

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

ESCUELA DE POSGRADO



**PREVALENCIA DE *Anaplasma spp* Y *Ehrlichia spp* EN
CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y
FACTORES ASOCIADOS**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: MEDICINA VETERINARIA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA
VETERINARIA**

TESISTA: WALTER RICHARD TASAYCO ALCANTARA

ASESOR: DR. PIO TRUJILLO ATAPOMA

HUÁNUCO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Esta Tesis y el Grado de Doctor obtenido, lo dedico a mi amada familia, quienes fueron el motivo de mi esfuerzo por cumplir mi objetivo.

En especial a mi adorada Abigail, quien siempre me impulsó a lograr la meta, y siempre se sacrificó para que yo pueda alcanzar mis sueños; incluso cuando quise realizar el Doctorado en la UNMSM, logré culminarlo, pero las circunstancias hicieron que obtuviera el Grado en la UNAEVAL.

AGRADECIMIENTO

Gracias a los docentes del Doctorado de la UNMSM, por su amistad y por las buenas experiencias transmitidas durante mis estudios; en especial al Dr. Raúl Rosadio Alcántara, Dr. César Gavidia Chucán y Dr. Felipe San Martín Howard, por su motivación y aliento, fue un privilegio tenerlos como docentes. Gracias también a la Alta Dirección y a la EPQ de la UNHUVAL, por todo su apoyo en la obtención del Grado de Doctor; en especial al Dr. Reynaldo Ostos Miraval, Dr. Ewer Portocarrero Merino, Dr. Amancio Rojas Cotrina y Dr. Pío Trujillo Atapoma.

Gracias al Dr. Néstor Falcón Pérez de la UPCH, gran amigo cuyo aporte fue clave en la culminación del presente trabajo. Gracias a los Bachilleres Jakeline Meza Domínguez y Kenji Aliaga Zevallos, cuya colaboración en la parte práctica de la Tesis fue muy importante.

Gracias a todos los alumnos que tuve durante mis 30 años de docente, y a los colegas de la FMEB de la UNHUVAL, por enseñarme muchas experiencias que me ayudaron a crecer como profesional y persona.

Agradezco a Dios, a mis queridos padres, hermanos, mi esposa, mis hijas y mi nieto, quienes siempre fueron inspiración, apoyo y fortaleza.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de *Anaplasma* y *Ehrlichia* en caninos domésticos de los distritos de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca, que acudieron a tres Centros Veterinarios por presentar síntomas de enfermedad. Para ello se seleccionó en forma intencional a 100 perros, a quienes se extrajo muestras de sangre para realizar análisis hematológico y una prueba inmunocromatográfica doble que detecta anticuerpos de *Anaplasma* y *Ehrlichia*, además de aplicar un cuestionario a los propietarios, entre mayo y octubre de 2020. De los 100 perros, el 61% (61/100) fue positivo a *Anaplasma*, el 85% (85/100) a *Ehrlichia*, y en el 55% (55/100) de los perros existió coinfección con ambos patógenos. El hemograma de los perros positivos a *Ehrlichia sp.* y *Anaplasma sp.*, presentaron anemia, leucopenia y trombocitopenia. Los hallazgos encontrados a partir de este estudio muestran una alta prevalencia y endemidad de *Ehrlichia sp.*, se confirma por primera vez la coinfección de *Anaplasma sp.* + *Ehrlichia sp.*, en Huánuco. El análisis estadístico demuestra que existe asociación entre la positividad a *Ehrlichia* y los perros de raza, también con la trombocitopenia, y con el signo clínico de mucosas pálidas en los perros ($p \leq 0.05$). Asimismo, estadísticamente hubo una leve asociación entre los positivos a *Anaplasma* y su domicilio en Pilcomarca; y también entre los positivos a *Ehrlichia* y la disminución de los valores de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito (anemia). Se concluye que la prevalencia de *Anaplasma* y *Ehrlichia* en el presente estudio es muy alto, y se identificó casos de coinfección con *Anaplasma* + *Ehrlichia*.

Palabras clave: Anaplasmatataceae, Enfermedades Transmitidas por vectores, Hematología, Prevalencia, Zoonosis.

ABSTRACT

The present study aimed to determine the prevalence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* on domestic canines of the Huánuco, Amarilis and Pilcomarca districts, that came to three Veterinary Centers on the basis of visible signs of disease. To this end a selection was made intentionally 100 dogs, from whom blood samples are drawn to perform haematological analysis and double immunochromatographic test that detects antibodies of *Anaplasma* and *Ehrlichia*, in addition to applying a questionnaire to the owners, between may and october 2020. Of the 100 dogs, the 61% (61/100) was positive to *Anaplasma*, the 85% (85/100) to *Ehrlichia*, and in the 55% (55/100) of the dogs existed coinfection with both pathogens. The haemogram of the positive dogs *Anaplasma* y *Ehrlichia* presented anemia, leucopenia and thrombocytopenia. The findings found from this study show a high prevalence and endemicity of *Ehrlichia*, is confirmed for the first time the coinfection of *Anaplasma* + *Ehrlichia* in Huánuco. The statistics analysis shows that there is an association between the *Ehrlichia* positivity and purebred dogs, also with thrombocytopenia, and with the clinic sign of pale mucous membranes in the dogs ($p \leq 0.05$). Likewise, there was a slight association between *Anaplasma* positives and your domicile in Pilcomarca; and also between the *Ehrlichia* positives and the decrease in values of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit (anemia). It is concluded that the prevalence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in the present study it is very high, and cases were identified of coinfection with *Anaplasma* + *Ehrlichia*.

Key words: Anaplasmatataceae, Vector-borne diseases, Hematology, Prevalence, Zoonoses

RESUMO

Este estudo visou determinar a prevalência de *Anaplasma* e *Ehrlichia* em caninos domésticos nos distritos de Huánuco, Amarilis e Pilcomarca, que frequentaram três Centros Veterinários para sintomas de doença. Para tal, foram selecionados intencionalmente 100 cães, que foram extraídos amostras de sangue para testes hematológicos e um teste imunocromatográfico duplo que deteta anticorpos de *Anaplasma* e *Ehrlichia*, bem como a aplicação de um questionário aos proprietários, entre maio e outubro de 2020. Dos 100 cães, 61% (61/100) foram positivos para a *Anaplasma*, 85% (85/100) para o *Ehrlichia*, e em 55% (55/100) dos cães houve coinfeção com ambos os agentes patogênicos. A contagem de sangue dos cães positiva para *Ehrlichia* sp. *anaplasma* sp., tinha anemia, leucopenia e trombocitopenia. Os resultados deste estudo mostram uma elevada prevalência e endêmica de *Ehrlichia* sp., a coinfeção de *Anaplasma* sp' está confirmada pela primeira vez. + *Ehrlichia* sp., em Huánuco. A análise estatística mostra que existe uma associação entre a positividade à *Ehrlichia* e os cães de raça, também com trombocitopenia, e com o sinal clínico de membranas mucosas pálidas em cães ($p \leq 0,05$). Além disso, estatisticamente houve uma ligeira associação entre os positivos ao *Anaplasma* e o seu domicílio em Pilcomarca; e também entre os positivos para a *Ehrlichia* e a diminuição dos valores dos eritrócitos, hemoglobina e hematocrit (anemia). Conclui-se que a prevalência de *Anaplasma* e *Ehrlichia* em no presente estudo é muito alto e foi identificado casos de coinfeção com *Anaplasma* + *Ehrlichia*.

Palavras-chave: Anaplasmataceae, Doenças Transmitidas por Vetores, Hematologia, Prevalência, Zoonosis.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
RESUMO	vi
INTRODUCCIÓN	ix
CAPÍTULO I. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1 Fundamentación del problema	1
1.2 Justificación	3
1.3 Importancia	3
1.4 Limitaciones	4
1.5 Formulación del problema	5
1.5.1 Problema general	5
1.5.2 Problemas específicos	6
1.6 Formulación de los objetivos	6
1.6.1 Objetivo general	6
1.6.2 Objetivos específicos	6
1.7 Formulación de hipótesis	7
1.7.1 Hipótesis	7
1.8 Variables	7
1.9 Operacionalización de variables	7
1.10 Definición de términos operacionales	9
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	12
2.1 Antecedentes	12
2.2 Bases teóricas	17
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	44
3.1 Ámbito	44
3.2 Población	44
3.3 Muestra	44
3.4 Nivel y tipo de estudio	46
3.4.1 Nivel de estudio	46
3.4.2 Tipo de estudio	46

3.5 Diseño de investigación	46
3.6 Técnicas e instrumentos	47
3.6.1 Técnicas	47
3.6.2 Instrumentos	48
a) Validación y confiabilidad de los instrumentos	48
3.7 Procedimiento	49
3.8 Aspectos éticos	52
3.8.1 Consentimiento informado	52
3.9 Plan de tabulación	52
3.10 Análisis de datos	52
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
4.1 Análisis descriptivo	54
4.2 Análisis inferencial	67
4.3 Discusión de resultados	68
4.4 Aporte de la investigación	70
CONCLUSIONES	72
RECOMENDACIONES	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	86
ANEXO 01. Matriz de consistencia	87
ANEXO 02. Consentimiento informado	88
ANEXO 03. Cuestionario	89
ANEXO 04. Validación de instrumentos	92

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores (VBDs), son causadas por una serie de patógenos que comprenden virus, bacterias, protozoarios y helmintos, transmitidos a perros y gatos por diferentes especies de vectores artrópodos. Las garrapatas son potenciales vectores en la transmisión de diversos patógenos tanto en animales como a humanos.

Patógenos pertenecientes a los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Babesia*, *Hepatozoon* y *Rickettsia*, causan enfermedades transmitidas por garrapatas, que son de mayor importancia en perros y gatos. Algunas de estas pueden representar una seria amenaza a la salud y bienestar animal, y constituye un desafío diagnóstico para los clínicos, debido a su amplio espectro de manifestaciones clínicas, los largos períodos prepatentes, y la ocurrencia frecuente de co-infecciones.

Un ejemplo de ello son las infecciones por ehrlichiosis y anaplasmosis que son causadas por alfa proteobacterias gram negativas de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* de la familia Anaplasmataceae, del orden Rickettsiales (Dumler, 2013; Silva et al, 2014).

Existen diferentes especies del género *Ehrlichia* que pueden infectar y producir enfermedades en perros y humanos como: *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris* y *E. canis*; esta última desde un punto de vista clínico es la de mayor importancia. Las principales células que infecta son los monocitos y algunos tipos de linfocitos y la patogénesis dura aproximadamente entre 8 a 20 días.

Los signos clínicos de la fase aguda son alteraciones hematológicas, trombocitopenia, leucopenia y anemia leve a moderada; la fase crónica se caracteriza por trombocitopenia, epistaxis, nefropatía, disnea, hepatomegalia, esplenomegalia o linfadenopatía, meningitis inflamatoria o hemorrágica, entre otros (Ismail et al, 2010)

Las bacterias del género *Ehrlichia* son transmitidas principalmente por las garrapatas del complejo *R. sanguineus*, su hábitat es peridoméstico, aunque también se pueden localizar dentro de casas; en alfombras, cortinas y muebles (Dantas Torres et al, 2006)

La anaplasmosis es una enfermedad ocasionada por la rickettsia *Anaplasma spp.* Esta bacteria se replica principalmente en leucocitos y plaquetas. La patogenia de la anaplasmosis suele presentarse de manera similar a la de ehrlichiosis y puede constar de dos fases: aguda y crónica. La primera se caracteriza por presentar fiebre, depresión, anorexia, anemia, vómito, diarrea, letargia y cojera; y la segunda se caracteriza por presentar trombocitopenia y leucopenia severa, y hemorragias internas (Santos et al, 2011)

Hoy en día estas enfermedades son reportadas cada vez más en varias regiones del mundo; sin embargo, la escasa investigación sobre estos patógenos transmitidos por garrapatas en algunas zonas de nuestros países, puede subestimar su prevalencia y distribución en países como el Perú.

En los últimos años, como resultado de la migración masiva, nuestro país ha experimentado un rápido crecimiento demográfico y también un incremento en el número de mascotas.

El Perú es un país con variedad de climas por cada región, las condiciones ecológicas y factores ambientales son propicios para el habitar y desarrollo de los diferentes vectores que intervienen en la transmisión de enfermedades y poder cumplir su ciclo biológico.

Con todos estos antecedentes, la investigación se orientó a determinar la prevalencia de *Anaplasma spp.* y *Ehrlichia spp.*, los valores hematológicos y factores asociados, en los perros de la zona urbana y periurbana de la ciudad de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca.

CAPÍTULO I

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Fundamentación del problema

Las enfermedades transmitidas por vectores que afectan a caninos y felinos (VBDs), son causadas por un amplio rango de patógenos que comprenden virus, bacterias, protozoos y helmintos, transmitidos a perros y gatos por diferentes especies de vectores artrópodos

Algunos de estos pueden representar una seria amenaza para la salud y el bienestar animal, y constituye un desafío diagnóstico para los médicos veterinarios, debido al amplio espectro de manifestaciones clínicas, los largos períodos prepatentes y la frecuente ocurrencia de co-infecciones (Alho et al., 2017)

Por ejemplo, los patógenos que pertenecen al género *Anaplasma*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Hepatozoon* y *Rickettsia*, causan enfermedad transmitida por vector, que son de mayor importancia en perros y gatos.

En la actualidad las enfermedades transmitidas por vectores (VBDs), son cada vez más reportadas en varias regiones de Europa (Baneth et al, 2012; Otranto et al., 2013). Recientes estudios han reportado que los cambios demográficos y políticos, el incremento del transporte a nivel global, la deforestación, la urbanización, la abundancia de huéspedes silvestres, alteraciones climáticas y la disponibilidad de pruebas diagnósticas de mayor precisión, pueden ser la razón para esta expansión (Otranto et al., 2013; Otranto et al., 2015)

En Europa hay reportes de la expansión de las VBDs caninas a países no endémicos, por ejemplo la dirofilariosis y la babesiosis. Sin embargo, la escasa investigación sobre patógenos transmitidos por

vectores (VBPs) puede subestimar su prevalencia y distribución en varios países.

La trombocitopenia cíclica canina es causada por *Anaplasma platys*, una bacteria intracelular obligatoria gram negativa que infecta a las plaquetas. El perro es el huésped reservorio primario para *A. platys*, y hasta la fecha no ha demostrado infectar a los seres humanos. Es transmitida por la garrapata marrón (*Rhipicephalus sanguineus*); sin embargo, los estudios de infección experimental no han demostrado concluyentemente su transmisión (Simpson et al., 1991).

Ehrlichia canis es una bacteria gram negativa, obligada intracelular, que infecta los monocitos y es el agente causal primario de la ehrlichiosis monocítica canina (Greene, 2006). *Rhipicephalus sanguineus* transmite *E. canis* a los perros, tanto transestadialmente como intraestadialmente (Stich et al., 2008). Las infecciones caninas causadas por *E. canis* son comúnmente reportadas en las regiones del sur de Estados Unidos; sin embargo *R. sanguineus* se distribuye en todo el país (Bowman et al., 2009).

Experimentalmente, la infección con *E. canis* resulta en etapas de enfermedad aguda, subclínica y crónica, con perros teniendo una variedad de signos clínicos y anormalidades de laboratorio, incluyendo fiebre, letargia, laminitis, descarga oculo nasal, trombocitopenia, anemia no regenerativa, leucopenia, hiperglobulinemia y proteinuria durante varias etapas de la infección. Siempre la infección por *E. canis* puede ser poco reconocida debido a que los perros infectados aparecen saludables hasta el final de la infección cuando aparece pancitopenia, uveítis, pérdida de peso y desórdenes hemorrágicos, haciendo el diagnóstico de ehrlichiosis (Greene, 2006).

Las infecciones por *Anaplasma* son comúnmente halladas en las mismas regiones geográficas que *E. canis*, y la evidencia a exposición o infección con ambos organismos, es a menudo detectado en el mismo

perro. Ambos organismos son hallados en todos los continentes y en todo el mundo, pero son más prevalentes en climas tropicales y subtropicales. Como la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* es vector de *Anaplasma* y *Ehrlichia*, los perros pueden infectarse en forma simultánea o secuencial. El impacto clínico de una co-infección de *Anaplasma* y *Ehrlichia* sobre la fisiopatología de la enfermedad en perros, no ha sido investigada a fondo.

1.2. Justificación

En los últimos 10 años se ha reportado un aumento en el número de perros infestados con garrapatas en diferentes ciudades de nuestro país; además de canes con síntomas compatibles con enfermedad transmitida por garrapatas (Delgado y Montoya, 2018; Tateishi et al., 2015; Rubio et al., 2011; García, 2015)

En Huánuco existe una población canina importante, que incluye a muchos perros de casa y callejeros infestados con garrapatas. Asimismo, los clínicos reportan perros con síntomas de enfermedades transmitidas por garrapatas, como fiebre, decaimiento, anemia, leucopenia y trombocitopenia; y que luego de realizar pruebas de laboratorio como observación de frotis sanguíneo y Test rápido, resultaron positivos a ehrlichiosis (Huerto y Dámaso, 2015; Tasayco et al., 2017; Tasayco et al., 2014). En estos últimos dos años hay información sobre evidencias de la presencia de otros patógenos transmitidos por garrapatas como *Anaplasma*, *Babesia*, *Dirofilaria* y *Hepatozoon*; sin embargo, aún no se reportan o no se realizan estudios rigurosos, y no se conocen aspectos importantes relacionados con la epidemiología de estos patógenos.

1.3. Importancia

El presente estudio es importante porque la Anaplasmosis y la Ehrlichiosis canina son enfermedades de distribución mundial, transmitidas por picaduras de garrapatas en áreas consideradas endémicas. Donde se han incrementado notablemente en perros y

humanos, se presentan frecuentemente en zonas tropicales y subtropicales.

La aparición de enfermedades transmitidas por garrapatas puede ser influenciada por varios factores como el cambio climático y factores antropogénicos como; urbanización, deforestación, cambios demográficos, la crisis económica, desplazamientos de personas y animales (Dantas, 2015).

La garrapata marrón del perro (*Rhiphycephalus sanguineus*) se encuentra distribuida por todo el mundo, y al poder transmitir ambos agentes patógenos, los perros pueden infectarse con ambos microorganismos en forma simultánea y esto puede impactar en la fisiopatología y en los signos clínicos de la enfermedad.

Muchas veces resulta difícil el control de las garrapatas, ya que los propietarios no utilizan productos adecuados y tampoco con la dosificación y frecuencia adecuada. Esto provoca infestaciones masivas y reinfestaciones en zonas endémicas de nuestra ciudad y alrededores.

Si bien hay un reporte del año 2015 de un estudio sobre *Ehrlichia* en Huánuco, no hay estudios sobre *Anaplasma*, ni de coinfecciones con *Ehrlichia*

No ha sido demostrada la transmisión del *Anaplasma* al ser humano; sin embargo, se han reportado casos de infección accidental por *Anaplasma* y *Ehrlichia* en humanos, lo que nos evidencia un serio riesgo para la salud pública.

1.4. Limitaciones

La ejecución de la parte práctica del estudio coincidió con la pandemia de la enfermedad por Coronavirus o COVID 19 en el Perú y muchos países del mundo, con una alta tasa de contagio en toda la población peruana, y por la que el gobierno tuvo que dictar medidas extremas para

evitar el contagio excesivo. Algunas de las más importantes son la cuarentena, la higiene personal, el lavado de manos y el distanciamiento social.

Teniendo en cuenta esta limitación, nuestro trabajo se realizó con muchas medidas de protección personal, para no exponernos al contagio de esta enfermedad, y se realizó durante dos meses, con la colaboración de Centros Veterinarios que a pesar de la pandemia, atienden animales enfermos, y así obtuvimos la colaboración del propietario, que lógicamente se rehusaba a darnos facilidades si lo visitábamos en su casa.

Asimismo, por razones económicas, el estudio comprendió perros cuyo domicilio era la zona urbana y alrededores de la ciudad de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca.

1.5. Formulación del problema

1.5.1. Problema General:

La Anaplasmosis y la Ehrlichiosis son enfermedades de distribución mundial, producidas por bacterias que son transmitidas por las garrapatas del perro. La infección dentro del animal se disemina por vía sanguínea y linfática, afectando a varios sistemas orgánicos.

Los síntomas y las lesiones son muy similares en ambas enfermedades, en algunos casos se pueden presentar coinfecciones y caninos que son negativos a *Ehrlichia*, es posible que puedan estar afectados por *Anaplasma*.

Aún no existen estudios de prevalencia de *Anaplasma* y de coinfecciones con *Anaplasma* y *Ehrlichia* en la ciudad de Huánuco, además de los valores hematológicos en ambas enfermedades, y los factores asociados a su presentación.

Por ello nos planteamos la siguiente pregunta:

- Cuál es la prevalencia, cuáles son los valores hematológicos y factores asociados a la infección por *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco ?

1.5.2. Problemas Específicos

Luego de conocer la prevalencia de *Anaplasma*, *Ehrlichia* y la posible coinfección con ambos patógenos, determinamos los valores hematológicos y los factores asociados a su presentación.

Para ello, nos planteamos las siguientes preguntas:

- ¿Cuál es la prevalencia de *Anaplasma* en perros de Huánuco?
- ¿Cuál es la prevalencia de *Ehrlichia* en perros de Huánuco?
- ¿Cuál es la prevalencia de coinfecciones con *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco?
- ¿Cuáles son los valores hematológicos en perros positivos a *Anaplasma* y *Ehrlichia* en Huánuco?
- ¿Cuáles son los factores asociados a infección por *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco?

