



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**RELACIÓN ENTRE EL VALOR DE LA HEMOGLOBINA Y LA EVIDENCIA
SEROLÓGICA EN EL DIAGNÓSTICO DE *Ehrlichia canis* EN CANES (*Canis
familiaris*)**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

**DELZY BECERRA SERRANO
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A Dios que está conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para seguir adelante.

A mis queridos padres que han sido mi pilar en todo momento, además de velar por mi bienestar y educación.

A mi familia y amigos por brindarme su amor, cariño, apoyo y su entera confianza en cada reto que se me presentaba.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haber guiado mis pasos en todo momento.

A mis padres: Fidel Becerra y Yolanda Serrano que siempre creen en mí, me apoyan y alientan para que logre cada una de mis metas.

Agradezco a la Dra. Patricia Luciana Shiroma Tamashiro, mi directora de tesis, por su inestimable ayuda que ha hecho posible la realización de esta tesis.

A todo el personal de la clínica veterinaria “Happy Dog” que han colaborado con gran disposición y amabilidad para la realización de la presente tesis.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo, determinar la relación que existe entre el valor bajo de la hemoglobina (menos de 12 gr/dL) y la serología positiva a *Ehrlichia canis*. Se analizaron 35 muestras de canes procedentes de una campaña de descarte contra *E. canis* realizada en la clínica veterinaria "Happy Dog" ubicada en Zarate, durante los meses de septiembre del 2018 a enero del 2019. Se consideró como criterio de inclusión la presencia de signología compatible con *E. canis* (sin distinción de edad, raza o sexo); las hembras gestantes o canes con tratamiento previo no fueron tomados en cuenta en el estudio. Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante venopunción, recolectadas en tubos con EDTA-K3 y analizadas inmediatamente. El valor de la hemoglobina se obtuvo usando un hemoglobinómetro portátil. El análisis serológico de *E. canis* se realizó usando un kit de Bionote®, el cual trabaja con la técnica de inmunocromatografía. Los resultados obtenidos en esta investigación arrojaron que el 85,70% de las muestras analizadas resultaron positivas a *E. canis*, de los cuales el 74,30% presentaron anemia. Además 37,15% de los canes positivos a *E. canis* y anemia se encontraron en el grupo etario de menores de 1 año, asimismo la presencia de *E. canis* en hembras indico un 40% y en los machos 42,86%. También se evaluó la presencia de garrapatas en los todos los canes estudiados, encontrándose en un 71,42%. Para hallar la relación existente entre la evidencia serológica y el valor de la hemoglobina se utilizó el coeficiente *Kappa de Cohen* el cual determinó una concordancia moderada entre estas variables.

PALABRAS CLAVE: Anemia, *Ehrlichia canis*, inmunocromatografía, hemoglobinometro.

ABSTRACT

The objective of the research was to determine the relationship between the low value of hemoglobin (less than 12 gr / dL) and the positive serologic of *Ehrlichia canis*. We analyzed 35 samples of dogs from a campaign of discarding against *E. canis* carried out in the veterinary clinic "Happy Dog" located in Zarate, during the months of September 2018 to January 2019. The inclusion criteria considered the presence of signology compatible with *E. canis* (without distinction of age, breed or sex); the pregnant females or dogs with previous treatment were not considered in the study. The blood samples were obtained by venipuncture, collected in tubes with EDTA-K3 and analyzed immediately. The hemoglobin value was obtained using a portable hemoglobinometer. The serological analysis of *E. canis* was performed by using a Bionote® kit, which works with the immunochromatography technique. The results obtained in this investigation showed that 85.70% of the analyzed samples were positive for *E. canis*, which one 74.30% had anemia. In addition, 37.15% of dogs positive to *E. canis* and anemia were found in the age group under 1 year, also the presence of *E. canis* in females indicated 40% and in males 42.86%. The presence of ticks in all the dogs analyzed was also evaluated, 71.42%. To find the relationship between serological evidence and the value of hemoglobin, we used *Cohen's Kappa coefficient*, which determined a moderate concordance between these variables.

KEY WORDS: Anemia, *Ehrlichia canis*, immunochromatography, hemoglobinometer.

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	2
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
IV. RESULTADOS	16
V. DISCUSIÓN.....	20
VI. CONCLUSIONES.....	24
VII. RECOMENDACIONES.....	25
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXOS.....	30

I. INTRODUCCIÓN

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad infecciosa causada por la *Ehrlichia canis*, bacteria Gram negativa que afecta principalmente a canidos domésticos y silvestres; siendo la garrapata del género *Rhipicephalus sanguineus*, el vector transmisor de esta enfermedad. Esta enfermedad, tiene una presentación clínica severa incluyendo alteraciones hematológicas como anemia, trombocitopenia, hemorragias, insuficiencia medular; entre otros. Por tal motivo, los exámenes de laboratorio son considerados como complementos necesarios para el diagnóstico de la enfermedad, debido a que permiten manejar a los canes seropositivos con mayor precisión.

Hasta la fecha, en nuestro país existen numerosos estudios sobre el diagnóstico de Ehrlichiosis canina mediante frotis sanguíneos, los cuales solo detectan la fase aguda de la enfermedad; pero no hay suficientes estudios sobre el diagnóstico de esta enfermedad mediante ensayos de inmunocromatografía, los cuales detectan los anticuerpos en la fase aguda, subclínica y crónica de la Ehrlichiosis canina.

Esta escasez de información científica en cuanto a la Ehrlichiosis canina, demanda que se realicen más investigaciones sobre esta. El objetivo del estudio fue hallar la relación entre el valor de la hemoglobina y la evidencia serológica en el diagnóstico de *E. canis* en canes en el distrito de San Juan de Lurigancho. Realizándose una campaña de descarte del agente infeccioso, analizando a 35 canes con signos compatibles permitiendo la realización de los objetivos.

Este trabajo generará información útil para los médicos veterinarios y para las personas afines a este campo del saber. Adicionalmente, la integración e interpretación de los signos y otros datos aportados durante la evaluación del paciente ayudarán a generar un tratamiento adecuado para la enfermedad.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Ehrlichia canis*

2.1.1 Generalidades

Ehrlichia canis es el agente infeccioso de la Ehrlichiosis canina llamada también Pancitopenia Tropical canina, Ehrlichiosis Monocítica Canina, Tifus Canino, Fiebre Hemorrágica Canina o Síndrome Hemorrágico Idiopático (1).

Además, es una enfermedad multisistémica grave y muchas veces fatal que afecta a miembros de la familia Canidae la cual incluye perros, lobos, coyotes y zorros; afecta de manera predominante a los perros y es transmitida por la llamada comúnmente garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) (2).

Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en zonas tropicales, aunque, está distribuida a nivel mundial por la presencia del vector *Rhipicephalus sanguineus*. En las primeras investigaciones realizadas al agente infeccioso, se le denominó como *Rickettsia canis*, pero, algunos años después fue renombrado como *Ehrlichia canis*, en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich (1).

Fue descrita por primera vez en Argelia en el año 1935 por Donatein y Lestoquard. El primer reporte oficial proviene de las Antillas, en 1957, en perros de la isla de Aruba. Sin embargo, fue a partir de la década de los 60 y debido a la epizootia que afectó a los perros procedentes de Estados Unidos, que se relanzaron los estudios debido a la alta morbilidad y mortalidad generada por esta bacteria. Los primeros reportes de la enfermedad en Sudamérica datan de 1962, actualmente es muy endémica en varias regiones de Brasil y también ha sido reportada en Venezuela, Perú, Chile y Paraguay (1).

