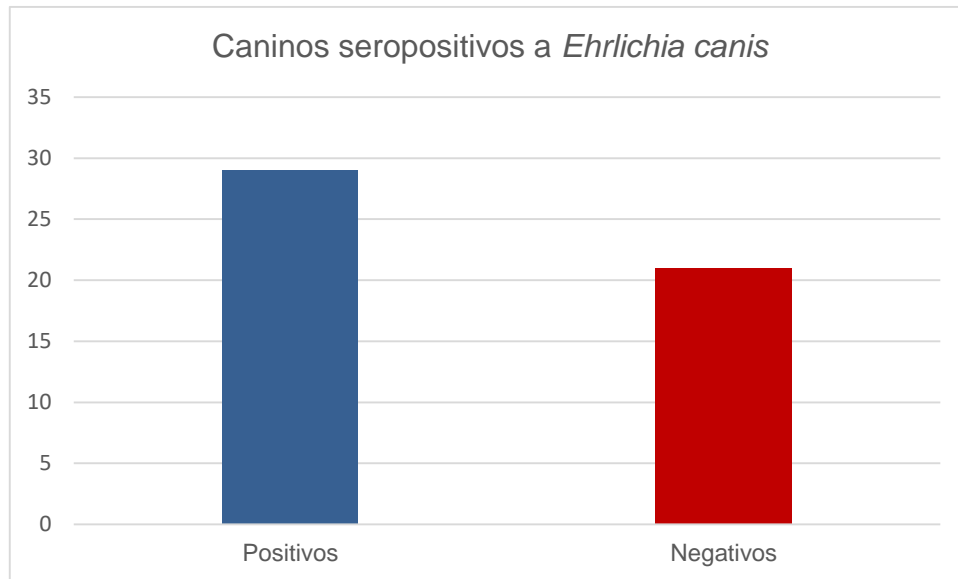
Para la realización del presente estudio se analizó un total de 50 muestras de perros con o sin garrapatoxis provenientes del Barrio Alvarado, municipio de La Ceiba, departamento de Atlántida, Honduras, con la prueba de ELISA rápida Snap 4dx Plus para detectar anticuerpos contra *Ehrlichia canis* principalmente. De las 50 muestras analizadas, 30 muestras resultaron seropositivas para algunos de los anticuerpos contra *E. canis*, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys*, representando un 60% de muestras seropositivas a la prueba Snap 4dx Plus. (Ver anexo 2, figura 1).



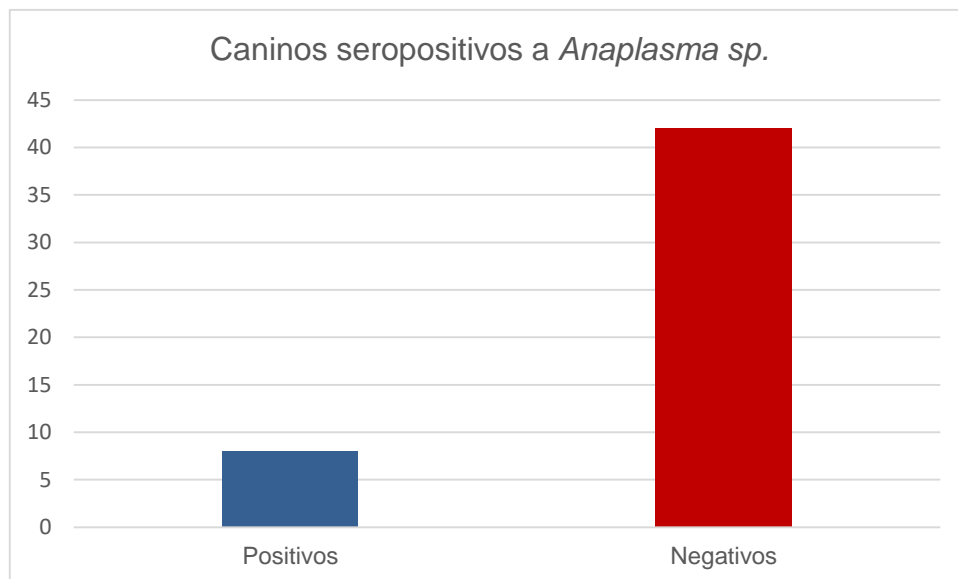
**Figura 1.** Caninos positivos a la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

De las 50 muestras analizadas, se obtuvieron 29 casos seropositivos a *E. canis*, representando un 58% del total (ver anexo 3, figura 2). Ocho muestras resultaron positivas a *Anaplasma* sp., indicando un 16% sobre el total (ver anexo 4 figura 3). Sin embargo, de las 29 muestras positivas a *E. canis*, siete casos presentaban una coinfección con *Anaplasma* sp., lo que indica que el 24% de los casos seropositivos a ehrlichiosis canina presentaron coinfección con anaplasmosis

(ver anexo 5 figura 4). Solamente un caso resultó positivo únicamente a anaplasmosis; no se obtuvo ni una muestra seropositiva a *Dirophilaria immitis* ni a *Borrelia burgdorferi*.

