

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**“Frecuencia de Erliquiosis y Anaplasmosis en canes
con historial de garrapatas atendidos en una
Clínica Veterinaria particular en la provincia de Piura, Perú
durante el período primavera- verano 2017/2018”**

**Tesis para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Natalia Teresa Naranjo Hurtado
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Lima- Perú

2018

*A mi familia,
en especial a mi abuela,
por su dedicación para conmigo
y mi hermano.*

AGRADECIMIENTOS

- A mi director de tesis, el MVZ Renato Zúñiga Fulcaní por el tiempo y dedicación brindada durante todo el proceso de elaboración de este trabajo.
- A INVETSA, por brindarme el apoyo con las pruebas serológicas (SNAP 4DX) que se usaron en el trabajo.
- A la Clínica Veterinaria Santa María del Pinar por apoyarme en la recolección de las muestras y por brindarme facilidades para el procesamiento de estas.
- Al Laboratorio VetSupport por permitirme usar sus instalaciones y equipos para la lectura de las láminas.
- A mi familia y amigos por ayudarme y apoyarme durante todo este proceso.
- A mi hermano Jorge Manuel, por ayudarme y brindarme apoyo en los momentos más estresantes del proceso de redacción del trabajo.

ABSTRACT

The canine Ehrlichiosis and Anaplasmosis are infectious diseases transmitted by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*), and are caused by Gram-negative bacteria *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*, both diseases produce serious problems of coagulopathy. The climates and with optimal humidity favor the spread of ticks; therefore, hemoparasite diseases also. The city of Piura has the ideal weather for the spread of ticks and their diseases. Therefore, the objective of this study was to determine the frequency of canine ehrlichiosis (*E. canis* and *E. ewingii*) and anaplasmosis (*A. phagocytophilum* and *A. platys*) in the city of Piura. The sample was composed of 71 canine patients who came to the daily consultation to a veterinary clinic, with the presence of ticks and presenting signs compatible with the disease under study. Samples were collected for the realization of the complete blood count and the test SNAP 4Dx which determined antibodies against Ehrlichiosis/Anaplasmosis. It was determined that 55% of the population (39 dogs) had antibodies of *Erlichia canis* while only 4% (3 canines) presented antibodies against *Anaplasma sp.* All individuals who had antibodies to *Anaplasma sp.* also possessed antibodies against *Erlichia canis*. Among the clinical signs found; the 49% of the sampled positive development splenomegaly, which obtained statistical significance compared to the rest of clinical signs. It was determined that the individuals with positive serology had as main alterations; anemia (51%), leukocytosis (51%), and thrombocytopenia (54%), while the negative only obtained alterations in the white blood cells. This study reports for first time the presence of *Anaplasma sp.* and corroborate the presence of *Erlichia canis* in the city of Piura.

Key words: *Ehrlichia canis*, *Anaplasma sp.*, Piura, serology.

RESUMEN

La erlichiosis y anaplasmosis canina son enfermedades infecciosas transmitidas por la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), y son causadas por las bacterias Gram Negativas *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*, ambas enfermedades producen graves cuadros de coagulopatías. Los climas cálidos y con una humedad ambiental óptima favorecen a la diseminación de garrapatas; por lo tanto, también de las enfermedades hemoparasitarias. La ciudad de Piura posee el clima óptimo para la propagación de las garrapatas y sus enfermedades. Por ello, el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de erliquiosis (*E. canis* y *E. ewingii*) y anaplasmosis (*A. phagocytophilum* y *A. platys*) canina en la ciudad de Piura. Se seleccionaron canes que llegaron a consulta diaria a una Clínica Veterinaria, que cumplieran los siguientes requisitos: tener garrapatas y presentar signos compatibles a las enfermedades en estudio. Se recolectaron 71 muestras para ser analizadas mediante el hemograma y la prueba SNAP 4Dx, la cual determinó anticuerpos frente a Erliquiosis/Anaplasmosis. Se determinó que el 55% de la muestra (39 caninos) presentaron anticuerpos de *Ehrlichia canis* mientras que sólo el 4.2% (3 caninos) presentó anticuerpos contra *Anaplasma sp.* Todos los individuos que poseían anticuerpos contra *Anaplasma sp.* también poseían anticuerpos contra *Ehrlichia canis*. Entre los signos clínicos encontrados; el 49% de los muestreados positivos desarrolló esplenomegalia, la cual obtuvo significancia estadística frente al resto de signos clínicos. Se determinó que los individuos con serología positiva tenían como alteraciones principales; anemia (51%), leucocitosis (51%) y trombocitopenia (54%), mientras que los negativos sólo obtuvieron alteraciones en la serie blanca. Este estudio reporta por primera vez la presencia de *Anaplasma sp.* y corrobora la presencia de *Ehrlichia canis* en la ciudad de Piura.