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo general:

Conocer la prevalencia, los valores hematológicos y los factores asociados a la infección por *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco.

1.6.2. Objetivos específicos.

- Determinar la prevalencia de *Anaplasma* en perros de Huánuco
- Determinar la prevalencia de *Ehrlichia* en perros de Huánuco
- Determinar la prevalencia de coinfección con *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco
- Estimar los valores hematológicos en perros positivos a *Anaplasma* y *Ehrlichia* en Huánuco
- Identificar los factores asociados a infección por *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros de Huánuco

1.7. Formulación de hipótesis

Hipótesis

Ha: La prevalencia de *Anaplasma* y *Ehrlichia* es mayor al 1 %, los animales positivos presentan alteraciones en los valores hematológicos y existen factores asociados a las infecciones en perros con garrapatas en Huánuco.

Ho: La prevalencia de *Anaplasma* y *Ehrlichia* es menor al 1 %, los animales positivos no presentan alteraciones en los valores hematológicos y no existen factores asociados a las infecciones en perros con garrapatas en Huánuco.

1.8. Variables

Anaplasma en el canino

Ehrlichia en el canino

Anaplasma y *Ehrlichia* en el canino

Valores hematológicos en el canino

Edad

Raza

Sexo

Presencia de garrapatas en el canino

Estilo de vida del canino

Signos clínicos en el canino

1.9. Operacionalización de las variables

Variable	Definición operacional	Indicador	Técnica e instrumento	Escala
<i>Anaplasma</i>	La presencia de <i>Anaplasma</i> en los caninos determinada por el resultado del Test Inmunocromatográfico	Positivo a <i>Anaplasma</i>	Resultados de la aplicación del Test Rápido	Si o No
<i>Ehrlichia</i>	La presencia de <i>Ehrlichia</i> en los caninos determinada por el	Positivo a <i>Anaplasma</i>	Resultados de la aplicación del Test	Si o No

	resultado del Test Inmunocromatográfico		Rápido	
Anaplasma + Ehrlichia	La presencia de Anaplasma + Ehrlichia en los caninos determinada por el resultado del Test Inmunocromatográfico	Positivo a Anaplasma + Ehrlichia	Resultados de la aplicación del Test Rápido	Si o No
Valores hematológicos	Valores numéricos de los componentes sanguíneos, determinados por el resultado de la Prueba de Análisis Hematológico	Según la unidad de medida de cada uno de los componentes sanguíneos	Resultados impresos del análisis hematológico	De acuerdo a la unidad de medida
Edad	Valores numéricos de acuerdo a la información proporcionada por el propietario o por cronometría dentaria	Desde los 6 meses hasta 1 año de edad, y luego años cumplidos	Ficha de Registro de Datos	Desde los 6 meses a 1 año, 1 – 2 años, 2 a 3,etc.
Raza	De acuerdo a las características fenotípicas del individuo, e información dada por el propietario	Identidad racial (pura o cruce)	Ficha de Registro de Datos	Razas puras y mestizos
Sexo	Dato proporcionado por el propietario y de acuerdo a los genitales del individuo	Identidad sexual (macho o hembra)	Ficha de Registro de Datos	Macho y Hembra
Garrapatas	Presencia de garrapatas en la superficie corporal del perro	Conjunto de ectoparásitos (garrapatas) colectados en los animales seleccionados en el estudio.	Revisión de la superficie corporal e identificación de garrapatas	1 a 5, 5 a 10, 10 a 20 garrapatas por 10 cm ²
Estilo de vida	Define las características de la permanencia diaria (en casa o fuera de ella) de los animales incluidos en el estudio.	Se define como el lugar donde vive el perro durante el día, dentro o fuera de casa	Ficha de Registro de Datos y confirmación in situ	Dentro de casa, fuera de casa, mixto
Signos clínicos	Manifestaciones de enfermedad	Signos recolectados durante la anamnesis y exploración clínica	Técnica de anamnesis y exploración clínica	Inapetencia, fiebre, diarrea, hemorragias, vómitos, etc.

1.10. Definición de términos operacionales

Anaplasmosis.

Enfermedad infecciosa, febril, caracterizada por anemia e ictericia y presencia de anaplasma en los glóbulos rojos, destruyéndolos. La trombocitopenia cíclica infecciosa canina o anaplasmosis trombocítica es una enfermedad de tipo infecciosa causada por *Anaplasma platys*. Esta bacteria intracelular obligada, gram negativa, presenta una afinidad hacia las plaquetas de los caninos y se transmite principalmente por la picadura de garrapatas del tipo *Rhipicephalus sanguineus*.

Ehrlichiosis.

La ehrlichiosis canina es una enfermedad de los perros y humanos, producida por un microorganismo de la familia de las rickettsias llamado *Ehrlichia*. La enfermedad se transmite mediante la picadura de una garrapata y los síntomas que pueden aparecer en un perro enfermo son muy variados. Produce anemia, además de afectar a la médula ósea y al sistema inmunitario de los perros.

Garrapatas.

Ácaro de cuerpo oval de unos 6 mm de longitud que vive parásito sobre la piel de perros, aves y otros animales, incluido el ser humano; tiene cuatro pares de patas terminadas en dos uñas con las cuales se adhiere a sus huéspedes para chuparles la sangre.

Hemoparásitos.

Los hemoparásitos son una serie de organismos parásitos obligatorios de las células sanguíneas. Pueden ser bacterias como la *Rickettsia*, nematodos como las filarias o protozoos como el *Hepatozoon*. Estos hemoparásitos se transmiten a los perros a través de lo que se denominan vectores. Estos son insectos, como pulgas, garrapatas o mosquitos, que se ven infectados por los hemoparásitos y, al contactar con el perro, se los transmiten.

Vector.

Los vectores son organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas. Muchos de esos vectores son insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos junto con la sangre de un portador infectado (persona o animal), y posteriormente los inoculan a un nuevo portador al ingerir su sangre.

Valores Hematológicos.

Son los valores correspondientes a la cantidad y distribución porcentual de las distintas células de la sangre, el valor de hemoglobina y los llamados índices hematimétricos.

Anemia.

La anemia se define como una cantidad disminuida de glóbulos rojos, como una concentración disminuida de hemoglobina en la sangre, o bien como un valor de hematocrito más bajo que lo normal.

Trombocitopenia.

La trombocitopenia es cualquier situación de disminución de la cantidad absoluta de plaquetas circulantes en el torrente sanguíneo por debajo de los niveles normales.

Pancitopenia.

Es el descenso anormal de los elementos celulares de la sangre: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

Inmunocromatografía.

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección.

Prevalencia.

En epidemiología, se denomina prevalencia a la proporción de individuos de un grupo o una población, que presentan una característica o evento determinado (en medicina, enfermedades). Por lo general, se expresa como una fracción o un porcentaje. Es un parámetro útil porque permite describir un fenómeno de salud, identificar la frecuencia poblacional del mismo y generar hipótesis explicatorias. La utilizan normalmente los epidemiólogos.

Factores Asociados.

Se denominan así al conjunto de factores tanto individuales como del entorno y ambientales que determinan el estado de salud de los individuos o de las poblaciones.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Estudios relacionados a *Anaplasma*

En la ciudad de Leipzig, Alemania, se realizó una investigación en garrapatas recolectadas de cinco puntos de la ciudad, y ratones de 3 de esos lugares. Mediante PCR se extrajo el DNA de las garrapatas y de varios tejidos de los ratones, para luego realizar secuenciamiento, identificando *Babesia spp.* (4.1%) y *Anaplasma phagocytophilum* (8.7%) en la garrapata *Ixodes ricinus*, y concluyendo que los pequeños mamíferos como ratones, pueden estar involucrados en el ciclo endémico de los patógenos transmitidos por garrapatas (Silaghi et al., 2012)

En estudios realizados en perros de varias ciudades de Colombia, mediante Test IDEXX SNAP® 4 Dx®, determinaron presencia de *A. phagocytophilum* en frecuencias de 12% hasta 51% (Mc Cown et al., 2015). En cambio, usando el mismo método, en perros de un área semifría de México, la frecuencia fue de 9% (Reyes-Clímaco et al., 2020).

Se efectuaron estudios en Chile, donde se determinó la seroprevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* por medio de la prueba ELISA en caninos vagabundos de dos sectores urbanos de la Ciudad de Talca, de un total de 60 caninos muestreados, 29 fueron positivos, lo que corresponde al 48% de seroprevalencia. En cuanto a lo referente a la prevalencia por sexo se encontró que en hembras 66.6% y en machos 45.5% fueron positivos. Referente a la edad en caninos menores de 2 años 100%, de 2- 5 años se obtuvo un 25% y mayores de 5 años 47% de prevalencia (Ortiz, 2012)

Muestras sanguíneas de caninos fueron obtenidas de 391 caninos en diferentes áreas de la ciudad de Monterrey (México), utilizando como factor de inclusión solo animales con domicilio fijo, mayores de 6 meses y con propietario. En total fueron 218 hembras y 173 machos. Para determinar el tamaño de la muestra de la población bajo estudio se calculó con un grado de precisión del 5%, un nivel de confianza del 95% y una potencia de la prueba del 80%, utilizando una prevalencia del según antecedentes de la enfermedad. Para la detección de anticuerpos contra este agente causal en las muestras sanguíneas de los animales bajo estudio se utilizó el kit comercial SNAP*4Dx Canino (IDEXX Laboratories, Inc. USA). Los resultados obtenidos en el presente estudio, logró detectar la presencia de anticuerpos contra *Anaplasma phagocytophilum* en solamente 13 animales, estimándose una prevalencia del 3%. De acuerdo a lo observado en el presente estudio se concluye que la presencia de *Anaplasma phagocytophilum* está siendo transmitida entre la población canina del municipio de Monterrey a través de las garrapatas (Salinas, 2011)

Con el objetivo de estudiar la presencia de los principales hemoparásitos en perros (*Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferi*) se evaluaron 200 muestras de sueros de perros clínicamente sanos de una población abierta en la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Se utilizó una prueba de ELISA comercial (SNAP 4Dx kit IDEXX). Ningún signo de enfermedad se encontró en los perros incluidos en la muestra y se consideraron como clínicamente sanos. Las frecuencias encontradas fueron: *D. immitis* (2.0 %), *E. canis* (14.4 %), *A. phagocytophilum* (12.5 %) y *B. burgdorferi* (0.0 %). La frecuencia combinada de *E. canis* y *D. immitis* mostró una gran variación con respecto a informes anteriores, la combinación de *A. phagocytophilum* + *E. canis* fue 26.5 %, seguido por la combinación de *D. immitis* + *A. phagocytophilum* (1.5 %) y *D. immitis* + *E. canis* + *A. phagocytophilum* (1.5 %) Este es el primer estudio que informa la presencia de *A. phagocytophilum* en perros con dueño desde el sur de México; estos resultados evidencian la presencia y distribución de las

principales hemoparásitos en perros aparentemente sanos en una región tropical (Ortega et al., 2016).

Se colectaron muestras de sangre en caninos en tres ciudades de Colombia (n = 498), con el fin de obtener datos de vigilancia más completos. Las tres ciudades seleccionadas para el muestreo fueron - Medellín (n = 175), Barranquilla (n = 223) y Cartagena (n = 100) - tres regiones diferentes de Colombia con alturas sobre el nivel del mar, variables -. Medellín (latitud 6° 13' N, longitud 75° 36' W, altitud 4.902 pies o 1.499 metros). De otro lado, Barranquilla (latitud 10° 53' N, longitud 74 ° 46'47'W, con una elevación de 98 pies o 30 m.s.n.m) y Cartagena (Latitud 10 ° 27'N, longitud 75 ° 31'W, elevación 3 pies o 1 m.s.n.m), dos ciudades costeras de Colombia. Se incluyeron en el estudio perros de clínicas veterinarias y refugios de las respectivas ciudades, entre ellos, perros callejeros recogidos por entidades encargadas del control de animales, por personal de las clínicas veterinarias o miembros de la comunidad que voluntariamente llevaron a sus perros a una clínica para un examen médico veterinario. La muestra de sangre entera se analizó en el lugar de muestreo para la enfermedad del gusano del corazón (antígeno de *D. immitis*), ehrlichiosis canina (anticuerpos contra *E. canis*), Anaplasmosis (anticuerpos de *A. phagocytophilum*), y la enfermedad de Lyme (anticuerpos a *B. burgdorferi*), utilizando un kit de ensayo SNAP® 4Dx® (IDEXX). Mediante un análisis estadístico se calculó la prevalencia local de cada enfermedad como la proporción de muestras positivas del total de las muestras realizadas en las respectivas ciudades. La prevalencia canina general de VBD (infección con uno o más agentes patógenos VBD) fue del 30% en Medellín y del 84%, tanto en Barranquilla como en Cartagena. La prevalencia general de *E. canis* 62%, *A. phagocytophilum* 33%, *D. immitis* 1,2%, y *B. burgdorferi* fue del 0%, respectivamente. En la ciudad de Medellín, el 25% de las muestras dieron positivas para *E. canis*, 12% para *A. phagocytophilum* y 0% para *D. immitis*. En la ciudad de Barranquilla, la prevalencia de *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* fueron del 82%, 41%, y 1%, respectivamente. En la ciudad de

Cartagena, la prevalencia para *E. canis*, *A. phagocytophilum* y *D. immitis* fue del 79%, 52% y 3%, respectivamente (Monterroso y Cardona, 2015)

2.1.2. Estudios relacionados a *Ehrlichia*

Con el fin de evaluar los cambios hematológicos en caninos positivos a ehrlichiosis en la ciudad de Iázaró Cárdenas, Michoacán, México; se analizaron muestras de 50 perros mediante la prueba de ELISA, resultando el 64% de positivos a anticuerpos contra la enfermedad, y el 100% presentó una o más alteraciones en el hemograma (Romero et al., 2011).

González et al. (2013), en un estudio realizado en 80 caninos del municipio de Puente Nacional, Santander, Colombia; mediante evaluación de valores hematológicos y frotis sanguíneo, determinaron una prevalencia de 26.25% de *Ehrlichia canis*.

En Lima Perú, se encontró el 16,50% de perros positivos a ehrlichiosis en los distritos de Chorrillos, La Molina y San Juan de Miraflores, que constituye una cifra inicial de la situación de la ehrlichiosis canina en nuestro país (Adrianzen, et al., 2003).

Además se cuentan con los datos de una población canina positivo a ehrlichiosis canina, proveniente de distintos distritos de Lima, los cuales son: Ate, Santiago de Surco, San Juan de Lurigancho, Chaclacayo, Lurín, El Agustino, Santa Anita, Lima Cercado, Villa el Salvador, Callao, La Victoria, San Luis, Villa María del triunfo, Surquillo, La Molina, San Juan de Miraflores, San Borja, Ancón, Los Olivos y Puente Piedra (Contreras, et al., 2006)

Por primera vez se identificó y se realizó caracterización genética de *Ehrlichia canis* por métodos moleculares en el año 2007, donde 11 de 25 muestras fueron positivas a la nueva cepa reportada. Los 25 perros fueron positivos a la prueba de ELISA (SNAP 3 DX; IDDEX Laboratories, Westbrook, ME), más del 90% tuvo historia de exposición a garrapatas,

trombocitopenia, anemia, pérdida de peso, equimosis, petequias y/o epistaxis (Vinasco et al., 2007).

Barrios (2010) realizó un estudio en propietarios de perros con antecedentes de haber enfermado con Ehrlichiosis en Lima Metropolitana, por medio de examen serológico (IFI), y hematológico, para determinar factores asociados a la exposición de los propietarios a la enfermedad; resultando en 14.29% de pacientes seropositivos por IFI, y 15.38% de personas sospechosas por examen hematológico (cuerpos de inclusión en células mononucleares).

También en Lima se reportaron caninos seropositivos a *Ehrlichia*, en los siguientes distritos: Santa Anita, Callao, San Juan de Miraflores, San Juan de Lurigancho, Comas, San Martín de Porras, Chorrillos, la Molina y San Bartolo (Barrios, et al., 2013)

2.1.3. Co-infecciones Anaplasma + Ehrlichia

Las infecciones por *A. platys* generalmente se encuentran en las mismas regiones geográficas donde se reporta *E. canis*, y frecuentemente se detectan evidencias de exposición o infección con ambos microorganismos en el mismo perro (Ybañez et al., 2012; Harrus et al., 1997)

Ambos patógenos se encuentran en todos los continentes del mundo, pero son más prevalentes en climas tropicales y subtropicales (Gaunt et al, 2010).

En un estudio realizado en Qatar, de 64 perros evaluados por medio de PCR en tiempo real, se logró identificar *Ehrlichia canis* (3.1%), *Anaplasma platys* (1.6%), y otros patógenos como *Mycoplasma*, *Babesia* y *Hepatozoon* (Alho et al., 2017).

Asimismo, Zhang et al. (2017) evaluaron 1550 garrapatas y suero sanguíneo de 562 perros en clínicas veterinarias de 20 ciudades del

sudeste de China, por medio de ELISA y PCR. Se identificó *Borrelia* (0.4%), *Ehrlichia* (1.3%), *Anaplasma* (2.7%) y *Babesia* (3.9%). Algunas garrapatas estaban coinfectadas con 2 (1.46%) o 3 (0.16%) patógenos.

Por otro lado, en la ciudad de Araguaína, estado de Tocantins, Brasil, se revisó 159 historias clínicas de pacientes caninos con el fin de evaluar el resultado de los frotices sanguíneos en busca de patógenos hemáticos, identificando *Ehrlichia canis* (35.83%), *Anaplasma platys* (25.83%), además de *Mycoplasma*, *Babesia* y *Hepatozoon* (Barbosa et al., 2018) .

De igual manera, en la región Norte del estado de Paraná, Brasil; se realizó un estudio en 256 perros de casa, mediante PCR, detectando *E. canis* y *A. platys* con valores de 16.4% (42/256) and 19.4% (49/256), respectivamente; además de coinfección con ambos gérmenes en 5.47% (14/256) de los casos (Ferreira da Silva et al., 2012).

En nuestro país, se reporta anticuerpos contra *Anaplasma* en un perro, y *Ehrlichia* en 2 perros, que llegaron a consulta a un centro veterinario particular en diferentes fechas, con síntomas de enfermedad por patógenos hemáticos (Rubio et al., 2011). Asimismo, en un estudio de perros con signos compatibles con Anaplasmosis, se determinó un 41.6% de positivos y sospechosos por examen hematológico; sin embargo a la prueba de Hemi-Nested PCR, resultaron positivos el 1.4% a *A. platys* (Tateishi et al., 2015).

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Anaplasma*

Historia

Anaplasma spp fue identificada por primera vez por Smith y Kilborne en 1883 debido a investigaciones sobre la enfermedad relacionada a la fiebre de la garrapata, en la cual logran describir pequeños corpúsculos puntiformes o en forma de cocos, dentro de glóbulos rojos de los animales infectados a los cuales

consideraron como representantes de un estadio del ciclo de la *Babesia bigemina*.

Así mismo, Sir Arnold Theiler en el año de 1910 usó el término "*Anaplasma*" para describir un pequeño microorganismo (corpúsculos) que se encontraba presente en los eritrocitos de bovinos africanos que sufrían de una anemia infecciosa aguda, fue el primero en considerar estos corpúsculos como representantes de un nuevo género de parásito y propuso el nombre de *A. marginale*, debido a la carencia de citoplasma y a su localización marginal dentro del glóbulo rojo, a la enfermedad la denominó como Anaplasmosis. Durante este periodo al microorganismo recién descubierto se le consideraba como un nuevo género de protozooario e incluso Seiber en el año de 1911 notó características en el comportamiento clínico y patológico del agente que lo asemejaba más a un virus.

Gracias a la implementación de la microscopía electrónica, De Robertis y Epstein en el año de 1951 evidenciaron que no se trataba de un protozooario ya que al observar la morfología del *Anaplasma* concluyeron que el cuerpo marginal no era una estructura homogénea, sino que el cuerpo de inclusión estaba formado por varias subunidades. Posteriormente los estudios histoquímicos en el año de 1955, demostraron la presencia de dos ácidos nucleicos que contradecía la teoría vírica.

En el año de 1961, Pilcher determinó que el *Anaplasma* pertenecía al género *Rickettsia* y concluyó además que los glóbulos rojos parasitados con *Anaplasma* consumen el doble del oxígeno que los glóbulos rojos normales condición que no ocurre en glóbulos rojos parasitados con virus. Kreir y Ristic en el año de 1973, basándose en las características que poseía el *Anaplasma* como la ausencia de núcleo y organelos, le clasificaron dentro de

la familia *Anaplasmataceae* del orden *Rickettsiales* (Figueroa et al., 1984)

Etiología

La bacteria del género *Anaplasma* es un microorganismo rickettsial transmitido por vectores, caracterizado por un tropismo celular variado y diversos huéspedes, y causa varias enfermedades entre animales. Las especies de *Anaplasma* que se sabe que infectan a perros, son *A. platys* y *A. phagocytophilum*, que son transmitidos por diferentes especies de garrapatas.

Morfología

Anaplasma spp son microorganismos que se presentan en formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias Gram negativas con ausencia de flagelo. Estas bacterias tienden a ser muy pequeñas, teniendo un diámetro de 0,3 - 0,5 μm . y una longitud 0,8 - 2,0 μm .