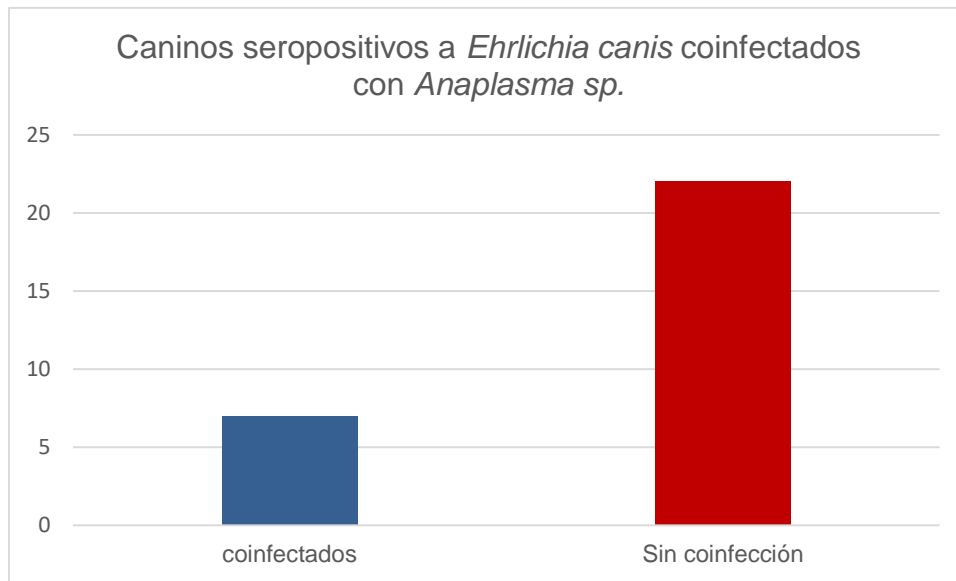


**Figura 2.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.



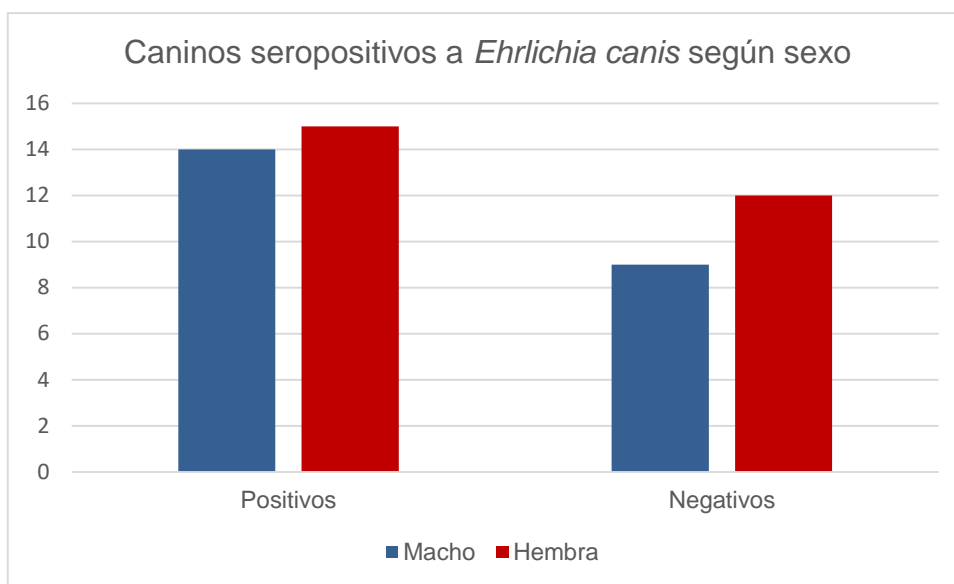
**Figura 3.** Caninos seropositivos a *Anaplasma sp.* en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.



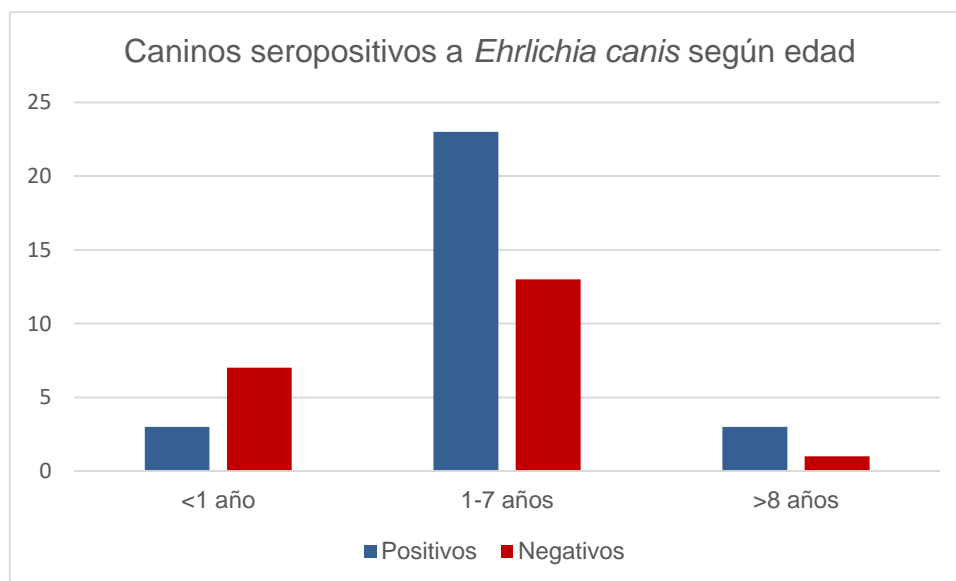


**Figura 4.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* y *Anaplasma* sp. en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