Palabras claves: *Ehrlichia canis*, *Anaplasma sp.*, Piura, serología.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, las enfermedades infecciosas en caninos han tenido un aumento en la frecuencia de presentación de casos (Kennedy, 2012). Se ha demostrado que las enfermedades que son transmitidas por vectores son las que han tenido un mayor avance en los últimos años. Entre las enfermedades más importantes asociadas a estos vectores se nombran a la Erliquiosis y Anaplasmosis, son producidas por organismos intracelulares pertenecientes al orden *Rickettsiales*, familia *Anaplasmataceae*, géneros *Ehrlichia spp.* y *Anaplasma spp.* respectivamente (Dolz *et al.*, 2013).

La ehrlichiosis canina también conocida como rickettsiosis canina, es producida por la *Ehrlichia canis*, una bacteria gram negativa cocoide pleomórfica que se presenta en forma de mórulas intracitoplasmáticas afectando a las células mononucleares. Es una enfermedad de los caninos tanto domésticos como silvestres y es de distribución mundial. La *E. canis* se transmite por medio del artrópodo de la familia *Ixodidae*, *Rhipicephalus sanguineus*, mejor conocida como la garrapata marrón del perro; la presencia de caninos es primordial para transmisión de la bacteria debido a que esta no se transmite vía transovárica en la garrapata (Trapp *et al.*, 2006; Romero, 2011; Huerta & Dámaso, 2015).

Con respecto a la patogénesis de la enfermedad, esta se desarrolla en el hospedero (canino) cuando una garrapata infectada ingiere sangre y las secreciones salivales de esta toman contacto con la circulación sanguínea del hospedero. Otra forma de transmisión de la enfermedad es por vía iatrogénica a través de transfusiones de sangre de donantes infectados. El periodo de incubación de la enfermedad es entre 8 a 20 días, en este tiempo los microorganismos se multiplican en los macrófagos y en el sistema fagocítico mononuclear, por medio de fisión binaria y se diseminan por todo el organismo del animal (Baneth, 2006; Romero, 2011).

Los climas cálidos favorecen a la diseminación de las garrapatas como *Rhipicephalus sanguineus* que transmiten estas enfermedades. La temperatura ambiental es uno de los factores más importantes para el ciclo de vida de las garrapatas, debido a que, durante la primavera y verano, que son los meses de mayor temperatura, estas logran alimentarse y reproducirse con mayor rapidez (Manzano *et al.*, 2012). Nuestro país posee un clima cálido, en especial en la zona norte donde las temperaturas suelen mantenerse estables durante la mayor parte del año, sin embargo, se puede notar un incremento de estas durante la temporada primavera – verano, lo que favorece el aumento de la población de garrapatas por lo tanto aumenta la transmisión de las enfermedades hemoparasitarias.

La erlichiosis canina se detectó en 1982 por primera vez en el Perú (Huerta & Damasco, 2015) y desde entonces se han realizado diversos trabajos, por ejemplo, en el año 2001 se encontró una seroprevalencia de 16.5% en los distritos de La Molina, Chorrillos y San Juan Miraflores (Departamento de Lima) y en el 2005 se realizó un reporte de un canino con ehrlichiosis granulocítica en el distrito de La Molina (Lima) (Huerta & Damasco, 2015). También se realizó un estudio en la ciudad de Sullana (Departamento de Piura) en donde se reportó una prevalencia de 76% de *E. canis* en caninos (San Miguel, 2006).