Las formas bacilares son cortas, mientras que las cocoides se encuentran aisladas en pares, cadenas cortas o en filamentos. Estos agentes al ser teñidos con Giemsa son fáciles de visualizar con el microscopio de luz y se muestran de color azul púrpura y con la tinción de Macchiavello color rojo en contraste con el citoplasma teñido de azul que las rodea, se localiza obligatoriamente dentro de los glóbulos rojos, se ubica en la periferia en contacto directo con el citoplasma del eritrocito, consta de un cuerpo inicial que lo invade y posteriormente se multiplica para formar inclusiones con 4 a 8 cuerpos iniciales (Bowman, 2011)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Clasificación de *Anaplasma spp*.

Súper reino: Bacteria

Clase: Proteo bacteria

Subclase: Alfa

Orden: *Rickettsiales*

Familia: *Anaplasmataceae*

Género: *Anaplasma*

Especie: *Anaplasma. bovis.*

Anaplasma caudatum .

Anaplasma centrale.

Anaplasma marginale.

Anaplasma ovis.

Anaplasma phagocytophilum

Anaplasma platys.

(Dumler et al., 2001)

Patogenia

Anaplasma spp es una bacteria intracelular obligada que una vez dentro del torrente sanguíneo, penetra en los eritrocitos maduros por endocitosis, infectándolos y formando una vacuola donde se multiplica por fisión binaria para formar ocho organismos individuales, estos salen del eritrocito utilizando exocitosis para infectar eritrocitos aledaños, entre las 24 y 48 horas del ingreso del hemoparásito, los eritrocitos infectados se duplican. El periodo de incubación de esta enfermedad es de 14 a 21 días y depende de la cantidad de microorganismos infectantes. Así mismo la infección puede detectarse por microscopía entre 20 y 40 días después de la transmisión, dependiendo del número de microorganismos transmitidos y de la virulencia (Soto, 2010)

La enfermedad de Anaplasmosis es primariamente una anemia, cuyo grado varía con la proporción de eritrocitos parasitados; la primera aparición del protozooario en la sangre coincide con una disminución de las cifras de hematocrito y eritrocitos con la presencia de glóbulos rojos inmaduros en frotis de sangre y con la aparición de fiebre, los animales afectados en forma aguda pueden morir poco después de llegar a esta fase; si el animal se recupera a partir del ataque agudo inicial se producen ataques

periódicos de invasión de los eritrocitos maduros por parte del parásito en forma regular, pero con intensidad decreciente (Ribera et al., 2017)

Transmisión

La transmisión es muy amplia y variada, las formas en cómo puede transmitirse el parásito depende de la existencia del vector, la existencia de animales susceptibles y de las condiciones climatológicas favorables, siendo así que la garrapata se infecta con el contacto de la sangre fresca de un animal enfermo o portador y la trasmite a un animal sano. Una vez infectado, el animal puede permanecer toda la vida como portador y la identificación de estos animales depende de la detección del parásito (OIE, 2001)

Su transmisión se realiza por medios biológicos y mecánicos:

Transmisión biológica.-

Esta transmisión es a través de las diferentes especies de garrapatas y se efectúa de forma transestadial, es decir de una época a otra por ejemplo del estado de larvas a ninfas y de ninfas a adultos o intraestadial, es decir de una época.

El ciclo de desarrollo de *Anaplasma spp* en garrapatas es complejo y

coordinado con el ciclo de alimentación de la garrapata, comienza en las células del intestino medio, siguiendo con las células musculares del mismo, después otros tejidos de la garrapata llegan a ser infectados, incluyendo las glándulas salivales de donde la *Rickettsia* se transmite al huésped vertebrado durante la alimentación. En cada sitio de desarrollo en la garrapata, el *Anaplasma spp* se multiplica dentro de inclusiones unidas a las membranas, llamadas vacuolas o colonias. Cada ciclo involucra dos estadios; la primera forma de *Anaplasma spp*, vista dentro de la colonia es la forma reticular (vegetativa), que se divide por

fisión binaria, formando colonias grandes que pueden contener cientos de microorganismos.

La forma reticular cambia a la forma densa, que es la forma infecciosa y que puede sobrevivir fuera de las células de anfitrión. Los animales llegan a ser infectados con *Anaplasma spp.* Cuando la forma densa es transmitida durante la alimentación de la garrapata a través de las glándulas salivales (Franco, 2016)

Transmisión mecánica.-

Esta transmisión se produce a través de agujas contaminadas, instrumentos usados en la castración y transfusión de sangre infectada de un animal a otro, por lo general se efectúa cuando no se realiza una higiene adecuada (Franco, 2016)

Epidemiología

Anaplasmosis canina es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas duras (Ixodidae), que afecta al ser humano y a los animales. Son de distribución universal, y son provocadas por diferentes especies de los géneros *Anaplasma* de la familia *Anaplasmataceae*. Epidemiológicamente está relacionada con el medio ambiente y el hospedero, como todas las rickettsias se caracteriza por no tener su cromatina organizada en un núcleo con membrana limitante y por carecer de retículo endoplasmático. (Bowman, 2011)

Esta enfermedad es endémica en zonas donde predominan las garrapatas y en regiones tropicales y subtropicales, donde sus vectores (garrapatas) encuentran un hábitat ideal dadas las condiciones climáticas que garantizan su evolución durante todas las épocas del año. La enfermedad presenta mayor impacto en la época de verano debido a un incremento en el número de vectores transmisores de la enfermedad. En regiones de climas templados es esporádica (Otto et al., 1999)

Anaplasmosis aparece en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, incluyendo América del Sur y América central; cuyos climas favorecen el ciclo biológico de la garrapata (Gispert et al, 2007)

Signos clínicos

Los signos clínicos de Anaplasmosis en el perro son inespecíficos, pudiendo encontrarse individuos asintomáticos. En todos los casos, la severidad de la infección dependerá de varios factores, entre lo que se incluyen edad, estado del sistema inmune y variante de *Anaplasma spp.*, involucrada (Rubio et al., 2011)

El inicio de la enfermedad tiene lugar a los 5 – 21 días de la picadura y los signos más frecuentes en caninos son fiebre alta (40 – 41°C), claudicación en patas alternantes, tumefacción articular, anorexia y malestar general. Así mismo también se describen vómitos, dolor abdominal, pérdida de peso, diarrea y alteraciones del estado mental (Calvache, 2014)

La palidez de las mucosas es el signo clínico más destacado de la anemia, ésta se acompaña de debilidad muscular, depresión y anorexia.

Un animal durante la infección no presenta síntomas clínicos, sólo cuando más del 15% de eritrocitos han sido infectados se presentan síntomas, en ese período, la parasitemia comienza a desarrollarse y posteriormente los eritrocitos infectados se eliminan del torrente sanguíneo mediante fagocitosis por las células del retículo endotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos; induciéndose el desarrollo de una fase de inflamación aguda (Soto, 2010).

- Vómitos y diarrea: Tanto los vómitos como la diarrea pueden presentarse en perros que sufren de *Anaplasma*. Por desgracia, hay cientos de enfermedades y condiciones que pueden causar diarrea o vómitos en los perros.
- Signos articulares: Los perros pueden percibir dolor o inflamación en las articulaciones. El dolor puede estar presente más en las extremidades posteriores y la hinchazón puede ser extrema, lo que causa que algunos perros tengan incomodidad cuando tratan de moverse, pero también en ciertos casos no se pueden movilizar.
- Cambios en el comportamiento: La Anaplasmosis puede conducir a cambios en el comportamiento, manifestándose depresión o letargo.
- Pérdida de apetito: En algunos perros, *Anaplasma phagocytophilum* puede causar pérdida de apetito, lo que conlleva pérdida de peso
- Trastornos de sangrado: La Anaplasmosis desarrolla contusión severa de la piel como hemorragias petequiales y sangrado de la nariz.
- Signos neurológicos: En infecciones más severas, los perros pueden presentar dolor de cuello, convulsiones y ataxia. Los signos de ataxia canina incluyen una pérdida de equilibrio después de un brusco movimiento, temblores y un cambio en la marcha.

Las convulsiones en los perros a menudo se manifiestan como un movimiento muscular incontrolable, acompañado de una pérdida temporal de control sobre los movimientos intestinales (Gittins, 2012)

FASE HIPERAGUDA

En esta fase ocurre una pérdida dramática de peso, presencia de abortos, fallo cardiopulmonar y muerte, debido a que el 90% de los eritrocitos están infectados (Soto, 2010)

FASE AGUDA

Dura aproximadamente 2 - 4 semanas, el primer signo clínico es un aumento de la temperatura de hasta 41°C, seguida de anorexia, depresión, ganglios linfáticos aumentados de tamaño, debilidad muscular e ictericia, ésta fase algunos animales pueden superarla espontáneamente aún sin tratamiento (Rubio et al., 2012)

La recuperación de la infección aguda da paso a la infección persistente, caracterizada por ciclos repetitivos de parasitosis. Los portadores asintomáticos son los reservorios para la infección (Calvache, 2014)

FASE CRÓNICA

Los animales que sobreviven a la fase hiperaguda, disminuyen drásticamente la presencia de parásitos en el torrente sanguíneo, luego de varias semanas los valores hematológicos vuelven a la normalidad. El animal recuperado puede permanecer infectado persistentemente, a estos animales se los conoce como “portadores asintomáticos de la enfermedad”, en esta fase es difícil de diagnosticar la enfermedad por los métodos tradicionales (Soto, 2010)

DIAGNÓSTICO

La Anaplasmosis canina es una enfermedad emergente que se encuentra subdiagnosticada, debido a que no presenta signos patognomónicos, y en muchas ocasiones es confundida clínicamente con ehrlichiosis canina, por lo que se hace necesario realizar un buen diagnóstico clínico, tomando en cuenta el antecedente de infestación por garrapatas. Sumado a una prueba diagnóstica (serología) que nos permita detectar el contacto con el agente infeccioso. Se incluyen también la identificación de mórulas o cuerpos de inclusión en frotis sanguíneos y la detección

de anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Troncoso et al., 2014)

En la actualidad se utilizan pruebas serológicas rápidas en la práctica clínica diaria, debido a su fácil manejo y rapidez en el diagnóstico, como las pruebas de Elisa Kit VetScan Anaplasma Rapid Test Y Snap® 4Dx® (Idexx Laboratories), además de pruebas moleculares capaces para identificar secuencias específicas de ADN, como la prueba de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) (Hoyos et al., 2007)

Técnicas de apoyo diagnóstico: El diagnóstico de la enfermedad se basa en la anamnesis, presentación clínica, hallazgos patológicos al examen clínico y se confirma con las pruebas de laboratorio.

- Cambios en evaluación hematológica y bioquímica: Al realizar un hemograma se observa leucopenia (glóbulos blancos $<4,500/\text{mm}^3$), trombocitopenia (plaquetas $<150.000/\text{mm}^3$) y aumento de las transaminasas, anemia no regenerativa caracterizada por oligocitemia y oligocromenia, neutropenia e hiperglobulineamia (Özata y Ural, 2014).

- Pruebas serológicas:

Pruebas de ELISA indirecto. - Es el método más utilizado para la determinación de anticuerpo. Básicamente, consiste en la inmovilización a la placa ELISA del antígeno (en los kits o snaps ya viene fijado) del que se quiere conocer si en el suero problema existen anticuerpos específicos (Calvache, 2014)

INMUNIDAD

El organismo animal es capaz de producir anticuerpos ó Inmunoglobulinas específicas contra un agente infeccioso extraño que penetra en el mismo, estas inmunoglobulinas se vierten a la sangre del animal y forman un importante componente del suero

sanguíneo. La inmunoglobulina tipo M (IgM) se produce casi inmediatamente después de la primera infección por cualquiera de estos hemoparásitos; es decir, que a partir del día 7 u 8 días después de que el animal se haya infectado por primera vez se detectan ya niveles considerables de IgM.

Al cabo de 2 a 3 semanas se elevan los niveles de otro tipo de inmunoglobulinas, las de tipo G (IgG), mientras que los niveles de IgM van cayendo.

Los animales que se infectan por primera vez pueden o no sufrir la enfermedad, normalmente los animales más jóvenes hacen frente a la primera inoculación de Anaplasmosis más eficazmente que los adultos, desarrollando los anticuerpos y rara vez mostrando la enfermedad, por el contrario, los animales que se han infectado por primera vez a partir de los 9 meses son los que más frecuentemente manifiestan síntomas clínicos. Los animales conservarán siempre un nivel más o menos alto de IgG después de la primera infección, mientras que los niveles de IgM tenderán a desaparecer con el tiempo. En sucesivas reinfecciones con el parásito se producen nuevamente más anticuerpos tipo IgG, pero no IgM. Una vez sufrida la primera infección el animal se hace inmune a la enfermedad, permaneciendo también como portador de los hemoparásitos durante uno o más años. A este estado de presencia del hemoparásito con anticuerpos contra el mismo se conoce como premunidad, la reinfección constante asegura que el animal permanece portador durante el resto de su vida. Los animales ya infectados permanecen también con anticuerpos durante casi el resto de su vida, por lo tanto, después de haber sido infectado el animal por primera vez, haya enfermado o no, es improbable que sufra de nuevo la enfermedad por causa del mismo hemoparásito (Ribera et al., 2010)

La mayor parte de los parásitos son completamente antigénicos, pero en su adaptación a una existencia parasitaria han desarrollado mecanismos que les permiten sobrevivir en presencia de una respuesta inmunitaria. Los protozoarios pueden estimular tanto la inmunidad humoral como la mediada por células, en general los anticuerpos sirven para controlar el nivel de parásitos libres en la corriente sanguínea (Tizard, 2009)

TRATAMIENTO

Los tratamientos para poder controlar la Anaplasmosis se realizan con antibióticos a base de oxitetraciclinas en dosis de 6 mg/kg de peso vivo durante tres a cinco días, o bien mediante una sola aplicación de acción prolongada con dosis de 20mg/kg, por vía intramuscular. La administración IM de dipropionato de imidocarb 3mg/kg de peso constituye también tratamiento eficaz, y no interfiere en el desarrollo de la inmunidad adquirida frente a *Anaplasma*, es una buena alternativa para cuando se produce repetición de la infección o poca respuesta a las tetraciclinas y se emplea en inyección única o bien dos inyecciones separadas entre ambas, cada 15 días. Se recomienda administrar Atropina, antes de emplear imidocarb a dosis de 0,025mg/kg con el fin de evitar o minimizar los efectos colinérgicos como la excesiva salivación, diarrea, disnea, exudado nasal seroso. Con el fin de apoyar a animales con padecimientos severos se pueden implementar transfusiones sanguíneas de 4 a 12 litros de sangre, pudiéndose repetir a las 48 horas si es necesario (Muñoz, 2008)

Anaplasma phagocytophilum

Anaplasma phagocytophilum, el agente causal de la anaplasmosis granulocítica humana, es un patógeno zoonótico que causa condiciones patológicas representadas por poliartritis, inclusiones citoplásmicas en neutrófilos y varias anormalidades hematológicas; así como fiebre, anorexia, letargia y cojeras en una diversidad de mamíferos, que incluyen perros, caballos,

rumiantes y humanos. La infección por este microorganismo fue confirmada por primera vez en perros de Minnesota y Wisconsin en 1996, y se ha distribuido geográficamente en todo el mundo.

Este agente es capaz de infectar los leucocitos granulocíticos de un gran número de especies diferentes como caballos, pequeños rumiantes, hombres, perros e incluso gatos y se transmite principalmente por la garrapata *Ixodes ricinus* (Méndez, 2004)

Anaplasma platys

Fue reportada en la década del 70 por Harvey et al (1978), y luego reclasificada como miembro del género *Anaplasma* y dentro de la familia *Anaplasmataceae* (Dumler et al., 2001).

La bacteria tiene una afinidad por las plaquetas de los perros (Arraga-Alvarado, 2003), y se transmite principalmente por la picadura de garrapatas (Greene, 1997) del tipo *Rhipicephalus sanguineus* (Sainz et al., 1999; Inokuma et al., 2000).

A. platys es un organismo que infecta exclusivamente a plaquetas y generalmente causa grave trombocitopenia solo en perros.

Los signos clínicos de la infección por *A. platys* son leves o muchas veces irreconocibles a pesar de la severidad de la trombocitopenia; sin embargo, en algunos países se ha reportado morbilidad más severa. Por estas razones, *A. platys* ha sido estudiada principalmente en regiones endémicas (Yabsley et al., 2008; Yuasa et al., 2017)

Los cuadros de trombocitopenia cíclica que produce *A. platys* pueden durar de 7 a 14 días (Ettinger, 1992). Esta trombocitopenia es de tipo regenerativa aparentemente, debido a la hiperplasia megacariocítica encontrada en la médula ósea en infección experimental en perros (Gaunt et al., 1990).

2.2.2. *Ehrlichia*

Historia

Ehrlichia canis fue identificada por primera vez en el año 1935, en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard, tras observar que algunos perros alojados en sus instalaciones e infestados por garrapatas desarrollaban ocasionalmente un proceso febril agudo que cursaba con anemia. En las extensiones sanguíneas de los perros afectados, observaron unos pequeños microorganismos en el interior de los monocitos, creyendo en un principio que se trataba de alguna especie de *Rickettsia*. Inicialmente el microorganismo recibió el nombre de *Rickettsia canis* (Donatien y Lestoquard, 1935).

Moshkovski sustituyó en 1945 ese nombre por el actual de *Ehrlichia canis*, como reconocimiento a Paul Ehrlich, gran biólogo alemán (Moshkovski, 1945).

La Ehrlichiosis canina llamó mucho la atención cuando cientos de perros militares estadounidenses, y dentro de ellos, muchos Pastores alemanes, murieron de la enfermedad durante la guerra de Vietnam. *E. canis* llamó aún más la atención a fines de la década de 1980, cuando se sospechó de forma errónea que la rickettsia había infectado a seres humanos. Sin embargo en 1991, se encontró que una especie nueva del género *Ehrlichia*, *E.chaffensis*, provocaba ehrlichiosis monocítica humana.

Recientemente ha sido confirmado como zoonosis, aunque no hay evidencia de transmisión directa de los perros al hombre. Se han comunicado 46 casos de infección con Ehrlichiosis canina en el hombre hasta la fecha. (Marín et al., 1998)

Características

Ehrlichia canis, al igual que el resto de las especies de ehrlichias, es una bacteria gram negativa, que se comporta como un parasito intracelular obligado. Las células diana de *E. canis* son las células del sistema mononuclear fagocitario (SMF) y más concretamente los monocitos y algunos tipos de linfocitos circulantes. Así mismo, puede afectar múltiples especies de la familia canidae, entre ellas el zorro, el coyote y el chacal, las cuales actúan como reservorios naturales (Neer, 2000)

Los microorganismos rickettsiales pertenecen al Reino Proteobacteria, clasificadas como alfa - proteobacterias gramnegativas, grupo que incluye un gran número de agentes oligotrofos (capaces de crecer en niveles bajos de nutrientes). Dentro de este Reino se encuentran también los géneros *Escherichia*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* y *Vibrio*. Esta clasificación ha sido tomada del Manual de Determinación Bacteriológica de Bergey, que actualmente se encuentra en su novena edición, el cual ordena a los microorganismos basándose en las secuencias de oligonucleótidos firma del gen ARNr 16S (Prescott et al., 1999).

Estos microorganismos se presentan en formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias gramnegativas con ausencia de flagelos (Prescott et al., 1999). Las formas bacilares son cortas, mientras que las cocoides se presentan aisladas, en pares, cadenas cortas o en filamentos (Brooks et al., 1999). Estas bacterias tienden a ser muy pequeñas, teniendo un diámetro de 0.3 a 0.5 μm . y una longitud de 0.8 a 2.0 μm . (Prescott et al., 1999)

Estos agentes teñidos son fáciles de visualizar con el microscopio de luz. Con la tinción de Giemsa muestran color azul, con la de

Macchiavello color rojo en contraste con el citoplasma teñido de azul que las rodea (Brooks et al., 1999? Carter, 1985).

Taxonomía

El Orden Rickettsiales es un orden diverso que contiene tres familias: Rickettsiaceae, Bartonellaceae y Anaplasmataceae y muchos géneros patógenos que infectan diversas especies de vertebrados (Greene, 1997).

Las especies del género *Ehrlichia* spp. se incluían dentro de la Familia Rickettsiaceae y se clasificaban principalmente por sus células blanco, es decir, se tenían cepas monocitotrópicas, granulocitotrópicas y trombocitotrópicas. Además, se sabía que algunas especies tenían más de una célula blanco, tales como *E. chaffeensis*, *E. risticii* y *E. phagocytophila* (Neer, 2000).

Neer (2000), clasificó las especies ehrlichiales de la siguiente manera, dependiendo de la “célula blanco o diana” :

MONOCITOTROPICAS

Ehrlichia canis : Afecta naturalmente a caninos e infecta células mononucleares y linfocitos.

Ehrlichia chaffeensis : Afecta naturalmente a humanos, perros y venados e infecta células mononucleares, neutrófilos y linfocitos.

Ehrlichia sennetsu : Afecta naturalmente a humanos e infecta células mononucleares.

Ehrlichia risticii : Afecta naturalmente a caballos e infecta células mononucleares, células cebadas y enterocitos.

Ehrlichia bovis : Afecta naturalmente a los bovinos e infecta monocitos y macrófagos.

GRANULOCITOTROPICAS

Ehrlichia ewingii: Afecta naturalmente a perros e infecta neutrófilos y eosinófilos.

Ehrlichia equi: Afecta naturalmente a caballos, perros, humanos y llamas e infecta neutrófilos y eosinófilos.

Agente de la ehrlichiosis granulocítica humana (AEGH) : Afecta principalmente a humanos, caballos y perros e infecta neutrófilos.

Ehrlichia phagocytophila : Afecta principalmente ovejas, bovinos y visones e infecta a neutrófilos, eosinófilos y monocitos.