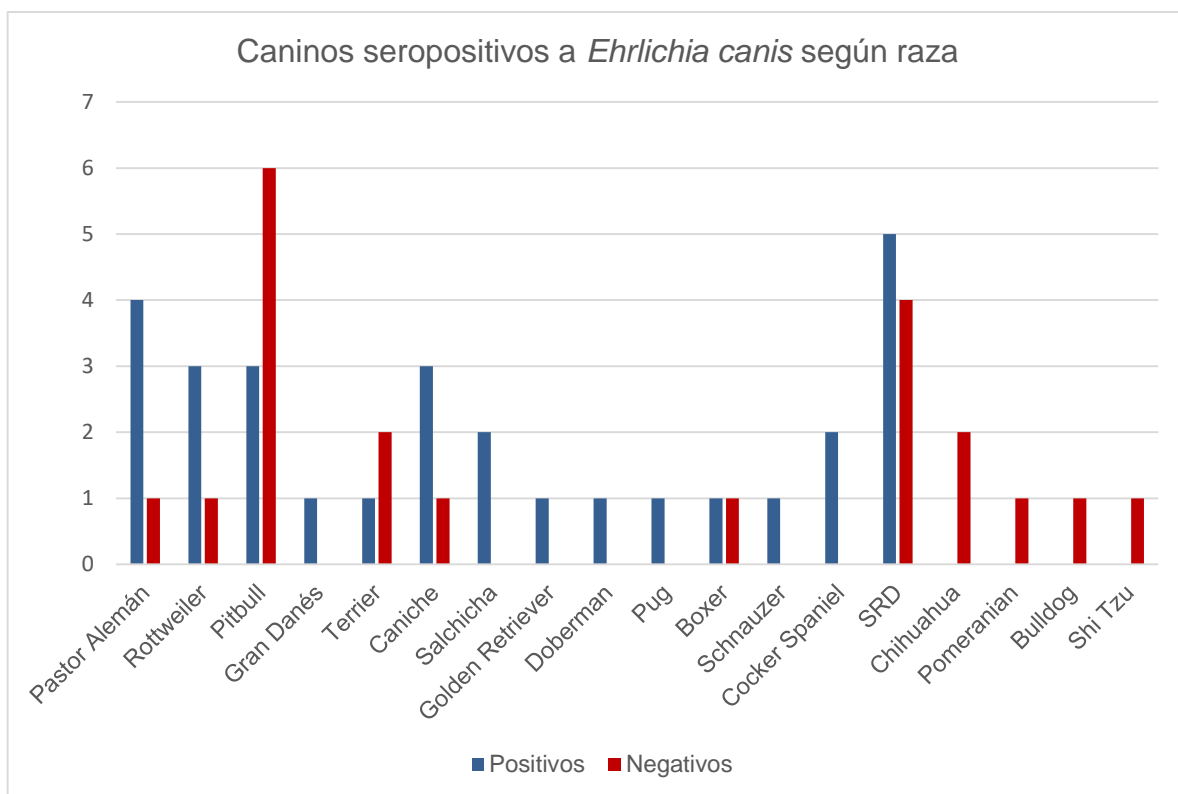
Con fin de obtener datos adicionales a los porcentajes derivados, los casos seropositivos a *E. canis* se agruparon en sexo, edad y raza. De los 29 casos seropositivos, se determinó que 14 machos y 15 hembras resultaron positivas, representando un 28% y 30% respectivamente de muestras seropositivas sobre el total de muestras analizadas (ver anexo 6, figura 5). Agrupando a los pacientes según edades, se obtuvieron: tres muestras seropositivas pertenecientes a caninos menores de un año de edad, indicando un 6% sobre el total; 23 muestras seropositivas en caninos con edades entre uno y siete años, representando un 46% sobre el total; y finalmente tres muestras seropositivas en caninos mayores a ocho años, indicando un 6% sobre el total (ver anexo 7, figura 6). Categorizando a los pacientes según raza, la mayor parte de muestras positivas se distribuyeron de la siguiente manera: cinco muestras positivas en caninos sin raza definida (10% sobre el total de muestras), cuatro muestras positivas en pastores alemanes (8% del total de muestras) y tres muestras para pitbulls, rottweilers y caniche en cada raza (6% para cada uno) (Ver anexo 8, figura 7).



**Figura 5.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según sexo en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

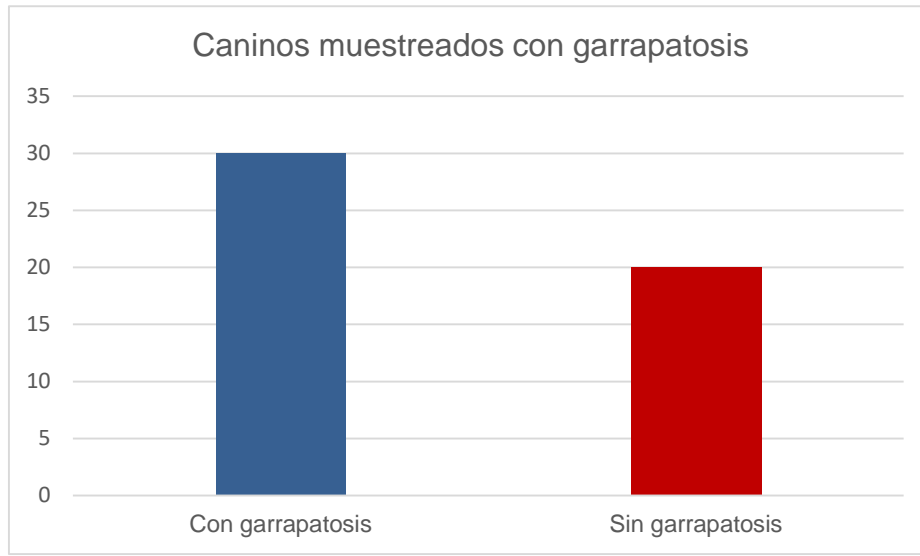


**Figura 6.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según edad en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

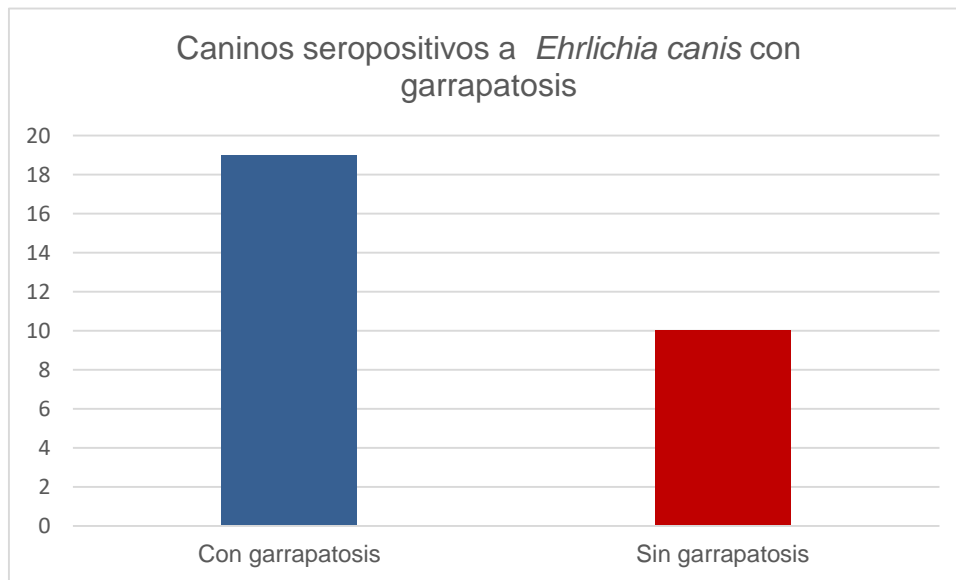


**Figura 7.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según raza en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

