



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Ehrlichia* spp. EN CANES
DOMÉSTICOS (*Canis familiaris*) DE LA COMUNIDAD NATIVA ESE´EJA
DE INFIERNO EN EL DEPARTAMENTO DE MADRE DE DIOS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO VETERINARIO

FRANCISCO GONZALES ZAMORA
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA

LIMA-PERÚ

2016

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|-------------|
| Dedicatoria | i |
| Agradecimiento | ii |
| Resumen | iii |
| Abstract | iv |
| | |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| | |
| II. MARCO TEÓRICO | |
| | |
| 2.1 <i>Ehrlichia</i> spp. | 3 |
| 2.1.1 Taxonomía | 3 |
| 2.1.2 Características biológicas | 3 |
| 2.1.3 Hospederos | 4 |
| 2.1.4 Transmisión | 4 |
| 2.1.5 Ciclo de vida | 5 |
| 2.1.6 Respuesta inmunitaria | 6 |
| 2.1.7 Factores predisponentes | 7 |
| 2.1.8 Epidemiología | 8 |
| 2.1.9 Patogenia y signos clínicos | 11 |
| 2.1.10 Diagnóstico | 17 |
| 2.1.11 Tratamiento y control | 19 |
| | |
| 2.2 Caninos de Comunidades Nativas como transmisores de enfermedades | |
| 2.2.1 Transmisión de enfermedades | 22 |

| | | |
|----------------------------------|----------------------------|----|
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | | |
| 3.1 | Espacio y tiempo | 23 |
| 3.2 | Población y muestra | 23 |
| 3.3 | Diseño de la investigación | 24 |
| 3.4 | Equipo y procedimientos | 25 |
| 3.5 | Diseño estadístico | 28 |
| IV. RESULTADOS | | 29 |
| V. DISCUSIÓN | | 31 |
| VI. CONCLUSIONES | | 35 |
| VII. RECOMENDACIONES | | 36 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | | 37 |
| ANEXOS | | 43 |

DEDICATORIA

- Este estudio se lo dedico a mi madre que espiritualmente acompaña mis triunfos desde hace 16 años.
- También se lo dedico a mi padre, ejemplo de perseverancia y de trabajo.
- A mis hermanos y hermanas que fueron pilares que iluminaron mi camino profesional.
- A los colaboradores de Animal Clinic, gran proyecto que acompaña mi vida profesional y me hacen ser partícipe de sus crecimientos.
- A mi novia por brindarme siempre fortaleza y ser una gran compañera de vida.

AGRADECIMIENTO

- Agradezco a Dios, y a todas las personas que acompañaron mi vida profesional.
- A mi madre que me inculcó ser un profesional y alumbró mi camino, mi padre que es nuestro compañero y mis hermanas gorditas por apostar por mi desarrollo profesional.
- Agradezco a los docentes que acompañaron mi desarrollo profesional: Dr. Hugo Samamé, Dr. Sergio Huatuco, Ing. Maite Baquerizo, Mg. Nancy Carlos, MV. Paloma Alcázar, MV. Nidia Puray, MV. Juana Zavaleta, entre otros.
- Agradezco a mi novia por ser mi fortaleza y compañera de vida.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia* spp. en canes domésticos (*Canis familiaris*) de la Comunidad Nativa Ese'Eja de Infierno, ubicada en el distrito de Tambopata, departamento de Madre de Dios. Para el estudio se contó con una muestra de 30 individuos, 11 hembras y 19 machos, de los cuales 16 fueron cachorros, 12 adultos y 2 gerontes. Se colectó 2 ml de muestra sanguínea de la vena cefálica, se obtuvo el suero y conservó en un tanque de nitrógeno líquido hasta su envío a la ciudad de Lima. Las muestras se analizaron en el Laboratorio del Centro de Ornitología y Biodiversidad, utilizando las prueba de ELISA SNAP 4Dx® (Idexx Laboratories®) para determinar la presencia de anticuerpo (IgG) contra *E. canis* y/o *E. ewingii*. Se obtuvo que el 3,33% (1/30) de los canes analizados fueron positivos, correspondiendo a una hembra de 7 meses.

PALABRAS CLAVE: *Erlichiosis*, canes domésticos, comunidad nativa, Tambopata

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the presence of antibodies before *Ehrlichia* spp. in domestic canines (*Canis familiaris*) of the Native Community Ese'Eja de Infierno located in the district of Tambopata, department of Madre de Dios. For this study, we counted with a population of 80 canines and obtained sample from 30, including 19 males and 11 females; 16 puppies, 12 adults and 2 seniors. A sample of 2 ml of blood was obtained from the cephalic vein of each, and placed in a container without anticoagulant, refrigerated and transported to the laboratory located in the City of Puerto-Maldonado where the separation from the serum was processed. The samples were placed in a nitrogen tank and sent to the City of Lima. The samples were analyzed in the Central Laboratory de Ornithological and Biodiversity, utilizing the samples of ELISA SNAP 4Dx® (Idexx Laboratories®) which measure the levels of antibodies (IgG) against *E. canis* and/or *E. ewingii*. A presence of 3,33% (1/30) was found from the canines analyzed corresponding to a 7 month old female.

KEYWORDS: *Ehrlichiosis*, domestic canines, native community, Tambopata

I. INTRODUCCIÓN

Existen muchas enfermedades transmitidas por garrapatas, tanto a animales como a humanos, y dentro de ellas se encuentra las producidas por el género *Ehrlichia* spp. La Ehrlichiosis se considera como una enfermedad zoonótica emergente, reportándose múltiples casos alrededor del mundo. En el Perú, la ehrlichiosis fue detectada en caninos a partir de 1982 (1), desde esa fecha se han incrementado el número de casos reportados.

Ehrlichia canis necesita de un mamífero como reservorio y de un artrópodo como vector, que suele ser la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. La ehrlichiosis canina es una enfermedad que afecta especialmente a cánidos, seres humanos y otras especies como équidos y venados (1). La mayoría de casos se presenta en zonas endémicas durante los meses de primavera y verano, cuando la población de garrapatas es más activa. El diagnóstico de la enfermedad es un reto debido a sus diferentes fases (subclínica, aguda y crónica) y manifestaciones clínicas. Las técnicas más utilizadas para su diagnóstico son el ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) y el frotis directo (1).

La prevalencia de *E. canis* suele ser elevada, en Venezuela y Brasil se hallaron en un 77,3% (85/110) (2) y 42% (108/254) de los canes analizados (3). En el Perú se ha encontrado una prevalencia similar, en la ciudad de Huánuco se halló un 51,3 % (77/150) de canes positivos a *E. canis* (4). Evidenciando la presencia de este parásito en canes, especialmente con signos clínicos compatibles.

Por otro lado, en la Amazonia existen diversas comunidades nativas y alguna de ellas ubicadas cerca áreas naturales protegidas. Como la Comunidad Nativa Ese'jeja ubicada en el departamento de Madre de Dios, en ella los pobladores cuentan con

canes domésticos como mascotas que acompañan en sus actividades de caza, cosecha de castaña, agricultura, entre otras. Sin embargo, estas mascotas carecen de control médico, lo que podría favorecer la presencia de diferentes agentes patógenos, y al ingresar a áreas naturales llevar con ellos estos agentes y favorecer un contagio a animales silvestres.

En consecuencia, en busca de conocer el estado sanitario del Canes domésticos en comunidades, y su implicancia en el medio silvestre que lo rodea, se lleva a cabo el proyecto de investigación titulado “*Canes domésticos de Comunidades como animales centinelas en la transmisión de agentes infecciosos a la Fauna Silvestre*”, a cargo del Programa de Ecología de enfermedad y Medicina de la Conservación del Centro de Ornitología y Biodiversidad (CORBIDI).

Por lo cual, el objetivo del estudio fue determinar la presencia de anticuerpos frente a *Ehrlichia canis* en canes domésticos de la comunidad nativa Ese'ejá de Infierno, en el departamento de Madre de Dios. Con la finalidad de brindar información que permita establecer programas preventivos de zoonosis y fomentar campañas de concientización de tenencia responsable de mascotas. Aportando información relevante sobre la salud de canes domésticos relacionados a una de las áreas naturales protegidas con mayor diversidad del país, donde la transmisión de agentes infecciosos procedentes de animales domésticos hacia especies silvestres, podría afectar negativamente la salud del ecosistema.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Ehrlichia* spp.

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad de distribución mundial. En un principio la enfermedad causada por *Ehrlichia canis* recibió varios nombres como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina (5). Afecta principalmente a cánidos, seres humanos y otras especies como équidos y venados (6). Por otro lado, la enfermedad ocasionada por *E. ewingii* se le denomina Ehrlichiosis granulocítica canina, ya que infecta neutrófilos y más raramente eosinófilos en caninos, teniendo una distribución exclusiva en los Estados Unidos, ya que su único vector es la garrapata *Amblyoma americanum* (7).

2.1.1 Taxonomía

Reino : Bacteria
Filum : Proteobacterias
Orden : Rickettsiales
Familia : Anaplasmaeae
Género : Ehrlichia
Especie : *Ehrlichia canis*
Ehrlichia ewingii (7)

2.1.2 Características biológicas

Son organismos bacterianos Gram negativos, pequeños de 0,5 al 1,5 mm, de estructura pleomorfa (cocoides y/o elipsoidales). Se localizan intracelularmente en

leucocitos y plaquetas, observándose en forma de mórula (inclusiones intracitoplasmáticas). Las mórulas, que son inclusiones intracelulares compuestas por racimos del organismo, se aprecian en ocasiones en los extendidos sanguíneos durante el estadio inicial de la infección, pero rara vez en asociación con la infección crónica (8).

2.1.3 Hospederos

Los hospederos vertebrados de *Ehrlichia canis* se han limitado a miembros de la familia Canidae; además del perro doméstico, se consideran hospederos reservorios el coyote, el zorro y el chacal, pero también se ha reportado en venados. El vector artrópodo de *Ehrlichia canis* es la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, con transmisión transtadial estricta. Debido a que no ocurre diseminación transovárica, la garrapata vector no es un reservorio verdadero (9). *Ehrlichia ewingii* es exclusivo de caninos y su vector artrópodo es *Amblyoma americanum* (10).