TROMBOCITOTRÓPICAS

Ehrlichia platys : Afecta naturalmente a perros e infecta únicamente plaquetas.

OTROS

Cowdria ruminantium : Afecta naturalmente a los bovinos e infecta células endoteliales, macrófagos y neutrófilos.

El género *Ehrlichia* spp. a inicios de la década de los 90 empezó a sufrir múltiples cambios en la clasificación de las especies, teniendo como base 3 grupos; el primero formado por *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*. El segundo por *E. equi* y *E. phagocytophilum* y el tercer grupo formado por *E. risticii* y *E. sennetsu*. Aún no se clasificaba plenamente la *Ehrlichia platys* en algún grupo mencionado anteriormente. Esta clasificación se fue dando por las reacciones cruzadas a nivel serológico entre las especies (Greene, 1997).

Patogénesis de la ehrlichiosis canina por *Ehrlichia canis*

La enfermedad posee un período de incubación (PI) de aproximadamente 8 a 20 días (Sainz et al., 2000), seguido por una fase aguda o temprana, para posteriormente alcanzar una etapa subclínica asintomática y finalmente llegar a una fase crónica, que es la etapa final de la enfermedad (Harrus et al., 1997a; Neer, 2000)

En la última década ha sido revisada extensamente esta enfermedad, y los esfuerzos han sido dirigidos a elucidar la patogénesis de la enfermedad aguda. El mejor entendimiento de los principales mecanismos involucrados en la patogénesis se han convertido en gran apoyo para el clínico. Los mecanismos patogénicos de esta enfermedad pueden ayudar a entender los que ocurren en la ehrlichiosis monocítica humana (EMH) y la ehrlichiosis granulocítica humana (EGH) (Harrus et al., 1999).

INGRESO DEL AGENTE Y LA FASE AGUDA

La infección del hospedero vertebrado ocurre después que una garrapata ha ingerido sangre de un animal infectado, de esta forma las secreciones salivales de la garrapata contaminan el área de alimentación en el hospedero susceptible, ocasionando el pasaje del microorganismo vía mecánica. Además, el microorganismo también se transfiere por transfusiones sanguíneas de donadores infectados, siendo ésta última una vía muy poco frecuente (Neer, 2000).

Posterior al período de incubación, se observa la fase aguda, la cual tiene una duración de 2 a 4 semanas. En esta fase se multiplican los microorganismos en células mononucleares (macrófagos y linfocitos) por fisión binaria y se diseminan a la totalidad del cuerpo (Neer, 2000; Ettinger, 1992). La replicación inicialmente se da en leucocitos mononucleares circulantes, los que luego, colonizan los órganos conformados por células de tipo mononuclear, tales como el bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos donde provocan una hiperplasia con infiltración de células plasmáticas (Neer, 2000).

E. canis suele provocar lesiones inflamatorias y vasculitis, fundamentalmente de origen inmunomediado, por depósito de complejos antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) (Parnell, 2004). En algunos casos, el cuadro puede tornarse muy grave y

desencadenar el cuadro de coagulación intravascular diseminada (CID) poniendo en grave riesgo la vida del animal (Sainz et al., 2000).

La trombocitopenia, es el hallazgo más común y consistente en la ehrlichiosis canina (Waner et al., 1995), así como la anemia y la leucopenia (Neer, 2000; Ettinger, 1992). Estas anormalidades hematológicas rara vez se presentan simultáneamente y son más típicas diversas combinaciones (Greene, 1997). La trombocitopenia se da por el mayor consumo, secuestro y destrucción de plaquetas, reduciéndose la vida media de las mismas. Esto se origina principalmente por la vasculitis que afecta a las pequeñas arterias, por la respuesta del sistema inmunológico y/o de coagulación (Kakoma et al., 1978; Pierce et al., 1977; Smith et al., 1975). Este es un efecto causado por la infección, pero casos sin trombocitopenia también se han reportado (Sainz et al., 2000).

Es frecuente la presencia de trombocitopenia y trombocitopatías motivadas fundamentalmente por procesos inmunomediados. Por la misma razón, en ocasiones se puede presentar leucopenia y anemia en los pacientes (Sainz et al., 2000). Pueden ocurrir anemia positiva a Coombs secundarias al recubrimiento inespecífico de glóbulos rojos por globulinas o subsecuentes a una respuesta inmunitaria específica a antígenos de eritrocitos (Greene, 1997).

Se ha demostrado la presencia de anticuerpos antiplaquetarios (AAP) en el suero de los animales infectados con *E. canis*, apoyando la idea de la destrucción plaquetaria por parte del sistema inmune en esta fase (Harrus et al., 1996a; Waner et al., 1995). Los AAP han sido detectados desde el 7o hasta el 17o día post-infección experimental en caninos (Harrus et al., 1996a). Estos anticuerpos han sido demostrados en pacientes con EGH

en el 80% de los casos (Wong et al., 1998). La inducción para la producción de los AAP es ejercida por los antígenos ehrlichiales, que aparentemente son antigénicamente similares a las moléculas plaquetarias, esto explica porqué el sistema inmune está involucrado en la destrucción celular. En esta etapa aún no se desarrolla daño medular, por el contrario ante el volumen plaquetario disminuido se presenta una trombopoyesis activa (Waner et al., 1995).

En esta etapa suelen afectarse los riñones por factores humorales. En las infecciones agudas es común que haya alteración de la permeabilidad glomerular. La pérdida de proteínas depende de una glomerulopatía de cambios mínimos. Las tinciones inmunofluorescentes revelan depósitos leves a moderados de inmunoglobulinas en los ovillos glomerulares y el mesangio. Estos cambios patológicos explican la pobre respuesta a la antibioticoterapia en los casos de ehrlichiosis con glomerulonefritis (Greene, 1997).

FASE SUBCLÍNICA O SILENCIOSA

La fase subclínica se establece cuando el animal sobrevive a la fase aguda y se presenta de manera espontánea o por un tratamiento inefectivo (Harrus et al., 1998). Se caracteriza por la persistencia del microorganismo y el alza en los títulos de anticuerpos. Tiene una duración promedio de 6 a 9 semanas pudiendo permanecer por varios años (Neer, 2000).

La persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema inmune. Los títulos de anticuerpos se elevan grandemente en esta fase y los animales inmunocompetentes por lo general eliminan al microorganismo en esta etapa. Los paciente que no eliminan la infección progresan hasta la fase crónica. Los signos clínicos están ausentes pero persisten los cambios hematológicos, principalmente la

trombocitopenia (Ettinger, 1992? Sainz et al., 2000). Esto indica que los cambios patológicos continúan, sólo que no son observados clínicamente (Harrus et al., 1999). Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmune humoral importante que a menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno (Sainz et al., 2000).

Se ha demostrado que el bazo es el órgano más importante para la *E. canis* en esta etapa de la enfermedad, así como la médula ósea (Harrus et al., 1999).

FASE FINAL O CRÓNICA

La ehrlichiosis crónica ocurre en los perros que no logran montar una respuesta inmune eficiente contra el microorganismo (Sainz et al., 2000).

En esta etapa de la enfermedad se pueden presentar cuadros leves, manifestando una enfermedad vaga con pérdida de peso y con alteraciones hematológicas moderadas. La forma grave se caracteriza por deterioro de la producción medular de elementos sanguíneos que da por resultado pancitopenia. La gravedad de la enfermedad es mayor con ciertas cepas del microorganismo, cuando hay una enfermedad concomitante en algunas razas (Pastor alemán) y en los animales jóvenes (Neer, 2000).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La infección por *Ehrlichia canis* puede causar un amplia gamma de signos clínicos, que varían incluso dentro y entre distintas localidades geográficas, esto depende tanto de la dosis infectante, raza del perro infectado, el estado inmunológico al momento de la infección, como de otras enfermedades concomitantes (Sainz et al., 2000).

SIGNOS CLÍNICOS EN FASE AGUDA

La sintomatología de la ehrlichiosis es muy variada y con frecuencia es difícil la distinción clínica entre los estadios agudo y crónico (Parnell, 2004). Durante la fase aguda la sintomatología suele ser poco específica por lo que el diagnóstico no siempre es sencillo. Si no se diagnostica la enfermedad en fase aguda, ésta progresa a la forma subclínica en la que sólo se encuentran alteraciones laboratoriales (Sainz et al., 2000). En algunos casos los signos pueden ser muy leves, pasando prácticamente desapercibidos (López et al., 1999).

El cuadro clínico que más a menudo se encuentra es muy inespecífico, caracterizado por fiebre, pérdida de peso, apatía y anorexia (Parnell, 2004). El vómito también se presenta en los animales afectados (Sainz et al., 2000). Alrededor del 40% de los casos presentan linfadenomegalia, a pesar que no siempre es generalizada (Sainz et al., 2000). Algunos investigadores indican que la linfadenomegalia se presenta en el 20% de los casos (Neer, 2000).

Otros signos clínicos posibles incluyen hemorragias bajo la piel, dolor muscular severo de cuello y espalda, descargas por orificios nasales, tos (debido a la existencia de una neumonía intersticial), exudado inflamatorio a nivel ocular y hematuria (Sainz et al., 2000).

Las hemorragias en la infección ocurren sobre todo debido a la disminución en el recuento de plaquetas sumado a una inhibición en la agregación plaquetaria debido al desarrollo de anticuerpos contra las glucoproteínas propias de las plaquetas (Sainz et al., 2000).

Se presenta hepatomegalia y esplenomegalia. Se consideran signos típicos de la enfermedad los cuadros hemorrágicos,

aunque éstos sólo se observan en aproximadamente el 35% de los perros con ehrlichiosis en España. De todos los signos hemorrágicos observados (petequias y equimosis en piel y mucosas, hematuria, melena, hemorragias retinianas o conjuntivales, etc.) la epistaxis es la más frecuente (Sainz et al., 2000; Parnell, 2004; Neer, 2000).

Se aprecian signos neurológicos, que pueden ser ocasionados por meningitis debida a trastornos inflamatorios (meningitis linfoplasmocítica) o por hemorragias en sistema nervioso. Los signos más frecuentes son convulsiones, ataxia, estupor y síndrome de neurona motora superior o inferior, disfunción vestibular aguda central o periférica (Sainz et al., 2000; Neer, 2000). En algunos casos se ha observado mórulas en células del LCR (Neer, 2000).

Alteraciones oculares se presentan en esta etapa, siendo las más comunes la uveítis anterior y afección de la retina (coriorretinitis, papiledema, hemorragia retiniana, infiltrados perivascuales en la retina y desprendimiento retiniano ampollar). La uveítis anterior que puede tener una gravedad variable, por lo general es poco intensa (Sainz et al., 2000). La uveítis también se ha relacionado con la infección por *E. platys* en el perro (Neer, 2000). El edema en extremidades o escroto se observan en esta etapa de la enfermedad, pero en menor frecuencia (Woody y Hoskins, 1991). El daño renal es evidente, además los riñones son altamente sensibles a las vasculitis inmunomediadas por el depósito de complejos inmunes en el glomérulo produciendo consecuentemente glomerulonefritis, similar a la que se presenta en la leishmaniosis (Sainz et al., 2000), la que conlleva a una insuficiencia renal aguda, presentándose signos característicos, tales como proteinuria y azotemia. Esta última debido a los niveles elevados de NUS y creatinina en la sangre (Neer, 2000).

SIGNOS CLÍNICOS EN FASE SUBCLÍNICA

Esta fase subaguda o subclínica puede durar semanas, meses o años. Esta fase no presenta signología clínica (Codner y Farris-Smith, 1986; Perille y Maltus, 1991).

SIGNOS CLÍNICOS EN FASE CRÓNICA

En los casos crónicos es posible observar signos clínicos inespecíficos, como en el trastorno agudo. Además, las tendencias hemorrágicas, la linfadenopatía, la esplenomegalia, las anormalidades oculares y las infecciones secundarias se consideran indicadores de ehrlichiosis crónica. También se han descrito poliartropatías y signos neurológicos (Greene, 1997).

La tendencia hemorrágica reflejada a nivel de mucosas, retina, piel abdominal o en cualquier otro órgano, es una secuela común de la infección crónica pronunciada debido al persistente número bajo de plaquetas circulantes (Ettinger, 1992).

DIAGNOSTICO LABORATORIAL

EXAMEN HEMATOLOGICO

En la fase aguda la principal alteración que puede observarse es la presencia de trombocitopenia a partir de 10 a 20 días post-infección (observada en el 82% de los casos afectados) (Neer, 2000; Ettinger, 1992; Greene, 1997), así como un aumento en el tiempo de coagulación por efecto de la disminución en la agregación plaquetaria debido al desarrollo de anticuerpos contra las glucoproteínas propias de las plaquetas junto a otros factores de inhibición de aglutinación, que persiste durante toda la enfermedad incluso en la fase crónica (Sainz et al., 2000).

Suele observarse leucopenia (32% de los casos) seguida por leucocitosis (Ettinger, 1992) con monocitosis y/o linfocitosis (Parnell., 2004; Greene, 1997). Se ha observado linfocitosis granular en la infecciones con *E. canis.*, hallándose cuentas

absolutas de linfocitos que varían entre 5200 a 17200 células/ul. y la granularidad en el citoplasma característica de leucemia linfocítica bien diferenciada (Neer, 2000).

Generalmente la anemia es no regenerativa, observándose en el 82% de los casos (Neer, 2000; Sainz et al., 2000). La trombocitopenia y la anemia arregenerativa son los hallazgos hematológicos más constantes en los casos agudos y crónicos. Se observan anemias regenerativas en coinfecciones con *Babesia* spp. (Ettinger, 1992). Las anemias inmunomediadas son reportadas en la enfermedad (Parnell, 2004). Estas anomalías rara vez se presentan en forma simultánea, son más frecuentes diversas combinaciones (Greene, 1997). Es raro observar trombocitopatía y anemias positivas a Coombs y se piensa que son, cuando menos en parte, mediadas por factores humorales (Greene, 1997).

BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

La hiperproteinemia (33% de los casos), la hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%) y actividades de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (43 y 31%, respectivamente) (Greene, 2000). La hiperproteinemia resulta de valores elevados de globulina. La hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%) y actividades de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (43 y 31%, respectivamente) (Greene, 2000). La hiperproteinemia resulta de valores elevados de globulina.

ANÁLISIS DE ORINA

En el uroanálisis las dos alteraciones más frecuentes son la proteinuria (De Morais et al., 2004; Parnell, 2004) y la hematuria (Sainz et al., 2000). La densidad específica de la orina se encuentra disminuída, así como en pacientes inmunodeprimidos

es posible la aparición de infecciones secundarias con bacteriuria (Parnell, 2004).

PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las pruebas serológicas constituyen una base importante para el diagnóstico de la enfermedad, determinando cualitativamente o cuantitativamente niveles de anticuerpos (IgG o IgM) en los animales afectados por la ehrlichiosis canina (López et al., 2003).

El diagnóstico de ehrlichiosis suele basarse en resultados positivos a la prueba de anticuerpos fluorescentes (IFA) (Neer, 2000). Esta fue desarrollada en 1971, siendo utilizada actualmente para el diagnóstico ehrlichial en caninos y el hombre (Greene, 1997). Esta prueba es la más habitual en el serodiagnóstico (Parnell, 2004). La IFA detecta anticuerpos tempranamente (7 días post-infección), siendo posible que algunos casos no manifiesten positividad hasta los 28 días post-infección (Neer, 2000; Parnell, 2004). Experimentalmente, se demostró que durante los 7 primeros días de la infección inicial los títulos de anticuerpos son principalmente de IgA e IgM, siendo alrededor de los 20 días post-infección mayormente un título de IgG. La mayoría de laboratorios miden este monómero en las pruebas serológicas rutinarias (Neer, 2000; Mc Bride et al., 2003).

INMUNOABSORBANCIA LIGADA A ENZIMAS (ELISA)

Además de la técnica indirecta para detectar anticuerpos fluorescentes (IFA), la técnica indirecta de ELISA es muy utilizada para detectar anticuerpos contra *E. canis* (Neer, 2000). En un estudio para calcular la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en la ciudad de Yucatán (México) se trabajó con la técnica indirecta de ELISA, en el cual se indica que la prueba posee un 71% de sensibilidad y un 100% de especificidad (Rodríguez-Vivas et al, 2004).

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

La detección específica de *E. canis*, así como de otras especies ehrlichiales realizada mediante técnicas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) representa un método de mayor sensibilidad que el serológico y/o el cultivo celular, siendo necesario un entrenamiento adecuado y equipos especializados (Gusa et al., 2001).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Ámbito

La provincia de Huánuco se ubica a 1,800 m.s.n.m., en el valle formado por el río Huallaga, ubicado en la Región Centro Oriental del país.

El clima es seco y soleado, con una temperatura promedio de 24° C durante todo el año.

Latitud Sur: 9° 55' 46''

Latitud Oeste: 76° 14' 23''

3.2. Población

La población a estudiar, fueron los caninos de la Provincia de Huánuco, compuesto por los distritos de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca, los más poblados del Departamento.

Hay un promedio de 196,627 habitantes en los distritos de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca (INEI, censo 2017), y no se ha determinado la población canina total, solo se toman en cuenta datos de las Campañas de Vacunación VANCAN para estimar un número aproximado de canes.

3.3. Muestra

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la fórmula para población infinita desconocida.

La selección de la muestra fue por el método no probabilístico, intencional, por inclusión de caninos a medida que se detectan en centros veterinarios.

Se considera una prevalencia de 1.4% para Anaplasma en un estudio en Lima (Tateishi et al., 2015)

Datos:

$$e = 2.5 \% = 0.025$$

$$\text{Prevalencia} = 1.4 \% = 0.014$$

$$Z = 1.96$$

$$p = 0.014$$

$$q = 0.986$$

Para el cálculo del tamaño de la muestra se usa la siguiente fórmula, que se usa para estimación de una proporción (Daniel, 2006):

$$n = \frac{Z^2 (p \cdot q)}{e^2}$$

$$n = 84.85$$

$$n = 85 \text{ (redondeamos a 100)}$$

$$n = 100$$

La muestra estará conformada por 100 caninos.

Se logró la participación voluntaria de 3 Centros Veterinarios, uno en Huánuco, otro en Amarilis y otro en Pilcomarca, en dos de ellos se tomaron muestras de 35 y en el restante fueron 30 perros respectivamente.

La unidad muestral del presente estudio fue el perro. La muestra estuvo compuesta por aquellos que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Perros aparentemente sanos o que presenten cualquier signo de enfermedad.
- Perros machos y hembras.
- Perros entre 2 meses a 15 años de edad.
- Infestados con garrapatas o con antecedentes de haberlas tenido en el mes previo.

Criterios de exclusión:

- Perros agresivos que no puedan ser controlados, por el riesgo que representa para la persona que tome la muestra.
- Dueños de perros que no quieran que sus mascotas participen.
- Perros enfermos que estén en tratamiento por alguna enfermedad.
- Hembras gestantes.

3.4. Nivel y Tipo de estudio**3.4.1. Nivel de estudio**

La presente investigación es de tipo descriptivo y explicativo, de acuerdo al alcance y análisis de los resultados, porque estimamos la prevalencia y describimos los factores asociados a la infección de anaplasma y ehrlichiosis en los caninos de Huánuco.

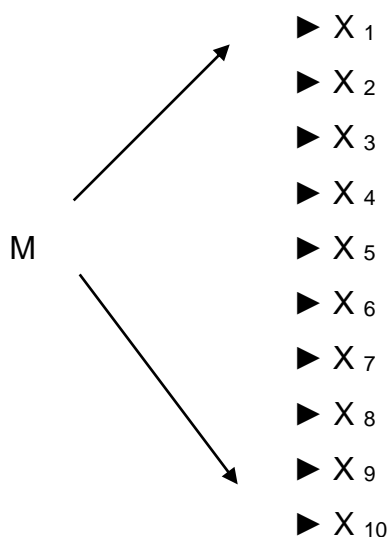
3.4.2. Tipo de Investigación

Según el período y secuencia del estudio, es de tipo transversal, porque se tomará las muestras en un momento determinado y sin manipular las variables.

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos, el estudio fue prospectivo.

3.5. Diseño de investigación

El estudio tiene un diseño descriptivo y explicativo, representado en la gráfica siguiente:



X 1 = Variable 1 X 2 = Variable 2 X 3 = Variable 3
X 4 = Variable 4 X 5 = Variable 5 X 6 = Variable 6
X 7 = Variable 7 X 8 = Variable 8 X 9 = Variable 9
X 10 = Variable 10

3.6. Técnicas e Instrumentos

3.6.1. Técnicas

3.6.1.1. Método de entrevista.- El tesista realizó preguntas a los propietarios sobre sus mascotas, relacionadas a los factores que pueden estar asociados a las enfermedades en estudio.

3.6.1.2. Técnica de recolección de muestras de sangre.- Después de identificar y anotar los datos de la reseña del animal, antecedentes y síntomas, y datos del propietario; se procedió a la toma de muestra de sangre con el consentimiento del mismo.

Con una buena sujeción, se procede a rasurar la zona del miembro anterior donde se puede visualizar la vena cefálica, luego desinfectamos el área con alcohol, para extraer la muestra de sangre usando una aguja de calibre proporcional al tamaño del animal.

Se recolectaron aproximadamente 2 ml de sangre de la vena cefálica utilizando el sistema vacutainer y tubos con EDTA.