De los 50 caninos muestreados para el estudio, 30 presentaron garrapatoxis al momento de consulta, representando un 60% sobre el total de muestras (ver anexo 9, figura 8). Sin embargo, de las 29 muestras seropositivas a *E. canis*, 19 caninos presentaron garrapatas al momento de ingresar a consulta, indicando un 65.5% de los caninos seropositivos. (Ver anexo 10, figura 9)

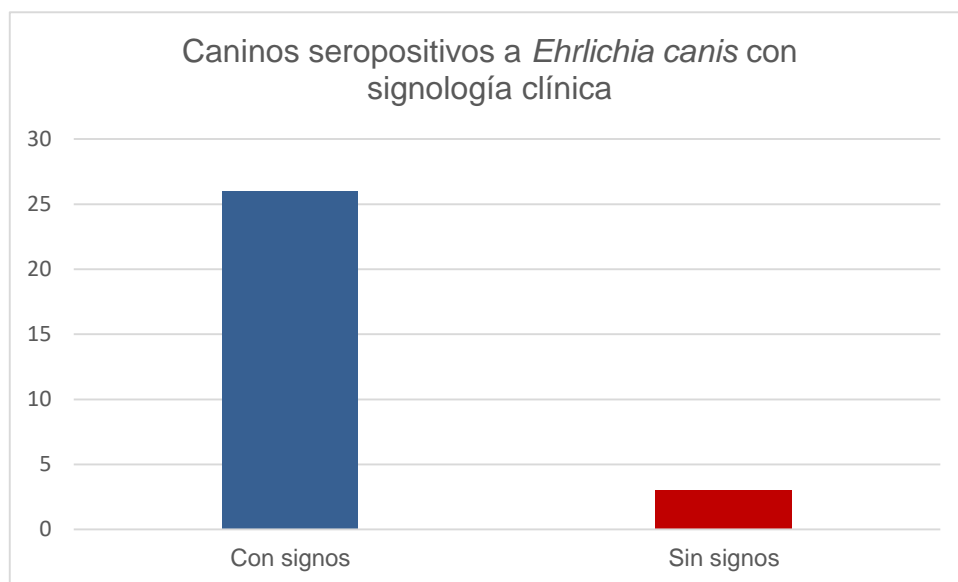


**Figura 8.** Caninos muestreados con garrapatoxis al momento del estudio del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

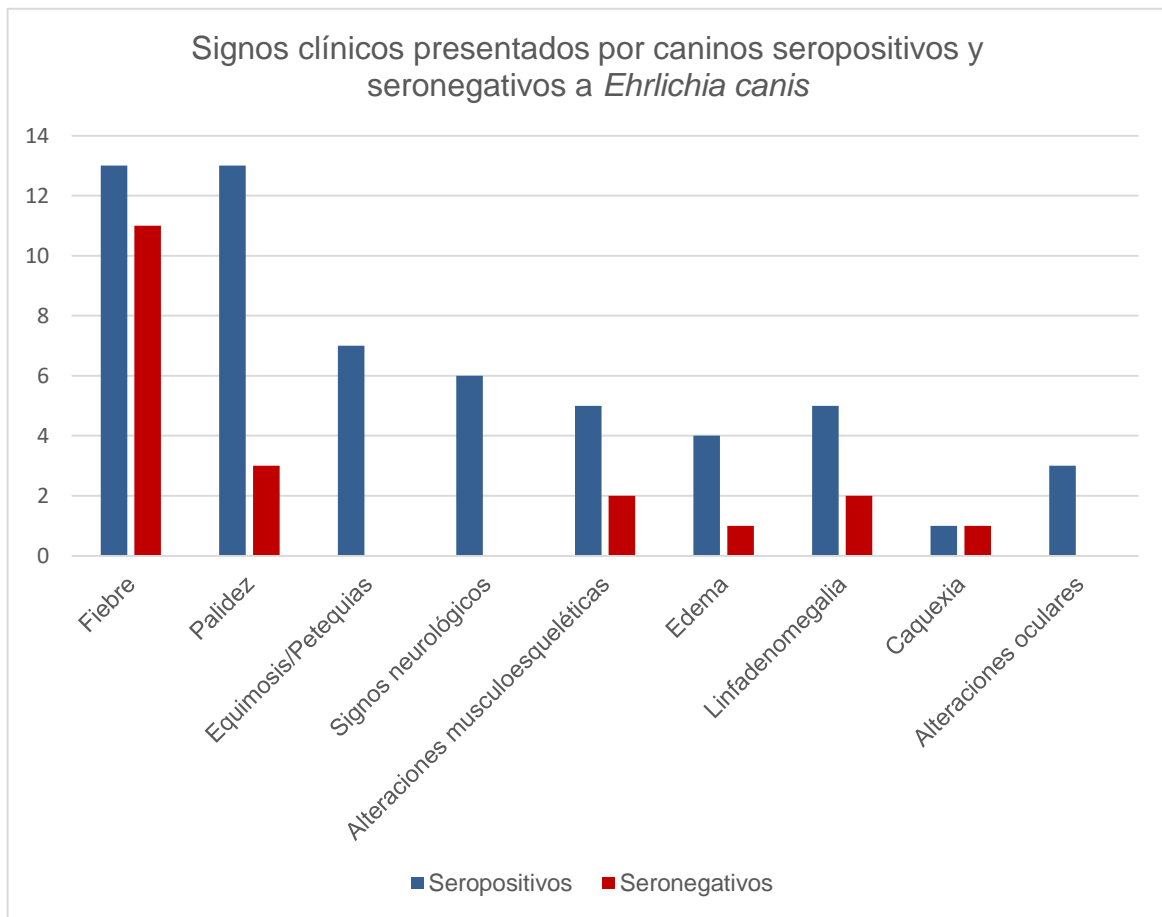


**Figura 9.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* con garrapatoxis al momento del estudio del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016