2.1.4 Transmisión

La ehrlichiosis canina es transmitida cuando una garrapata portadora entra en contacto con un animal huésped, inoculando el parásito a través de la saliva al alimentarse (9). Los vectores transmisores de esta enfermedad en Estados Unidos incluyen *Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis*, *Dermacentor variabilis* y *Rhipicephalus sanguineus*, este último es considerado como el principal transmisor del patógeno en perros (10).

En Europa se reportan *Ixodes ricinus* y *Rhipicephalus sanguineus* como los principales transmisores, por vía transtadial y no transovárica. Para América del Sur, *Rhipicephalus sanguineus* es la especie más importante. Además existe la forma iatrogénica por medio de transfusiones sanguíneas de un perro infectado a otro susceptible (10). En el Perú, la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*, tiene una alta prevalencia (11).

2.1.5 Ciclo de vida

En su ciclo biológico las diferentes especies de *Ehrlichia*, se introducen en el animal hospedador como cuerpos elementales y una vez en el torrente sanguíneo, buscan la célula diana (granulocitos, monocitos, plaquetas, etc.), para introducirse en ella por endocitosis mediada por un receptor o por fagocitosis, esto puede durar dos días (12).

Luego de multiplicarse durante cinco días, pasando a cuerpo iniciales y posteriormente a mórulas. Las mórulas se disgregan en cuerpos elementales una vez que la célula infectada se rompe, e invaden nuevas células hasta instaurar la parasitemia. Asimismo, en una misma célula podemos encontrar más de una mórula, ésta permanece en la célula hospedera entre 3 a 4 días para luego ser liberada por lisis celular (12).

El ciclo de vida de los vectores consta de tres estadios, después de huevo pasan larva, ninfa y adulto. En cualquiera de estos tres estados puede parasitar al ser humano. En animales puede estar en diferentes partes del cuerpo, pero prefieren fijarse entre las patas o sobre el abdomen (12).

El ciclo se inicia cuando la hembra deposita los huevos en el suelo; lo cual tiene una duración de 3 a 83 días, ya que la hembra puede poner casi 8000 huevos. Las larvas eclosionan entre los 8 a 67 días, están capacitadas para fijarse a un primer hospedador, esto es un periodo de supervivencia que puede fluctuar los 253 días. Las ninfas aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva (12).

Asimismo, el tiempo que necesitan para alcanzar la repleción varía entre 4 a 9 días, luego de ello caen y pueden emerger a adultos entre los 12 a 129 días. Las hembras sólo se fijan y succionan sangre una vez, mientras que los machos se alimentan en

forma intermitente. En condiciones favorables, el ciclo de *R. sanguineus* puede completar el ciclo en 63 días (12) (Anexo 1).

2.1.6 Respuesta inmunitaria

El cuadro clínico y las lesiones generadas en el curso de la ehrlichiosis son consecuencia directa tanto de la infección bacteriana, como de la respuesta inmune del hospedador. La excesiva producción de anticuerpos y la respuesta celular disminuida, influyen en la patogenia de la enfermedad (13).

Las bacterias intracelulares obligadas, como *Ehrlichia* spp., necesitan para sobrevivir, ser internalizadas por células, ya que son capaces de replicarse en el interior de fagosomas del citoplasma de las células infectadas. Los mecanismos defensivos desarrollados por la inmunidad innata son: la fagocitosis, el sistema de complemento, las células natural killer (NK) y las citoquinas (14).

La fagocitosis consiste en la ingestión y destrucción de sustancias extrañas, agentes patógenos o de células infectadas o degeneradas. Las células fagocíticas son las células mononucleares y polimorfonucleares (PMN). Para activarse el mecanismo de fagocitosis, es necesario que el patógeno entre en contacto con la célula; para ello existen proteínas de superficie que actúan como receptores celulares para los ligandos bacterianos de *Ehrlichia* spp. (14).

Uno de los receptores de adherencia más importantes es el complemento receptor tipo III (CR3:CD11b/CD18). Tanto como el Interferon-gamma (IFN- γ), como la integrina B2:CD11b/CD18 median la activación celular, es decir, juegan un papel fundamental en la eliminación de la infección al limitar la replicación ehrlichial (15).

El factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF- α) combinado con el IFN- γ , producido por los linfocitos T y las células NK, son indispensables en la protección frente a infecciones

ehrlichiales (16). Las citoquinas pueden tener un importante papel patogénico en la infección por *Ehrlichia* spp. ya que actúan como potentes inhibidores de la proliferación de células madre de la médula ósea y pueden contribuir a las citopenias observadas durante la enfermedad (17).

Por otro lado, la respuesta humoral al parecer no juega un rol importante en la protección frente a *Ehrlichia* spp., esto se debe a que el agente se protege y reside dentro de las células del huésped. Sin embargo, puede ser importante en la protección al inicio de la Ehrlichiosis. La existencia de cantidades elevadas de anticuerpos circulantes predispone a la aparición de inmunocomplejos circulantes que pueden causar graves lesiones en el organismo tales como glomerulonefritis, poliartritis y uveítis, especialmente durante la fase crónica (18).

Se ha hipotetizado que la inmunidad celular juega un rol importante en la patogenia de la ehrlichiosis canina. Aunque existe poco conocimiento de la inmunopatogenia de la Ehrlichiosis en cuanto a la respuesta celular, se ha observado individuos que después de superar la fase aguda de la enfermedad; ya que una respuesta inmune adecuada, de tipo celular, llevaría a una recuperación espontánea y a la disminución o incluso a la negativización de anticuerpos. Sin embargo, sin tratamiento y si la respuesta inmune no es la adecuada; la infección se suele mantener latente, estableciéndose un estado de portador prolongado. No obstante, uno de los mecanismos por los que no se activa una respuesta celular efectiva puede ser la capacidad de las ehrlichias de producir variaciones antigénicas epitopos superficiales que dificultarían su reconocimiento por los linfocitos T (18).

2.1.7 Factores predisponentes

La edad, raza y la inmunidad de los perros influyen en la gravedad de la infección, y muchos perros infectados no presentan signos clínicos evidentes (19). Es posible que

los animales inmunodeficientes desarrollen manifestaciones clínicas más graves, debido a que presentan más mórulas circulantes (20).

La infección por *Ehrlichia* spp. es frecuente en zonas tropicales y subtropicales donde está presente el vector (19). Esto es debido a que las condiciones climáticas y la humedad ambiental favorecen el proceso de incubación de huevos de *R. sanguineus*. Las condiciones óptimas para la ovoposición y la muda hacia los distintos estadios evolutivos se realizan en un rango de temperatura de 20 a 30 °C (21) y un rango de humedad ambiental de 20 a 93% (22).

Se ha descrito que el Pastor Alemán y el Springel Spaniel, pueden presentar cuadros clínicos más graves. Esto puede atribuirse a la variación de susceptibilidad de la raza y la poca habilidad para desarrollar respuestas inmunes humorales o celulares adecuadas (23).

En la Ciudad de Lima se describe que las razas de canes grandes, como el pastor alemán; así como los canes mayores de 2 a 4 años y con historial de presencia de garrapatas, son factores de riesgo a la Erhlichiosis (23). En Huánuco, se ha asociado la infección con el mal estado de salud del can, infestación con garrapatas y perros de edad adulta (4). Asimismo, se reportó alta prevalencia en Venezuela asociado a la infestación de garrapatas (2).

2.1.8 Epidemiología

Se han llevado a cabo diversos estudios en busca de la seroprevalencia de *E. canis*, registrando cifras altas en países como Venezuela, Colombia, México, India y Chile (2, 24, 25, 26, 27) (Anexo 2), en el Perú se han llevado a cabo estudios en las ciudades de Huánuco, Lima y Trujillo (4, 20, 23, 28) (Anexo 3).

En Medellín (Colombia), se realizó un estudio transversal con 781 canes en el periodo 2012 al 2014 para determinar la seroprevalencia de *E. canis* utilizando la técnica de Elisa SNAP Snap 3DX o Snap 4DX de IDEXX© (Estados Unidos) o Rapid *E. canis* Ab Inmunocromatografica de Bionote©. Determinando una seroprevalencia de 24,8% (194/781), mayor en caninos seniles (29,7%) y adultos (26,6%) en comparación con los cachorros (14,2%) (24).

En el Municipio de Cajeme (México) se realizó un estudio sobre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* utilizando la técnica de inmunofluoresencia indirecta. De los 60 animales analizados se halló que el 81,66% (49/60) de los animales fueron positivos. Este alto porcentaje se debería a las condiciones medioambientales presentadas en el lugar de estudio que favorecen la presencia del vector (25).

En la India se realizó un estudio comparativo sobre las pruebas diagnósticas para Ehrlichiosis canina, utilizando la prueba de Elisa Inmunocomb Canine Ehrlichia BIOGAL© y la técnica de PCR. Evaluando 40 canes con signos clínicos, se reportó solo un can positivo al observar un frotis sanguíneo, 20% (8/40) y 52,5% (21/40) de canes positivos con las técnicas de PCR y ELISA, respectivamente (26).

En la Ciudad de Talca (Chile) se realizó un estudio sobre la serología de *Ehrlichia* spp. en 36 canes, con antecedentes previos de infestaciones de garrapatas. Utilizando la técnica de Elisa Inmunocomb Canine Ehrlichia BIOGAL© se reportó una seroprevalencia de 16,60% (6/36). No se observaron diferencias significativas entre las variables sexo ni edad. Además, proponen que en la Ciudad de Talca, la Ehrlichiosis se encuentra sub diagnóstica porque no se encuentran signos patagónicos de la enfermedad (27).