Se ha demostrado que la Anaplasmosis canina es de distribución mundial, al igual que la ehrlichiosis canina, esta enfermedad es causada por agentes bacterianos intracelulares como *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys* (Alleman & Wamsley, 2008).

La infección por *Anaplasma phagocytophilum* afecta con frecuencia a las células blancas de tipo polimorfonuclear, entre ellas los neutrófilos, de ahí que antes se le denominaba ehrlichiosis granulocítica canina (Greene, 2012). La transmisión de *A. phagocytophilum* se da por la garrapata de tipo *Rhipicephalus* e *Ixodes spp.*, el tiempo de incubación de la enfermedad es de 1 a 2 semanas. Los neutrófilos fagocitan al organismo, una vez adentro evitan la fusión

fagolisosoma, esto permite la multiplicación en el fagosoma, lo que da una apariencia de mórula dentro del neutrófilo.

Por otro lado, *Anaplasma platys* ocasiona la trombocitopenia cíclica infecciosa del perro, ya que produce una infección intracelular de plaquetas. Se ha identificado *A. platys* en varios géneros de garrapatas como *Rhipicephalus sanguineus* en Japón, *Dermacentor arautus* en Tailandia, *Haemaphysalis longicornis* e *Ixodes persulcatus* en Corea (Greene, 2012). De estas la más importante es el *Rhipicephalus sanguineus* ya que puede infectar una gama amplia de mamíferos como perros, gatos, humanos hasta animales silvestres (Rubio *et al.*, 2011; Tateishi *et al.*, 2015).

Una vez que la garrapata infectada pica al canino le inocula el *A. platys*, el cual ingresa a las plaquetas por endocitosis, por lo general el tiempo de incubación es de 8-15 días. Los microorganismos se multiplican dentro de una vacuola por medio de fisión binaria hasta formar una mórula, la cual liberará más organismos que continuarán infectando más plaquetas, también se ha identificado el antígeno en macrófagos. Cuando las plaquetas son parasitadas, el conteo plaquetario disminuye enormemente y los microorganismos desaparecen lo que provoca que aumenten considerablemente el nivel de plaquetas en un tiempo de 3 a 4 días. (Greene, 2012).

Los signos clínicos tanto para la erlichiosis como para la anaplasmosis del perro son inespecíficos, pudiendo presentarse también individuos asintomáticos. En ambas enfermedades se puede observar signos como fiebre, depresión, anorexia, dolor muscular, ataxia, vómitos, equimosis, linfadenomegalia, esplenomegalia y signos neurológicos. Asimismo, se presenta trombocitopenia, linfopenia y elevación de transaminasas (Rubio *et al.*, 2011; Nelson, 2009).

El primer reporte a nivel mundial de *A. platys* en caninos se dio a conocer a finales de la década de los años 70 (Tateishi *et al.*, 2015). A nivel de Latinoamérica, en el año 2007 en Brasil se

detectó la enfermedad en canes mediante el uso de técnicas moleculares (Ferreira *et al.*, 2007), mientras que, en el año 2011, en la ciudad de Lima, Perú se reportó un caso de *A. phagocytophilum* en un canino por medio del Snap 4Dx de IDEXX, sin embargo, se conoce que el kit diagnóstico usado tiene reacción cruzada con *A. platys*, por lo tanto, se presume que se encontró *A. platys* (Rubio *et al.*, 2011). En el año 2012 se realizó un estudio en animales de cacería en la ciudad de Lima, Perú, en el cual se halló una prevalencia de 3.3% de *A. phagocytophilum* (Kennedy, 2012).

La ciudad de Piura, Perú posee un clima cálido y oceánico, con temperaturas que fluctúan entre 18 a 31 °C. Durante los meses de verano (Diciembre – Abril) el clima es aún más caluroso y húmedo con temperaturas que pueden llegar hasta los 40 °C (Senamhi, 2013). Esta clase de clima propicia el ambiente favorable para el desarrollo del vector (*Rhipicephalus sanguineus*) responsable de la transmisión de la erlichiosis y anaplasmosis canina. Aparentemente, la casuística de pacientes compatibles con estas enfermedades en la ciudad de Piura se ha incrementado en los últimos 11 años (San Miguel, 2006). Es probable que también la anaplasmosis esté afectando a los canes en el distrito de Piura debido a que el vector de la enfermedad es común para las dos enfermedades, así como los signos clínicos que evidencian dichas enfermedades. Es por ello que el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de infecciones por *Ehrlichia canis* y *Anaplasma sp.* en caninos pacientes de una Clínica Veterinaria particular de la provincia de Piura.