Figura 1. Toma de muestra de sangre

3.6.2. Instrumentos

3.6.2.1. Cuestionario.- Se elaboró un grupo de preguntas cerradas de acuerdo a las variables de estudio, con el fin de recolectar la información necesaria sobre los factores asociados a las enfermedades en estudio. A cada dueño se le aplicó un cuestionario para obtener información sobre su mascota. El cuestionario fue completado por el Médico Veterinario que estuvo a cargo de tomar las muestras de sangre (ANEXO 1). Los datos colectados sirvieron para evaluar los siguientes posibles factores asociados: 1) edad, (<1 , ≥ 1 y <5 , ≥ 5 años); 2) sexo (macho o hembra); 3) dirección brindada por el dueño); 4) tipo de pelaje (corto o largo); 5) acceso a la calle (si o no); 6) grado de infestación por garrapatas en el último mes (si o no) y 7) algún síntoma (fiebre, anorexia, letargo, mucosas pálidas, ictericia, otros o ninguno de los mencionados anteriormente).

a) Validación y confiabilidad de los instrumentos

El cuestionario fue validado por 5 expertos con grado de Doctor, quienes dieron su dictamen y consideran que el instrumento es el adecuado para cumplir con los objetivos.

3.6.2.2. Prueba de diagnóstico para *Anaplasma* y *Ehrlichia*.- para ello se utilizó una prueba rápida de diagnóstico que detecta anticuerpos de *Anaplasma* y *Ehrlichia*, que consiste en un ensayo inmunocromatográfico doble, en fase sólida, para la detección de anticuerpos de *Anaplasma* y *Ehrlichia* en suero, plasma o sangre entera, específico para perros (Jiangsu Fusida Biotechnology Co., Ltd). El tiempo para la lectura es luego de 10 minutos, tiene una sensibilidad y especificidad del 97 % (Waner et al., 2001).

3.6.2.3. Ficha de registro de hemograma.- Donde se registran los datos sobre los valores del examen hematológico correspondientes a la serie blanca y la serie roja, con el objetivo de conocer las variaciones en los parámetros hematológicos en perros enfermos con una u otra enfermedad, y en coinfecciones (ANEXO 4).

3.7. Procedimiento

3.7.1. Procesamiento de la muestra.- Luego de obtenida la muestra, con una pequeña porción se realizó inmediatamente la prueba con el test rápido.

El Kit de prueba (Jiangsu Fusida Biotechnology Co., Ltd), es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de Anticuerpos de *Anaplasma sp.*, y *Ehrlichia sp.*, en suero, plasma o sangre total canina. Tiene las letras “T” y “C” que indican la aparición de franjas de prueba y de control respectivamente en la bandeja de prueba. La franja o línea de control de color rojo púrpura es visible o aparece siempre cuando el test funciona correctamente, y la franja de prueba púrpura aparecerá en la bandeja, en cada uno de las pozas de *Anaplasma sp.*, y *Ehrlichia sp.*, cuando la muestra presenta Anticuerpos contra *Anaplasma sp.*, y/o *Ehrlichia sp.* (Kelly et al., 2013)

3.7.2. Interpretación de la prueba

En cada uno de los pozos de *Anaplasma sp.*, y *Ehrlichia sp.*, debe aparecer una franja de color rojo púrpura en la parte que corresponde a la letra “C”, para demostrar que el Test está funcionando adecuadamente. Si aparece una franja similar en la parte que corresponde a la letra “T”, es la franja de prueba.

a) Resultado Negativo

La presencia única de una franja “C” en el pozo tanto de *Anaplasma sp.*, y *Ehrlichia sp.*, indica un resultado negativo.

b) Resultado Positivo

La presencia de dos franjas de color púrpura en “C” y “T”, en cada poza, tanto de *Anaplasma sp.*, y *Ehrlichia sp.*, sin importar cual banda aparece primero, indica un resultado positivo.

c) Resultado inválido

Si no aparece la franja de color rojo púrpura en “C”, en ambas pozas, después de realizar la prueba, el resultado se considera inválido.

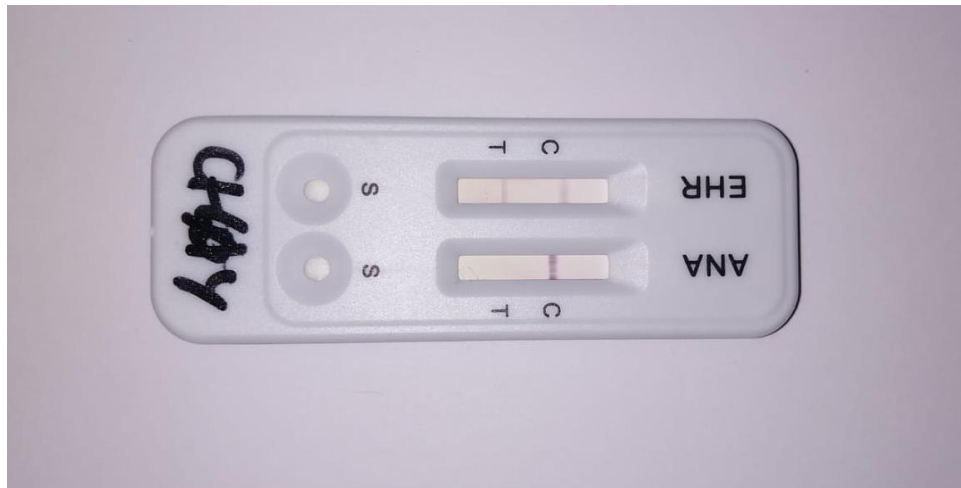


Figura 2. Test positivo a Ehrlichia

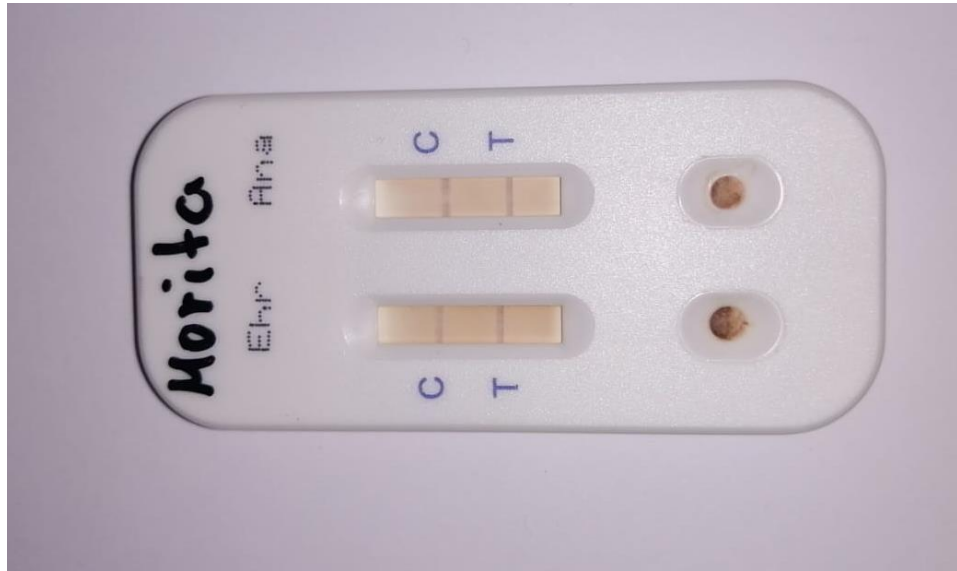


Figura 3. Test positivo a Anaplasma + Ehrlichia

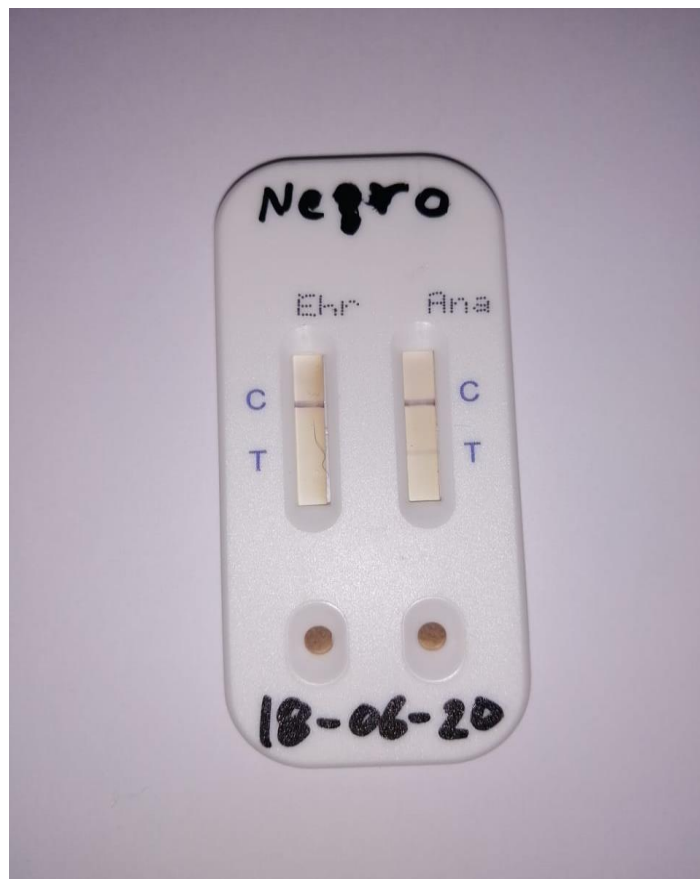


Figura 4. Test positivo a Anaplasma

3.7.3. Análisis Hematológico

La otra parte de la muestra de sangre entera se trasladó a una Clínica Veterinaria privada para realizar el Hemograma en un equipo de análisis hematológico automatizado y calibrado AUTO HEMATOLOGY ANALYZER KT-6300 VET Genrui®.

El referido equipo expresa resultados sobre Leucocitos y recuento diferencial, Eritrocitos, Hemoglobina, Hematocrito, VCM, HCM, CHCM, y Plaquetas.

3.8. Aspectos éticos

En el presente estudio se tomó en cuenta todos los aspectos que garanticen el bienestar del animal, principalmente durante la revisión del mismo y en la toma de muestra de sangre.

Por ello se confeccionó el cuestionario con una parte final donde el propietario firma, dando su Consentimiento Informado para la toma de muestras y datos de sus mascotas.

3.9. Plan de tabulación

a) Codificación. - Cada una de las muestras se codificó, para luego de obtener los resultados, registrarla de acuerdo a las variables a evaluar.

Los datos recogidos se anotaron en una base de datos, para luego analizarlas con el programa Excel.

3.10. Análisis de datos

En el análisis descriptivo se determinan las medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas según su distribución, así como las frecuencias para las variables cualitativas.

El análisis estadístico se realizó mediante la prueba del Chi-cuadrado para buscar asociación entre anaplasmosis, ehrlichiosis y coinfecciones, por la detección de anticuerpos frente a *Anaplasma spp* y *Ehrlichia spp*; y se determinó la relación entre las variables de raza, sexo, antecedente de garrapatas, presencia de signos clínicos

(ej. Fiebre) y garrapatas al examen clínico, y los animales positivos. Se considera un valor de $p \leq 0.05$ como estadísticamente significativo.

- La prevalencia (p) de *Anaplasma* spp. y *Ehrlichia* spp en perros de Huánuco, se estimó mediante la siguiente fórmula (Daniel,1996):

$$p = \frac{\text{n}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{n}^\circ \text{ de muestras totales}} \times 100$$

El resultado se expresa en porcentaje.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis descriptivo

De los 100 perros estudiados, 30 residían en el distrito de Pilcomarca, 35 en Amarilis y 35 en Huánuco.

Del total, 64 (64%) fueron de raza mestiza y 36 (36%) de raza definida; 61 fueron machos y 39 hembras; la edad fue de 2 meses hasta los 12 años, con una mayor cantidad de perros adultos entre 1 a 6 años (51%); 66 de pelo corto y 34 de pelo largo; 48 vivían netamente en casa, 11 vivían el mayor tiempo en la calle y 41 en forma mixta; 15 propietarios dijeron que su mascota no tenía garrapatas, mientras 85 dijeron que sí tenían o que en algún momento tuvieron (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la población canina de Huánuco en estudio. 2020

FACTORES	INDICADORES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
RAZA	Mestizo	64	64 %
	Definido	36	36 %
	TOTAL	100	100 %
SEXO	Macho	61	61 %
	Hembra	39	39 %
	TOTAL	100	100 %
PELAJE	Corto	66	66 %
	Largo	34	34 %
	TOTAL	100	100 %
ESTILO DE VIDA	Casa	48	48 %
	Calle	11	11 %
	Mixto	41	41 %
	TOTAL	100	100 %
PRESENCIA DE GARRAPATAS	Negativo	15	15 %
	Positivo	85	85 %
	TOTAL	100	100 %
DOMICILIO	Pilcomarca	30	30 %
	Huánuco	35	35 %
	Amarilis	35	35 %
	TOTAL	100	100 %
EDAD	< 1 año	30	30 %
	1 – 6 años	51	51 %
	7 – 12 años	19	19 %

Referente a los signos clínicos, de los 100 perros evaluados 47 tenían fiebre, mientras que 53 no tenían fiebre; 30 estaban anoréxicos y 70 no lo estaban; 37 estaban aletargados y 63 no tenían letargo; 42 de ellos tuvieron mucosas pálidas, mientras que 58 tenían las mucosas de color normal; 6 tuvieron ictericia y 94 no tuvieron; 14 tuvieron hemorragia mientras 86 no tuvieron; 11 presentaron síntomas neurológicos y 89 no lo presentaron; sólo 1 presentó queratitis (Tabla 2).

Tabla 2. Signos Clínicos en 100 perros de Huánuco en estudio. 2020

SIGNOS CLÍNICOS	INDICADOR	FRECUENCIA	PORCENTAJE
FIEBRE	No	53	53 %
	Si	47	47 %
	TOTAL	100	100 %
ANOREXIA	No	70	70 %
	Si	30	30 %
	TOTAL	100	100 %
LETARGO	No	63	63 %
	Si	37	37 %
	TOTAL	100	100 %
MUCOSAS PÁLIDAS	No	58	58 %
	Si	42	42 %
	TOTAL	100	100 %
ICTERICIA	No	94	94 %
	Si	6	6 %
	TOTAL	100	100 %
HEMORRAGIA	No	86	86 %
	Si	14	14 %
	TOTAL	100	100 %
SIGNOS NEUROLÓGICOS	No	89	89 %
	Si	11	11 %
	TOTAL	100	100 %
QUERATITIS	No	99	99 %
	Si	1	1 %
	TOTAL	100	100 %
OTROS	No	87	87 %
	Si	13	13 %
	TOTAL	100	100 %

Referido al Test Rápido Doble, de los 100 perros estudiados, 85 (85%), fueron positivos a *Ehrlichia*, mientras que 61 (61%) fueron positivos a *Anaplasma*, 55 (55%) fueron positivos a ambos gérmenes, y 9 (9%) fueron negativos a ambos gérmenes (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de Prueba Inmunocromatográfica en 100 perros. 2020

RESULTADO TEST RÁPIDO	INDICADOR	FRECUENCIA	PORCENTAJE
EHRlichIA	Positivo	30	30 %
EHRlichIA + ANAPLASMA	Positivo	55	55 %
ANAPLASMA	Positivo	6	6 %
NEGATIVO	Negativo	9	9 %

Se han realizado estudios en varios países, que en forma similar a nuestro estudio, identifican coinfecciones de *Ehrlichia* + *Anaplasma*, concluyendo que ambos agentes tienen alta prevalencia en las regiones donde se estudió, y que existen factores asociados a la infección (Dias Brandao et al., 2019; Kelly et al., 2013)

Al estimar la asociación entre los positivos a *Ehrlichia* y la raza de los animales, se encontró que, de 64 perros mestizos, 51 (79.7%) fueron positivos y 13 (20.3%) fueron negativos; mientras que, de 36 perros de raza definida, 34 (94.4%) fueron positivos y 2 (5.6%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que sí hay una asociación significativa entre Raza definida del perro y la Ehrlichiosis (Tabla 4 y 5).

Tabla 4. Asociación entre Raza de perros y positivos a Ehrlichia. 2020

		Ehrlichia		Total	
		Negativo	Positivo		
raza	mestizo	Recuento	13	51	64
		% dentro de raza	20,3%	79,7%	100,0%
	definido	Recuento	2	34	36
		% dentro de raza	5,6%	94,4%	100,0%
Total		Recuento	15	85	100
		% dentro de raza	15,0%	85,0%	100,0%

Tabla 5. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,935 ^a	1	,047		
Corrección de continuidad ^b	2,863	1	,091		
Razón de verosimilitud	4,491	1	,034		
Prueba exacta de Fisher				,077	,040
Asociación lineal por lineal	3,896	1	,048		
N de casos válidos	100				

En el caso de *Anaplasma* y la raza de los animales, se encontró que, de 64 perros mestizos, 39 (60.9%) fueron positivos y 25 (39.1%) fueron negativos; mientras que, de 36 perros de raza definida, 22 (61.1%) fueron positivos y 14 (38.9%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay una asociación entre Raza definida del perro y la Anaplasmosis (Tabla 6 y 7).

Tabla 6. Asociación entre Raza de perros y positivos a *Anaplasma*. 2020

		Anaplasma		Total	
		Negativo	Positivo		
raza	mestizo	Recuento	25	39	64
		% dentro de raza	39,1%	60,9%	100,0%
	definido	Recuento	14	22	36
		% dentro de raza	38,9%	61,1%	100,0%
Total		Recuento	39	61	100
		% dentro de raza	39,0%	61,0%	100,0%

Tabla 7. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,000 ^a	1	,986		
Corrección de continuidad ^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitud	,000	1	,986		
Prueba exacta de Fisher				1,000	,579
Asociación lineal por lineal	,000	1	,986		
N de casos válidos	100				

En relación a *Ehrlichia* y el sexo de los animales, se encontró que, de 61 perros machos, 54 (88.5%) fueron positivos y 7 (11.5%) fueron negativos; mientras que, de 39 perros hembras, 31 (79.5%) fueron positivos y 8 (20.5%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre Sexo del perro y la Ehrlichiosis.

En relación a *Anaplasma* y el sexo de los animales, se encontró que, de 61 perros machos, 40 (65.6%) fueron positivos y 21 (34.4%) fueron negativos; mientras que, de 39 perros hembras, 21 (53.8%) fueron positivos y 18 (46.2%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre Sexo del perro y la Anaplasmosis.

Cuando se analiza los positivos a *Ehrlichia* y *Anaplasma*, y la edad de los perros, se observa que la gran mayoría de los estudiados son adultos entre 1 a 6 años (51%); en el caso de los positivos a *Ehrlichia*, los perros menores de 1 año tienen un porcentaje mayor (90%, 27/30), seguido de los perros entre 7 a 12 años (89.5%, 17/19) y luego los adultos entre 1 a 6 años (80.4%, 41/51). En el caso de *Anaplasma*, de igual manera los perros menores de 1 año son la mayoría (73.3%, 22/30), luego los perros entre 7 a 12 años (63.2%, 12/19), y finalmente los adultos entre 1 a 6 años (52.9%, 27/51) (Tabla 8 y 9).

Tabla 8. Asociación entre Edad de los perros y positivos a *Ehrlichia*. 2020

Edad	Negativos	Positivos	Total
Menor de 1 año	3 10%	27 90%	30
1 – 6 años	10 19.6%	41 80.4%	51
7 a 12 años	2 10.5%	17 89.5%	19
Total	15	85	100

Tabla 9. Asociación entre Edad de los perros y positivos a Anaplasma. 2020

Edad	Negativos	Positivos	Total
Menor de 1 año	8 26.7%	22 73.3%	30
1 – 6 años	24 47.1%	27 52.9%	51
7 a 12 años	7 36.8%	12 63.2%	19
Total	39	61	100

En el caso de *Ehrlichia* y *Anaplasma* con el tamaño del pelaje del perro, la prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre estas variables.

Cuando establecemos los positivos a *Ehrlichia* según su estilo de vida, observamos que el grupo de perros que vive más tiempo en la calle tiene el porcentaje más alto de positividad (90.9%); sin embargo, en los positivos a *Anaplasma* los que viven más tiempo en casa tienen un porcentaje ligeramente mayor (64.6%). La prueba de chi cuadrado en ambos casos nos indica que no hay asociación entre estilo de vida del perro y Ehrlichiosis o Anaplasmosis.

Al estimar la asociación entre *Ehrlichia* y la presencia o ausencia de garrapatas en los animales, se encontró que, de 15 perros sin historia de garrapatas, 12 (80%) fueron positivos y 3 (20%) fueron negativos; mientras que, de 85 perros con historia de garrapatas, 73 (85.9%) fueron positivos y 12 (14.1%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre presencia de garrapatas en el perro y la Ehrlichiosis.

En el caso de la Anaplasmosis y la presencia o ausencia de garrapatas en los animales, se encontró que, de 15 perros sin historia de garrapatas, 7 (46.7%) fueron positivos y 8 (53.3%) fueron negativos; mientras que, de 85 perros con historia de garrapatas, 54 (63.5%) fueron positivos y 31 (36.5%) fueron negativos. La prueba de Chi cuadrado nos

confirma que no hay asociación entre presencia de garrapatas en el perro y la Anaplasmosis (Tablas 8, 9, 10 y 11).