En la comunidad rural de Jobalito, del estado de Aragua (Venezuela); se realizó un estudio para determinar la seroprevalencia y detección molecular de *Ehrlichia canis* en el 2015. Se estudiaron 110 perros, recolectando 500 garrapatas de 76 perros, en donde la mayoría eran *Rhipicephalus sanguineus*. Se determinaron animales positivos utilizando el kit comercial SNAP 4Dx (IDEXX®), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCR). La seroprevalencia resultó en 77,3 % (85/110) y la detección molecular fue de 45,2% (14/31). Se determinó una alta infestación de garrapatas, el 80% (68/85) de los pacientes seropositivos y el 32% (8/25) de los pacientes seronegativos, tenían estos ectoparásitos.

En la Ciudad de Huánuco (Perú), se realizó un estudio transversal descriptivo en factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en el 2015, en 150 perros infestados con garrapatas de 10 consultorios de la ciudad. Se determinaron animales positivos mediante inmunoensayo cromatográfico, encontrando que el 51,3 % (77/150) de perros estuvieron infectados de *Ehrlichia canis*. Los factores de riesgo asociados con la enfermedad fueron el mal estado de salud del perro, infestación de garrapatas y perros de edad adulta (4).

En la Ciudad de Lima (Perú) se realizó un estudio sobre la seroprevalencia de *Dirofilariosis* y *Ehrlichiosis canina* en 140 canes provenientes de los distritos de Chorrillos, La Molina y San Juan Miraflores. Para el análisis se utilizó la prueba Elisa SNAP Combo Canino IDEXX®, reportando una seroprevalencia de $16,5 \pm 6.2$ % (22/140) de *E. canis*. Además, se halló que existe mayor riesgo de infección en los canes hembras y que permanecen más horas del día fuera de sus hogares (20).

Otro estudio realizado en la Ciudad de Lima, evalúa de manera retrospectiva los caso-control de *Ehrlichiosis canina* en el periodo 2002 al 2005, 50 canes con *Ehrlichiosis* y 100 canes control. Se determinaron los animales positivos según sintomatología,

hematología y serología con la prueba Elisa SNAP 3DX de IDEXX®. Los factores de riesgo asociados con la enfermedad son las razas grandes (raza Pastor alemán), edad ($\geq 2-4$ años) e historia de garrapatas (82%, 48/50) para los casos y 1% (1/100) para los controles (23).

En la ciudad de Trujillo, se realizó un estudio para evaluar la eficacia del test rápido Anigen (Inmunocromatografía) frente a Snap 4Dx Idexx ® en el diagnóstico de ehrlichiosis canina, analizando 20 canes del distrito de La Esperanza del año 2014. Se determinó una presencia de ehrlichiosis canina de 55% (11/20), se reportaron 4 falsos positivos y una concordancia moderada, por lo cual se concluyó que la prueba de Elisa Snap 4Dx Idexx ® es más eficaz que la prueba de Inmunocromatografía (28).

2.1.9 Patogenia y signos clínicos

La infección por *Ehrlichia* spp. se produce tras la picadura al hospedador por una garrapata hematófaga. Luego, esto provoca inflamación y liberación de mediadores químicos que a su vez, producen quimiotaxis de células inflamatorias. Este efecto inflamatorio favorece la infección por *Ehrlichia canis*, ya que cuanto mayor sea el número de granulocitos o monocitos/macrófagos en el punto de inoculación, tiene mayor probabilidad de infectar estas células (14, 29).

Diferentes estudios han descrito variación en los signos clínicos y esto puede ser debido a muchos factores, incluyendo diferencias en la patogenicidad entre las cepas de *Ehrlichia*, raza de perros, infecciones concomitantes con otras enfermedades transmitidas por garrapatas y el estado inmunitario del perro (6).

a) Fase aguda

La fase aguda se inicia después de un periodo de incubación de 8 a 20 días y dura dos a cuatro semanas, durante las cuales se multiplican los microorganismos en células mononucleares por fisión binaria y se diseminan a la totalidad del cuerpo (30).

Ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se localiza en los macrófagos del sistema retículo endotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos, donde se replica principalmente en macrófagos mononucleares y linfocitos (6, 7). Así, *Ehrlichia canis* puede alcanzar las células del sistema mononuclear – fagocitario de estos órganos, en los que causa una hiperplasia de células plasmáticas (30). Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las rickettsias hacia otros órganos del cuerpo (pulmón, riñones y meninges), en los que suele provocar lesiones inflamatorias y vasculitis, fundamentalmente de origen inmunomediado (6, 7).

En algunos casos, el cuadro puede desencadenar una coagulación intravascular diseminada que puede acabar con la vida del animal (30). A los 10 -14 días post infección se presenta pirexia en todos los perros infectados, esto puede ser causado por la producción incrementada de interleucina-1 (IL-1), por células presentadoras de antígeno y células B o productos pirógenos exógenos del parásito (31).

Durante la fase aguda es posible observar signos clínicos leves e inespecíficos como fiebre, exudado óculonasal, anorexia, depresión, pérdida de peso, esplenomegalia y linfadenomegalia. Además, los perros pueden presentar tendencia al sangrado, petequias y equimosis en la piel y membranas mucosas, y ocasionalmente epistaxis (6, 30).

Los signos oculares no son infrecuentes e incluyen uveítis anterior, opacidad corneal (edema y/o depósito de precipitados celulares), hipema, tortuosidad de vasos retinales y lesiones corio-retinales focales. Puede haber desprendimiento de retina y ceguera

debido a hemorragias subretinales. Se pueden presentar otros signos clínicos como vómitos, claudicación, ataxia y disnea. También puede aparecer edema de extremidades o de escroto (5). La trombocitopenia es un hallazgo constante en la Ehrlichiosis canina (7). Generalmente aparece a los 15 a 20 días post – infección y puede persistir durante todas las fases de la enfermedad (32, 33). Sin embargo, se han descrito casos de ehrlichiosis sin trombocitopenia (34).

La patogenia de la trombocitopenia es compleja y multifactorial, participando en mecanismos inmunológicos y no inmunológicos que producen una disminución de la producción y un aumento de la destrucción de plaquetas. La trombocitopenia en la fase aguda de la infección podría deberse fundamentalmente a una destrucción plaquetaria inducida por la presencia de la producción de anticuerpos antiplaquetarios (AAP). Estos anticuerpos, se han encontrado en elevadas cantidades tanto en perros tras la infección experimental o natural, como en personas afectadas por Ehrlichiosis. En el perro estos anticuerpos se encuentran en unos niveles elevados a partir del séptimo día post-infección, luego comienzan a disminuir hacia el día 29 (35).

La inducción para la producción de los AAP es ejercida por los antígenos ehrlichiales, que aparentemente son antigénicamente similares a las moléculas plaquetarias, esto explicaría por qué el sistema inmune está involucrado en la destrucción celular (36). Además, se han descrito otros mecanismos que intervienen en la patogenia de la trombocitopenia como la existencia de una citosina sérica, llamada factor de inhibición de la migración plaquetaria (PMIF) (30), el cual es sintetizado por los linfocitos B, cuando son expuestos a monocitos infectados. Las concentraciones más altas de PMIF se relacionan con cepas más virulentas de *E. canis* (18).

El PMIF impide la migración de estos elementos (30). La trombocitopenia durante la fase aguda es generada por una disminución de la vida media plaquetaria, más que por un descenso en la producción de plaquetas (37).

En esta fase llega incluso a observarse un incremento de la trombopoyesis (37). Mientras que, en la fase crónica de la enfermedad, la principal causa de trombocitopenia sería la hipoplasia de médula ósea. La destrucción acelerada de eritrocitos por mecanismos inmunológicos durante la fase aguda producirá la anemia. En esta fase la anemia normalmente es regenerativa, ya que la médula ósea suele ser hipercelular (34). Durante esta etapa la hiperproteinemia con hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia son alteraciones bioquímicas predominantes en perros infectados por *Ehrlichia canis* (38).

Los niveles de hipergammaglobulinemia y de actividad de anticuerpos específicos no guardan correlación, indicando que la mayoría de las globulinas responsables de la elevación de las gammaglobulinas no son anticuerpos frente *Ehrlichia canis* (37). La hipergammaglobulinemia monoclonal produce un aumento de la viscosidad de la sangre que puede exacerbar la tendencia hemorrágica de la enfermedad y tener consecuencias oftalmológicas como hemorragias intraoculares, desprendimiento de retina e incluso ceguera aguda (39). La hipoalbuminemia comienza a presentarse hacia el día 14 y se recupera a partir del día 35 sin llegar a los valores normales iniciales (37).

La hipoalbuminemia también podría mantenerse como mecanismo compensatorio de la hiperglobulinemia, para así contrarrestar un incremento de la presión oncótica y prevenir el aumento de viscosidad de la sangre (34). La presencia de hipoalbuminemia asociada con hipergammaglobulinemia en algunos animales puede dar resultado a cuadros de ascitis. La proteinuria y la hematuria, con o sin uremia, se han detectado en infecciones experimentales durante la fase aguda de ehrlichiosis. La pérdida máxima de proteínas se detecta a las 3-4 semanas post-infección y es debida a una nefropatía motivada por la existencia de lesiones ultraestructurales a nivel glomerular (37).

Cuando la fase aguda se resuelve en forma espontánea a continuación se inicia la fase subclínica que puede durar de 40 a 120 días. Durante este periodo se normaliza el peso del perro y se resuelve la pirexia; desde el punto de vista clínico el paciente parece normal, el recuento de eritrocitos generalmente se normaliza (40). Las alteraciones bioquímicas como la hiperglobulinemia (hipergammaglobulinemia) e hipoalbuminemia permanecen aún durante la fase subclínica, a diferencia de la proteinuria mencionada en la fase aguda, la cual desaparece durante esta fase (37).

b) Fase subclínica

Durante la fase subclínica de la enfermedad ocurre usualmente de 6 a 9 semanas después de la infección inicial, durante esta etapa no se observa sintomatología, pero persisten los cambios hematológicos mencionados anteriormente (7).