2.1.2 Características taxonómicas y morfológicas de *E. canis*

Varios organismos intracelulares obligados, desarrollan actividades que faciliten su existencia en los vectores o en los animales que serán sus hospedadores animales; como en el caso de *Ehrlichia canis* que presenta varias especies las cuales infectan a diferentes tipos de organismos.

2.1.2.1 Taxonomía

Superreino	:	Bacteria
Reino	:	Mónera
Phylum	:	Proteobacteria
Clase	:	Alphaproteobacteria
Orden	:	Rickettsiales
Familia	:	Anaplasmataceae
Género	:	Ehrlichia

El género *Ehrlichia spp*; comprende las especies de *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia ruminantium*. Esta bacteria está caracterizada por infectar a las células mononucleares y granulocíticas, formando mórulas o inclusiones intracitoplasmáticas, siendo de localización intracelular lo cual la protege de la respuesta de anticuerpos del huésped (3).

2.1.2.2 Características Morfológicas

Ehrlichia canis es un organismo pleomórfico, cocoide aeróbico, bacteria Gram negativa; mide entre 0,2 a 0,4 micras (4). Es un organismo intracelular obligado tanto en el hospedero vertebrado como en el vector invertebrado. Presenta tropismo por células sanguíneas, ya sean monocitos, granulocitos o plaquetas de animales y seres humanos. Su ADN tiene forma circular, su pared está compuesta por una capa de peptidoglucano y lipopolisacáridos. Tiene una membrana externa delgada y ondulada, separada de la membrana citoplasmática por el espacio periplasmático. La *Ehrlichia*

canis es la más pequeña de las especies de *Ehrlichia spp*; esta se replica dentro de los enlaces de la membrana de los fagocitos mononucleares (5).

Esta bacteria pasa por tres estadios antes de volverse infectiva, los cuales son: A) cuerpos elementales, B) cuerpos iniciales, C) mórulas. Los cuerpos elementales o células centro denso (CD) son las formas maduras infectantes extracelulares, las cuales miden de 0,4 a 0,6 μm de diámetro. Estos elementos se adhieren a la superficie de la célula diana y entran por endocitosis mediada por caveola (balsas celulares lipídicas). Dentro de la célula huésped las bacterias se desarrolla dentro de la vacuola rodeada de membrana plasmática celular. Las células de centro denso se transforman en una forma intermedia (IM1) y subsecuentemente pasan al cuerpo reticular o CR (6).

El cuerpo reticular se multiplica por fisión binaria, incrementando su número formando inclusiones citoplasmáticas inmaduras de 1 a 2,5 μm de diámetro, denominados cuerpos iniciales; mismos que se convierten a formas intermedias (IM2) las mismas que, posteriormente se modifican en mórulas, permitiendo su observación microscópica. Las mórulas pueden ser redondas u ovaladas y miden aproximadamente de 4 a 6 μm de diámetro, cuyas formas características permitan su uso en el diagnóstico microscópico. Después de pocos días, los cuerpos elementales se liberan de la vacuola y quedan libres fuera de la célula para iniciar un nuevo ciclo infeccioso (7).

2.2 Cuadro Clínico

La *E. canis* infecta a células mononucleares (monocitos y linfocitos) y es transmitida a través de la picadura de garrapata. Los signos de la Ehrlichiosis Monocítica Canina son: depresión, letargia, anorexia, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia, pérdida moderada de peso, tendencia al sangrado, epistaxis, petequias, equimosis en la piel y/o ocasionalmente edema periférico en miembros superiores. El hallazgo hematológico común es la trombocitopenia y anemia; La garrapata adquiere *E. canis* en el estadio de larva o ninfa alimentándose de perros infectados y transmitiendo la infección hasta por 155 días en animales susceptibles (8).

2.2.1 Patogenia

La infección del perro ocurre cuando las garrapatas infectadas con *E. canis* ingieren sangre y sus secreciones salivales contaminan el sitio donde se alimenta (9). La saliva de la garrapata contiene una variedad de moléculas anticoagulantes, antiinflamatorias e inmunoreguladoras que facilitan la adquisición y transmisión del patógeno (10).

El periodo de incubación de la Ehrlichiosis Canina es de 8 a 20 días, los organismos se multiplican en los macrófagos del sistema de fagocitos mononucleares por fisión binaria y se extienden por todo el cuerpo. Se cree que la infección se disemina entre las células a través de la salida y captación de las proyecciones citoplasmáticas adyacentes (11). La replicación en el huésped tiene lugar en vacuolas aisladas a la membrana protegidas del sistema inmune del huésped, lo que permite a la *E. canis* residir dentro de las vacuolas y comunicarse con la célula hospedadora a través del retículo endoplasmático. La célula infectante puede ser liberada para contaminar nuevas células por la rotura de la membrana de la célula hospedadora en un estadio tardío de la formación de la mórula (12).

2.2.2 Signos Clínicos

Los signos clínicos pueden ser variables, dependiendo de la respuesta inmune y la presencia de infecciones concomitantes con otros patógenos. Además, es probable que muchos de los perros infectados no muestren signos clínicos o evidencia de la enfermedad en exámenes complementarios relacionados a *E. canis* durante el inicio de la enfermedad.

El cuadro clínico es variable y se divide en las siguientes etapas:

- a) Aguda: Esta etapa está caracterizada por alteraciones hematológicas como: trombocitopenia, leucopenia y anemia leve. Además, alteraciones inespecíficas

como: pérdida de peso, anorexia, letargia, hipertermia, linfadenomegalia, exudado óculo-nasal seroso o purulento, hemorragias y disnea (12).

- b) Sub clínica: En esta fase el perro puede estar aparentemente sano, pero lleva la bacteria como portador por meses e incluso años. Algunos estudios han descrito que pueden ser portadores de la enfermedad por más de 3 años (12).
- c) Crónica: un hallazgo típico observable de esta fase es la pancitopenia severa, que ocurre como resultado de la hipoplasia de la médula ósea, dando lugar a signos como palidez de mucosas, petequias, epistaxis, hepatomegalia, esplenomegalia o linfadenopatía. Se observan, además, signos oculares como ceguera, uveítis y retinitis; así como alteraciones neuromusculares principalmente causadas por meningitis inflamatorias y hemorrágicas, cojeras y rigidez en la marcha. La muerte en esta fase puede ocurrir como consecuencia de hemorragias y/o infecciones secundarias (12).

2.2.3 Hallazgos hematológicos

Los hallazgos hematológicos encontrados con mayor frecuencia en canes infectados con *E. canis* son la trombocitopenia, leucopenia y anemia; estos hallazgos están atribuidos a diferentes mecanismos según cada etapa de la enfermedad. En la fase aguda, este hallazgo se le atribuye a un consumo de plaquetas debido a los procesos inflamatorios en los vasos sanguíneos (vasculitis), aumento del secuestro esplénico de plaquetas y destrucción inmunológica que resulta en la disminución de la vida media plaquetaria. Así mismo, en la fase crónica, el mecanismo de la trombocitopenia se debe a la hipocelularidad marcada de la médula ósea, la cual disminuye su producción de glóbulos rojos acompañada de disfunción plaquetaria, lo que contribuye a las hemorragias en la fase crónica. En caso de canes portadores (fase subclínica) el conteo de plaquetas puede mantenerse bajo (13).

2.2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la *E. canis* se basa en la presentación de signos clínicos, anamnesis, alteraciones hematológicas, observación de cuerpos intracitoplasmáticos y/o confirmación por métodos serológicos. Se puede observar al microorganismo (mórulas) mediante aspiración citológica con una aguja fina en el bazo, ganglios linfáticos, líquido articular o sangre circulante; pero es un proceso arduo y difícil, considerando que solo se va a llegar a observar en el 4% de los animales infectados (14).