De los 29 caninos seropositivos a ehrlichiosis canina, 26 pacientes manifestaron signología clínica durante el examen físico, representando un 90% del total de caninos seropositivos (Ver anexo 11, figura 10). Los signos clínicos se distribuyeron de la siguiente manera en pacientes seropositivos: 13 caninos muestreados presentaron fiebre, la misma cantidad presentó palidez de mucosas, representando un 44.80% sobre el total de muestras seropositivas; siete caninos presentaron equimosis o petequias, representando un 24.10% sobre el total de muestras seropositivas. Estos fueron los signos observados con mayor frecuencia (Ver anexo 12, figura 11). De los caninos seronegativos a *E. canis*, los signos observados con mayor frecuencia fueron fiebre con 11 caninos (indicando un 52.40% sobre el total de muestras seronegativas) y palidez de mucosas con tres caninos, indicando un 14.30% sobre el total de muestras seronegativas (Ver anexo 13, figura 11)



**Figura 10.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* con signología clínica del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.



**Figura 11.** Signos clínicos presentados por caninos seropositivos y seronegativos a *Ehrlichia canis* del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

La prueba Snap 4dx Plus se basa en la tecnología ELISA indirecta, por lo que no confirma a un animal activamente enfermo, sino la presencia de anticuerpos en el organismo en pacientes que se han seroconvertido. Por esta razón se utilizan las palabras seropositivo y seronegativo en el presente estudio, no se confirma que los casos tengan la enfermedad activa en sus organismos, solo se muestra que los mismos han desarrollado anticuerpos luego de haber estado expuestos en algún período de tiempo determinado al agente infeccioso causante de alguna de las enfermedades que diagnostica la prueba (Guzmán, 2004).

Los porcentajes elevados de muestras seropositivas a *E. canis*, así como a aquellas que resultaron seropositivas simultáneamente con *Anaplasma* sp. (60%) se pueden fundamentar en las condiciones climatológicas de La Ceiba, Honduras. Dado que se ubica en la costa norte, posee las características de los climas tropicales y subtropicales, con temperaturas cálidas durante la mayor parte del año y una humedad relativa ideal para mantener la población del vector *Rhipicephalus sanguineus* estable durante la mayor parte del año. Resultados similares se obtuvieron en una investigación realizada en La Habana, Cuba, región con condiciones climatológicas similares a La Ceiba, Honduras, en la cual se obtuvo un 67.78% de casos seropositivos a *E. canis* en la época lluviosa, comprendida entre los meses de mayo a octubre en un período de cuatro años. Dado que tanto *E. canis* como *Anaplasma* sp. comparten el mismo vector, es frecuente encontrar perros que se infecten simultáneamente o subsecuentemente con ambos microorganismos. No se encontró una tendencia de animales coinfectados con *Anaplasma* sp (24% únicamente) (León et al., 2008; Gaunt et al., 2010).

Los altos porcentajes de perros con garrapatoxis al momento de realizar el muestreo, tanto seropositivos como seronegativos, tiene como fundamento el principio descrito con anterioridad. En una población estable de *R. sanguineus*, con medidas preventivas deficientes en el sector, se esperan obtener elevados porcentajes de perros que padecen garrapatoxis. Esto no influye en la seroconversión de pacientes sin garrapatoxis, ya que, aunque no presenten garrapatas al momento del muestreo, si con anterioridad fueron infestados con estos vectores y desarrollaron anticuerpos contra *E. canis*, pueden mantenerse seropositivos por mucho tiempo después, incluso si fueron tratados previamente (Perea et al., 2009).

La literatura no menciona que *E. canis* tenga mayor tendencia a infectar a perros de determinada edad, género o raza. Esto explica los resultados adicionales obtenidos respecto a los porcentajes de caninos seropositivos según estos

parámetros. Se obtuvieron resultados similares tanto en machos como en hembras. Sin embargo, se obtuvo un porcentaje mucho mayor en perros con edades comprendidas entre uno y siete años. Aunque no hay una base científica ni clinicopatológica para fundamentar estos resultados, posiblemente se deba a los mayores cuidados de los dueños de mascotas durante los primeros meses de vida de un cachorro, en comparación a los cuidados que pueden llegar a tener en sus mascotas luego de varios años en el hogar. En lo que respecta a razas, la abundancia de criaderos de las razas pastor alemán, rottweiler y pitbull en el sector pudieron haber influido en los mayores porcentajes de perros de dichas razas seropositivos a *E. canis*, aunque se ha descrito que la raza pastor alemán es una de las razas más susceptibles a la fase crónica de la enfermedad. Este dato coincidió con el estudio realizado por A. León en la Habana, Cuba, el cual obtuvo en dicha raza uno de los mayores porcentajes de infección por *E. canis* (Birchard, 2006; León et al., 2008).