Tabla 10. Asociación entre perros con garrapatas y positivos a *Ehrlichia*. 2020

		Ehrlichia		Total	
		Negativo	Positivo		
garrapata	no	Recuento	3	12	15
		% dentro de garrapata	20,0%	80,0%	100,0%
	si	Recuento	12	73	85
		% dentro de garrapata	14,1%	85,9%	100,0%
Total		Recuento	15	85	100
		% dentro de garrapata	15,0%	85,0%	100,0%

Tabla 11. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,346 ^a	1	,556		
Corrección de continuidad ^b	,038	1	,845		
Razón de verosimilitud	,324	1	,569		
Prueba exacta de Fisher				,694	,398
Asociación lineal por lineal	,343	1	,558		
N de casos válidos	100				

Tabla 12. Asociación entre perros con garrapatas y positivos a *Anaplasma*. 2020

		Anaplasma		Total	
		Negativo	Positivo		
garrapata	no	Recuento	8	7	15
		% dentro de garrapata	53,3%	46,7%	100,0%
	si	Recuento	31	54	85
		% dentro de garrapata	36,5%	63,5%	100,0%
Total		Recuento	39	61	100
		% dentro de garrapata	39,0%	61,0%	100,0%

Tabla 13. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,524 ^a	1	,217		
Corrección de continuidad ^b	,898	1	,343		
Razón de verosimilitud	1,489	1	,222		
Prueba exacta de Fisher				,257	,171
Asociación lineal por lineal	1,509	1	,219		
N de casos válidos	100				

Cuando se analiza la asociación entre el lugar de domicilio del perro y *Ehrlichia*, se encontró que, de 30 perros que residen en Pilcomarca, 28 (93.3%) fueron positivos y 2 (6.7%) fueron negativos; mientras que, de 35 perros con domicilio en Huánuco, 28 (80%) fueron positivos y 7 (20%) fueron negativos, y de 35 perros con domicilio en Amarilis, 29 (82.9%) fueron positivos y 6 (17.1%) fueron negativos. Se aprecia claramente que los perros que residen en Pilcomarca tienen mayor porcentaje de positividad a *Ehrlichia*. Sin embargo, la prueba de Chi cuadrado concluye que no hay asociación entre domicilio del perro y la Ehrlichiosis.

En el caso de *Anaplasma* y domicilio del perro se encontró que, de 30 perros residentes en Pilcomarca, 23 (76.7%) fueron positivos y 7 (23.3%) fueron negativos; mientras que, de 35 perros residentes en Huánuco, 20 (57.1%) fueron positivos y 15 (42.9%) fueron negativos, y de 35 perros residentes en Amarilis, 18 (51.4%) fueron positivos y 17 (48.6%) fueron negativos. De igual manera como en el caso de *Ehrlichia*, se observa que los perros residentes en el distrito de Pilcomarca tienen mayor porcentaje de positividad a *Anaplasma*. La prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre domicilio del perro y la Anaplasmosis; sin embargo, está muy cerca de haber asociación (Tablas 12, 13, 14 y 15).

Tabla 14. Asociación entre domicilio del perro y positivos a *Ehrlichia*. 2020

		Ehrlichia		Total	
		Negativo	Positivo		
domicilio	Pilcomarca	Recuento	2	28	30
		% dentro de domicilio	6,7%	93,3%	100,0%
	Huánuco	Recuento	7	28	35
		% dentro de domicilio	20,0%	80,0%	100,0%
	Amarilis	Recuento	6	29	35
		% dentro de domicilio	17,1%	82,9%	100,0%
Total		Recuento	15	85	100
		% dentro de domicilio	15,0%	85,0%	100,0%

Tabla 15. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,446 ^a	2	,294
Razón de verosimilitud	2,748	2	,253
Asociación lineal por lineal	1,267	1	,260
N de casos válidos	100		

Tabla 16. Asociación entre domicilio del perro y positivos a *Anaplasma*. 2020

		Anaplasma		Total	
		Negativo	Positivo		
domicilio	Pilcomarca	Recuento	7	23	30
		% dentro de domicilio	23,3%	76,7%	100,0%
	Huánuco	Recuento	15	20	35
		% dentro de domicilio	42,9%	57,1%	100,0%
	Amarilis	Recuento	17	18	35
		% dentro de domicilio	48,6%	51,4%	100,0%
Total		Recuento	39	61	100
		% dentro de domicilio	39,0%	61,0%	100,0%

Tabla 17. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4,662 ^a	2	,097
Razón de verosimilitud	4,858	2	,088
Asociación lineal por lineal	4,165	1	,041
N de casos válidos	100		

En relación a *Ehrlichia* y *Anaplasma* con los signos clínicos, la prueba de Chi cuadrado nos confirma que no hay asociación entre *Ehrlichia* o *Anaplasma*, y los signos de fiebre, anorexia, letargia, ictericia, hemorragia, signos neurológicos y queratitis. Sin embargo, el signo clínico de mucosas pálidas sí tiene asociación significativa con *Ehrlichia*, pero no con *Anaplasma* (Tabla 16, 17, 18 y 19).

Tabla 18. Asociación entre el signo clínico mucosas pálidas del perro y positivos a *Ehrlichia*. 2020

			Ehrlichia		Total
			Negativo	Positivo	
mucosa.pal	no	Recuento	13	45	58
		% dentro de mucosa.pal	22,4%	77,6%	100,0%
	si	Recuento	2	40	42
		% dentro de mucosa.pal	4,8%	95,2%	100,0%
Total	Recuento		15	85	100
	% dentro de mucosa.pal		15,0%	85,0%	100,0%

Tabla 19. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,953 ^a	1	,015		
Corrección de continuidad ^b	4,649	1	,031		
Razón de verosimilitud	6,737	1	,009		
Prueba exacta de Fisher				,021	,013
Asociación lineal por lineal	5,894	1	,015		
N de casos válidos	100				

Tabla 20. Asociación entre el signo clínico mucosas pálidas del perro y positivos a *Anaplasma*. 2020

		Anaplasma		Total	
		Negativo	Positivo		
mucosa.pal	no	Recuento	23	35	58
		% dentro de mucosa.pal	39,7%	60,3%	100,0%
	si	Recuento	16	26	42
		% dentro de mucosa.pal	38,1%	61,9%	100,0%
Total		Recuento	39	61	100
		% dentro de mucosa.pal	39,0%	61,0%	100,0%

Tabla 21. Chi Cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,025 ^a	1	,875		
Corrección de continuidad ^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitud	,025	1	,875		
Prueba exacta de Fisher				1,000	,521
Asociación lineal por lineal	,025	1	,875		
N de casos válidos	100				

Al realizar el análisis de los valores hematológicos se puede observar valores promedios muy bajos en los positivos a *Ehrlichia*, en especial los que corresponden a Plaquetas (106,130); y en segundo lugar los de Hemoglobina y Hematocrito (7.75 y 28.81 respectivamente) (Tabla 22). Al confrontarlos con los positivos a *Ehrlichia* y *Anaplasma*, se encontró asociación entre los niveles de plaquetas (0.017) y los positivos a *Ehrlichia*, además muy cerca de haber una asociación entre los niveles de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito (0.056, 0.088 y 0.086 respectivamente); con la positividad a *Ehrlichia* (Tabla 23).

Tabla 22. Valores hematológicos promedio en perros positivos a *Ehrlichia*. 2020

	Ehrlichia	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
leucocito	Negativo	15	13,400	4,6550	1,2019
	Positivo	85	11,252	7,3815	,8006
eritrocito	Negativo	15	4,8713	1,39972	,36141
	Positivo	85	4,1511	1,31697	,14285
hemoglobina	Negativo	15	9,080	2,8353	,7321
	Positivo	85	7,751	2,7373	,2969
hematocrito	Negativo	15	33,613	10,9679	2,8319
	Positivo	85	28,813	9,6787	1,0498
VCM	Negativo	15	70,353	3,9014	1,0073
	Positivo	85	68,476	4,3966	,4769
HCM	Negativo	15	18,540	1,2844	,3316
	Positivo	85	18,689	3,5245	,3823
CHCM	Negativo	15	26,340	1,1587	,2992
	Positivo	85	27,019	2,8699	,3113
plaquetas	Negativo	15	177,93	113,113	29,206
	Positivo	85	106,13	103,961	11,276

Tabla 23. Prueba T para igualdad de medias

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
leucocito	Varianzas iguales	,576	,450	1,087	98	,280
	No varianzas iguales			1,488	28,254	,148
eritrocito	Varianzas iguales	,227	,635	1,935	98	,056
	No varianzas iguales			1,853	18,640	,080
hemoglobina	Varianzas iguales	,000	,991	1,725	98	,088
	No varianzas iguales			1,683	18,899	,109
hematocrito	Varianzas iguales	,171	,680	1,736	98	,086
	No varianzas iguales			1,589	18,055	,129
VCM	Varianzas iguales	,120	,730	1,548	98	,125
	No varianzas iguales			1,684	20,804	,107
HCM	Varianzas iguales	1,095	,298	-,162	98	,872
	No varianzas iguales			-,295	58,663	,769
CHCM	Varianzas iguales	1,892	,172	-,900	98	,370
	No varianzas iguales			-1,572	50,798	,122
plaquetas	Varianzas iguales	1,143	,288	2,434	98	,017
	No varianzas iguales			2,294	18,417	,034

Luego de analizar las relaciones entre los factores epidemiológicos y los valores hematológicos, con los positivos a ambos gérmenes *Ehrlichia* y *Anaplasma* (Coinfección o Infección mixta), resultó que mediante la prueba de ANOVA hay igualdad de varianzas en las variables de valores hematológicos; a excepción de valores muy cercanos a una diferencia estadística entre las medias en el caso de eritrocitos y plaquetas (0.07) y (0.09) respectivamente (Tabla 24).

Tabla 24. Análisis de varianza de los valores hematológicos en perros con infección doble *Ehrlichia* + *Anaplasma*

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
leucocito	Entre grupos	66,408	3	22,136	,436	,728
	Dentro de grupos	4872,685	96	50,757		
	Total	4939,092	99			
eritrocito	Entre grupos	12,584	3	4,195	2,409	,072
	Dentro de grupos	167,150	96	1,741		
	Total	179,734	99			
hemoglobina	Entre grupos	34,736	3	11,579	1,523	,213
	Dentro de grupos	729,734	96	7,601		
	Total	764,470	99			
hematocrito	Entre grupos	451,105	3	150,368	1,536	,210
	Dentro de grupos	9395,716	96	97,872		
	Total	9846,821	99			
VCM	Entre grupos	96,710	3	32,237	1,734	,165
	Dentro de grupos	1785,013	96	18,594		
	Total	1881,724	99			
HCM	Entre grupos	19,899	3	6,633	,608	,611
	Dentro de grupos	1046,942	96	10,906		
	Total	1066,841	99			
CHCM	Entre grupos	12,806	3	4,269	,582	,628
	Dentro de grupos	703,715	96	7,330		
	Total	716,521	99			
plaquetas	Entre grupos	75131,464	3	25043,821	2,231	,090
	Dentro de grupos	1077597,536	96	11224,974		
	Total	1152729,000	99			

4.2. Análisis inferencial

De los 100 perros estudiados, la mayor prevalencia fue de Ehrlichiosis (85%); sin embargo, se demostró la presencia de coinfección o infección mixta con *Ehrlichia* + *Anaplasma*, en el 55% de los perros.

Los perros de raza definida o también llamados perros de raza, están asociados a la infección por *Ehrlichia*, el 94.4% de ellos estuvo infectado por *Ehrlichia*. Sin embargo, esto no sucede en el caso de *Anaplasma*.

Asimismo, el sexo, el tamaño del pelaje, la presencia de garrapatas y el estilo de vida, no son factores asociados a la infección por *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Sin embargo, en relación a la edad, nuestros resultados indican mayor prevalencia en perros menores de 1 año (73.3%), valores que son diferentes a otros estudios que encuentran mayor prevalencia de *Anaplasma* en perros mayores de 2 años (63.3%); y son similares a otros estudios que encuentran una prevalencia de 100% en perros menores de 2 años. También son diferentes en relación al estilo de vida, ya que otros reportan una alta prevalencia en perros que viven fuera de la casa en forma libre, y aquellos infestados con garrapatas (Delgado y Montoya, 2018; Ortiz, 2012; Movilla et al., 2016)

El hecho que el domicilio del perro sea en Huánuco, Amarilis o Pilcomarca, no es un factor asociado a la infección por *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Sin embargo, está muy cerca de serlo en el caso de domiciliar en Pilcomarca y la infección por *Anaplasma*. Esto se puede explicar porque mientras *Ehrlichia* es un patógeno que puede estar más prevalente en muchos lugares geográficos y ambientales, *Anaplasma* debe encontrar condiciones adecuadas como la que probablemente hay en la localidad de Pilcomarca.

El signo clínico de mucosas pálidas está asociado con la infección por *Ehrlichia*, pero no con *Anaplasma*. Asimismo, los signos clínicos de fiebre, anorexia, letargia, ictericia, hemorragia, signos neurológicos y queratitis; no se asocian a *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Este resultado es

diferente a otros reportes que encuentran una alta frecuencia de signos clínicos como inapetencia, letargia y pérdida de peso, además de trombocitopenia y anemia, asociación estadísticamente significativa con los positivos a ambos gérmenes (Ybañez et al., 2018)

El valor hematológico asociado con Ehrlichiosis es el número de plaquetas, que en esta enfermedad está disminuído. Los valores referenciales de plaquetas en perros son entre 150,000 – 500,000 x μ l (Bossa-Miranda et al., 2012), con una media de 300,000. En nuestro estudio el promedio está en 106,130, con valores tan bajos como de 8,000 (González et al., 2013; Harrus et al., 1996).

La trombocitopenia es una alteración del número de plaquetas que se presentó en nuestro estudio, similar a muchos reportes que indican una marcada trombocitopenia al inicio de la infección, y luego aumenta gradualmente durante aproximadamente 3 meses, persistiendo en casos de coinfecciones (Gaunt et al., 2010).

Asimismo, el número promedio de eritrocitos fue 4'151,000 x L, de hemoglobina 7.75 g x dl, y de hematocrito 28.81 %. Sus valores referenciales son: 5'000,000 – 8'000,000 x L, 12 – 18 g x dl, y 37 – 55 % respectivamente; lo que se interpreta como Anemia (Hoyos et al., 2007; Paniagua y Guzmán, 2010; Romero et al., 2011).

4.3. Discusión de resultados

Se detectó *Anaplasma* y *Ehrlichia* en perros con signos clínicos sospechosos de enfermedad, de los distritos de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca. Es un hallazgo importante porque es la primera vez que se detecta *Anaplasma* en Huánuco, y también la coinfección de *Anaplasma* + *Ehrlichia*. Es preciso anotar que ya se ha detectado y reportado la presencia de *Ehrlichia* en Huánuco (Huerto y Dámaso, 2015; Tasayco et al., 2017), y existían indicios de la presencia de *Anaplasma*; sin embargo, no se han reportado estudios similares que reporten a este último.

En general, ha sido sugerido que la coinfección de dos o más enfermedades transmitidas por vectores, tal como se muestra en este estudio, podrían conducir a efectos inmunológicos más complejos, dificultando aún más el diagnóstico de estas asociaciones, y posterior tratamiento (McCown et al., 2015)

Por otro lado, el 94.4% de los perros de raza definida o también llamados “perros de raza” incluidos en el estudio, fueron positivos a *Ehrlichia*, asociación corroborada con la prueba de Chi cuadrado. Este resultado es similar a lo demostrado en varios estudios que indican que los perros de raza son más susceptibles a la infección. Lo mismo no sucede con *Anaplasma*, tampoco en los casos de coinfección *Anaplasma + Ehrlichia*, donde no se logró demostrar asociación con la raza de los perros (Ybañez et al., 2018).

Asimismo, el sexo, el tamaño del pelaje, la presencia de garrapatas y el estilo de vida, no son factores asociados a la infección por *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Estos resultados son respaldados por una amplia bibliografía que indican la presencia de estas enfermedades en perros con distintas características; sin embargo, también se reporta una relación entre estas enfermedades y la exposición a las garrapatas, así como también con la condición de vivir en la calle en el caso de los perros sin dueño (Scorpio et al., 2008).

Estadísticamente se demostró que el lugar de domicilio del perro, sea en Huánuco, Amarilis o Pilcomarca, no es un factor asociado a la infección por *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Sin embargo, a un $p \leq 0.05$, está muy cerca de ello la asociación de domiciliar en Pilcomarca y la infección por *Anaplasma*. Hay estudios que se refieren a la identificación de *Anaplasma* y otros patógenos, en lugares geográficos determinados en muchas partes del mundo, y que resultan en algunos casos con mayor prevalencia que *Ehrlichia* (Yuasa et al., 2017).

Los signos clínicos de fiebre, anorexia, letargia, ictericia, hemorragia, signos neurológicos y queratitis; no se asocian a *Ehrlichia* y *Anaplasma*, tampoco con la coinfección. Estos resultados son similares a lo descrito en la bibliografía, indicando que los signos clínicos son muy variados en estas enfermedades (Harrus y Waner, 2011); sin embargo, el signo clínico de mucosas pálidas sí está asociado con la infección por *Ehrlichia*, pero no con *Anaplasma*. Este resultado se explica por la disminución de los valores hematológicos en los perros con estas enfermedades, principalmente eritrocitos, hemoglobina y hematocrito; asimismo, se reporta la importancia de signos clínicos que están asociados a las enfermedades (René-Martellet et al., 2015).

Si bien es cierto que los valores hematológicos están disminuidos en una gran cantidad de perros enfermos, al aplicar la prueba estadística, no resultó en asociación con las enfermedades. El único valor hematológico demostrado estadísticamente, que está asociado a *Ehrlichia*, es el número de plaquetas, mencionado en muchos reportes que está disminuido en esta enfermedad (González et al., 2013; Bulla et al., 2004; Harrus et al., 1997).

4.4. Aporte de la investigación

La coinfección de *Ehrlichia* y *Anaplasma* encontrada en el presente estudio se puede deber a que la garrapata *R. sanguineus* es el principal vector de estos agentes, y en esta garrapata también se ha descrito la presencia de ambos patógenos (Gonzalez et al., 2019).

Este estudio enfatiza la importancia del monitoreo de las enfermedades transmitidas por vectores, con el propósito de determinar la seroprevalencia de estas enfermedades, el desarrollo y evaluación de riesgos, así como la implementación de una medicina preventiva y otros medios de control. Los resultados demuestran la inmensa necesidad de monitorear continuamente los lugares donde existan animales expuestos a estas enfermedades (Duncan et al., 2004; Alho et al., 2017).

Este estudio amplía la información sobre la distribución de los patógenos transmitidos por vectores, en perros que viven en los distritos de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca

CONCLUSIONES

1. La prevalencia de *Anaplasma* fue de 61%, de *Ehrlichia* 85%, y *Anaplasma* + *Ehrlichia* 55%, en 100 perros de Huánuco, Amarilis y Pilcomarca.
2. El factor raza del perro está asociado a infección por *Ehrlichia*, siendo los perros de razas definidas los más susceptibles.
3. El sexo, el tamaño del pelaje, la presencia de garrapatas, el estilo de vida, y el domicilio del perro, sea en Huánuco, Amarilis o Pilcomarca, no son factores asociados a la infección por *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Sin embargo, la prueba estadística nos indica un valor muy cercano al hecho de domiciliar en Pilcomarca, asociado a la infección por *Anaplasma*.
4. El signo clínico de mucosas pálidas está asociado con la infección por *Ehrlichia*, pero no con *Anaplasma*.
5. Los signos clínicos de fiebre, anorexia, letargia, ictericia, hemorragia, signos neurológicos y queratitis; no se asocian a *Ehrlichia* y *Anaplasma*.
6. Los valores hematológicos en los perros estudiados y positivos a *Ehrlichia*, son en promedio: Leucocitos 11,252, Eritrocitos 4'151,100, Hemoglobina 7.75, Hematocrito 28.8, Plaquetas 106,130.
7. El valor hematológico demostrado estadísticamente, que está asociado a *Ehrlichia*, es el número de plaquetas, que está disminuido en estas enfermedades.

RECOMENDACIONES

Los resultados del presente estudio nos confirman la presencia de patógenos transmitidos por vectores que infectan a los perros en Huánuco, y que son de gran significancia para la salud humana, como es el caso de *Anaplasma spp* y *Ehrlichia spp*. Por esta razón, se recomienda a los Médicos veterinarios dedicados a Clínica de animales de Compañía, proporcionar esta información importante a los propietarios, para que puedan reducir el riesgo de infección por patógenos zoonóticos transmitidos por vectores, en sus mascotas y en ellos mismos.

Asimismo, se recomienda a las autoridades sanitarias, agrícolas y municipales, el control del uso indiscriminado de agroquímicos y plaguicidas; porque pueden causar un impacto significativo en la dispersión de los artrópodos vectores, y en la incidencia de enfermedades caninas transmitidas por vectores.