Otro método utilizado en el diagnóstico de la enfermedad es la fluorescencia indirecta para anticuerpos (FIA) contra *E. canis*, el cual es un método de alta sensibilidad (considerándose positivos títulos mayores a 1:10). Lamentablemente estos títulos solo pueden determinarse hasta 15 días de iniciada la enfermedad. Actualmente, se utilizan inmunoensayos enzimáticos para la detección de anticuerpos de *E. canis* en sangre entera, suero o plasma canino (14).

2.3 Procedimientos Analíticos

2.3.1 Fotometría de Reflectancia

La fotometría de reflectancia está basada en el fenómeno de reflexión de la luz, este método analítico permite medir la reflexión en una determinada longitud de onda y los cambios en la intensidad de coloración de una tira reactiva. La cual, contiene un soporte de material sintético con un código magnético en un extremo, al otro extremo, un material de transporte del plasma, una serie de capas que contienen material separador (por lo general fibra de vidrio) y reactivos, cubiertos por una capa protectora (15).

El fenómeno ocurre cuando un rayo de luz emitido incide sobre el área de lectura de la tira y es reflejado por ésta. Los detectores comparan la intensidad de la luz emitida por el diodo emisor con la de la luz reflejada, otorgando el resultado a modo de concentración de la sustancia que estamos analizando (15).

2.3.2 Inmunocromatografía

Es una técnica de inmunoensayos basada en la detección de la presencia o ausencia de un antígeno o anticuerpo, trabajando a través de la migración a través en una membrana de nitrocelulosa. En esta prueba, la muestra de sangre es añadida en la ventana de muestra del dispositivo, agregando, un conjugado que permitirá la formación de un inmuno complejo (16).

El anticuerpo migra por el papel de nitrocelulosa, hasta la zona donde se formará un inmuno complejo, continuando por capilaridad hasta la zona T donde se coloreará en caso de indicar positivo; luego, seguirá hasta la zona C, área que se teñirá siempre que la prueba sea realizada de manera correcta, sin importar el resultado. En caso de resultar negativa la prueba, el complejo no se unirá por lo tanto no generará ninguna coloración en la zona T (16).

2.4 *Rhipicephalus sanguineus*

La garrapata, es un artrópodo que pertenece a la familia *Ixodidae*, su desarrollo cuenta con 4 fases: huevo, larva, ninfa y adulto. Pasan la mayor parte del tiempo alejadas de su hospedador, refugiadas en las madrigueras o nidos de sus hospedadores, en el suelo o vegetación a la espera de alimentarse (17).

El ciclo de la garrapata inicia, cuando una garrapata hembra adulta, libera sus huevos en zonas de vegetación abundante o en lugares con las condiciones medioambientales adecuadas para el desarrollo de ellos; los cuales pueden permanecer hasta 1 año en la fase de incubación. Posteriormente, las larvas se liberan e inician la búsqueda de su primer alimento (primer hospedador), luego de alimentarse las larvas inician su primera muda (17).

Las larvas ya transformadas en ninfas inician la búsqueda de su segundo alimento (segundo hospedador), donde inician la muda para la siguiente fase. Finalmente, las

garrapatas ya en su fase adulta (machos y hembras bien diferenciados), inician la búsqueda de su tercer alimento (tercer hospedador). Para terminar el ciclo, las garrapatas se reproducen y alimentan por última vez, que la hembra abandone a su hospedador para la ovoposición permitiendo el inicio de un nuevo ciclo biológico (17).

2.5 Antecedentes

En Lima en el año 2005, se realizó una investigación para evaluar el examen hematológico en el diagnóstico de *E. canis*, empleándose, 77 muestras de canes con signos compatibles con la enfermedad; sin tomar en consideración la edad, raza, sexo o procedencia. Para cumplir los objetivos del trabajo, se analizaron los valores hematológicos y los resultados serológicos, encontrando un valor de concordancia de $84,7 \pm 11\%$; considerado como una concordancia muy buena. Así mismo, los canes positivos al examen serológico fueron del 87,01% de los cuales el $82,10 \pm 9,2\%$ resultaron anémicos. Los signos presentados mayor frecuencia fueron fiebre (73%), depresión (70,6%) y anorexia (68,9%). Finalmente, se concluye que la prueba serológica y el examen hematológico son importantes para el diagnóstico de *E. canis* (18).

En el año 2008 en la Habana, se realizó una investigación para establecer el diagnóstico de *E. canis*, en donde se trabajó con 155 canes con manifestaciones hemorrágicas y presencia de garrapatas, con rangos de edad de 1 a 10 años, sin importar la raza ni el sexo. Para lograr el objetivo se analizaron los valores hematológicos (hemoglobina, hematocrito, recuento de leucocitos y plaquetas); sin embargo, para realizar la prueba serológica (Inmunocomb®) se priorizaron a los canes que resultaron con valores hematológicos por debajo del valor fisiológico normal. Encontrándose un porcentaje del 70,32% de canes anémicos, dentro de los cuales el 82,56% resultaron seropositivos a la prueba serológica; el porcentaje de presentación de la enfermedad en machos fue del 78,90% y en el caso de las hembras en un porcentaje de 21,11%. El valor promedio de la hemoglobina se encontró en un 9,95 gr/dL; los signos clínicos presentados con mayor frecuencia en el total de canes fueron petequias (45,80%), equimosis (20%) y epistaxis (3,87%). Por lo tanto, se consideró

que los signos hemorrágicos asociados a la infección fueron la alerta principal para sospechar de la presencia de la enfermedad (19).

Posteriormente, en Nicaragua en el año 2010, un estudio se encargó de dar a conocer la situación de *E. canis* en el municipio de León; utilizando los valores sanguíneos (hematocrito, hemoglobina y niveles de eritrocitos) y serológicos (inmunocromatografía). Para lo cual, se utilizaron 27 muestras de canes aparentemente sanos, sin distinción de raza, edad o sexo. Los resultados demostraron que el 77% de los canes presentaron anemia, con un valor promedio de 10,76 gr/dL; además el 63% de los canes resultaron positivos al análisis serológico. Finalmente, se concluyó que la enfermedad está presente en la comunidad, considerando que su frecuencia puede aumentar a causa del deficiente alcantarillado y las malas condiciones de la vida campestre (20).

En el mismo año en Brasil, se estudiaron las alteraciones clínico-hematológicas y serológicas de canes infectados con *E. canis*; utilizándose, 82 muestras de canes con pronóstico serológico positivo a la enfermedad. El análisis de la hemoglobina presentó un promedio de 11,9 gr/dL; los signos clínicos con mayor frecuencia en los canes fueron palidez de mucosas (42%), anorexia (28%) y letargia (27%). En este estudio se concluyó que el diagnóstico de infección de *E. canis* se basa en aspectos clínicos sugestivos de la dolencia y en la confirmación de la presencia de la bacteria en la sangre circulante (21).

En el 2012 en Brasil, se estudiaron los parámetros hematológicos y seroprevalencia de *E. canis* y *Babesia vogeli*, trabajándose, con 160 muestras de canes aparentemente sanos; sin distinción de sexo o edad. Las muestras fueron sometidas a pruebas hematológicas y pruebas de inmunofluorescencia (IFAT), donde el 23,7% sometido al análisis serológico resultó positivos a *E. canis* y el 40% positivo para *B. vogeli*. En los parámetros hematológicos se evidenció que el 41,2% presentó anemia, del cual el 27,3% fue positivo para *E. canis*. La presencia del vector se determinó en el 25% de los canes sometidos a la investigación; finalmente, se concluyó que los hemoparásitos

estudiados son endémicos en la población canina debido a la existencia de una prevalencia en la fase subclínica o asintomática (22).