METODOLOGÍA

Lugar y Tipo de Estudio

El departamento de Piura se ubica al noroeste del país entre los 4° 5' y 6° 22' latitud sur, y 79° 00' y 81° 7' longitud oeste. Limita por el norte con el departamento de Tumbes y la República del Ecuador, al sur con el departamento de Lambayeque, al este con el departamento de Cajamarca y al oeste con el Océano Pacífico. Cuenta con 10 distritos: Castilla, Catacaos, Cura Mori, El Tallán, La Arena, La Unión, Las Lomas, Piura, Tambogrande y 26 de octubre (Vilela, 2015).

La ciudad capital Piura se encuentra a 25 m.s.n.m. En la costa la temperatura media de verano es de 30°C con una humedad relativa de 46 % y la de invierno 16°C. Las lluvias son escasas y generalmente se presentan entre enero a marzo (BCRP, 2016).

La investigación corresponde a un estudio descriptivo y transversal que buscaba identificar la presencia de hemoparásitos (*E. canis*, *A. phagocytophilum* y *A. platys*) en una clínica veterinaria de la ciudad de Piura durante los meses Octubre 2017-Marzo 2018.

Población Objetivo

La población objetivo fueron canes sin distinción de raza, sexo o edad que se presentaron a consulta en la Clínica Veterinaria “Santa María del Pinar” con historial y/o presencia de garrapatas.

Tamaño de muestra

El tamaño muestral se calculó por medio de la fórmula de comprobación de proporción, y se utilizó como prevalencia referencial el valor de prevalencia de *E. canis* 76% (San Miguel, 2006), un nivel de confianza del 95% y un error máximo admisible del 10%. El tamaño de muestra calculado fue de 71 canes.

Criterios de inclusión y exclusión

Como criterios de inclusión se tomó a todos los canes que llegaran a consulta con presencia y/o historial reciente de garrapatas y como criterios de exclusión, a todos aquellos que cumpliendo con los requisitos para participar, sus dueños no firmaron el consentimiento informado para participar del proyecto.

Recolección de muestras e información de los pacientes

La recolección de información de los pacientes fue realizada a través de una ficha en la cual se consideraron los siguientes datos: nombre del paciente, sexo, raza, permanencia en casa, procedencia, edad, presencia de garrapatas, historia clínica, hallazgos al examen clínico (Anexo 1)

Para la recolección de las muestras fue necesario realizar la sujeción de los pacientes, la cual fue realizada por personal de apoyo de la clínica veterinaria. El ayudante sujetó al paciente en posición decúbito esternal sobre la mesa de exploración, este sujetó el cuello y la cabeza del paciente con una mano y con la otra tomó la articulación del codo del miembro torácico, tratando de extender el antebrazo del perro (Gordillo, 2010).

Luego se procedió a la preparación aséptica de la región dorsal del tercio medio distal del antebrazo del perro. El ayudante realizó una ligadura a nivel de la articulación del codo para

producir el resalte de la vena cefálica, cuando esta resaltó, se procedió a realizar la venopunción con jeringas de 3 ml para perros de raza grande y mediana, y con jeringas de 1 ml para perros de raza pequeña, también se tomó en cuenta la condición del paciente para determinar la cantidad de sangre que se colectó (Gordillo, 2010).

Los perros que presentaron una actitud agresiva, se les colocó un bozal tipo tubo (para la recolección de la muestra y la aplicación del tratamiento). Además se requirió de la ayuda de un ayudante adicional para poder controlar con mayor seguridad al paciente, con esto se aseguró el bienestar tanto del paciente como del Médico Veterinario y sus ayudantes.