En diversos estudios durante la fase subclínica se evidenció que los parámetros más fiables para juzgar la posible infección subclínica son la trombocitopenia leve junto a la persistencia de altos títulos de anticuerpos a *E. canis*. La presencia de hiperglobulinemia aumentaría las sospechas (41). La persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema inmune produciendo una respuesta de tipo humoral. Los títulos de anticuerpos continúan elevándose y el animal inmunocompetente por lo regular elimina al organismo durante esta fase de la enfermedad, sin embargo otros animales pueden ser portadores persistentes durante meses o años (30, 42).

c) Fase crónica

Los perros que no eliminan la infección progresan hasta la fase crónica (6, 30, 42). La identificación de ADN de Ehrlichia en aspirados esplénicos, obtenidos de 4 portadores persistentes después de 34 meses de la infección experimental, sugiere que el bazo es el órgano donde permanece la rickettsia en los casos subclínicos (6).

No todos los perros desarrollan la fase crónica de ehrlichiosis y las condiciones que llevan al desarrollo de la misma permanecen poco claras (6). Los animales que desarrollan la fase crónica de la enfermedad pueden desarrollar una fase crónica leve que se manifiesta por pérdida de peso con alteraciones hematológicas menos graves, o una forma grave que se caracterizará por deterioro de la producción medular de elementos sanguíneos y que dará por resultado pancitopenia (30).

En la fase crónica, la anemia será no regenerativa debido a la destrucción continua de eritrocitos, la pérdida crónica de sangre y la existencia de hipoplasia o aplasia medular. La hipergammaglobulinemia y la hipoalbuminemia permanecen durante esta fase de la enfermedad y provienen de la estimulación antigénica persistente siendo sugestiva de una respuesta inmune inadecuada (tal vez una respuesta celular ineficiente). La glomerulopatía y la vasculitis podrían ser las causas de la hipoalbuminemia (3). La aparición de proteinuria y hematuria, con o sin uremia, está relacionada con la existencia de lesiones glomerulares inmunomediadas (38).

Los signos clínicos de la fase crónica reflejan las modificaciones fisiopatológicas resultantes del proceso anémico y de la infiltración perivascular de muchos órganos con células linforreticulares y plasmocitos (7).

Las manifestaciones respiratorias, oculares y cutáneas suelen ser más habituales en la fase crónica, aunque también se han descrito en la fase aguda. El cuadro respiratorio se caracteriza por la presentación de exudado mucopurulento acompañado en ocasiones de disnea y tos. Pudiendo ser la disnea debida a la existencia de anemia severa (43).

Los signos oftalmológicos suelen ser más frecuentes en la fase crónica de la enfermedad, habiéndose descrito uveítis anterior, fotofobia, conjuntivitis, opacidad corneal e hipema. Más raramente se puede presentar retinitis difusa, desprendimiento de retina, hemorragia subretiniana y neuritis óptica. Estos cuadros oftalmológicos graves parecen estar asociados a la hiperviscosidad sanguínea secundaria a la gammapatía monoclonal presente en algunos casos de ehrlichiosis (39).

Los signos neurológicos pueden ocurrir tanto en la enfermedad aguda como crónica. Estos incluyen signos de meningoencefalitis, como: lomo arqueado, dolor severo de cuello y lomo, paraparesia o tetraparesia, ataxia, déficit de nervios craneales y convulsiones. Los signos neurológicos pueden ser debidos a hemorragias, infiltración celular extensa y compresión perivascular de las meninges (44).

A diferencia de *E. ewingii*, en donde las mórulas granulocíticas se detectan con regularidad en los neutrófilos de perros medicados con glucocorticoides con glucocorticoides o fármacos antineoplásicos. Esto puede sugerir que la infección crónica desarrolla ehrlichemia si hay inmunosupresión o que ésta potencia el surgimiento de las mórulas durante la infección aguda. *E. ewingii* produce signos clínicos que incluyen claudicación de uno o más miembros, rigidez muscular, marcha pomposa, renuencia a incorporarse, lomo arqueado y tumefacción/dolor articular. La poliartritis, caracterizada por inflamación neutrofílica y en general acompañada con fiebre, es la anomalía citada con más asiduidad en la ehrlichiosis granulocítica (44).

2.1.10 Diagnóstico

El diagnóstico se realiza por medio de hallazgos clínicos compatibles con la enfermedad y una prueba serológica positiva. Con respecto a las pruebas directas e indirectas aplicadas a la Ehrlichiosis canina, es importante rescatar el valor de las pruebas serológicas en la detección de esta infección, pues es necesario tener en

cuenta que son pruebas indirectas se pueden identificar procesos infecciosos previos con una sensibilidad y especificidad (45).

Las técnicas utilizadas tradicionalmente para su diagnóstico son: inmunofluorescencia indirecta (IFI), Elisa, cromatografía en capa sólida, frotis directo (extendido de sangre) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (46).

La prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) permite analizar como el antígeno queda fijado cuando el anticuerpo conjugado ligado a la enzima y la muestra de sangre se combinan. El sustrato reacciona con el conjugado para amplificar la presencia del antígeno, incrementando la sensibilidad y ofreciendo una lectura inconfundible (47).

En el mercado existen la pruebas de ELISA SNAP 3Dx® (Idexx Laboratories), de sensibilidad y especificidad, de 95 % y 100%, respectivamente (47); además de la prueba de ELISA SNAP 4Dx® (Idexx Laboratories) de sensibilidad y especificidad, 96,2 % y 100 % respectivamente (48). No obstante, en estas pruebas serológicas, el punto de muestra para *E. canis*/*E. ewingii*; no permite diferenciar entre las dos especies, es decir, un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos frente a *E. canis* y/o *E. ewingii* (48).

La detección de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos compatibles con *Ehrlichia* spp. en frotis sanguíneo nos daría un diagnóstico de la enfermedad. Sin embargo, la detección de mórulas es más frecuente en la fase aguda de la enfermedad, por ello debe acompañarse con pruebas serológicas (49).

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es la técnica más utilizada en medicina humana como en veterinaria, puesto que presenta una alta sensibilidad (71%) y especificidad (100%) para *Ehrlichia canis*. Debido a su sensibilidad, esta técnica permite diagnosticar animales con títulos mayores a 1:100 (50).

La reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction o PCR) es una técnica molecular basada en las propiedades bioquímicas del ADN, asociadas a la composición y secuencia de nucleótidos. La PCR emplea segmentos cortos y simples de nucleótidos, llamados cebadores. La amplificación de los cebadores permite la identificación del ADN bacteriano (51).

Sin embargo, las pruebas directas de tipo molecular, aunque presentan una mayor utilidad clínica por detectar casos de infección actual, pueden presentar falsos negativos en la cronicidad, pues la infección se encuentra circunscrita a los macrófagos esplénicos y no en sangre periférica (52). Por lo tanto, al comparar la PCR con otras técnicas diagnósticas se observan que la sensibilidad para la detección de *E. canis* tanto en sangre como en otros tejidos es igual o inferior a ELISA o IFI (52). Por lo que las pruebas de diagnóstico molecular no deben suplir a las pruebas serológicas en el diagnóstico de ehrlichiosis, sólo deben considerarse complementarias (51).

2.1.11 Tratamiento y control

Como tratamiento se utiliza la doxiciclina como primera opción, debido a que es menos nefrotóxica que otras tetraciclinas y es la droga de elección en las infecciones crónicas o en pacientes gerontes con evidencia de falla renal (7). Debido a su gran liposolubilidad, su eliminación renal es más lenta que la oxitetraciclina; este hecho, unido a alto grado de absorción en los tejidos, da lugar a que su vida media en suero sea de, aproximadamente, 19,5 horas en comparación de las 9,5 horas de la oxitetraciclina (53). Actualmente, se recomienda administrar la doxiciclina durante un tratamiento de 28 días en dosis diarias de 10 mg/kg (42, 52).

Otras experiencias incluyen la utilización de dipropionato de imidocarb para obtener una respuesta satisfactoria (54). Sin embargo, muchos veterinarios han reconocido la persistencia de signos clínicos y anormalidades hematológicas, la persistencia de anticuerpos reactivos a los antígenos de *E. canis* y la presencia de DNA de *Ehrlichia canis* después de una terapia antirickettsial. Ante este problema, muchos veterinarios han optado por aplicar clorhidrato de tetraciclina o clorhidrato de doxiciclina por extensos periodos (meses – años), situación que puede generar resistencia bacteriana (55).

El cloranfenicol también es eficaz, pero no se recomienda en perros con citopenia. Puede ser usado en dosis de 15 a 20 mg/kg vía oral, intravenosa o subcutánea cada 8 horas por 14 días (54, 55). En los cachorros menores de 6 meses de vida, se recomienda cloranfenicol en dosis de 20 mg/kg, cada 8 horas vía oral, durante 14 días; para evitar la coloración amarilla de los dientes en erupción causada por las tetraciclinas. Sin embargo, existe un riesgo debido a su interferencia directa con la síntesis de la hemoglobina y en médula ósea, de igual manera, el empleo debería ser evitado en perros con trombocitopenia (56).

Se ha recomendado la corticoterapia durante la etapa inicial para disminuir la trombocitopenia inmunomediada, la cual está indicada hasta que se conozcan los resultados de los estudios serológicos. Los corticoides usualmente empleados son prednisolona (2-5 mg/kg/3 a 5 días) o acetato de metilprednisolona (2 mg/kg una sola vez, vía intramuscular) (57).

Asimismo, en las infecciones crónicas puede utilizarse fluidoterapia de sostén y en perros anémicos puede realizarse transfusión sanguínea o plasma rico en plaquetas. El

tratamiento de sostén (transfusión sanguínea, electrolitos, vitaminas) se deberá administrar de acuerdo a los requerimientos del paciente (56).

Finalmente pueden emplearse esteroides androgénicos para estimular la producción de la médula ósea en los perros con afección crónica e hipoplasia medular. La oximetolona (2mg/kg cada 24 horas, PO) hasta obtener resultados, y el decanoato de nandrolona (1,5 mg/kg por semana) vía intramuscular (57).