En la India en el año 2015, se evaluaron los parámetros clínicos, bioquímicos y hematológico de canes infectados con *E. canis*. Se analizaron las muestras sanguíneas de 46 canes con signos compatibles con el agente infeccioso. Al análisis hematológico los valores de la hemoglobina y el recuento de plaquetas, se encontró por debajo del rango normal; indicando así, que el valor de la hemoglobina de los canes analizados fue de $10,64 \pm 0,61$ gr/dL. Así mismo, en relación con los signos clínicos presentes en los canes analizados la fiebre (95,65%), debilidad (65,21%) y anorexia (56,52%) presentaron alto rango de incidencia en los canes sometidos a la investigación. En conclusión, el hallazgo confirmó que el agente analizado, causa alteraciones clínicas, hematológicas y bioquímicas importantes incluso en canes con grados de parasitemia bajos (23).

En otro estudio, realizado también en la India en el 2015, se analizaron los cambios hematológicos producidos por *E. canis* y su importancia para el diagnóstico. Se utilizaron 29 canes con signos sugestivos de la enfermedad, sin distinción de raza, sexo y edad. Las muestras sanguíneas, fueron sometidas a pruebas serológicas (Inmunocomb®) y exámenes hematológicos. Los resultados serológicos expusieron que el 62,07% fue positivo para la bacteria; además los niveles de hemoglobina presentaron una disminución significativa de ($p < 0,01$), encontrándose en el rango de ($9,94 \pm 00.53$ gr/dL). Asimismo, los signos clínicos con mayor frecuencia fueron fiebre (100%) y anorexia (61,11%); el vector transmisor de la enfermedad estuvo presente en todos los canes sometidos a la investigación. Por otro lado, no se analizó la diferencia entre edad y sexo; concluyendo que los valores hematológicos y serológicos tienen la misma importancia en un diagnóstico completo y deben considerarse en el enfoque terapéutico (24).

Recientemente, en el año 2017 en la ciudad de San José, Costa Rica se realizó un estudio sobre la prevalencia de *E. canis* y sus principales alteraciones hematológicas. Se indagaron en las historias clínicas de 69 pacientes sospechosos, los cuales

contaban con análisis hematológicos y diagnósticos serológicos, sin distinción de edad, raza y sexo. Al analizar los datos, se encontró una prevalencia de canes positivos a *E. canis* del 43%. Además, no se observó diferencia entre hembras y machos presentando un valor del 50% cada uno, el análisis de los valores hematológicos evidenció trombocitopenia en el 90% y anemia en el 57%. El estudio concluyó en la necesidad de realizar exámenes periódicos para tener el control de la enfermedad y sus trastornos (25).

En nuestro medio, se realizó un estudio en Lima en el año 2017, sobre la detección de *E. canis* mediante PCR, analizándose 30 muestras de sangre de canes sospechosos a ehrlichiosis, con edades entre 4 meses y 12 años, de los cuales 13 eran hembras y 17 eran machos. Se encontró como resultado que, de los 30 canes evaluados, 11 fueron positivos para *E. canis* a través de la prueba de PCR, los cuales además presentaban el valor de la hemoglobina disminuido en un promedio de 8,11gr/dL. Finalmente, se concluye que además de la enfermedad ya confirmada, es probable que existan otras patologías asociadas, las cuales deberían ser consideradas en un diagnóstico diferencial (26).

Finalmente, en la ciudad de Maynas, Iquitos en el año 2017, se evaluó la evidencia serológica de *Ehrlichia sp.* en canes con trombocitopenia. Se analizaron 30 muestras sanguíneas de canes excluyendo a los menores de 1 año y mayores de 6 años, además de excluir a hembras gestantes. Las pruebas fueron sometidas a análisis serológicos y hematológicos, encontrándose que el 60% de los canes analizados resultaron positivos a *Ehrlichia sp.*; además, del total de los canes el 53% fueron machos. El promedio de edad de canes con mayor frecuencia de presentación de la enfermedad fue de 18 meses; al examen clínico el 77% presentó garrapatas. La fiebre fue el único signo clínico evidente analizado presentándose en el 43% del total. La contribución de este estudio radica en que el mismo constituye el primer reporte científico para la provincia (27).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Espacio y tiempo

El presente trabajo de investigación se realizó en la Clínica Veterinaria “Happy Dog”, ubicada en av. Chinchaysuyo N° 381 – Zarate, perteneciente al distrito de San Juan de Lurigancho. Durante una campaña de descarte de Ehrlichiosis canina. El periodo de estudio se llevó a cabo durante los meses de setiembre del 2018 a enero del 2019.

3.2 Población y muestra

El tipo de muestreo utilizado fue no probabilístico por conveniencia, en el mismo se consideró a los canes con signología compatible con *E. canis*; excluyéndose del estudio a hembras gestantes y canes que hayan recibido tratamiento en otra clínica veterinaria durante el proceso de la enfermedad. En tal sentido, se analizaron 35 muestras sanguíneas.

3.3 Diseño de la investigación

El presente estudio fue transversal, correlacional y descriptivo. Para el logro de los objetivos del presente trabajo de investigación, se procesaron las muestras de sangre perteneciente a los canes incluidos en la campaña de descarte de Ehrlichiosis canina en el laboratorio de la Clínica Veterinaria “Happy Dog”.

3.4 Procedimientos

3.4.1 Selección de canes

Se realizó la campaña de descarte de Ehrlichiosis canina en la clínica veterinaria “Happy Dog”, los canes fueron sometidos previamente a un examen clínico básico en el

cual se evaluó: temperatura corporal y coloración de mucosas. Además, se evaluó la presencia o ausencia de garrapatas y la presentación de signos tales como: fiebre, letargia, anorexia, pérdida de peso, decaimiento, epistaxis, ataxia, diarrea, vómitos, temblores, incoordinación motora y petequias en todos los canes estudiados (anexo 1). Los canes fueron agrupados según rango etario de hasta 1 año, de 1 a 6 años, y mayores de 6 años) además de ser agrupados según el sexo (macho y hembra).

3.4.2 Toma, manejo y conservación de la muestra sanguínea

La toma de las muestras de sangre se realizó mediante la venopunción cefálica, extrayéndose aproximadamente 1 ml de muestra sanguínea y recolectándola en tubos con EDTA – K3. Los tubos de sangre fueron rotulados y se procesaron en el laboratorio de la clínica veterinaria “Happy Dog”, mediante el uso de los kits de descarte de *Ehrlichia canis* Anigen Bionote® (anexo 2) y el hemoglobinómetro portátil Mission® (anexo 3).

3.4.3 Análisis de la muestra

3.4.3.1 Medición de hemoglobina

El valor de hemoglobina se determinó, mediante el uso del medidor portátil de hemoglobina Mission® Hb, siguiendo las especificaciones del fabricante del equipo. Colocándose 10 µL (1 gota) de sangre en la tira reactiva del medidor portátil, obteniendo el resultado en 15 segundos (anexo 4).

3.4.3.2 Inmunocromatografía

Se utilizaron los test del kit de *Ehrlichia canis* (Anigen), el cual mediante el ensayo de inmunocromatografía detecta los anticuerpos de *Ehrlichia canis* en sangre entera, plasma o suero. Este kit tiene una especificidad de 99% y sensibilidad de 97,6%; se siguieron las especificaciones brindadas por el fabricante (procedimiento y conservación). El análisis serológico de *E. canis* se realizó colocando 10 µL (1 gota) de

sangre en el agujero del kit y añadiendo 2 gotas de diluyente, el resultado de la prueba se obtuvo en 20 minutos (anexo 5). Los resultados fueron anotados en la ficha de recolección de datos (anexo 6) (28).