La frecuencia de los signos clínicos observados en los caninos seropositivos a *E. canis* durante el estudio se puede asociar a la misma signología de la enfermedad, la cual más comúnmente presenta picos febriles en ambas fases de la ehrlichiosis canina, tanto aguda como crónica. Sin embargo, la palidez de las mucosas y las distintas hemorragias que se pueden producir durante la fase crónica de la enfermedad pueden sugerir que la mayor parte de los pacientes infectados por *E. canis* en el Barrio Alvarado durante el estudio, padecen la forma crónica de la enfermedad. Esto es importante para el análisis de resultados, ya que permite elaborar un pronóstico reservado para estos casos. La comparación realizada entre los signos observados en pacientes seropositivos y seronegativos acentúa la importancia de realizar pruebas diagnósticas en pacientes que presenten únicamente fiebres en territorios con alta prevalencia de ehrlichiosis canina, ya que como se puede observar, la fiebre obtuvo un alto porcentaje tanto en caninos seropositivos como seronegativos. Otros signos como hemorragias, signos neurológicos y alteraciones oculares se observaron únicamente en pacientes



seropositivos. De estos resultados es incorrecto deducir que dichos signos hayan sido causados directamente por la infección por *E. canis*, especialmente en los signos neurológicos y alteraciones oculares, ya que dichos cuadros no suelen ser comunes en la ehrlichiosis canina; sin embargo, la observación de equimosis, petequias o palidez en las mucosas de pacientes en territorios endémicos pueden orientar más la sospecha hacia esta enfermedad, aunque se debe aclarar que los signos clínicos sin el apoyo de pruebas diagnósticas no confirman la enfermedad. Procesos neoplásicos hematopoyéticos presentan signos similares en pacientes que los padezcan, por lo que siempre se deben de utilizar pruebas complementarias, especialmente en aquellos que no presenten una evolución positiva al instaurarse el tratamiento con doxiciclina (Waner, 2008).

## VII. CONCLUSIONES

1. Existe presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en el Barrio Alvarado, del municipio de La Ceiba, Honduras.
2. De las 50 muestras obtenidas durante el estudio, 29 caninos resultaron seropositivos a *E. canis*, representando un 58% del total de muestras extraídas.
3. De los 29 caninos seropositivos a *E. canis*, siete casos presentaron una coinfección con *Anaplasma* sp., lo que representa un 24% de coinfecciones con *Anaplasma* sp.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio que comprenda todo el municipio de La Ceiba, Honduras en caninos para obtener resultados más representativos respecto a la prevalencia de ehrlichiosis canina en el territorio.
2. Confirmar el diagnóstico mediante pruebas serológicas en todos los caninos clínica y hematológicamente sospechosos de padecer la enfermedad, con o sin garrapatos al momento de consulta.
3. Realizar pruebas serológicas a todos los caninos de áreas endémicas que aún no han padecido la enfermedad de manera periódica cada tres a seis meses, para evitar el desarrollo de la fase crónica de la ehrlichiosis canina.
4. Realizar pruebas complementarias, como perfiles bioquímicos renales, hepáticos, frotis y/o hemaglutinación para detectar alteraciones en caninos seropositivos a *Ehrlichia canis*, y así establecer un pronóstico adecuado y fortalecer el diagnóstico de ehrlichiosis canina para descartar otras enfermedades con cuadros similares.
5. Concientizar a los dueños de mascotas en La Ceiba, Honduras sobre la importancia de mantener medidas de prevención efectivas y constantes en sus mascotas para evitar infestaciones de garrapatas, así como la importancia de realizar pruebas periódicas para descartar o confirmar la ehrlichiosis canina en un territorio endémico para la enfermedad.
6. Utilizar pruebas diagnósticas de buena calidad para confirmar o descartar la ehrlichiosis canina, ya que generalmente las pruebas de mayor calidad son más significativas que aquellas de baja calidad.

## IX. RESUMEN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, la cual infecta al organismo al momento de insertar su aparato bucal en el perro, e inocular el microorganismo *Ehrlichia canis* en la sangre. Esta enfermedad se caracteriza por producir una gran variedad de signos como fiebre, anemia, hemorragias, pérdida de peso, decaimiento, signos neurológicos, uveítis, entre otros. Cursa con una fase aguda que responde al tratamiento con doxiciclina, una fase subclínica y una fase crónica que produce una pancitopenia al afectar la médula ósea del huésped, la cual difícilmente responde al tratamiento.

El presente estudio tuvo como objetivo contribuir al estudio epidemiológico de las enfermedades caninas transmitidas por garrapatas en el municipio de La Ceiba, Honduras. Esto se realizó evaluando la presencia de anticuerpos circulantes en 50 perros del barrio Alvarado con y sin garrapatos contra *E. canis* mediante una prueba rápida de ELISA. De los resultados obtenidos se determinó el porcentaje de perros seropositivos a *E. canis*, así como a *Anaplasma phagocytophilum* /*A. platys*, *Dirofilaria immitis* y *Borrelia burgdorferi*.

Se determinó que, si hay presencia de anticuerpos circulante en perros del barrio Alvarado, y que, de las 50 muestras obtenidas durante el estudio, 29 caninos resultaron seropositivos a *E. canis*, representando un 58% del total de muestras extraídas. Conjuntamente, de los 29 caninos seropositivos a *E. canis*, siete casos presentaron una coinfección con *Anaplasma* sp., representando un 24% de coinfecciones con *Anaplasma* sp.

Los resultados obtenidos demuestran que la ehrlichiosis canina es una de las principales enfermedades caninas que afecta con mayor frecuencia a los perros del barrio Alvarado, del municipio de La Ceiba, Honduras y que los médicos veterinarios del área deben afrontar cotidianamente.

## SUMMARY

Canine ehrlichiosis is a disease transmitted by the tick *Rhipicephalus sanguineus*, which infects the organism at the moment it inserts its hypostoma in the dog and inoculates the *Ehrlichia canis* microorganism into the blood. This disease is characterized for producing a wide variety of signs, such as fever, anemia, hemorrhages, weight loss, decay, neurologic signs, uveitis, among others. It courses with an acute phase that responds to doxycycline treatment, a subclinical phase, and a chronic phase that produces pancytopenia by affecting the bone marrow of the host, moment at which it will poorly respond to treatment.

The present study's objective is to contribute to the epidemiologic studies of canine tick borne diseases in the municipality of La Ceiba, Honduras. This was achieved by evaluating the presence of circulating antibodies in 50 dogs of the Alvarado neighborhood, with and without ticks, against *E. canis* with a rapid ELISA test. Of the obtained data it was determined a percentage of positive dogs to *Ehrlichia canis*, as to *Anaplasma phagocytophilum* / *A. platys*, *Dirofilaria immitis*, and *Borrelia burgdorferi* also.