2.2 Caninos de Comunidades Nativas como transmisores de enfermedades

2.2.1 Transmisión de enfermedades

El perro doméstico (*Canis familiaris*) es un carnívoro que se encuentra fuertemente asociada a la presencia del ser humano. Este canino se reporta como portador de numerosos patógenos que pueden transmitirse a carnívoros silvestres (58).

En los últimos 20 años, varias de estas enfermedades han provocado la disminución poblacional de varias especies silvestres, llevando algunas al borde de la extinción, hecho bastante documentado por experiencias a nivel mundial, donde los patógenos que pueden afectar varias especies de animales son especialmente estudiados (59).

Además, se considera necesaria la investigación de enfermedades infecciosas en perros y otras especies domésticas residentes en comunidades, así como también el control de tránsito de animales en las áreas protegidas del Perú (59).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Espacio y tiempo

El área de estudio fue la Comunidad Nativa Ese'Eja de infierno, la cual se ubicó al margen derecho de la parte baja del río Madre de Dios, aproximadamente a 23km al noroeste de la ciudad de Puerto Maldonado, provincia Tambopata, en el departamento de Madre de Dios. Tomando como referencia del área las siguientes coordenadas: UTM 19L 0500836 – 8616217 y 19L 0503519 – 861547, donde se ubica principalmente el centro de la comunidad (Anexo 3). Esta comunidad se encuentra al margen derecho de la Reserva Nacional Tambopata.

La toma de muestra se realizó durante el mes de marzo del año 2016, correspondiente a la época húmeda de la zona. El análisis de la muestra se realizó en el Laboratorio del Centro de Ornitología y Biodiversidad (CORBIDI) en la Ciudad de Lima.

3.2 Población y muestra

La población canina de la comunidad, según registros comunitarios, es de 80 canes. Para el estudio se utilizó un muestreo por conveniencia, de manera voluntaria los propietarios accedieron a participar en el estudio. Se obtuvo una muestra de 30 canes mestizos, 11 hembras y 19 machos, 16 cachorros (desde 2 meses hasta un año), 12 adultos (mayor de dos años hasta 7 años) y 2 gerontes (mayores de 7 años).

3.3 Diseño de la investigación

Esta investigación fue descriptiva, no experimental, ya que el factor de estudio no fue controlado por el investigador. La presente investigación es parte del Proyecto de Investigación titulado “*Caninos domésticos como centinelas de salud en una Comunidad Nativa de Madre de Dios: Evaluación de agentes infecciosos en la interfaz humano – animal bajo el enfoque de “Una Salud”*”, a cargo del Programa de Ecología de enfermedad y Medicina de la Conservación del Centro de Ornitología y Biodiversidad (CORBIDI).

3.4 Equipos y procedimientos

Los materiales que se utilizaron para el desarrollo de la presente investigación se describen a continuación.

3.4.1. Equipos

a) Muestra biológica o unidad de análisis

- Suero sanguíneo

b) Sujeto de estudio

- Perro doméstico (*Canis familiaris*)

c) Material de campo

- Vestimenta de trabajo, caja de polietileno expandido, cámara fotográfica, bolsas de gel conservantes (icepacks), tubos al vacío de 5 ml (Vacutainer BD®), viales con tapa rosca (Crioviales Nalgene®), jeringas de 5ml con agujas N° 21G x 1 ½”, caja de polietileno expandido, algodón, alcohol, estetoscopio, gradilla y guantes quirúrgicos.

d. Material de laboratorio

- Centrífuga (UNICO® Modelo UNC-C858).
- Kit de ELISA SNAP 4Dx® (Idexx Laboratories®).

d) Material de escritorio

- Papel bond A4, fichas clínicas, lapiceros, lápices, corrector líquido, regla, entre otros.

e) Servicios

- Transporte, impresión y copias.

f) Capital humano

- Investigador y asesores

3.4.2 Procedimiento

a) Autorización y permisos

- El estudio se inició luego de la aprobación del proyecto de Tesis por parte de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas. Además de solicitar el consentimiento por parte de la Comunidad.

b) Visita domicilio

- Se realizaron visitas casa por casa para invitar a los comuneros que tuvieran canes a participar en el estudio de manera voluntaria, explicándole los objetivos del estudio.

c) Examen clínico y encuesta

- Previa aceptación al dueño, se realizó un breve examen clínico a cada animal.
- El examen clínico estuvo a cargo del investigador bajo supervisión de un médico veterinario.
- Usando guantes de nitrilo se evaluó a cada paciente desde la nariz hasta la punta de la cola del perro, auscultando y palpando cada zona del perro (Anexo 5). La información incluía las constantes fisiológicas, peso del animal, condición corporal y presencia de ectoparásitos como las pulgas, garrapatas, entre otros.
- Los ectoparásitos, en caso lo tuviesen, fueron colectados y colocados en frascos con alcohol al 70°.
- Adicionalmente, se realizó una breve encuesta a los dueños para completar la información del can (edad y actividad).

d) Toma muestra sanguínea

- Con el animal correctamente sujetado se procedió a desinfectar la zona del antebrazo con algodón embebido en alcohol etílico de 90°.
- Con la ayuda de una jeringa de 5 ml y aguja de 21G x 1 ½" se tomó 5 ml muestra sanguínea de la vena cefálica (Anexo 6).
- La muestra fue colocada en tubos al vacío (BD Vacutainer®), sin anticoagulante.
- Los tubos fueron rotulados con códigos consecutivos, asignado a cada animal.
- Los mismos fueron conservados en refrigeración (4°C) hasta el laboratorio.

e) Obtención del suero y envío de la muestra

- Las muestras fueron centrifugadas en un laboratorio privado, donde se obtuvo el suero mediante centrifugación a 1 500 a 2 000 rpm por 5 a 10 minutos.
- El suero fue colocado viales estériles de 1, 8ml (Crioviales Nalgene®) con la ayuda de un pipeta calibrada estéril.

- Las muestras fueron rotuladas y conservadas en un tanque de nitrógeno líquido de 6L (Dry Shipper®).
- El contener criogénico con las muestras fueron enviadas por vía aérea a la Ciudad de Lima para su análisis.

g) Análisis de la muestra

- Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio del Centro de Ornitología y Biodiversidad en la Ciudad de Lima.
- Para este fin se utilizó el Kit ELISA SNAP 4Dx® (Idexx Laboratories®) que miden los niveles de anticuerpo (IgG) contra *E. canis* y/o *E. ewingii*, este último no tiene distribución en el Perú. Esta prueba tiene una sensibilidad alta de 96,2 % y una especificidad del 100% (48).
- El procedimiento se realizó acorde a las instrucciones del laboratorio para el respectivo test:
 - Si los componentes están almacenados refrigerados, esperar a que se equilibren a temperatura ambiente (18 a 25 °C) durante 30 minutos. No calentarlos.
 - Con la pipeta del kit, verter 3 gotas de muestra en un tubo de ensayo nuevo.
 - Agregar 4 gotas de conjugado al tubo de ensayo sosteniendo la botella en posición vertical.
 - Tapar el tubo de ensayo y mezclarlo a fondo invirtiéndolo entre 3 y 5 veces.
 - Colocar el dispositivo sobre una superficie horizontal.
 - Agregar todo el contenido del tubo de ensayo en el pocillo de muestras, teniendo cuidado de no verter el contenido fuera de dicho pocillo.
 - La muestra fluirá por la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en aproximadamente 30 a 60 segundos. Es posible que quede algún resto de la muestra en el pocillo.
 - En cuanto aparezca color en el círculo de activación, presionar el activador con firmeza hasta que quede al ras con el cuerpo del dispositivo. Es posible,

que alguna muestra no fluya hacia el círculo de activación dentro de los 60 segundos y, por lo tanto, el círculo no se coloreará.

- En ese caso, presionar el activador después de que la muestra haya fluido por la ventana de resultados.
- Leer los resultados del análisis cuando hayan pasado 8 minutos. Puede ocurrir que el punto del control positivo, desarrolle antes el color, sin embargo, la prueba no se habrá completado hasta que no pasen los 8 minutos.

h) Análisis de los resultados

- Siguiendo las indicaciones del fabricante, una muestra positiva se considera cuando se desarrolla un color en el punto del control positivo y en el punto de muestra para *Ehrlichia* spp., esto indica la presencia de anticuerpos (48).
- Una muestra negativa es cuando sólo se produce color en el punto del control positivo (Anexo 7) (48).
- Los resultados obtenidos fueron llenados en una ficha de resultados, para luego obtener las principales conclusiones.

3.5 Diseño estadístico

Se realizó el análisis de porcentual de los individuos positivos para hallar la presencia de anticuerpos e infestación de garrapatas, teniendo en cuenta la siguiente fórmula:

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Número de canes positivos}}{\text{Número total de canes}} \times 100$$

IV. RESULTADOS

Al analizar los 30 canes domésticos (*Canis familiaris*) de la Comunidad Nativa Ese'Eja de Infierno se halló que el 3,33% (1/30) fue positivo a títulos contra *Ehrlichia* spp. (Cuadro 1). El único animal positivo fue un cachorro hembra de 7 meses de edad.

Cuadro 1. Presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia* spp. en canes domésticos (*Canis familiaris*) de la Comunidad Nativa Ese'Eja de infierno en el departamento de Madre de Dios.

| Sexo | Animales | | Frecuencia |
|--------|----------|----------|------------|
| | N | Positivo | (%) |
| Hembra | 11 | 01 | 9,10 |
| Macho | 19 | 00 | - |
| Total | 30 | 01 | 3,33 |

Además, se halló la frecuencia de garrapatas en los animales estudiados (Cuadro 2). Ninguno presentó sintomatología clínica compatible con Erlichiosis canina, solo el 10% (3/30) mostraron mucosas pálidas y condición corporal baja, pero ninguno de ellos fue positivo *Ehrlichia* spp. ni presentó garrapatas. Todos los animales presentaron un comportamiento de vagabundeo y el 10% (3/30) acompaña a sus dueños en la actividad de caza (“mitayero”).