3.5 Diseño estadístico

Se realizó un análisis porcentual para evaluar los resultados de edad, sexo, signos y presencia de garrapatas. Para evaluar la concordancia se utilizó el método estadístico de *Kappa*, según la fuerza de concordancia establecida por Landis y Koch (29). Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS® versión 25 y el programa Microsoft Office Excel 2007 (Anexo 7).

IV. RESULTADOS

En el presente estudio, se analizaron varios aspectos en base a los datos obtenidos. Principalmente, se analizó la fuerza de concordancia entre las variables, además de la frecuencia de la serología positiva comparada con el rango de la edad, el sexo y la presencia del vector. Finalmente, se analizó la frecuencia de los signos en todos los animales sometidos a la investigación, donde se encontrándose los siguientes resultados:

En la Tabla 1, se muestran los resultados serológicos, los cuales indican que 30 (85,70%) de los canes fueron positivos a anticuerpos de *E. canis*.

Tabla1. Resultado serológico de presencia de anticuerpos de *E. canis* mediante pruebas de inmunocromatográfica en caninos

Resultados serológicos	n	%
Positivo	30	85,70%
Negativo	05	14,28%
Total	35	100 %

Se analizó la correlación entre el valor de la hemoglobina y la serología para presencia de anticuerpos de *E.canis* mediante la determinación del análisis de correlación *Kappa*; obteniéndose un valor de concordancia moderada (anexo 6).

En la tabla 2 se muestra la distribución de los canes según el valor de la hemoglobina, considerando la anemia en valores inferiores a 12 gr/dL, encontrándose un valor promedio de 8,84gr/dL. Estos valores fueron contrastados con la presentación positiva y negativa de anticuerpos para *E. canis*; expresando los resultados también en valores porcentuales.

Tabla2. Distribución de los valores de Hb de acuerdo con el resultado serológico para presencia de anticuerpos de *E.canis* en caninos

Serología de presencia de anticuerpos de <i>Ehrlichia canis</i>							
		Negativo	%	Positivo	%	Total	%
Valor	No Anemia	4	11,43	5	14,28	9	25,71
Hb	Anemia	1	2,87	25	71,42	26	74,29
Total		5	14,30	30	85,70	35	100

En la tabla 3 se indican los resultados ordenados según el grupo etario (menores de 1 año, canes mayores de 1 año hasta 6 años y canes mayores de 6 años), además de sus frecuencias porcentuales obtenidas según los resultados serológicos. Observándose, que en canes menores de 1 año el porcentaje encontrado fue de 37,15%, en el caso de canes entre 1 a 6 años, se encontró un porcentaje de 25,72% y en canes mayores de 6 años el valor fue de 22,85%.

Tabla3. Distribución de los rangos etarios de acuerdo con los resultados serológico para presencia de anticuerpos de *E.canis*

Serología de presencia de anticuerpos de <i>Ehrlichia canis</i>							
		Negativo	%	Positivo	%	Total	%
	Menor de 1 año	2	5,71	13	37,15	15	42,86
Edades	De 1 año a 6 años	3	8,57	9	25,72	12	34,29
	Mayor de 6 años	0	0	8	22,85	8	22,85
	Total	5	14,28	30	85,72	35	100

En la tabla 4 se muestra la distribución según el género (hembra y macho), comparados con sus frecuencias porcentuales obtenidas según los resultados

serológicos. Donde se encontró un valor de 45,71% para machos y un 40% para hembras.

Tabla4. Distribución del sexo de acuerdo con los resultados serológico para presencia de anticuerpos de *E.canis*

Serología de presencia de anticuerpos de <i>Ehrlichia canis</i>							
		Negativo	%	Positivo	%	Total	%
Sexo	Hembra	4	11,42%	14	40%	18	51,42%
	Macho	1	2,87%	16	45,71%	17	48.58%

En la tabla 5 se detalla la frecuencia de los signos clínicos, con sus respectivos valores porcentuales; los cuales se presentaron de manera variada e inespecífica. Los signos que se encontraron casi en la totalidad de los canes sometidos a la investigación fueron pérdida de peso (97,14%), decaimiento (97,14%) y anorexia (88,57%). Así mismo, los menos frecuentes fueron incoordinación motora (20%), petequias (20%), epistaxis (14,29%) y ataxia (17,14%) (Anexo 7).

Tabla5. Frecuencia de los signos clínicos encontrados en los canes estudiados

SIGNOS	n de canes	Porcentaje %
Pérdida de peso	34	97,14
Decaimiento	34	97,14
Anorexia	31	88,57
Fiebre	29	82,86
Letargia	28	80
Diarrea	20	57,14
Vómitos	18	51,43
Temblores	14	40
Incoordinación motora	7	20
Petequias	7	20
Ataxia	6	17,14
Epistaxis	5	15,29

En la tabla 6, se muestra la presencia del vector *Rhipicephalus sanguineus* en los canes positivos y negativos para anticuerpos contra *Ehrlichia canis*. Observándose, que 25 canes (71,42%) positivos al análisis serológico presentaban garrapatas.

Tabla4. Presencia del vector en relación con el resultado serológico

		Serología de presencia de anticuerpos de <i>Ehrlichia canis</i>					
		Negativo	%	Positivo	%	Total	%
Vector	Presente	5	14,29	25	71,42	30	85,71
	No presente	0	0	5	14,29	5	14,29
Total		5	14,29	30	85,71	35	100

V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la investigación demostraron que, de los 35 canes analizados, 30 resultaron positivos a la prueba serológica (tabla 1), lo que equivale al 85,71%. Estos resultados se encuentran por encima de los encontrados por Bhadesiya (2015), el cual encontró en su investigación un 62,07% de canes positivos a la prueba serológica (24), resultado que es similar a lo reportado por Villaverde (2017), quien encontró un 60% de seropositividad en su investigación realizada en Maynas - Iquitos (27). Los resultados encontrados en la investigación no coinciden con los encontrados por Chetan y col (2013), quienes encontraron un 52,5% de canes con serología positiva.

Los resultados de la prueba serológica obtenidos en comparación de los resultados utilizados como referentes, presentan valores disímiles debido a que cada una de las investigaciones fueron desarrolladas con criterios de inclusión basados en el lugar del estudio y la disponibilidad de material biológico para su análisis dentro de los parámetros establecidos por los investigadores.

Se realizó el análisis de concordancia entre las variables, obteniendo el valor del coeficiente en 53,33%, considerado como concordancia moderada (anexo 7). Hoyos (2005), elaboro un análisis similar hallando un valor del coeficiente de 84,7% de concordancia. Considerado como muy buena en un estudio realizado en Lima, utilizando 77 canes con signos compatibles a *E. canis* (18). Resultado que al ser comparado con los obtenidos en esta investigación se encuentra dentro de una categoría inferior, esto es debido a la alta variedad encontrada en los valores de la hemoglobina, por lo cual es aceptable tener estos valores considerado el contexto de la investigación.

El resultado de canes anémicos en la investigación, expresados en la tabla 2, fue de 26 (71,42%) canes, de los cuales 25 (71,42%) fueron positivos además a *E. canis* y

presentaron un rango de hemoglobina de $8,84 \pm 2,97$ %. En el análisis realizado por Bhadesiya (2015), se halló un rango de $9,94 \pm 0,53\%$ (24); así también, Parashar (2015) encontró un rango de $10,64 \pm 0,61\%$ (23). Otros autores expresaron sus hallazgos de canes anémicos, analizando el promedio del valor de la hemoglobina; como lo reportó León y Demedio (2008), quienes encontró un promedio del 9,95 gr/dL (19). Rivas (2010) indicó el promedio de 10,76 gr/dL (20), mientras que Santos (2010) define el valor analizado en 11,9 gr/dL (21); y finalmente, Vicente (2017) un 8,11 gr/dL (26).