Lo obtenido se traspasó a tubos de EDTA de 1-3 ml de capacidad, según la cantidad de sangre recolectada. Las muestras fueron etiquetadas de manera inmediata y fueron colocadas en ambiente de refrigeración a 4 grados Celsius.

Durante la realización de este proyecto se garantizó el bienestar animal de los pacientes.

Realización del hemograma y Test serológico (SNAP 4 DX)

Después de rotular la muestra con nombre y apellido del paciente, se procedió a realizar el hemograma con la máquina hematológica IDEXX VetAutoread, el frotis sanguíneo y la prueba serológica 4DX de IDEXX. El hemograma y el SNAP 4DX fueron realizados bajo el procedimiento estándar dado por IDEXX. Los resultados del SNAP se interpretaron a los 8 minutos después de realizada la prueba, y se interpretó como resultado positivo cuando se observaba color en el punto de control (esquina superior izquierda) y cualquier indicio de color en punto que indicaba Erlichia (punto ubicado a la izquierda) o el punto que indicaba Anaplasma (punto superior), se toma como resultado negativo cuando sólo aparece el punto control (IDEXX, 2008).

Preparación del frotis sanguíneo y búsqueda de cuerpos de inclusión

Para realizar el frotis sanguíneo se tomó un capilar y se colocó una gota en un extremo de una lámina portaobjetos, y con otro portaobjeto biselado se formó un ángulo aproximadamente de 30° y se procedió a realizar el extendido. Las láminas se secaron, rotularon con el nombre y apellido del paciente y se tiñeron con 1.1 ml de la tinción Wright, luego se agregará 1.1 ml de solución buffer, homogenizando la mezcla y esperando 8 minutos. Finalmente se lavaron las láminas con agua corriente y se esperó a que se sequen.

Para observar la lámina se adicionó una gota de aceite de inmersión y se colocó en el microscopio de luz artificial, en donde se utilizó el objetivo de 100x para el conteo e identificación de 100 leucocitos siguiendo la técnica del Zigzag de Shiling. En el frotis sanguíneo además se evaluó la morfología de los eritrocitos, así como la presencia de cuerpos de inclusión celular.

Para el recuento de plaquetas se utilizará el mismo frotis teñido que se usó para el recuento diferencial de leucocitos. Al microscopio de luz, con el objetivo de 100x y con la ayuda del contómetro se contará el número de plaquetas visualizadas en 10 campos diferentes de la lámina, teniendo en cuenta que el hallazgo de 3 o menos trombocitos por campo sugiere una trombocitopenia. Los resultados observados por campo se sumarán y dividirán entre el número de campos evaluados, este resultado se multiplicará por 15 000, obteniendo de este modo la cantidad de trombocitos/ μ l (Cowell *et al*, 1999).

Análisis de Datos

Se utilizaron cuadros dinámicos de Excel en donde fueron resumidos con estadística descriptiva las tablas de frecuencia según base de datos, signos clínicos, valores hematológicos y serología para *Ehrlichia canis* y *Anaplasma sp.*

Los análisis para determinar la asociación entre serología positiva a *E. canis* con la permanencia en casa y signos clínicos se realizaron mediante la prueba de chi cuadrado, en el programa estadístico Win Epi, donde se consideran valores de $p < 0.05$ como estadísticamente

significativos; además se realizó la prueba T de Student para comparar las medias de las variables de los valores hematológicos de los individuos positivos y negativos a *E.canis*.

Consideraciones éticas

Los procedimientos fueron realizados con la aprobación del comité de ética por medio de la constancia 067-07-17 y teniendo en cuenta la normativa ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Los propietarios fueron informados antes de la realización del procedimiento y debieron firmar antes un consentimiento informado (Anexo 2)

RESULTADOS

Se tomaron muestras de sangre de 71 canes con presencia de garrapatas y/o historial reciente de estas y con signos de las enfermedades hemoparasitarias, que llegaron a consulta en la Clínica Veterinaria seleccionada para el estudio. La muestra estuvo conformada por 44 machos y 27 hembras, con edades entre 2 meses y 17 años. En su mayoría eran de raza mestiza. La mayoría de los caninos llegó a consulta por presentar decaimiento, anorexia, vómitos y/o dificultad para caminar.