Cuadro 2. Infestación de garrapatas en canes domésticos (*Canis familiaris*) de la Comunidad Nativa Ese'Eja de infierno en el departamento de Madre de Dios.

| Sexo | Animales | | Frecuencia |
|--------|----------|----------|------------|
| | N | Positivo | (%) |
| Hembra | 11 | 02 | 18,18 |
| Macho | 19 | 05 | 26,32 |
| Total | 30 | 07 | 23,33 |

V. DISCUSIÓN

Estudios sobre la presencia de *Ehrlichia* spp. en alguna comunidad del departamento de Madre de Dios no habían sido realizados con anterioridad; con el presente estudio se reporta la presencia de *Ehrlichia canis* y/o *Ehrlichia ewingii* en canes de la Comunidad Nativa EseÉja de Infierno.

En el presente estudio se encontró una presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* y/o *Ehrlichia ewingii* en el 3,33% (1/30) de los canes estudiados, menor a otros estudios internacionales realizados en los países de Chile 16,6% (6/36) (27), México 81,66% (49/60) (25) y Venezuela 77,3% (85/110) (2); y en Perú, en las ciudades de Huánuco 51,3% (77/150) (4), Trujillo 55% (11/20) (28) y Lima 15,71% (22/140) (20). Estas diferencias de prevalencias pueden deberse a la sensibilidad de la prueba utilizada o a los factores de riesgo tales como infestación de ectoparásitos, época del año, estilo de vida, sexo, edad, raza entre otros.

En Venezuela, se utilizaron tres pruebas para el diagnóstico de Erlichiosis, al igual que en este estudio se utilizó SNAP 4Dx Idexx® 77,3 % (85/110) y adicionalmente se realizó la detección molecular, mediante IFI 45,2 % (4/31) y PCR 51,6% (16/31) (2); mostrando una diferencia en el uso de pruebas para *E.canis*. El uso del Kit SNAP 4Dx Idexx ®, mostró mayor sensibilidad en ese estudio, prueba utilizada además en la Ciudad de Trujillo (28), esto podría deberse a que las pruebas moleculares pueden presentar falsos negativos ya que no tienen tanta sensibilidad en la fase crónica de la enfermedad, por ende, no deben suplir las pruebas serológicas, deberán considerarse complementarias (51). El uso de pruebas rápidas puede darnos falsos negativos si los títulos de anticuerpo son demasiado bajos. En Chile, utilizó la prueba de ELISA

InmunoComb Biogal®, la cual permite determinar con títulos inferiores a 1:80 (1:20-1:40) permitiendo diagnosticar si el paciente tuvo exposición previa al agente o presenta una reacción leve a *Ehrlichia canis* (60), a pesar de esto se encontró una prevalencia de 16,6% (6/36), pero fue relacionado a la baja presencia de garrapatas (27).

A diferencia a la prueba utilizada en la ciudad de Huánuco, en donde hallaron una prevalencia alta (51,3%, 77/150) utilizando la prueba de Inmunoensayo Cromatográfico Bionote ® (4), que es menos eficaz pero la prevalencia estaría relacionado con la presencia de factores de riesgo mencionados anteriormente. Céspedes y col, compararon la eficacia de esta técnica con la prueba SNAP 4Dx Idexx ® y concluyó que el ensayo de inmunocromatografía brindó falsos positivos en comparación con la prueba Snap 4Dx Idexx ® (28).

Es necesario considerar que la prueba SNAP 4Dx Idexx®, utilizada en el presente estudio, determina los niveles de anticuerpo contra o frente *E. canis/E ewingii*. Sin embargo, *E. ewingii* se tiene como vector *Amblyoma americanum* y una distribución exclusiva en los Estados Unidos (7).

Un factor indispensable para la infección de *E. canis*, es la presencia de la garrapata vector. En el presente estudio se encontró un porcentaje bajo de infestación, 23,33% (7/30), que podría explicar la baja prevalencia de *E. canis*. Al igual que el estudio llevado a cabo en canes de Chile, la prevalencia de 16,6% (6/36) fue relacionada una baja frecuencia de garrapatas 8% (3/36) (27). Otros estudios han encontrado una relación entre la alta presencia de *E. canis* y la infestación de garrapatas, como el estudio realizado en Venezuela que encontró cerca de 500 garrapatas en 76 perros estudiados 69% (76/110) (2) y en México donde encontraron infestados de garrapatas 43 de los 49 pacientes analizados (25).

En el Perú, la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* es el vector conocido para *E. canis* (11). Sin embargo, poco se conoce sobre la riqueza de garrapatas en nuestra Amazonia. En el presente estudio, se encontró *R. sanguineus* y otras del género *Amblyoma* spp. en los canes de la comunidad. No obstante, son necesarios mayores estudios en busca de conocer la transmisión o adquisición de garrapatas en esta comunidad.

Es necesario considerar los factores ambientales que favorecen la presencia del vector, las condiciones climáticas y la humedad ambiental favorecen el proceso de incubación de huevos de *R. sanguineus*, de 20 a 30 °C (21) y un rango de humedad ambiental de 20 a 93% (22). El lugar de estudio presenta un clima tropical con temperaturas que oscilan entre 24 a 30° y durante la época húmeda (noviembre a marzo) con mayores precipitaciones, brindando condiciones óptimas para el vector, pero debido a la disponibilidad de posibles hospederos del lugar estos podrían elegir una gama de mamíferos domésticos y/o silvestres.

Los animales estudiados no presentaron sintomatología sospechosa de *E. canis*, disminuyendo la posibilidad de encontrar animales positivos. En México, se analizaron pacientes caseros con sintomatología sospechosa a ehrlichiosis encontrando una alta prevalencia 81,66% (49/60) (25) y en el Perú (Ciudad de Huánuco) en el cual se reportó una prevalencia de 51,3% (85/110) en pacientes en mal estado de salud e infestados de garrapatas (4). Además, se observó que solo el 10% (3/30) se encontraron bajo de peso y con mucosas pálidas, que podrían tener su sistema inmunitario debilitado, sin embargo ninguno de ellos fue positivo a *E. canis*. Los animales inmunodeficientes desarrollan manifestaciones clínicas más graves, debido a que presentan más mórulas circulantes (20). El animal encontrado positivo en este estudio con aparente buen estado de salud, estaba infestado de garrapatas.

Los canes en este estudio fueron en su mayoría cachorros (menor de 1 año) y adultos menores de 2 años, siendo un factor de riesgo a considerar. En la Ciudad de Lima, se determinó como un factor de riesgo los canes mayores de 2 a 4 años (23) y en Huánuco los perros de edad adulta (4). La muestra del estudio, obedece a distribución normal de la población de canes en la comunidad, caracterizada por animales jóvenes, lo que se debería a la escasa atención veterinaria y la pobre tenencia de los mismos. En la Ciudad de Lima, comparando tres distritos, se asoció la prevalencia de *E. canis* con la falta o poco control sanitario brindado en los canes (20); además, en la ciudad de Huánuco se asoció con el mal estado de salud de los canes (4). A pesar de esto, no se observó una alta prevalencia en este estudio.

Además, otro factor de riesgo de la Erlichiosis canina es el estilo de vida callejero que se considera determinante en la transmisión de la enfermedad (2, 25). A pesar que los canes estudiados presentaban este tipo de comportamiento, no se encontró una alta presencia de *E. canis*. No solo caminaban en la periferia su hogar, sino que el 10% (3/30) eran “mitayeros” es decir acompañan y asisten en la actividad de caza de animales silvestres. Al ingresar a bosques naturales puede ocurrir la transmisión del vector y/o de la enfermedad a lugares silvestres y/o traer consigo hacia la comunidad. Sin embargo, es necesario realizar mayores investigaciones para determinar el ciclo biológico de *Ehrlichia canis* en ésta comunidad nativa.

Por último, como es conocido que la ehrlichiosis canina tiene un alto potencial zoonótico (7). La presencia de 3,3 % de anticuerpos contra *Ehrlichia* spp. en la comunidad nativa Ese´Eja de Infierno implica un bajo riesgo de transmisión, no obstante, es necesario dirigir esfuerzos en busca de identificar el vector y hospederos de este agente.

VI. CONCLUSIONES

- Se encontró que el 3,33% (1/30) de los canes domésticos de la Comunidad Nativa Ese'Eja de infierno en el departamento de Madre de Dios fueron positivos a la presencia de anticuerpos frente *Ehrlichia* spp.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar el tratamiento en el can encontrado positivo. Así como, realizar controles sanitarios de desparasitación interna y externa desde cachorros para prevenir la infestación de ectoparásitos, y la futura transmisión de enfermedades.
- Establecer programas preventivos de zoonosis y fomentar campañas de concientización de tenencia responsable de mascotas en la comunidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chavera A., Vlera F., Samamé H. Ehrlichiosis Canina en el Perú. Anales del VII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, 1982; Ica, Perú.
2. Martínez M., Arraga C., Triana F., Ruiz J., Gutierrez C, et al. Estudio serológico y molecular de Ehrlichia canis en perros de una comunidad del estado Aragua, Venezuela. Rev Investig Vet Perú. 2015;26(4):648-656.
3. Nivaldo da Silva J., do Bom Parto A., da Cruz Boa E., Gomealves A., Ferreira L., Moura D., et al. Seroprevalencia de anticorpos anti-*Ehrlichia canis* en caes de Cuiabá, Mato Groso. Rev Bras Parasitol Vet Jaboticabal. 2010;19(2):108-111.
4. Huerto E., Dámaso B. Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Rev Perú Med Exp 2015;32(4):60-756.
5. Walker JS, Rundquist JD, Taylor R, et al. Clinical and clinicopathologic findings in tropical canine pancytopenia. J Am Vet Med Assoc 1970;157:43–55.
6. Waner, T. y Harrus, S. Ehrlichiosis monocítica canina. En: Carmichael, L, ed. Recent Advances in Canine Infectious Diseases. Publisher: International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA. p. 150-300. 2000.
7. Ettinger S., Feldman E.,. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del perro y gato. 2 vols. 5a ed. Argentina: Intermédica. p. 297- 299; 2002.
8. Rikihisa Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. Clin Microbiol Rev 1991;4:286–308.
9. Greene C. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da ed. México DF: Mc. Graw-Hill Interamericana. p.153- 167. 2000.