Según, Chetan y col (2013), el principal motivo por el que la anemia se encuentra de manera frecuente durante el desarrollo de la enfermedad y se hallan alteraciones en los valores hematológicos, es debido a la disminución de las células sanguíneas las cuales son atacadas por el agente causal, evidenciado posteriormente en los exámenes complementarios, presentando diagnósticos compatibles con anemia, trombocitopenia y leucopenia (7).

El rango etario con mayor incidencia de la enfermedad, según lo observado en la tabla 3, son los canes dentro del rango menores de 1 año con un porcentaje del 37,15%; resultado que no coincide por lo especificado por Villaverde (2017), quien indicó 18 meses como el promedio de edad con mayor incidencia (27). Esta diferencia obedece a la forma de agrupar a los sujetos de estudio y los criterios de inclusión considerados en la edad. En los estudios realizados por los demás autores, no consideraron la edad como un punto importante para análisis.

Los autores Straube (2010) y Clara y col (2016), coinciden en mencionar que la presentación según el grupo etario tiene varios factores asociados que deben ser considerados al momento del análisis estadístico, tomando en cuenta, que canes del grupo etario menor de 1 año, tienden a frecuentar lugares con alta densidad de animales quedando más propensos a adquirir el vector causante de la enfermedad (5,13).

En relación con los resultados encontrados según el género como se puede observar en la tabla 4, los porcentajes son muy similares entre machos (45,71%) y hembras (40%). Resultados que guardan similitud con la mayoría de las investigaciones. Castillo (2017) mencionó un rango del 50% entre hembras y machos (25), Vicente (2017) encontró en hembras el 43,33 % y en machos el 56,66% (26). Finalmente, Villaverde (2017) evidenció valores similares entre hembras con 47% y machos del 53% (27). Contrariamente a lo expresado por León y Demedio (2008), quienes encontraron marcada diferencia en este análisis, indicando que los machos fueron el 78,90% del total de los canes afectados (19). Esto en razón a que en su estudio la mayor cantidad de individuos estudiados fueron machos.

En este sentido, Straube (2010) y Clara y col (2016) nuevamente coinciden en mencionar que los hallazgos encontrados pueden variar según el contexto del análisis, no existiendo aun base teórica que confirme la preferencia del agente causal por un género específico (5,13).

Los signos clínicos encontrados en la investigación se encuentran de manera detallada en la tabla 5, presentándose con mayor frecuencia, la pérdida de peso (97,14%), decaimiento (97,14%) y anorexia (88,57%); los signos hematológicos se presentaron en menor frecuencia con un valor máximo del 20%. Los investigadores estudiados mencionan en su mayoría a la fiebre como el signo más frecuente, el cual se presentó en un 82,86% en la presente investigación. Este signo en su mayoría se presentó, entre el 43% - 100% de los canes analizados, rango en el que se encuentran los valores considerados por los autores Hoyos (2005), Parashar (2015), Bhadesiya (2015) y Villaverde (2017) (18, 23, 24, 27).

León y Demedio (2008), indicaron que los signos hematológicos se encontraron con mayor frecuencia en su investigación fueron las petequias con el 45,80% y equimosis con el 20% (19). Otros estudios consideran al resto de signos clínicos como inespecíficos y con valores disímiles.

Por tal motivo, los autores Angulo y Rodríguez (2005), mencionan que los signos presentados durante el desarrollo de la enfermedad son muy variables e inespecíficos, los cuales van a depender de la fase en la que se encuentre la enfermedad, así como la respuesta inmune del can afectado (12). Al igual, que Clara y col (2016), mencionan que, durante la fase aguda, los signos clínicos van a ser principalmente inespecíficos; en comparación con la fase subclínica donde va a observarse una aparente reducción de los signos. Finalmente, indican que en la fase crónica es donde se puede observar con mayor frecuencia los signos hematológicos como petequias, equimosis cutánea y de las mucosas, epistaxis, hematuria y melena. Además, se observan signos con mayor severidad, a causa de infecciones secundarias adquiridas (13).

Finalmente, se analizó la presencia del vector al momento de la investigación, detallado en la tabla 6; donde se encontró un 71,42% en el total de los canes. El resultado coincide con lo descrito con Hoyos (2005) quien también indicó un 71,42% (18). Bhadesiya (2015) menciona haber encontrado al 100% de los canes con presencia del vector (24), Villaverde (2017) a su vez evidenció un 77% de canes con garrapatas (27). A diferencia de Pierangeli (2017) quien menciona encontrar al artrópodo solamente en el 25% (22). Los demás autores no consideraron al vector como punto significativo de análisis, considerando en esta investigación que la zona analizada presenta una alta densidad de canes callejeros permitiendo la propagación del artrópodo y una mayor probabilidad de infección.

Los autores Waner y col (2001) además de Clara y col (2016); coincidieron que el perro es el hospedero principal del *Rhipicephalus sanguineus*, el cual es el hospedador del *E. canis*. Además, debido al modo de transmisión de la enfermedad (transestadial) no es necesario encontrar a la garrapata durante la revisión clínica para sospechar de una infección; solo se encontrará al vector cuando este necesite al perro para alimentarse y pasar a su siguiente estadio, momento en el cual el can es propenso a ser infectado (10,13).

VI. CONCLUSIONES

- Los resultados encontrados al analizar la relación entre las variables estudiadas (valor de la hemoglobina y resultado serológico), determinaron una concordancia moderada. Una de las variables analizadas en este caso la anemia, se presentó en el 71,42% de los canes positivos a la prueba serológica.
- Los signos clínicos encontrados con mayor frecuencia en los canes estudiados fueron bastante inespecíficos, a comparación de los signos hematológicos como petequias y epistaxis en frecuencias menores del 20%.
- El rango etario afectado con mayor frecuencia fueron los menores de 1 año con un 37,15%, la presencia del agente según el género fue similar en hembras (40%) y machos (45,71%). Así mismo, la presencia del vector en el total de canes analizados fue del 71,42%.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda en las próximas investigaciones, estudiar la relación entre el valor de la hemoglobina y la serología positiva a *Ehrlichia canis* en todo el distrito de San Juan de Lurigancho.
- Informar sobre la importancia del descarte de la Ehrlichiosis a los propietarios de mascotas.
- Hay que considerar que la *Ehrlichia canis* aun no está considerada como zoonótica, debido a que la infección en humanos es de manera meramente accidental, pero debido al aumento de la presencia del vector puede transformarse en un problema de salud pública grave.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Loeillot, D. Contribution à l'étude de la ricickettsiose du chein á Ehrlichia canis. [Tesis doctoral]. Francia; Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse; 1977.
2. Paredes J. Hemoparásitos encontrados en caninos infestados con garrapatas en Comas. [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional de Cajamarca; 1993.
3. Robles D. Diagnostico de Ehrlichiosis canina basado en los hallazgos clínico hematológico de los caninos atendidos en el Centro Veterinario San Martin de la ciudad de Trujillo durante marzo 2006-marzo 2007. [Tesis de grado]. Trujillo: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2008.
4. Rabanal L. Prevalencia de Ehrlichia sp. En caninos infestados con garrapata (Rhipicephalus sanguineus) mediante frotis sanguíneo en la provincia de Trujillo. [Tesis de grado]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca; 2014.
5. Straube J. Canine Ehrlichiosis Acute infection to chronic disease. [En línea]. 2010. Germany: University of Leipzig. Institute for Animal hygiene and veterinary public healt. Disponible en: http://www.cvbd.org/static/documents/digest/CVBD_Easy-todigest_no_7_ehrlichiosis.pdf
6. Murray P, Rosenthal S, Kobayashi S, Pfaller A. Microbiología Médica. 5ta ed. España: Elsevier; 2005.
7. Chetan P, Riddhi P, Anant J, Mukulesh G. Comparative diagnostic methods for canine Ehrlichiosis. Turk J Vet Anim Sci [Internet]. 2013 [Acceso 10 abril de 2018]; 37:282-290. Disponible en: <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-13-37-3/vet-37-3-6-1201-12.pdf>
8. Mavromatis K, Doyle C, Lykidis A. The genome of the obligately intracelular bacterium Ehrlichia canis reveals themes of complex membrane structure and immune strategies. [En línea]. Journal of Bacteriology. 2006, junio. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1482910/> Acceso 10 abril de 2018.
9. Day M. The Immunopathology of canine vector- bone disease. [En línea]. BioMed Central. 2011, abril. Disponible en

<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-48>.
Acceso 10 abril de 2018.