La seropositividad de *E. canis* fue de 55% (39/71). En el cuadro 1 se muestra el total de animales muestreados, distribuidos por el sexo, distritos de la provincia de Piura y presencia de garrapatas, donde se observa la ausencia de asociación significativa entre la seropositividad a *E. canis* con estas variables.

La seropositividad de *Anaplasma sp.* fue de 4.2% (3/71 individuos). En el cuadro 2 se muestra el total de los individuos positivos a *Anaplasma sp.* distribuidos según los distritos de Piura y su presencia de garrapatas, en este cuadro no se observa una asociación significativa entre la seropositividad a *Anaplasma sp.* con las variables mencionadas.

Se observó que el 51% de los individuos muestreados tenían una permanencia temporal en el hogar. En el cuadro 3, se puede observar la distribución de los animales positivos a *Ehrlichia canis* según su permanencia en casa; en este cuadro se muestra que las variables permanencia temporal y nula tuvieron significancia estadística con respecto a la seropositividad a *E. canis*.

Los animales muestreados se dividieron en animales mestizos con 12/71 individuos (16.9%) y en animales de raza en donde se observó que la mayor prevalencia de razas fueron Schnauzer, Shih tzu con 8/59 individuos (13.5%) y, Poodle y Labrador con 6/59 individuos (10.1%), la cantidad no fue significativa del resto de razas. En el cuadro 4 se puede observar a los animales positivos a *Ehrlichia canis* según su raza.

El 70% de los individuos muestreados llegaron a consulta por letargia y/o decaimiento. En el cuadro 5 se muestran los signos clínicos observados en consulta, así como los signos observados por los dueños en animales positivos y negativos a *Ehrlichia canis*. En este cuadro se muestra una significancia estadística en la variable presencia de esplenomegalia en individuos positivos a *E. canis*.

En cuadro 6 se muestran los valores hematológicos resumidos mediante medidas de tendencia central y dispersión, encontrados en los individuos con serología positiva y negativa a *Ehrlichia canis*. Se halló una asociación significativa entre la seropositividad *E. canis* y la variable hematocrito.

A la observación de los frotices sanguíneos de los individuos muestreados, se hallaron 2 cuerpos de inclusión de Distemper y 2 cuerpos de inclusión de *Ehrlichia canis*.

Cuadro 1. Presencia de anticuerpos contra *E. canis* en caninos de la provincia de Piura, según el sexo, distrito y antecedente de garrapatas

Variable	Estrato de la variable	Muestra	Animales positivos	
			n	%
Sexo				
	Macho	44	26	59.1
	Hembra	27	13	48.1
Distritos				
	Piura	52	23	44.2
	Castilla	4	3	75.0
	La Unión	1	1	100.0
	26 de Octubre	10	9	90.0
	Sullana	2	1	50.0
	Paita	2	2	100.0
Presencia de garrapatas				
	Con garrapatas	61	35	57.4
	Sin garrapatas	10	4	40.0
Total		71	39	55

Cuadro 2. Presencia de anticuerpos contra *Anaplasma sp.* en caninos de la provincia de Piura, según el sexo, distrito y presencia de garrapatas

Variable	Estrato de la variable	Muestra	Animales positivos	
			N	%
Sexo				
	Macho	44	3	6.8
	Hembra	27	0	0.0
Distritos				
	Piura	52	1	1.9
	Castilla	4	0	0.0
	La Unión	1	0	0.0
	26 de Octubre	10	2	20.0
	Sullana	2	0	0.0
	Paita	2	0	0.0
Presencia de garrapatas				
	Con garrapatas	61	3	4.9
	Sin garrapatas	10	0	0.0
Total		71	3	4.2

Cuadro 3. Presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, según permanencia en casa.

Variable	Estrato de la variable	Muestra	Animales positivos	
			n	%
Permanencia en casa	Exclusiva	33	12	36.4 ^a
	Temporal	36	26	72.2 ^b
	Nula	2	1	50.0 ^b
Total		71	39	55

(1) Letras a.b indica que los % son diferentes estadísticamente ($p=0.0034$), lo cual indica asociación entre la variable temporal y nula con la presencia de anticuerpos de *E.canis*.