10. Ewing SA, Dawson JE, Panciera RJ; Mathew JS; et al. Dogs infected with a human granulocytotropic *Ehrlichia* spp. (Rickettsiales:Ehrlichiae). J Med Entomol. 1997; 6: 710-718.
11. Liberato W. Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. [Tesis para optar al grado de Bachiller en Medicina Veterinaria]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria.1998.
12. Vasquez F., Cordero M. Parasitología General. Madrid: Mc Graw-Hill-Interamericana.1999.
13. Reardon, M. J., Pierce, K. Acute experimental canine ehrlichiosis. Vet. Pathol. 1981.18:48-61.
14. Rikihisa, Y. The tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. Clin Microbiol Rev. 1991;4:300-310.
15. Borjesson D., Simon S., Hodzic E., Ballantyne C., Barthold S. Kinetics of CD11b/CD18 upregulation during infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis in mice. Lab Invest. 2002;82(3):303-311.
16. Feng H., Walker D. Mechanisms of Immunity to *Ehrlichia muris*; a Model of Monocytotropic Ehrlichiosis. Infect Immun. 2004;72(2):966-971.
17. Klein M., Hu S., Chao C., Goodman J. The agent of human granulocytic ehrlichiosis induces the production of myelosuppressing chemokines without induction of proinflammatory cytokines. J Infect Dis. 2000;41(6):263-265.
18. Ristic, I. 1998. La base de la Inmunología: Inmunidad innata e Inmunidad adquirida específica. En: Roitt, I., eds. Inmunología Fundamentos. Editorial Médica Panamericana. p. 3- 39.
19. Woddy BJ, Hoskins JD. Ehrlichial diseases of dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1991; 21:75–98.
20. Adrianzen J, Chavez A, Casas E, Li O. Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. Rev Inv Vet Peru.2003;14(1):43-8.
21. Dautas Torres F. Biology and ecology of the brown tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Vet Parasitol. Doi: 2004;80(2):66-71.

22. Alcaíno H., Gorman T., Jiménez F. Ecología del *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la región metropolitana de Chile. Arch Med Vet. 1990;22(2):159-68.
23. Contreras A., Gavidia C., Li O., Diaz D., Hoyos L. Estudio retrospectivo de caso-control de Ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos del 2002-2005. Rev. Inv. Vet. Perú 2009;20(2):270-276.
24. Cartagena L., Rios L., Cardona J. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. Rev Med Vet. 2015;(29):51-62.
25. Leal M. Presencia de Anticuerpos contra *Ehrlichia canis* en perros sospechosos en el Municipio de Cajeme, México; por medio de la técnica de Inmunofluorescencia indirecta. [Tesis para optar al título profesional de Médico Veterinario]. México. 2014.
26. Chetan Parmar, Riddhi Pednekar, Anant Jayraw, Muku Leshgatne. Comparative diagnostic methods for canine ehrlichiosis. Turk J Anim Sci. 2013; 37:282-290.doi:10.3906/vet-1201-12.
27. Weinborn R., Toro I., Leporati M., Castillo D. Hallazgos serológicos de *Ehrlichia spp.* en caninos de la ciudad de Talca, Chile. Hospitales Veterinarios 2012; 4 (2).
28. Céspedes H. I. Eficacia del test rápido Anigen® (Inmunocromatográfico) frente al Snap 4Dx Idexx® (Elisa), en el diagnóstico de ehrlichiosis canina en el distrito la Esperanza, Trujillo, Perú. [Tesis para optar el título de Médico Veterinario]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego. 2014.
29. Theis, J. H., and Budwiser, P.D. 1997. *Rhipicephalus sanguineus* sequential histopathology at the host-arthropod interface. Exp Parasitol. 1997;36(1):77-105.
30. Neer, T. 2000. Ehrlichiosis monocítica y granulocítica caninas. En: G. E. Greene, ed. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Mc. Graw-Hill Interamericana México.p153-162.
31. Gershwin L. J.; Krakowka, S.; Olsen, R. G. 1995. Cytokines. In: Immunology and immunopathology of domestic animals, 2nd ed. Mosby, St. Louis, p40-46.

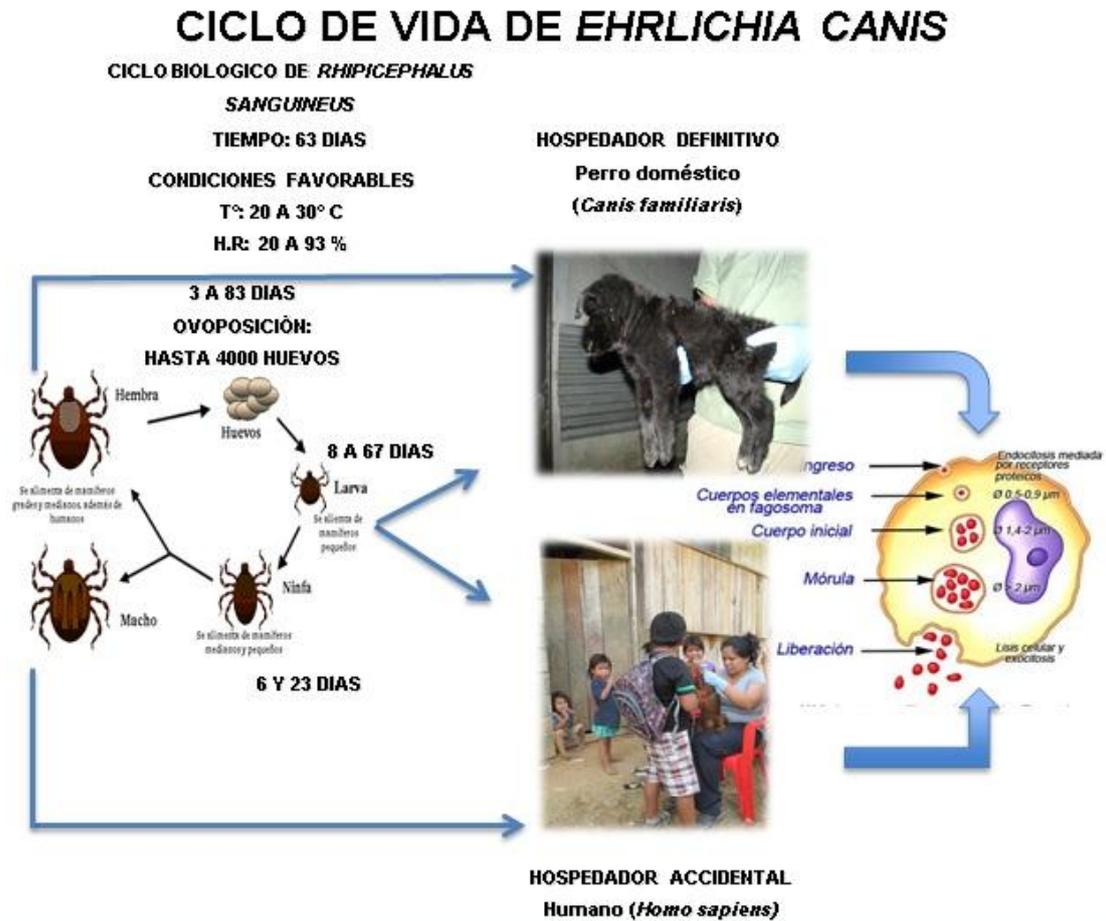
32. Breidtschwerdt, E. B.; Woody, B. J.; Zerbe, C. A.; De Buyscher, E. V., Barta, O. Monoclonal gammopathy associated with naturally occurring canine ehrlichiosis. *J Vet Intern Med* 1987;1(1):2-9.
33. Harrus, S.; Aroch, L.; Lavy, E., and Bark, H. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet Rec* 1997; 141(10):247-250.
34. Woody, B.; Bitsaktsis, C.; Nandi B.; McBride J., Winslow G. Essential Role for Humoral Immunity during Ehrlichia Infection in Immunocompetent Mice *Infect. Immun.* 2005; 73:8009-8016.
35. Harrus S., Waner T., Weiss D., Keysary A., Bark H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol* 1996;51(1-2):13-20.
36. Buhles W.; Huxsoll, D., Ristic M. Tropical canine pancytopenia: clinical, hematologic, and serologic responses of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. *J Infect Dis.* 1977;130:357-367
37. Greene, R. T. 1997. Ehrlichiosis canina: Implicaciones clínicas de factores humorales. En: ed. *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 12 va ed. Mc Graw – Hill Interamericana. México. p 317-320.
38. Buhles W., Huxsoll D., Hildebrandt P. Tropical canine pancytopenia: Role of aplastic anaemia in the pathogenesis of severe disease. *J Comp Path* 1975;85:511-21.
39. Harrus S., Waner T., Avidar Y.; Bogin E.; Peh H., Bark H. Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. *Vet Parasitol* 1996;66(3-4):241-249.
40. Harrus S, Waner T, Weiss D., Keysary A., Bark H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol* 1996;51(1-2):16-18.
41. Waner T., Harrus S., Bark H., Bogin E., Avidar Y., Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Veterinary Parasitology* 1997;69(3-4), p. 307-317.
42. Sainz A., Amusatogui L; Rodriguez F., Tesouro M. A. La ehrlichiosis en el perro: presente y futuro. *Vet Parasitol* 2000;80(2):120-140