Se recomienda mayores estudios sobre la ecología de los artrópodos involucrados en la transmisión de patógenos a los perros, para reducir la carga de enfermedades caninas transmitidas por vectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrianzén, J; Chávez, A; Casas, E; Li, O. 2003. Seroprevalencia de la Dirofilariosis y Ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. RIVEP. Vol. 14 Num. 1. 43-48
2. Aguirre, E; Sainz, A; Dunner, S; Amusatogui, I; López, L; Rodríguez-Franco, F; Luaces, I; Cortés, O; Tesouro, MA. 2004. First isolation and molecular characterization of Ehrlichia canis in Spain. Vet Parasitol 125: 365-372
3. Ana Margarida Alho, Clara Lima, Maria Stefania Latrofa, Vito Colella, Silvia Ravagnan, Gioia Capelli, Luís Madeira de Carvalho, Luís Cardoso, Domenico Otranto. 2017. Molecular detection of vector-borne pathogens in dogs and cats from Qatar. Parasites & Vectors. 10:298
4. Alleman, A. R. and Wamsley, H. L. 2008. An update on anaplasmosis in dogs. *Vet. Med.* 103: 212–220.
5. Anaya, E; Morón, C; Jaramillo, K; Mendoza, L; Román, R. 2009. Evidencia serológica de ehrlichiosis humana en Ancash, Perú. *Rev Per Med Exp y Salud Pública.* 26(1): 54-57.
6. Arraga-Alvarado C, Palmar M, Parra O, Salas P. 2003. Ehrlichia platys (Anaplasma platys) in dogs from Maracaibo, Venezuela: an ultrastructural study of experimental and natural infections. *Vet Pathol* 40: 149-156. doi: 10.1354/vp.40-2-149.
7. Baneth G, Bourdeau P, Bourdoiseau G, Bowman D, Breitschwerdt E, Capelli G, et al. Vector-borne diseases - constant challenge for practicing veterinarians: recommendations from the CVBD World Forum. *Parasit Vectors.* 2012;5:55.
8. Marcos Adriano Barbosa Machado, Taiã Mairon Peixoto Ribeiro, Beatryz Fonseca da Silva, Thássia Silva Reis, Lucas Marlon Freiria, Sebastiana Adriana Pereira Sousa, Helcileia Dias Santos. 2018. Hemoparasitos em caninos do município de Araguaína, Tocantins. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* (v.12, n.4) p. 487-494 out – dez.
9. Barrios, LM. 2010. Evidencia hematológica y serológica de Ehrlichia spp. en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de ehrlichiosis

en Lima Metropolitana. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. pp 136

10. Batmaz, H; Nevo, E; Waner, T; Senturk, S; Yilmaz, Z and Harrus, S. 2001. Seroprevalence of Ehrlichia canis antibodies among dogs in Turkey. Vet Rec. 148(21): 665-666.
11. Beaufile, J. P., Inokuma, H., Martin-Granel, J., Jumelle, P., Barbault-Jumelle, M. and Brouqui, P. 2002. *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) infection in a dog in France: description of the case, and characterization of the agent. Rev. Med. Vet. **153**: 85–90.
12. Bélanger, M; Sorenson, HL; France, MK et al. 2002. Comparison of serological detection methods for diagnosis of Ehrlichia canis infection in dogs. J Clin Microbiol 40: 3506-3508.
13. Bossa-Miranda, María A; Valencia-Celis, Verónica del C; Carvajal-Giraldo, Bibiana A; Ríos-Osorio, Leonardo A. 2012. Valores de referencia del hemograma en perros sanos entre 1 y 6 años de edad, atendidos en el Hospital Veterinario - Universidad de Antioquia, 2002-2009. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, vol. 25, núm. 3, julio-septiembre, 2012, pp. 409-416 Universidad de Antioquia Medellín, Colombia.
14. Bowman D, Little SE, Lorentzen L, Shields J, Sullivan MP, Carlin EP: Prevalence and geographic distribution of Dirofilaria immitis, Borrelia burgdorferi, Ehrlichia canis, and Anaplasma phagocytophilum in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. Vet Parasitol 2009, 160:138-148.
15. Bowman D. Parasitología para veterinarios. Babesia, Anaplasma ssp. Barcelona España: Elsevier; c2011. 440pp.
16. Breitschwerdt, EB. 2002. Ehrlichiosis: a new zoonosis? Compendium (Merial). 24(1): 10-14.
17. Bulla, C; Kiomi Takahira, R; Pessoa Araujo, J; et al. 2004. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with Ehrlichia canis in an endemic área. Vet Res 35: 141-146.
18. Calvache H. Identificación de Hemoparásitos mediante “SNAP Diagnostico 4DX Plus (IDEXX)” en caninos comprometidos entre dos

- meses a doce años de edad, en clínicas veterinarias urbanas de la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas [Internet]. Ecuador; 2014 [Citado el 01 de Agust. de 2017]. Disponible desde: dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2941
19. Cohn, L. A. 2003. Ehrlichiosis and related infections. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33: 863–884. [Medline]
 20. Contreras, AMG; Gavidia, C; Li, O; Díaz, D; Hoyos, L. 2006. Estudio retrospectivo de caso control de ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos: período 2002-2005. *RIVEP Vol 20 N° 2.* 270-276 pp
 21. De Morais, HAS; Dagnone, AS; Trapp, SM, et al. 2003. Risk factors in the hemogram of dogs seropositive for *Babesia canis* and *Ehrlichia canis*: a hospital population study in south Brazil. *J Vet Intern Med* 17: 422-423.
 22. Dantas-Torres F. (2015) Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *Int J Parasitol Parasites Wildl*; 4(3):452-61.
 23. Dantas-Torres, F. 2008. Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites & Vectors*, 1:25 doi:10.1186/1756-3305-1-25.
 24. Delgado I. N.; Montoya A. M. 2018. Influencia de la edad y el sexo sobre la prevalencia de *Anaplasma* spp en caninos (*Canis familiaris*) atendidos en Clinicas Veterinarias en los distritos de José Leonardo Ortiz, La Victoria y Chiclayo. Julio - Diciembre 2017. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo pp 91.
 25. Verucia Maria Dias Brandão, Pedro Henrique Marques Barrozo, Luciane Oeiras Sousa, Rafaelle Cunha dos Santos, Katiane Schwanke, Francisco Dantas Sampaio Junior, Welton Seabra Prado, Alessandra Scofield Amara, Gustavo Góes Cavalcante. 2019. Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs from municipality of Belém, State of Pará, Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.49:12.
 26. Donatien, A; Lestoquard, F. 1935. Existence en Algerie d'une rickettsia du chien. *Bulletin de la Societe de Pathologies Exotique*, 28:418-419

27. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol* 51: 2145-2165. doi: 10.1099/ 00207713-51-6-2145
28. Duncan AW, Correa MT, Levine JF, Breitschwerdt EB (2004). The dog as a sentinel for human infection: prevalence of Borrelia burgdorferi C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic states. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 4:221–229.
29. Ettinger SJ. 1992. Tratado de medicina interna. Enfermedades del perro y el gato. México: Intermédica. 2568 p.
30. Gislaine Cristina Ferreira da Silva, Aline do Nascimento Benitez, Aline Giroto, Alessandra Taroda, Marilda Carlos Vidotto, João Luis Garcia, Julio Cesar de Freitas, Selwyn Arlington Headley, Odilon Vidotto. (2012) Occurrence of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in household dogs from northern Parana. *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*, v. 21, n. 4, p. 379-385, out.-dez.
31. Figueroa M, Vargas L, Mendoza L, Acevedo O, Chavarría M, Fonseca E. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica, Universidad Estatal a Distancia [Internet]. Costa Rica; 1984 [Citado el 30 de Jul. de 2017]. Disponible desde: <https://es.scribd.com/doc/228697968/Enfermedades-Infeciosas-de-Centroamerica1-pdf>
32. Franco. K. Determinación de la incidencia de Anaplasma en caninos, en la zona del cantón Salitre. Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista [Internet]. Guayaquil, Ecuador; 2016 [Citado el 01 de Agost. de 2017]. Disponible desde: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/12278/1/Proyecto%20de%20investigacion-Kelvin%20Jamil%20Franco%20Montece.pdf>

33. SD Gaunt, MJ Beall, BA Stillman, L Lorentzen, PPVP Diniz, R Chandrashekar, EB Breitschwerdt.. 2010. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites & Vectors*, 3:33
34. Gaunt SD, Baker DC, Babin SS. 1990. Platelet aggregation studies in dogs with acute *Ehrlichia platys* infection. *Am J Vet Res* 51: 290-293.
35. Gispert C, Gárriz J, Chalem R, Furia P, Perera M, Sala A. Manual Merck de Veterinaria 6a. ed. España: Océano. c2007. 1362pp
36. Gittins J. Síntomas de la Anaplasmosis canina. eHowenespañol [Internet]. 2012, Oct [Citado el 13 de Dic. de 2017]. Disponible desde: http://www.ehowenespanol.com/sintomasanaplasmosis-canina-ista_101288/
37. Adriana Milena González G, Eduar Fernando Rojas H, Martín Orlando Pulido- Medellín, Diego José García- Corredor. 2013. Correlación entre hemograma y frotis sanguíneo para determinar *E. canis* en la vereda Peñitas de Puente Nacional. *Ciencia y Agricultura Vol. 10 - Nº. 1. Enero - Junio 2013*, p.17-23
38. Maylín González Navarrete, Claudia Bezerra Da Silva, Sandra Cuello Portal, María Beatriz Rodríguez Alonso, Aivaldo Henrique Da Fonseca. 2019. Diagnóstico de *Ehrlichia canis* en perros domiciliados de La Habana, Cuba. *Revista de Salud Animal*, Vol. 41, No. 2, mayo-agosto.
39. Greene RT. 1997. Ehrlichiosis canina: implicaciones clínicas de factores humorales. En: Kirk R (ed). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. 12° ed. México: McGraw-Hill Interamericana. p 317-320.
40. Greene CE. 2008 *Enfermedades Infecciosas, perros y gatos*. 3ª edición. Vol 1. Cap 28 "Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por *Wolbachia*". New York: Elsevier Health Sciences, pp. 227-259.
41. Harrus, S; Alleman, AR; Bark, H; et al. 2002. Comparison of three enzymelinked immunosorbent assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Vet Microbiol* 86: 361-368.
42. Harrus, S., Aroch, I., Lavy, E. and Bark, H. 1997. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet. Rec.* 141: 247-250

43. Harrus, S; Waner, T; Eldor, A., et al. 1996. Platelet dysfunction associated with experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Rec* 139: 290- 293.
44. Harrus S. Waner T. 2011. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. *Veterinary Journal*; 187: 292-296.
45. Hoyos, SL; Li, E; Alvarado, S; Suárez, A; Díaz, C. 2007. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. *Revista de investigaciones Veterinarias del Perú*. Vol 18. N° 2. 129-135 pp
46. Hoyos, SL. 2005. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis canina. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. Fac. de Medicina Veterinaria. UNMSM. Lima. Pp.110
47. Huerto-Medina, Edward; Dámaso-Mata, Bernardo. 2015. Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, vol. 32, núm. 4, 2015, pp. 756-760 Instituto Nacional de Salud Lima, Perú
48. Inokuma, H; Beppu, T; Okuda, M., et al. 2003. Epidemiological survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* using ticks collected from dogs in Japan. *Vet Parasitol* 115; 343-348.
49. Inokuma HD, Raoult D, Brouqui P. 2000. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. *J Clin Microbiol* 38: 4219-4221.
50. Patrick J. Kelly, Chuanling Xu, Helene Lucas , Amanda Loftis , Jamie Abete , Frank Zeoli , Audrey Stevens , Kirsten Jaegersen , Kate Ackerson , April Gessner , Bernhard Kaltenboeck , Chengming Wang. 2013. Ehrlichiosis, Babesiosis, Anaplasmosis and Hepatozoonosis in Dogs from St. Kitts, West Indies. *PLOS ONE* | www.plosone.org. January | Volume 8 | Issue 1.
51. Lorente Méndez, 2005. Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la "Ehrlichiosis canina": Evolución tras la administración de "dipropionato de imidocarb". Memoria para optar al grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid pp. 324

52. Marin, H, J; Montaña H. J. A. y Dominguez, O. J. A. 1998 Diplomado a Distancia en Medicina Cirugía y Zootécnica de Perros y Gatos Módulo Enfermedades Infecciosas Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.pp. 298 – 304.
53. McCown, M E; Monterroso, V H.; Cardona, W. Monitoreo de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, y Dirofilaria immitis en perros de tres ciudades en Colombia. Rev CES Med Vet y Zoot 2015 ISSN: 1900-9607. Vol 10 N° 2. 224-231
54. Méndez C. Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la “ehrlichiosis canina”: evolución tras la administración de “dipropionato de imidocarb”. Tesis Doctoral en Medicina y Cirugía Animal, Universidad Complutense de Madrid [Internet]. Madrid; 2004 [Citado el 06 de Agost. de 2017]. Disponible desde: biblioteca.ucm.es/tesis/vet/ucm-t28229.pdf
55. Michael E, Monterroso V, Cardona W. Monitoreo de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, y Dirofilaria immitis en perros de tres ciudades en Colombia. Revista Ces Medicina Veterinaria Y Zootecnia [Internet]. 2015, Jul. [Citado el 15 de Dic. de 2017]. 10 (2), pp. 224- 231. Disponible desde: <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v10n2/v10n2a14.pdf>
56. Moshkovski, S. D. 1945. Cytotropic inducers of infection and the classification of the Rickettsiae with Clamydozoa. Adv Mod Biol (Moscow). 19:1-44.
57. Mousam Das, Sabyasachi Konar. 2013. Clinical and hematological study of canine Ehrlichiosis with other hemoprotozoan parasites in Kolkata, West Bengal, India. Asian Pac J Trop Biomed 2013; 3(11): 913-915
58. Rebeca Movilla, Carlos García, Susanne Siebert, Xavier Roura. 2016. Countrywide serological evaluation of canine prevalence for Anaplasma spp., Borrelia burgdorferi (sensu lato), Dirofilaria immitis and Ehrlichia canis in Mexico. Parasites & Vectors (2016) 9:421
59. Muñoz. A. Anaplasmosis. Proyecto de investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, Universidad Autónoma Antonio Narro [Internet]. México; 2008 [Citado el 01 de Agost. de 2017]. Disponible

desde:

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2891/ALFONSO%20LONGINOS%20MU%C3%91OZ%20BENITEZ.pdf?sequence=1>

60. Neer, TM. 2000. Ehrlichiosis monocítica y granulocítica canina. Enfermedades Infecciosas en perros y gatos, 2da. Ed. México. Mc Graw-Hill Interamericana, p 153-169.
61. Núñez, OL. 2003. Estudio de la seroprevalencia de Ehrlichia canis en México. Revista AMMVEPE 2003; 14(3): 83-85
62. OIE . 2001. Manual terrestre de Anaplasmosis bovina [Internet]. [Citado el 25 de Jul. de 2017]. Disponible desde: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.01_A_naplasmosis_bovina .pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.01_A_naplasmosis_bovina.pdf)
63. Orjuela Ch., J. A; García A., G. F.; Imbachi J.G. 2015. Análisis epidemiológico de la presentación de Ehrlichia sp. en caninos de Florencia Caquetá, Colombia. REDVET - Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504. Vol 16 N° 6
64. Ortega A, Colín R, Gutiérrez E, Alzina A, Jiménez C. Evidencia Serológica De Hemoparásitos En Perros Clínicamente Sanos En Condiciones Del Trópico De México. Actualidades En Medicina Veterinaria Y Zootecnia [Internet]. 2016, Nov. [Citado el 15 de Dic. de 2017]. 5 (18), pp. 4 - 8. Disponible desde: <http://www.acmevez.mx/acmevez18/acmevez18.pdf>
65. Ortiz. M. Seroprevalencia de Ehrlichia canis y Anaplasma phagocytophilum en caninos vagabundos de dos sectores urbanos de la ciudad de Talca, región del Maule. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario, Universidad Santo Tomas [Internet]. Chile; 2012 [Citado el 06 de Agost. de 2017]. Disponible desde: <https://es.slideshare.net/rolandorojasegarcia/erlichiosis-y-anaplasmosis>
66. Otranto D, Dantas-Torres F, Brianti E, Traversa D, Petric D, Genchi C, et al. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. Parasit Vectors. 2013;6:16.

67. Otranto D, Cantacessi C, Pfeffer M, Dantas-Torres F, Brianti E, Deplazes P, et al. The role of wild canids and felids in spreading parasites to dogs and cats in Europe. Part I: Protozoa and tick-borne agents. *Vet Parasitol.* 2015;213:12–23.
68. Otto. M; Mayhew. J; Doreen. M. Tratado de enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. España: McGraw-Hill; 1999 [Citado el 10 de Jul. de 2017] Disponible desde: https://books.google.com.pe/books/about/Medicina_Veterinaria_V_II_9_Ed.html?id=5NRaPgAACAAJ&redir_esc=y.pdf
69. Funda Özata, Kerem Ural. (2014) Thrombocyte indices in dogs infected with Ehrlichia canis and Anaplasma phagocytophilum. *Rev.MVZ Córdoba* 19(3):4277-4288,. ISSN: 0122-0268
70. Paniagua M.L.R., Guzmán C.J. 2010. Características hematológicas, bioquímicas e histopatológicas de ehrlichiosis canina. Tesis de grado para optar el título de Medico Veterinario. Facultad de Ciencias Veterinarias, U.A.G.R.M., Santa Cruz de la Sierra, Bolivia
71. Magalie René-Martellet, Isabelle Lebert, Jeanne Chêne, Raphaël Massot, Marta Leon, Ana Leal, Stefania Badavelli, Karine Chalvet-Monfray, Christian Ducrot, David Abrial, Luc Chabanne, Lénaïg Halos. 2015. Diagnosis and incidence risk of clinical canine monocytic ehrlichiosis under field conditions in Southern Europe. *Parasites & Vectors* (2015) 8:3
72. Reyes-Clímaco L, Romero-Núñez C, Heredia-Cardenas R. Evaluación de enfermedades transmitidas por vectores en perros de un área de clima sub-frío de México. *Acta biol. Colomb.* 2020. *Acta biol. Colomb* (2020); **25(2)**: 2-19.
73. Ribera C, León A, Villegas F. Detección de anticuerpos IgG contra Babesia bovis, Babesia bigemina y Anaplasma marginale en bovinos. Tesis de Grado, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno [Internet]. Bolivia; 2010 [Citado el 13 de Jul. de 2017]. Disponible desde: http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/LEON,%20MARLENE-20101124-095644.pdf

74. Rikihisa, Y. 1999. Clinical and biological aspects of infection caused by *Ehrlichia chaffeensis*. *Microbes Infect* 1(5): 367-376.
75. Rodríguez-Vivas, RI; Albornoz, REF; Bolio, GEM. 2005. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatán, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet Parasitol* 127: 81-85.
76. Romero, B.; Padilla, A.; Alvarado, E. 2011. Cambios hematológicos en pacientes positivos a ehrlichiosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. pp. 58
77. Rubio, A; Salas, E; Gómez, G. 2011. Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma sp* en canes de la ciudad de Lima. *Rev Inv Vet Perú* ; 22 (3): 233-238
78. Sainz, A; Kim, CH; Tesouro, MA, et al. 2000. Serological evidence of exposure to *Ehrlichia* species in dogs in Spain. *Ann NY Acad Sci* 916: 635-642.
79. Salinas J. Prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos de Monterrey. Proyecto de Investigación [Internet]. México; 2011 [Citado el 12 de Dic. de 2017]. Disponible desde: <http://www.medicina.uanl.mx/congreso/memorias2011/htm/1545/632.htm>
80. Diana G Scorpio, Lynn M Wachtman, Richard S Tunin, Nicole C Barat, Justin W Garyu, and J Stephen Dumler. 2008. Retrospective Clinical and Molecular Analysis of Conditioned Laboratory Dogs (*Canis familiaris*) with Serologic Reactions to *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, and *Rickettsia rickettsii*. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol 47, No 5 September 2008 Pages 23–28
81. Shaw, S. 2003. Ehrlichiosis and Anaplasmosis. *Tijdsch Diergeneeskd*. 128(11): 353-354.
82. Cornelia Silaghi, Dietlinde Woll, Dietmar Hamel, Kurt Pfister, Monia Mahling, Martin Pfeffer. 2012. *Babesia spp.* and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks, ticks parasitizing rodents and the parasitized rodents – Analyzing the hostpathogen-vector interface in a metropolitan área. *Parasites & Vectors* 2012, 5:191

83. Simpson RM, Gaunt SD, Hair JA, Kocan KM, Henk WG, Casey HW: Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *Am J Vet Res* 1991, 52:1537-1541.
84. Soto. A. Determinación de la prevalencia de Anaplasmosis en el ganado bovino faenado en la empresa metropolitana de rastro de Quito mediante la aplicación de las técnicas de diagnóstico: microscopía de frotis sanguíneos, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y ensayo inmunoenzimático competitivo (ELISA). Tesis de Grado en Biotecnología, Escuela Politécnica del Ejército [Internet]. Quito, Ecuador; 2010 [Citado el 18 de Jul. de 2017]. Disponible desde: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2846/1/T-ESPE-030491.pdf>
85. Stich RW, Schaefer JJ, Bremer WG, Needham GR, Jittapalapong S: Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, *Ehrlichia canis*. *Vet Parasitol* 2008, 158:256-273.
86. Suksawat, J; Pitulle, Ch; Arraga-Alvarado, C; Madrigal, K; Hancock, SI. and Breitschwerdt, EB. 2001. Coinfection with three *Ehrlichia* species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(1): 90-93.
87. Tateishi V, Lí O, Hoyos L, Rivera H., Manchego A, Barrios L, More J, Identificación Hematológica y Molecular de *Anaplasma platys* en Caninos Domésticos de Lima Metropolitana con Signos Clínicos Compatibles con Anaplasmosis. *Rev Inv Vet Perú* 2015; 26(1): 111-118
88. Tizard R. Introducción a la Inmunología Veterinaria. 8ª ed. España: Elsevier; c2009. 592pp.
89. Troncoso I, Fischer C, Villaroel Ch, Herzberg D. Caso Clínico: *Anaplasma phagocytophilum* en un paciente canino. *Hospitales Veterinarios* [Internet]. 2014, Jun. [Citado el 14 de Jul. De 2017]. 6 (2), pp. 41-45. Disponible desde: http://www.rhv.cl/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=83&Itemid=.