Cuadro 4. Presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis*, según raza.

Variable	Estrato de la variable	Muestra	Animales positivos	
			n	%
Raza				
	Mestizo	12	9	75
	Golden Retriever	2	1	50
	Poodle	6	4	67
	Schnauzer	8	6	75
	Shih tzu	8	3	38
	Labrador	6	2	33
	Pastor Alemán	4	1	25
	PPSP	1	1	100
	Siberiano	1	0	0
	Bulldog francés	1	0	0
	Chihuahua	1	0	0
	Sharpei	1	0	0
	Tibetan Spaniel	1	0	0
	Yorkshire Terrier	3	2	67
	Bulldog inglés	3	1	33
	Beagle	2	2	100
	Dálmata	1	0	0
	Cocker inglés	2	1	50
	Maltés	1	1	100
	Rottweiler	1	0	0
	Chow Chow	1	1	100
	Bull terrier	1	1	100
	Pitbull	2	2	100
	Cocker Spaniel	2	1	50
Total		71	39	55

Cuadro 5. Signos clínicos presentados en animales positivos y negativos a *Ehrlichia canis*

Signos clínicos	Animales positivos (n=39)		Animales Negativos (n=32)	
	n	% ^a	n	% ^a
Vómitos	11	28 ^a	15	47 ^a
Diarrea	10	26 ^a	7	22 ^a
Anorexia	23	59 ^a	19	59 ^a
Sangrado	12	31 ^a	4	13 ^a
Cojeras	15	38 ^a	10	31 ^a
Pirexia	19	49 ^a	12	38 ^a
Petequias	7	18 ^a	4	13 ^a
Letargia	30	77 ^a	20	63 ^a
Linfoadenomegalia	21	54 ^a	12	38 ^a
Esplenomegalia	19	49 ^a	2	6 ^b
Descarga oculonasal	9	23 ^a	11	34 ^a
Reflejo Tusígeno	13	33 ^a	15	47 ^a

(1) Letras a.b indica que los % son diferentes estadísticamente ($p < 0.001$), lo cual indica asociación entre la variable esplenomegalia y la presencia de anticuerpos de *E.canis*.

Cuadro 6. Valores hematológicos en individuos con *Ehrlichia canis* positivo y *Ehrlichia canis* negativo de la provincia de Piura durante el período primavera- verano 2017-2018

Hemograma	Rango de referencia	Erlquiiosis (+)	Erlquiiosis (-)
Hemoglobina	12-17 g/dl	11.3 ± 3.8^a (2.3- 19.3)	13.9 ± 3.5 ^a (4.6- 18.8)
Hematocrito	37-50	33.7 ± 10.7^a (8- 54.7)	42 ± 9.9 ^b (14.2-53.9)
CHCM	31-37 g/dl	33.2 ± 2.0 ^a (28.7- 36.5)	33 ± 1.3 ^a (30.2- 35.3)
Leucocitos	9000-15000/ul	18751± 12162^a (5000- 59700)	14300 ± 8317^a (1800- 45300)
Neutrófilos	5400-11550/ul	14033.4 ± 10457.5^a (3900- 47163)	9989 ± 8362 ^a (1029- 42129)
Linfocitos	1350-4500/ul	2807 ± 2672 ^a (103- 12760)	2215 ± 1522 ^a (168- 5750)
Basófilos	0-150/ul	0 ^a	0 ^a
Monocitos	180-450/ul	1336 ± 1437^a (148- 7164)	818 ± 573^a (76- 1764)
Plaquetas	200000-500000/ul	21818 ± 137579^a (4000- 565000)	270687 ± 149747 ^a (33000- 756000)

(1) Letras a.b indica que los % son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$), lo cual indica asociación entre la variable hematocrito con la presencia de anticuerpos de *E.canis*.