10. Waner T, Harrus S, Jongejan F, Bark H, Keysary A., Cornelissen A. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis* [Internet]. *Veterinary Parasitology*. 2001[Acceso 10 abril del 2018]; 1(95):1–15. Disponible en: doi:10.1016/s0304-4017(00)00407-6
11. Domínguez G. Prevalencia e Identificación de Hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasmas phagocytophilum*) en perros de la ciudad de Cuenca. [Tesis de grado]. Ecuador: Universidad de Cuenca; 2011.
12. Angulo J, Rodríguez L. Diagnostico situacional de cuatro Hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. [Tesis de grado]. Nicaragua: Universidad Nacional Agraria; 2005.
13. Clara NG, Luis PY, Irma FA. Ehrlichiosis Canina. SABER [Internet]. 2016 [Acceso 09 septiembre del 2018];28(4):641-665. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/4277/427751143001/html/index.html>
14. San Miguel S. *Ehrlichia canis* en caninos de la provincia de Sullana –Piura. [Tesis de grado]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 2006.
15. Medina M. Química seca, fotometría de reflectancia [en línea]. Venezuela; 2017. Disponible en <https://elbioanalista.blogspot.com/2018/02/quimica-seca-fotometria-de-reflectancia.html>. Acceso 06 septiembre del 2018.
16. Universidad San Carlos de Guatemala. Inmunocromatografía: Practica de Laboratorio. Guatemala. 2011.
17. Procajlo A, Skupien Em, Bladowoski M, Lew S. Monocytic Ehrlichiosis in Dog. *Polish Journal of Veterinary Sciences* [Internet]. 2011[Acceso 19 de abril 2018]; 1(3): 515-520. Disponible en: <http://journals.pan.pl/dlibra/publication/113912/edition/98970/content/monocytic-ehrlichiosis-in-dogs-a-procajlo-e-skupien-m-bladowoski-s-lew?language=en>
18. Hoyos Luis. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.

19. León A, Demedio J. Diagnostico de Ehrlichiosis en la ciudad de La Habana. [En Línea]. Cuba: 2008, mayo. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n050508.html>. Acceso 07 abril del 2018.
20. Rivas V, Morales D, Sáenz M, Bonilla J; Hallazgo de Ehrlichiosis canina causada por *E. canis* en una comunidad del Municipio de León. [En línea]. Nicaragua, 2010. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310.html>. Acceso 09 abril de 2018.
21. Santos C. Alterações Clínicas, hematológicas e Sorológicas de cães infectados por *Ehrlichia canis*. [Tesis de Grado]. Brasil: Universidade de São Paulo; 2010.
22. Pierangeli J, Pascoti F, Maciel M, Hirsch C, Barcelos C, Guedes E. Hematological parameters and seroprevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs. Cienc. Anim. Bras [Internet]. 2017[Acceso 12 de junio 2018]; 18:1-9. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cab/v18/1809-6891-cab-18-e36095.pdf>
23. Parashar R, Sudan V, Kumar A; Evaluation of Clinical, biochemical and haematological markers in natural infection of canine Monocytic Ehrlichiosis. J Parasit Dis [Internet]. 2015[Acceso 20 febrero del 2019]; 40(4):1351-1354. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5118314/pdf/12639_2015_Article_688.pdf
24. Bhadesiya CM, Raval SK. Hematobiochemical changes in Ehrlichiosis in dogs of Anand region, Gujarat. Veterinary World [Internet]. 2015 [Acceso 15 de junio 2018]: 8(6): 713-717. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4825270/pdf/VetWorld-8-713>
25. Castillo S. Evaluación de la prevalencia de *Ehrlichia canis* y alteraciones hematológicas asociadas, en caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Doctor Roger Alfaro en San José, Costa Rica, Periodo 2015- 2016. [Tesis de Grado]. Costa Rica: Universidad Nacional Agraria; 2017.
26. Vicente A. Detección de *Ehrlichia canis* mediante PCR en tiempo final en muestras de sangre canina sospechosas provenientes de Lima Norte. [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017.

27. Villaverde C. Evidencia serológica de Ehrlichia spp. en canes con cuadros de trombocitopenia en Iquitos. [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017.
28. Bionote [Internet]. Mexico: Bionote; 2015 [Acceso 03 julio del 2019]. Productos Bionote para caninos [Aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <https://www.bionote.com.mx/caninos/64-ecanis-ab.html>
29. Landis J, Koch G. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics [Internet]1977 [Acceso 18 de julio del 2019]; 33: 159-74. Disponible en: https://pdfs.semanticscholar.org/7e73/43a5608fff1c68c5259db0c77b9193f1546d.pdf?_ga=2.121321807.697578006.1566152996-1953674780.1566152996

ANEXOS

ANEXO 1

Formato1: Ficha clínica de recolección de datos.

MASCOTA:

PROPIETARIO: N°.....

T°:..... PESO: EDAD: RAZA:

ANAMNESIS Y EXAMEN FISICO

	SI	NO	OBSERVACION
GARRAPATAS			
DECAIMIENTO			
FIEBRE			
LETARGIA			
ANOREXIA			
PERDIDA DE PESO			
EPISTAXIS			
ATAXIA			
DIARREA			
VOMITOS			
TEMBLORES			
INCOORDINACION MOTORA			
PETEQUIAS			
OTROS			

RESULTADOS

VALOR HEMOGLOBINA: gr/dL

TEST EHRLICHIA: POSITIVO () NEGATIVO ()

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 2



Figura 1: a) kit de descarte de *Ehrlichia canis* Bionote ®. b) Diluyente del kit de descarte. c) Muestras de sangre en tubos con EDTA-K3.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 3