43. Harrus S., Ofri R., Aizenberg I., Waner T. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. *Vet Parasitol* 1998;78(2):155-160.
44. Ettinger S., Feldman E. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del perro y gato. 2 vols. 5a ed. Argentina: Intermédica. p. 445- 455; 2002.
45. Sainz A. Aspectos clínicos y epizootológicos de la ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb. [Tesis Doctoral]. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina Veterinaria, 1996.
46. Breitschwerdt EB. El rol emergente de las enfermedades transmitidas por garrapatas a los animales domésticos. *Rev Med Vet.* 1998;80: 6-7.
47. Da Costa Vieira RF, Welker A, Sa AM, Pires A, Pires R, Hermes L, et al. Ehrlichiosis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2011;20(1):1-12.
48. Idexx Laboratories S. L. [Página principal en internet]. Barcelona: [actualizado 01 Nov 2012, citado 14 Jun 2016; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.idexx.es/smallanimal/inhouse/snap/4dx.html>
49. Stubbs C. J., Holland C., et al. Feline ehrlichiosis. *Compend Cont Educ Pract Vet* 2000; 22:307-17.
50. Torello W. Microscopic and clinical evidence for *Anaplasma*, *Ehrlichia phagocytophilum* infection in Italian cats. *Vet Rec* 2005;156(24):4-772.
51. Birchard S., Sherding R. Manual clínico de pequeñas especies. México D.F.: Mc Graw Hill, Interamericana; 1996. p.146-147.
52. Sellon R. K. Update on molecular techniques for diagnostic testing of infectious disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2003;33(4):677-693.
53. Shaw. D., Rubin , S. Pharmacologic activity of doxycycline. *J Am. Vet Med Assoc.* 1986; 189(7):808-810.
54. Gravino AE, Caprariis D, Manna L, Cerundolo R. Preliminary report of infection in dogs related to *Ehrlichia equi*: description of three cases. *New microbiol.* 1997;20(4):361-363.
55. Birchard S., Sherding R. Manual clínico de pequeñas especies. México D.F.: Mc Graw Hill, Interamericana; 1996. p.147- 150.

56. Heredia J.M. Enfermedades infecciosas. 3ª ed. México D.F: Mc Graw Hill, Interamericana; 1998. p. 298- 304.
57. Tilley L.P, W. K. Francis, Jr, Smith. 1997. La consulta veterinaria en 5 minutos. Panamericana, Buenos Aires, Argentina. p. 548-549.
58. Tilley L.P, W. K. Francis, Jr, Smith. 1997. La consulta veterinaria en 5 minutos. Panamericana, Buenos Aires, Argentina. p. 550.
59. Gerardo A. Medicina de la conservación: demografía de las poblaciones de perros en Chile y su impacto en la transmisión de patógenos a carnívoros silvestres. [Tesis para optar el título de Médico Veterinario]. Viña del Mar: Universidad Nacional Andrés Bello, 2011.
60. Biogal Galed Labs. [Página principal en internet]. Israel: [actualizado 30 Oct 2007, citado 25 May 2016; [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.biogal.co.il/50ceh201-50ceh210>

ANEXOS

ANEXO 1

Fig.: Ciclo de Vida de *Ehrlichia* spp.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 2

Cuadro 1: Estudios Internacionales sobre *E. canis*.

| AUTOR | PAIS, AÑO | PRUEBA UTILIZADA | RESULTADOS |
|-----------------|------------------------|--|----------------------------------|
| Acosta | México, 2004 | Inmunofluorescencia Indirecta | 49/60 |
| Weinborn y col | Talca, Chile, 2011 | Elisa Inmunocomb Biogal® | 16,6% 6/36 |
| Parmar y col | India, 2013 | Elisa Inmunocomb Biogal® PCR Frotis Sanguíneo | 21/40 3/40 1/40 |
| Calvache | Ecuador, 2014 | Elisa Snap 4dx Plus Idexx ® | 7/100 |
| Cartagena y col | Colombia, 2012 Al 2014 | Elisa Snap Idexx ® <i>E. Canis</i> Ab Inmunocromatografía Bionote ® | 24,8% (194/781) |
| Martínez y col | Venezuela, 2015 | Inmunofluorescencia Indirecta PCR | 77,3% (85/110) 45,2% (50/110) |

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 3

Cuadro 2. Estudios nacionales sobre *E. canis*.

| AUTOR | LUGAR – AÑO | PRUEBA UTILIZADA | RESULTADOS |
|-----------------|--------------------------|---|-----------------------------|
| Contreras y col | Lima, Perú, 2002 Al 2005 | Elisa Snap 3dx Idexx Labs | 50 positivos 100 control |
| Adrianzén y col | Lima, Perú, 2002 | Elisa Snap Combo Canino | 22/140 |
| Hoyos s | Lima, Perú, 2005 | Examen Hematológico Prueba Indirecta De Elisa Idexx (IgG) | 73/77 |
| Céspedes | Trujillo, Perú, 2014 | Test Rápido Inmunocromatografía Elisa Snap 4dx Idexx ® | 15/20 11/20 |
| Medina y Dámaso | Huánuco, Perú, 2015 | Elisa Inmunocomb Biogal ® | 77/150 |

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 4

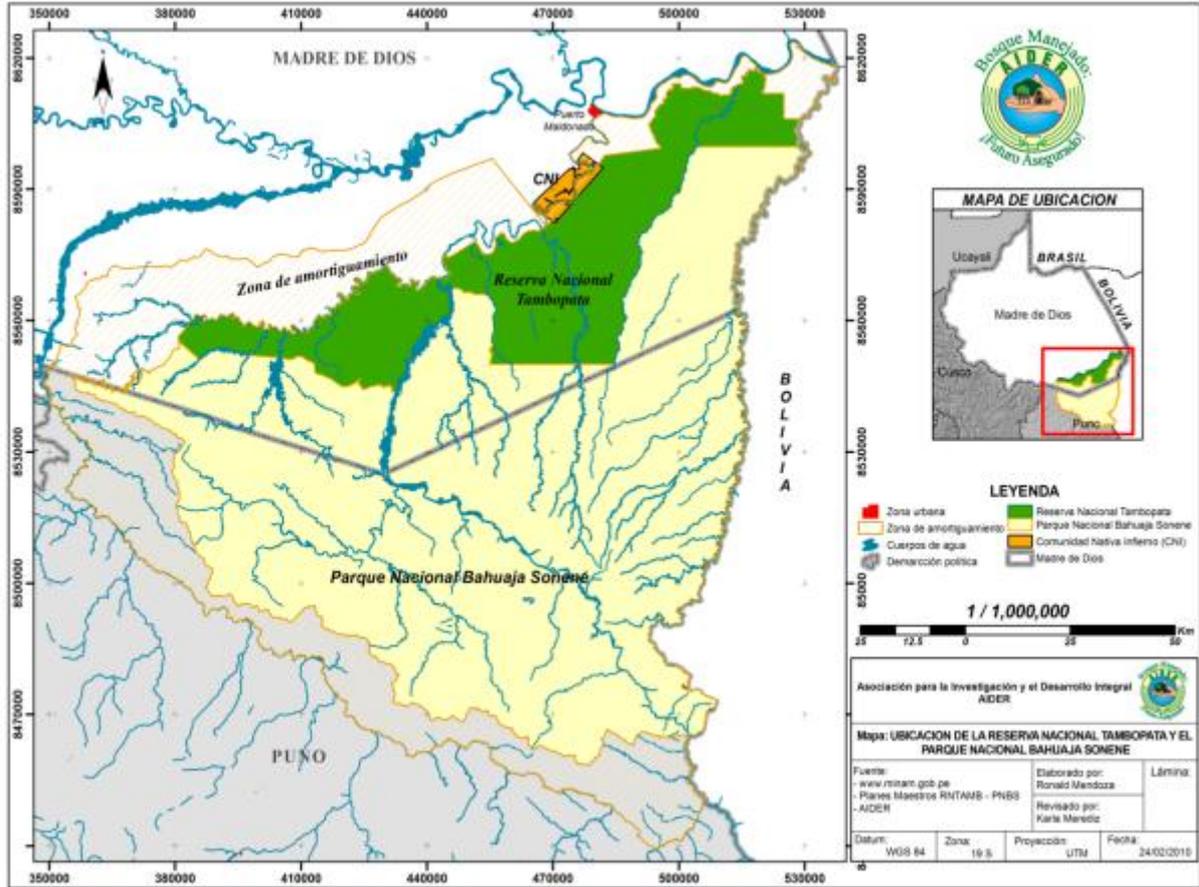


Figura 1: Ubicación de la comunidad nativa Ese'ija de infierno

Fuente: AIDER, 2015

ANEXO 5



Fig 2: Evaluando al paciente e ingreso de datos.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 6



Fig. 3 Toma de muestra sanguínea a un perro.

Fuente: Elaboración propia, 2016.

ANEXO 7

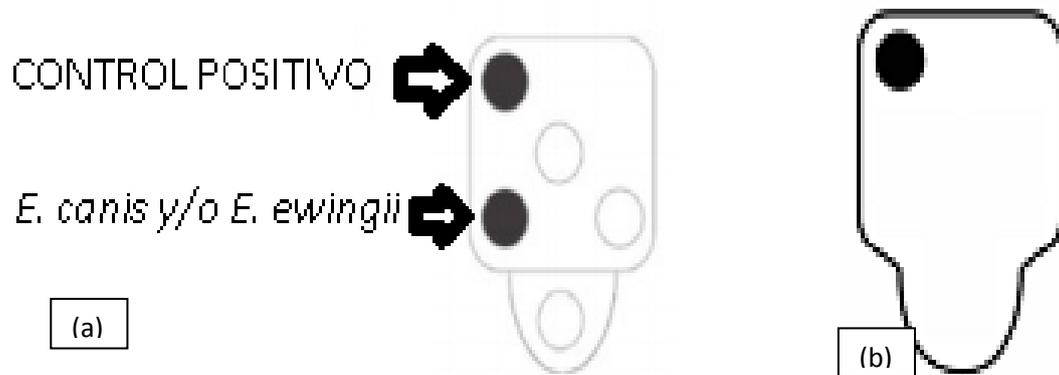


Fig. 4: (a) Resultado positivo es cuando se desarrolla color en el punto de control positivo y en el punto de muestra para *E. canis* y/o *E. ewingii*. (b) Resultado negativo es cuando solamente se produce color en el punto de control positivo.

Fuente: Idexx Laboratories, 2015.