90. Waner T, Harrus S, Jongejan F, Bark H, Keysary A, et al. (2001) Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Veterinary Parasitology* 95: 1-15
91. Javier Vinasco, Olga Li, Arnaldo Alvarado, Diego Diaz, Luis Hoyos, Luis Tabachi, Kamesh Sirigireddy, Carolyn Ferguson, Manuel H. Moro. 2007. Molecular Evidence of a New Strain of *Ehrlichia canis* from South America. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Vol. 45, No. 8, p. 2716–2719 doi:10.1128/JCM.01102-07
92. Yabsley MJ, McKibben J, Macpherson CN, Cattan PF, Cherry NA, et al. (2008) Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. *Vet Parasitol* 2008 151: 279–85.
93. Ybañez A, Perez P, Gabotero SR, Kotaro M, Inokuma H. 2012. First molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in ticks from dogs in Cebu, Philippines. *Ticks Tickborne Dis.* 2012;3:288-293.
94. Rochelle Haidee D. Ybañez, Adrian P. Ybañez, Lyra Lee A. Arnado, Laila Monika P. Belarmino, Knowlie Gay F. Malingin, Paul Bien C. Cabilete, Ziggy Ryan O. Amores, Maxfrancis G. Talle, Mingming Liu, Xuenan Xuan. 2018. Detection of *Ehrlichia*, *Anaplasma*, and *Babesia* spp. in dogs in Cebu, Philippines. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916. Available at www.veterinaryworld.org/Vol.11/January-2018/4.pdf
95. Yumi Yuasa, Yi-Lun Tsai, Chao-Chin Chang, Tien-Huan Hsu, Chi-Chung Chou. 2017. The prevalence of *Anaplasma platys* and a potential novel *Anaplasma* species exceed that of *Ehrlichia canis* in asymptomatic dogs and *Rhipicephalus sanguineus* in Taiwan. *J. Vet. Med. Sci.* 79(9): 1494–1502, doi: 10.1292/jvms.17-0224
96. Jianwei Zhang, Qingbiao Liu, Demou Wang, Wanmeng Li, Frédéric Beugnet, Jinlin Zhou. 2017. Epidemiological survey of ticks and tick-borne pathogens in pet dogs in south-eastern China. *Parasite* 24, 35

ANEXOS

ANEXO 1
Matriz de consistencia

PREVALENCIA DE <i>Anaplasma spp</i> Y <i>Ehrlichia spp</i> EN CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y FACTORES ASOCIADOS						
Problema	Objetivos	Variables	Operacionalización de Variables			
			Indicador	Instrumento	Escala	Fuente
Cuál es la prevalencia, ¿cuáles son los valores hematológicos y los factores asociados a la infección por <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco?	Conocer la prevalencia, los valores hematológicos y los factores asociados a la infección por <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco	Diagnóstico de <i>Anaplasma</i> , <i>Ehrlichia</i> , valores hematológicos y factores asociados en perros de Huánuco	Presencia o ausencia de Ab, valores hematológicos y factores asociados	Test doble, Analizador Hematológico y cuestionario	Nominal, ordinal y de razón	Suero, sangre entera y cuestionario
¿Cuál es la prevalencia de <i>Anaplasma</i> en perros de Huánuco?	Determinar la prevalencia de <i>Anaplasma</i> en perros de Huánuco	Anticuerpos de <i>Anaplasma</i>	Hallazgo de Ab	Test rápido	Nominal	Suero
Cuál es la prevalencia de <i>Ehrlichia</i> en perros con garrapatas en Huánuco ?	Determinar la prevalencia de <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco	Anticuerpos de <i>Ehrlichia</i>	Hallazgo de Ab	Test rápido	Nominal	Suero
¿Cuál es la prevalencia de coinfecciones con <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco?	Determinar la prevalencia de coinfección con <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco	Anticuerpos de <i>Anaplasma</i> + <i>Ehrlichia</i>	Hallazgo de Ab	Test doble	Nominal	Suero
¿Cuáles son los valores hematológicos en perros positivos a <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en Huánuco?	Estimar los valores hematológicos en perros positivos a <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en Huánuco	Valores hematológicos en perros	Valores de leucocitos, eritrocitos y plaquetas	Analizador Hematológico	De razón	Sangre entera
¿Cuáles son los factores asociados a infección por <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco?	Identificar los factores asociados a infección por <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco	Factores asociados a infección por <i>Anaplasma</i> y <i>Ehrlichia</i> en perros de Huánuco	Edad, raza, sexo, presencia de garrapatas, estilo de vida, signos clínicos	Cuestionario	Nominal y Ordinal	Propietario

ANEXO 2

Consentimiento informado

PREVALENCIA DE Anaplasma spp Y Ehrlichia spp EN CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y FACTORES ASOCIADOS

Estimado propietario, el presente cuestionario permitirá conocer las características de los caninos enfermos con Ehrlichia y/o Anaplasma en Huánuco, e identificar la asociación con la posibilidad de infectarse y desarrollar la enfermedad. Es importante contar con la información más honesta y transparente para lograr el objetivo de identificar y caracterizar estas enfermedades; y su potencial transmisión al ser humano, que nos permitan estar mejor preparados para enfrentar las Zoonosis, bajo el concepto de “Una Salud”.

Aviso de confiabilidad

Los datos recabados mediante el presente cuestionario serán utilizados con la finalidad de identificar caninos infectados con Ehrlichia y/o Anaplasma; establecer asociación con sus características individuales, si algunas de esas características pueden ser factores de riesgo para que enfermen, y generar las recomendaciones pertinentes. El presente instrumento es confidencial, y completarlo tardará en promedio 10 minutos.

Firma del Participante: _____

Firma del investigador: _____

Huánuco, Perú

ANEXO 3

Cuestionario epidemiológico

N° _____

1. Nombre del paciente: _____
2. Edad: _____
3. Raza. -
 Mestiza _____ Bulldog _____ Rottweiler _____ Shih Tzú _____
 Pekinés _____ Schnauzer _____ Pastor Alemán _____
 Doberman _____ Boxer _____ Siberian Husky _____
 Perro sin Pelo _____ Cocker Spaniel _____ Labrador _____
 Beagle _____ Pug _____ Bull Terrier _____ Sharpei _____ Poodle _____
 Otra _____
4. Sexo: _____
 Macho _____ Hembra _____
5. Dirección o lugar de procedencia:

6. Longitud del pelaje
 Corto _____ Largo _____
7. Su mascota vive
 Solo dentro de casa _____ Tiene acceso libre a la calle _____
 Estilo de vida mixta _____
8. Le ha encontrado alguna garrapata a su perro en el último mes
 Sí _____ No _____
9. Su mascota presenta alguno de estos síntomas en la última semana:
 Fiebre _____ Anorexia _____ Letargo _____
 Mucosas pálidas _____ Ictericia _____ Hemorragia _____
 Otros _____
 Ninguno de los mencionados anteriormente _____

Nombre del dueño _____**Firma de consentimiento** __________
Médico Veterinario responsable

Ficha de Análisis Hematológico

N° _____

Leucocitos _____	miles / mm ³
Eritrocitos _____	millones / mm ³
Hemoglobina _____	g / dl
Hematocrito _____	%
VCM _____	fl
HCM _____	pg
CHCM _____	g / dl
Plaquetas _____	miles / mm ³

Ficha de Test Inmunocromatográfico Doble

N° _____

DATOS DEL CANINO

Nombre

Fecha del examen

Edad

Raza

Sexo

MUESTRA

Tipo de muestra

RESULTADO DEL TEST DOBLE ANAPLASMA / EHRLICHIA Ab

Interpretación.-

Anaplasma Positivo () Negativo ()

Ehrlichia Positivo () Negativo ()

ANEXO 4

EVALUACIÓN DE EXPERTOS

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento (cuestionario) para investigación en propietarios de mascotas. Se le alcanza el instrumento para su evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

A continuación sírvase identificar el ítem o pregunta y conteste marcando con un aspa en la casilla que usted considere conveniente y además puede hacernos llegar alguna otra apreciación en la columna de observaciones.

Ítem	Validez del contenido		Validez del constructo		Validez de criterio		Claridad en la redacción	
	El ítem corresponde a alguna dimensión de la variable.		El ítem contribuye a medir el indicador planteado.		El ítem permite clasificar a los sujetos en las categorías establecida.		Si	No
	Si	No	Si	No	Si	No		
1	x		x		x		x	
2	x		x		x		x	
3	x		x		x		x	
4	x		x		x		x	
5	x		x		x		x	
6	x		x		x		x	
7	x		x		x		x	
8	x		x		x		x	
9	x		x		x		x	
10	x		x		x		x	

Aspectos generales

	Si	No
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas.	x	
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.	x	
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.	x	
El número de ítems es suficiente para recoger la información.	x	

Aplicabilidad

- a) Eficiente
- b) Baja
- c) Regular
- d) Buena
- e) **Muy buena**

Datos del evaluador:

Nombre y Apellidos: Pio Trujillo Atapoma

Dirección: Matibamba - Amarilis

Título profesional: Licenciado en Educación

Grado académico: Doctor en Ciencias de la Educación



Dr. Pio Trujillo Atapoma

EVALUACIÓN DE EXPERTOS

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento (cuestionario) para investigación en propietarios de mascotas. Se le alcanza el instrumento para su evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

A continuación sírvase identificar el ítem o pregunta y conteste marcando con un aspa en la casilla que usted considere conveniente y además puede hacernos llegar alguna otra apreciación en la columna de observaciones.

Ítem	Validez del contenido		Validez del constructo		Validez de criterio		Claridad en la redacción	
	El ítem corresponde a alguna dimensión de la variable.		El ítem contribuye a medir el indicador planteado.		El ítem permite clasificar a los sujetos en las categorías establecida.		Si	No
	Si	No	Si	No	Si	No		
1	X		X		X		X	
2	X		X		X		X	
3	X		X		X		X	
4	X		X		X		X	
5	X		X		X		X	
6	X		X		X		X	
7	X		X		X		X	
8	X		X		X		X	
9	X		X		X		X	
10	X		X		X		X	

Aspectos generales

	Si	No
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas.	X	
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.	X	
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.	X	
El número de ítems es suficiente para recoger la información.	X	

Aplicabilidad

- a) Eficiente
- b) Baja
- c) Regular
- d) Buena
- e) Muy buena

Datos del evaluador:

Nombre y Apellidos: ERNESTINA ARIZA AVILA

Dirección: Jr. Abtao 280

Título profesional: MEDICO VETERINARIO

Grado académico: Dr. MEDICINA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE EXPERTOS

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento (cuestionario) para investigación en propietarios de mascotas. Se le alcanza el instrumento para su evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

A continuación sírvase identificar el ítem o pregunta y conteste marcando con un aspa en la casilla que usted considere conveniente y además puede hacernos llegar alguna otra apreciación en la columna de observaciones.

Ítem	Validez del contenido		Validez del constructo		Validez de criterio		Claridad en la redacción	
	El ítem corresponde a alguna dimensión de la variable.		El ítem contribuye a medir el indicador planteado.		El ítem permite clasificar a los sujetos en las categorías establecida.		Si	No
	Si	No	Si	No	Si	No		
1	X		X		X		X	
2	X		X		X		X	
3	X		X		X		X	
4	X		X		X		X	
5	X		X		X		X	
6	X		X		X		X	
7	X		X		X		X	
8	X		X		X		X	
9	X		X		X		X	
10	X		X		X		X	

Aspectos generales

	Si	No
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas.	X	
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.	X	
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.	X	
El número de ítems es suficiente para recoger la información.	X	

Aplicabilidad

- a) Eficiente
- b) Baja
- c) Regular
- d) Buena
- e) Muy buena**

Datos del evaluador:

Nombre y Apellidos: **Lester Froilan Salinas Ordoñez**

Dirección: **Jr. Abtao N° 1801**

Título profesional: **Lic. en Educación: Especialidad Historia y Geografía**

Grado académico: **Doctor en Administración de la Educación**



Dr. Lester Froilan Salinas Ordoñez

EVALUACIÓN DE EXPERTOS

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento (cuestionario) para investigación en propietarios de mascotas. Se le alcanza el instrumento para su evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

A continuación sírvase identificar el ítem o pregunta y conteste marcando con un aspa en la casilla que usted considere conveniente y además puede hacernos llegar alguna otra apreciación en la columna de observaciones.

Ítem	Validez del contenido		Validez del constructo		Validez de criterio		Claridad en la redacción	
	El ítem corresponde a alguna dimensión de la variable.		El ítem contribuye a medir el indicador planteado.		El ítem permite clasificar a los sujetos en las categorías establecida.		Si	No
	Si	No	Si	No	Si	No		
1		X		X		X	X	
2	X		X		X		X	
3	X		X		X		X	
4	X		X		X		X	
5	X		X		X		X	
6	X		X		X		X	
7	X		X		X		X	
8	X		X		X		X	
9	X		X		X		X	
10								

Aspectos generales

	Si	No
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas.	X	
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.	X	
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.	X	
El número de ítems es suficiente para recoger la información.	X	

Aplicabilidad

- a) Deficiente
- b) Baja
- c) Regular
- d) Buena
- e) **Muy buena**

Datos del evaluador:

Nombre y Apellidos: MIGUEL ANGEL CHUQUIYAURI TALENAS

Dirección: Jr. JIRISHANCA 428 SAN LUIS 1- AMARILIS

Título profesional: MEDICO VETERINARIO

Grado académico: DOCTOR EN MEDICINA VETERINARIA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Miguel Angel Chuquiyauri Talenas', is centered on the page. The signature is fluid and cursive, with a long horizontal stroke at the bottom.

EVALUACIÓN DE EXPERTOS

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento (cuestionario) para investigación en propietarios de mascotas. Se le alcanza el instrumento para su evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

A continuación sírvase identificar el ítem o pregunta y conteste marcando con un aspa en la casilla que usted considere conveniente y además puede hacernos llegar alguna otra apreciación en la columna de observaciones.

Ítem	Validez del contenido		Validez del constructo		Validez de criterio		Claridad en la redacción	
	El ítem corresponde a alguna dimensión de la variable.		El ítem contribuye a medir el indicador planteado.		El ítem permite clasificar a los sujetos en las categorías establecida.		Si	No
	Si	No	Si	No	Si	No		
1	X		X		X		X	
2	X		X		X		X	
3	X		X		X		X	
4	X		X		X		X	
5	X		X		X		X	
6	X		X		X		X	
7	X		X		X		X	
8	X		X		X		X	
9	X		X		X		X	
10								

Aspectos generales

	Si	No
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas.	X	
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.	X	
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.	X	
El número de ítems es suficiente para recoger la información.	X	

Aplicabilidad

- a) Eficiente
- b) Baja
- c) Regular
- d) Buena (X)
- e) Muy buena

Datos del evaluador:

Nombre y Apellidos: J. MARCO VÁSQUEZ AMPUERO

Dirección: Urbanización Santa María del Huallaga Mz. F. Lot. 8 Amarilis-Hco.

Título profesional: Médico Veterinario y Zootecnista

Grado académico: Doctor en Medicina Veterinaria



Dr. J. Marco Vásquez Ampuero
EVALUADOR

Huánuco, Abril de 2021

NOTA BIOGRÁFICA

Walter Richard Tasayco Alcántara, natural de la ciudad de Chincha - Ica, nació el 16 de febrero del año 1958. Sus padres, Don Pedro Hander Tasayco Arteaga y Doña Lilly Leopoldina Alcántara Acevedo.

Sus estudios los realizó en el Colegio Nacional de Nivel Primario del distrito de Marcona - Ica, los estudios secundarios en la Gran Unidad Escolar José Pardo y Barreda de Chincha – Ica. Es Médico Veterinario, egresado en 1981 de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, con 40 años de trayectoria profesional.

Es Magíster en Salud Animal por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, docente nombrado desde 1990 en la Universidad Nacional “Hermilio Valdizán” de la ciudad de Huánuco, donde viene laborando hasta la actualidad como docente Principal.

Fue elegido Decano en el período 2011 – 2014 de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, alcanzando logros importantes como la gestión del Título de Propiedad del terreno de la Facultad en Cayhuayna Alta, y la ejecución del Cerco Perimétrico del terreno de 20 hectáreas.

Fue elegido Decano del Colegio Médico Veterinario Departamental Huánuco, en el período 2016 – 2018, realizando con éxito el Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias en nuestra querida ciudad de Huánuco, con la participación de ponentes y asistentes del país y el extranjero.

Siendo su vocación el servicio a la comunidad, ha ejercido la docencia con mucha dedicación y responsabilidad para formar profesionales competentes y con calidad humana, así como en el ámbito privado la atención médica experimentada a las mascotas para el bienestar humano.

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DEL CONSEJO DIRECTIVO N° 099-2019-SUNEDU/CD



Huánuco – Perú

ESCUELA DE POSGRADO

Campus Universitario, Pabellón V "A" 2do. Piso – Cayhuayna
Teléfono 514760 -Pág. Web. www.posgrado.unheval.edu.pe

ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE DOCTOR

En la Plataforma Microsoft Teams de la Escuela de Posgrado; siendo las 19:00h, del día martes 20 DE ABRIL DE 2021; el aspirante al Grado de Doctor en Medicina Veterinaria, Don Walter Richard TASAYCO ALCANTARA, procedió al acto de Defensa de su Tesis titulado: "PREVALENCIA DE *Anaplasma spp* Y *Ehrlichia spp* EN CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y FACTORES ASOCIADOS", ante los miembros del Jurado de Tesis señores:

Dr. Amancio Ricardo ROJAS COTRINA	Presidente
Dr. Juan Marco VASQUEZ AMPUERO	Secretario
Dra. Ernestina ARIZA AVILA	Vocal
Dr. Lester Froilan SALINAS ORDOÑEZ	Vocal
Dr. Miguel Angel CHUQUIYAURI TALENAS	Vocal

Asesor de tesis: Dr. Pio TRUJILLO ATAPOMA (Resolución N° 0949-2020-UNHEVAL/EPG-D)

Respondiendo las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y público asistente.

Concluido el acto de defensa, cada miembro del Jurado procedió a la evaluación del aspirante a Doctor, teniendo presente los criterios siguientes:

- Presentación personal.
- Exposición: el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y solución a un problema social y recomendaciones.
- Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado y público asistente.
- Dicción y dominio de escenario.

Así mismo, el Jurado planteó a la tesis **las observaciones** siguientes:

.....

Obteniendo en consecuencia el Doctorando la Nota de Dieciocho (18)

Equivalente a Muy Bueno, por lo que se declara Aprobado
 (Aprobado ó desaprobado)

Los miembros del Jurado firman la presente **ACTA** en señal de conformidad, en Huánuco, siendo las 21:21 horas del 20 de abril de 2021.

.....
PRÉSIDENTE
 DNI N° 24025628

.....
SECRETARIO
 DNI N° 22512513

.....
VOCAL
 DNI N° 22493412

.....
VOCAL
 DNI N° 40391262

.....
VOCAL
 DNI N° 22520461

Leyenda:
 19 a 20: Excelente
 17 a 18: Muy Bueno
 14 a 16: Bueno

(Resolución N° 0728-2021-UNHEVAL/EPG-D)

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICAS DE POSGRADO

1. IDENTIFICACIÓN PERSONAL (especificar los datos del autor de la tesis)

Apellidos y Nombres: TASAYCO ALCÁNTARA, WALTER RICHARD
 DNI: 22514774 Correo electrónico: rtasayco@unheval.edu.pe
 Teléfonos Casa _____ Celular 962074055 Oficina _____

2. IDENTIFICACION DE LA TESIS

Posgrado
Doctorado: <u>DOCTORADO EN MEDICINA VETERINARIA</u>

Grado Académico obtenido:

DOCTOR

Título de la tesis:

PREVALENCIA DE Anaplasma spp. Y Ehrlichia spp. EN CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y FACTORES ASOCIADOS "

Tipo de acceso que autoriza el autor:

Marcar "X"	Categoría de Acceso	Descripción de Acceso
<input checked="" type="checkbox"/>	PÚBLICO	Es público y accesible el documento a texto completo por cualquier tipo de usuario que consulta el repositorio.
<input type="checkbox"/>	RESTRINGIDO	Solo permite el acceso al registro del metadato con información básica, mas no al texto completo.

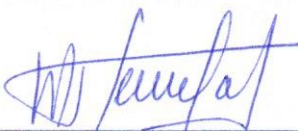
Al elegir la opción "Público" a través de la presente autorizo de manera gratuita al Repositorio Institucional – UNHEVAL, a publicar la versión electrónica de esta tesis en el Portal Web repositorio.unheval.edu.pe, por un plazo indefinido, consintiendo que dicha autorización cualquiera tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita, pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla, siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente.

En caso haya marcado la opción "Restringido", por favor detallar las razones por las que se eligió este tipo de acceso: _____

Asimismo, pedimos indicar el periodo de tiempo en que la tesis tendría el tipo de acceso restringido:

() 1 año () 2 años () 3 años () 4 años

Luego del periodo señalado por usted(es), automáticamente la tesis pasara a ser de acceso público.

Fecha de firma: 05/10/2021


Firma del autor



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN



ESCUELA DE POSGRADO

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe:

Dr. Amancio Ricardo Rojas Cotrina

HACE CONSTAR:

Que, la tesis titulada: **PREVALENCIA DE Anaplasma spp Y Ehrlichia spp EN CANINOS DE HUÁNUCO, HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS Y FACTORES ASOCIADOS**, realizado por el Doctor en Medicina Veterinaria **Walter Richard TASAYCO ALCANTARA**, cuenta con un **índice de similitud del 18%**, verificable en el Reporte de Originalidad del software **Turnitin**. Luego del análisis se concluye que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio; por lo expuesto, la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias, además de presentar un índice de similitud menor al 20% establecido en el Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán.

Cayhuyna, 29 de octubre de 2021.



Dr. Amancio Ricardo Rojas Cotrina
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE POSGRADO