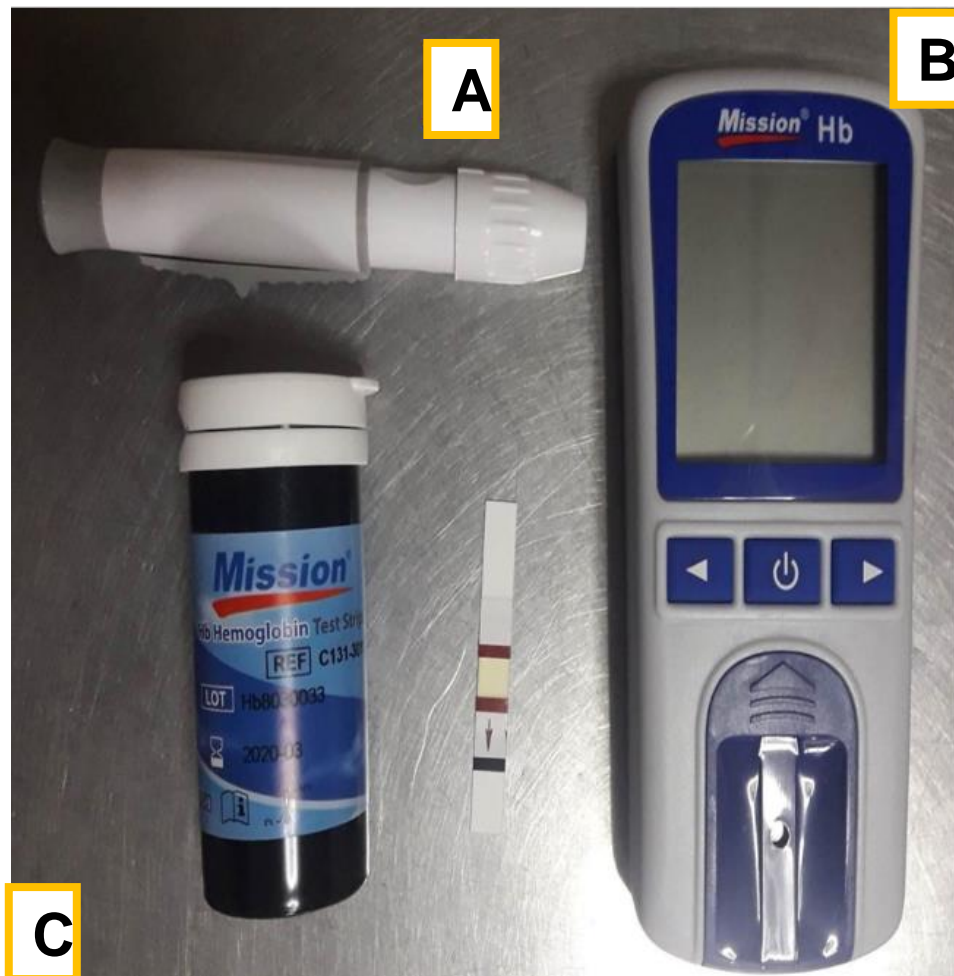


Figura 2: a) Lancetas Del hemoglobinometro. B) Equipo portátil hemoglobinometro. c) Tiras reactivas para el análisis respectivo.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 4

Figura 3: Muestra sanguínea analizada en el hemoglobinómetro portátil.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 5

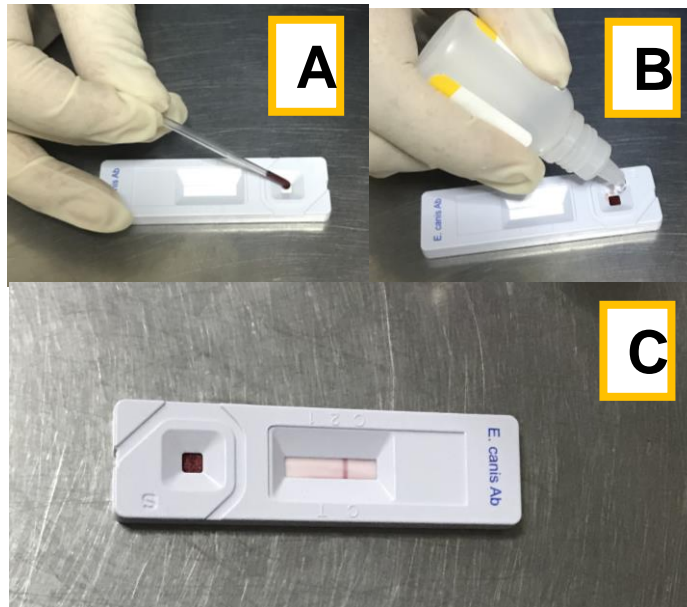


Figura 4: a) Muestra sanguínea siendo colocada en la ventana del kit de descarte. b) aplicación del diluyente en la ventana del kit de descarte. c) esperando los 20 minutos para la lectura de la prueba.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 6

Formato 2: ficha de recolección de resultados

Mascota	<i>E. canis</i>	Hb gr/dL
LORI	POSITIVO	10.6
CHANS	POSITIVO	7.8
MYLO	POSITIVO	14.3
RILEY	POSITIVO	10.6
ARGOS	POSITIVO	10,6
HAND	POSITIVO	7,9
PELUCHIN	POSITIVO	8.1
BLANCA	POSITIVO	6.6
HACHI	POSITIVO	6.1
KINA	POSITIVO	12.3
ROCKY	POSITIVO	10.3
BOM BOM	POSITIVO	7.3
COOPER	POSITIVO	8.6
RANDA	POSITIVO	9.1
PLOMITO	POSITIVO	6.8
AXEL	POSITIVO	6.3
BARSIL	POSITIVO	3.7
LINDAY	POSITIVO	10.3
JUANA SOFIA	POSITIVO	6.6
GASPAR	POSITIVO	12.5
MARIA	POSITIVO	6.2
ALMA	POSITIVO	8.7
PIPO	POSITIVO	11.2
UNIE	POSITIVO	5.3
TAMMY	POSITIVO	2
LULU	POSITIVO	13.1
ELVIS	POSITIVO	10.6
SASHA	POSITIVO	12.2
GUTI	POSITIVO	11.9
LOLO	NEGATIVO	12.6
PRECIOSA	NEGATIVO	12.6
MORITA	NEGATIVO	6.1
MOLLY	NEGATIVO	13.1
SWEET	NEGATIVO	14.6
SCARLET	POSITIVO	8.5

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Anexo 7

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Symmetric Measures

		Value	Asymptotic Standard Error ^a	Approximate T ^b	Approximate Significance
Measure of Agreement	Kappa	.533	.179	3.287	.001
N of Valid Cases		35			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Cuadro1: valor obtenido Del *Coeficiente de Kappa de Cohen* y valor de La concordancia.

Fuente: Spss ® version 25 / Bibliografía 29.

ANEXO 8

Canes/Signo	DECAI	FIEB	LETAR	ANOR	PER PE	EPIX	ATAX	DIAR	VOMI	TEMB	INCO	PETEQ
LORI	X			X	X			X	X			
CHANS	X	X	X	X	X	X		X				X
MYLO	X	X	X	X	X					X		
RILEY	X	X			X		X		X	X	X	
ARGOS	X	X	X	X	X							
HAND	X	X		X	X				X	X		
PELUCHIN	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X
BLANCA	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X
HACHI	X		X	X	X	X						X
KINA	X			X								
ROCKY	X	X	X		X			X				X
BOM BOM	X	X	X	X	X			X	X			
COOPER	X	X	X	X	X			X		X		
RANDA	X	X	X	X	X					X		
PLOMITO	X	X	X		X		X	X	X	X	X	
AXEL	X	X	X	X	X			X	X		X	
BARSIL			X	X	X			X	X			
LINDAY	X	X	X	X	X							
JUANASOFIA	X	X	X	X	X			X				
GASPAR	X	X	X	X	X				X			
MARIA	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	
ALMA	X	X	X	X	X							
PIPO	X	X	X	X	X			X	X	X		
UNIE	X	X	X	X	X	X		X	X	X		
TAMMY	X	X	X	X	X	X						X
LULU	X	X	X	X	X					X		
ELVIS	X	X	X	X	X			X	X			
SASHA	X			X	X			X	X			
MOLLY	X	X			X							
SWEET	X		X	X	X			X				
LOLO	X	X	X	X	X			X	X			
PRESIOSA	X	X	X	X	X				X			
MORITA	X	X		X	X		X	X	X	X	X	
GUTI	X	X	X	X	X			X	X			
SCARLET	X	X	X	X	X		X			X		X

Cuadro 2: Referencia de los signos presentes en los canes evaluados.

Fuente: Elaboración propia, 2019.