It was determined that there is indeed presence of circulating antibodies in dogs of the Alvarado neighborhood, and that, of the 50 samples obtained during the course of the study, 29 dogs resulted positive to *E. canis*, representing a 58% of the total of the samples extracted. Jointly, of the 29 positive dogs to *E. canis*, seven cases presented a coinfection with *Anaplasma* sp., representing a 24% of coinfections with *Anaplasma* sp.

The obtained results prove that canine ehrlichiosis is one of the main canine diseases that most frequently affects the dogs of the Alvarado neighborhood, of the municipality of La Ceiba, Honduras and that the local veterinarians must confront in a daily basis.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Birchard, S. J. (2006). *Manual of Small Animal Practice*. St. Louis Missouri, Estados Unidos: Saunders Elsevier.
2. Cartagena, L., Ríos, L., y Cardona, J. (2014). Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. *Rev Med Vet*, 1(29), 51-62.
3. Dolz, G., Ábrego, L., Romer, L., Campos, L., Bouza, L., y Jiménez, A. (2013). Ehrlichiosis y Anaplasmosis en Costa Rica. *Acta Médica Costarricense*, 55(3), 34-40.
4. Ettinger, S. J., y Feldman, E. C. (2005). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. St. Louis Missouri, Estados Unidos: Saunders Elsevier.
5. Green, C. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. St. Louis Missouri, Estados Unidos: Saunders Elsevier
6. Guzmán Vázquez, E. (2004). Las pruebas de ELISA. *Gac Méd Méx*, 140(3), 48-49.
7. Huerto, E., y Dámaso, B. (2015). Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 32(4), 756-760.
8. IDEXX. (2010). ELISA Technical Guide. Recuperado de [http://al.idexx.com/pdf/es\\_es/livestock-poultry/elisa-technical-guide.pdf](http://al.idexx.com/pdf/es_es/livestock-poultry/elisa-technical-guide.pdf)

9. IDEXX. (2012). Tecnología ELISA. Recuperado de <http://www.idexx.es/pdf/eses/smallanimal/snap/common/using-snap-test-kits-poster.pdf>
10. IDEXX. (2015). Snap 4Dx Plus. Recuperado de [http://www.idexx.es/pdf/es\\_es/smallanimal/snap/4dx/snap-4dx-packageinsert.pdf](http://www.idexx.es/pdf/es_es/smallanimal/snap/4dx/snap-4dx-packageinsert.pdf)
11. Kelly, P. J. (2000). Canine ehrlichiosis: an update. *Journal of the South African Veterinary Association*, 71(2), 77-86.
12. León, A., Demedio, J., Márquez, M., Castillo, E., Perera, A., Zuaznaba, O., . . . Seija, V. (2008, 1 de mayo). Diagnóstico de ehrlichiosis en caninos en la ciudad de La Habana. *Recvet*. 3(5), 1-22. Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/>
13. Martínez, M., Arraga, C., Triana, F., Ruiz, J., y Gutiérrez, C. (15 de junio del 2015). Estudio serológico y molecular de Ehrlichia canis en perros de una comunidad del estado Aragua, Venezuela. *Rev Inv Vet Peru*. 26(4), 648-656.
14. Nelson, R. W., y Couto, G. C. (2009). *Small Animal Internal Medicine*. St. Louis Missouri, Estados Unidos: Saunders Elsevier.
15. Perea, M. L., Kumthekar, S., Sabarinath, A., Kerpathy, S. E., Sharma, R. N., y Stone, D. M. (Diciembre, 2009). Doxycycline treatment of asymptomatic dogs seropositive for Ehrlichia canis. *West Indian Veterinary Journal*. 9(2), 11-13.
16. Pontes, A., Mendes, P., y Lauz, J. L. (2003). Uveitis in dogs infected with Ehrlichia canis. *Ciencia Rural*, 34(4), 1289-1295.
17. Straube, J. (Diciembre, 2010). Canine ehrlichiosis: from acute infection to chronic disease. *CVBD Digest*, (7), 1-11.

18. Waner, T. (2008). Hematopathological changes in dogs infected with Ehrlichia canis. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 63(1), 19-22.
19. Waner, T., & Harrus, S. (Marzo, 2013). Canine monocytic ehrlichiosis: From pathology to clinical manifestations. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 68(1), 12-18.
20. Waner, T., Keysary, A., Bark, H., Sharabani, E., & Harruss, S. (1999). Canine monocytic ehrlichiosis: An overview. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 54(4), 1-7.



# **XI. ANEXOS**

## ANEXOS

### Anexo 1. Ficha de registro para los animales muestreados

No. Ficha: _____ Fecha: _____ Nombre: _____	Raza: _____      Sexo: M ___ H ___ Edad: _____ Proveniencia: _____								
<b>ANAMNESIS</b>	Anorexia/Hiporexia: <input type="checkbox"/> Pérdida de peso: <input type="checkbox"/> Decaimiento: <input type="checkbox"/> Epistaxis/Sangrados espontáneos: <input type="checkbox"/> Garrapatosis: <input type="checkbox"/> ¿Historial de garrapatosis previa? SI ___ NO ___ ¿Ha presentado uno o varios de estos síntomas anteriormente?    SI ___ NO ___ ¿Hace cuánto tiempo los presento? _____ ¿Ha sido diagnosticado y/o tratado anteriormente contra ehrlichiosis canina? SI ___ NO ___ ¿Completó el tratamiento (30 días)? SI ___ NO ___								
<b>EXAMEN CLÍNICO</b>	Fiebre <input type="checkbox"/> Palidez <input type="checkbox"/> Equimosis/Petequias <input type="checkbox"/> Signos neurológicos <input type="checkbox"/> Alteraciones musculoesqueléticas <input type="checkbox"/> Edema <input type="checkbox"/> Linfadenomegalia <input type="checkbox"/> Caquexia <input type="checkbox"/> Alteraciones oculares <input type="checkbox"/>								
<b>RESULTADOS DE LA PRUEBA SNAP 4DX PLUS</b>	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>Dirofilaria immitis</i></td> <td style="text-align: right; padding: 5px;">P___ N___</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>Ehrlichia canis/ E. ewingii</i></td> <td style="text-align: right; padding: 5px;">P___ N___</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>Anaplasma phagocytophilum/</i> <i>Anaplasma platys</i></td> <td style="text-align: right; padding: 5px;">P___ N___</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"><i>Borrelia burgdorferi</i></td> <td style="text-align: right; padding: 5px;">P___ N___</td> </tr> </table>	<i>Dirofilaria immitis</i>	P___ N___	<i>Ehrlichia canis/ E. ewingii</i>	P___ N___	<i>Anaplasma phagocytophilum/</i> <i>Anaplasma platys</i>	P___ N___	<i>Borrelia burgdorferi</i>	P___ N___
<i>Dirofilaria immitis</i>	P___ N___								
<i>Ehrlichia canis/ E. ewingii</i>	P___ N___								
<i>Anaplasma phagocytophilum/</i> <i>Anaplasma platys</i>	P___ N___								
<i>Borrelia burgdorferi</i>	P___ N___								

**Anexo 2.** Caninos positivos a la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Positivos</b>	30	60%
<b>Negativos</b>	20	40%
<b>Total</b>	50	100%

**Anexo 3.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Positivos</b>	29	58%
<b>Negativos</b>	21	42%
<b>Total</b>	50	100%

**Anexo 4.** Caninos seropositivos a *Anaplasma* sp. en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Positivos</b>	8	16%
<b>Negativos</b>	42	84%
<b>Total</b>	50	100%

**Anexo 5.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* y *Anaplasma* sp. en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Coinfectados con <i>Anaplasma</i> sp.</b>	7	24%
<b>Sin coinfección</b>	22	76%
<b>Total</b>	29	100%

**Anexo 6.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según sexo en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

<b>Sexo</b>	<b>Positivos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Negativos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Total</b>
Macho	14	28%	9	18%	23
Hembra	15	30%	12	24%	27
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>58%</b>	<b>21</b>	<b>42%</b>	<b>50</b>

**Anexo 7.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según edad en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

<b>Edad en años</b>	<b>Positivos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Negativos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Total</b>
<1 año	3	6%	7	14%	10
1-7 años	23	46%	13	26%	36
>8 años	3	6%	1	2%	4
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>58%</b>	<b>21</b>	<b>42%</b>	<b>50</b>

**Anexo 8.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* según raza en la prueba Snap 4dx Plus del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

<b>Raza</b>	<b>Positivos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Negativos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Total</b>
Pastor Alemán	4	8%	1	2%	5
Rottweiler	3	6%	1	2%	4
Pitbull	3	6%	6	12%	9
Gran Danés	1	2%	0	0%	1
Terrier	1	2%	2	4%	3
Caniche	3	6%	1	6%	4
Salchicha	2	4%	0	4%	2
Golden Retriever	1	2%	0	2%	1

Doberman	1	2%	0	0%	1
Pug	1	2%	0	0%	1
Boxer	1	2%	1	2%	2
Schnauzer	1	2%	0	0%	1
Cocker Spaniel	2	4%	0	0%	2
SRD	5	10%	4	8%	9
Chihuahua	0	0%	2	4%	2
Pomeranian	0	0%	1	2%	1
Bulldog	0	0%	1	2%	1
Shi Tzu	0	0%	1	2%	1
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>58%</b>	<b>21</b>	<b>42%</b>	<b>50</b>

**Anexo 9.** Caninos muestreados con garrapatoxis al momento del estudio del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Con garrapatoxis</b>	30	60%
<b>Sin garrapatoxis</b>	20	40%
<b>Total</b>	50	100%

**Anexo 10.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* con garrapatoxis al momento del estudio del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Con garrapatoxis</b>	19	65.5%
<b>Sin garrapatoxis</b>	10	34.5%
<b>Total Seropositivos</b>	29	100%

**Anexo 11.** Caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* con signología clínica del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

	<b>N</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Con signos</b>	26	90%
<b>Sin signos</b>	3	10%
<b>Total Seropositivos</b>	29	100%

**Anexo 12.** Signos clínicos presentados por caninos seropositivos a *Ehrlichia canis* del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

<b>Signo Clínico</b>	<b>Número de casos</b>	<b>Caninos seropositivos</b>	<b>Porcentaje</b>
Fiebre	13	29	44.80%
Palidez	13	29	44.80%
Equimosis/Petequias	7	29	24.10%
Signos neurológicos	6	29	20.70%
Alteraciones musculoesqueléticas	5	29	17.20%
Linfadenomegalia	5	29	17.20%
Edema	4	29	13.80%
Alteraciones oculares	3	29	10.30%
Caquexia	1	29	3.40%

**Anexo 13.** Signos clínicos presentados por caninos seronegativos a *Ehrlichia canis* del Barrio Alvarado en La Ceiba, Honduras Año 2016.

<b>Signo Clínico</b>	<b>Número de casos</b>	<b>Caninos seronegativos</b>	<b>Porcentaje</b>
Fiebre	11	21	52.40%
Palidez	3	21	14.30%
Alteraciones musculoesqueléticas	2	21	9.50%
Linfadenomegalia	2	21	9.50%
Edema	1	21	4.80%
Caquexia	1	21	4.80%
Equimosis/Petequias	0	21	0.00%
Signos neurológicos	0	21	0.00%
Alteraciones oculares	0	21	0.00%

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

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA  
*Ehrlichia canis* EN PERROS DEL BARRIO ALVARADO, DEL  
MUNICIPIO DE LA CEIBA, HONDURAS”**

f. \_\_\_\_\_  
BR. DIEGO ANDRÉ ALVARADO TURCIOS

f. \_\_\_\_\_ f. \_\_\_\_\_  
M. A. Ludwig Estuardo Figueroa Hernández M. V. Alejandro José Hun Martínez  
Asesor Principal Asesor

f. \_\_\_\_\_  
M. A. Manuel Eduardo Rodríguez Zea  
Evaluador

IMPRIMASE

f. \_\_\_\_\_  
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil  
DECANO