DISCUSIÓN

Los resultados del estudio cuantifican la presencia de *Ehrlichia canis* (55%) y *Anaplasma sp.* (4%) en los canes que llegaron a consulta procedentes de los distritos de Piura, Castilla y 26 de octubre de la provincia de Piura. La mayor cantidad de individuos seropositivos a *Ehrlichia canis* se encontró en el distrito de Piura (23 individuos), sin embargo, el distrito que obtuvo una mayor frecuencia con respecto a la muestra obtenida fue 26 de octubre con 90% (9/10 individuos), este porcentaje podría deberse a que el estrato socioeconómico de la zona es medio a bajo, por lo tanto, es probable que las medidas sanitarias contra el control de pulgas y garrapatas sean menores en comparación a los otros distritos.

Las zonas que son consideradas de bajo estrato socioeconómico suelen tener mayor cantidad de problemas para controlar los ectoparásitos y las enfermedades que estos conllevan; poniendo en riesgo tanto la salud animal como la humana. Un estudio realizado en la comunidad de Manchay, Pachacamac, reportó que el 98% de la población canina del lugar presentaba pulgas y/o garrapatas; esto se debía a la escasa y/o nula desparasitación de los animales. El inadecuado control de pulgas por parte de los propietarios los pone en riesgo de zoonosis (Córdova, 2016). Otro estudio realizado en Chile reportó que las personas con estrato socioeconómico bajo, poseían mayor cantidad de animales, escaso control de parásitos tanto internos como externos y escaso conocimiento de las enfermedades zoonóticas (Torres, 2003).

Considerando la variable del sexo, se obtuvo que 62 % de los pacientes fueron machos y 38 % fueron hembras, este resultado no fue significativo, esta variable ya ha sido estudiada por varios autores (Contreras *et al*, 2009; Inokuma *et al*, 1999), en este estudio no se encontró diferencia significativa entre machos y hembras, mientras que otro estudio mencionó que las hembras son las que tienen mayor probabilidad de contraer la enfermedad durante la época de celo, ya que

están más expuestas al contacto de varios machos que no siempre tienen un control contra ectoparásitos (Adrianzén *et al.*, 2003).

Al analizar la distribución según edades, se encontró que la mayor proporción se presentó en pacientes de 2.4 a 4.8 años con el 37% del total, aunque también se halló que el 21% de los individuos poseían edades entre 4.8 a 7.2 años y 9.6 a 12 años. Otro estudio realizado reportó una mayor susceptibilidad en animales entre edades de 2 y 4 años, esto es debido a que los dueños de cachorros no exponen a sus mascotas tanto tiempo a la intemperie debido a que no poseen un sistema inmune completamente desarrollado porque aún estos están siendo vacunados (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2005), sin embargo, un estudio realizado en Japón no encontró asociación entre la edad y la presentación de la infección (Inokuma *et al.*, 1999).

Al evaluar la variable de raza se encontró que 16.9% de ellas eran de raza mestiza y entre los perros de raza se encontró un 13.5% de Schnauzer y Shih tzu; sin embargo, esto difiere con lo encontrado por otros autores, los cuales indican que las razas con mayor predisposición de presentar la infección son las razas grandes, ya que estas suelen pasar mayor tiempo fuera de casa a comparación de las razas pequeñas que por lo general las mantienen dentro de la casa o del departamento (Contreras *et al.*, 2009). Sin embargo, este estudio obtuvo resultados parecidos a los descritos por otros autores, los cuales reportan que los perros de raza mediana – grande (Beagles, Golden Retrievers, Pointer, Pastor Alemán) y mestizos son las más predisuestas, esto es debido a que a estas razas las mantienen más tiempo en el exterior realizando actividades debido a su tamaño, por lo que podrían estar más expuestas a contraer ectoparásitos y las enfermedades hemoparasitarias (Inokuma *et al.*, 1999; Reyes, 2003; Ortega, 2005).

Con respecto al tiempo de permanencia en casa, 54% de pacientes pasaba la mayor parte del tiempo fuera de casa, por lo que lograban exponerse a ectoparásitos que se encontraban en el medio ambiente, esto concuerda con lo mencionado por otros estudios, los cuales reportaron que se había encontrado diferencia significativa entre los animales que pasaban mayor tiempo a la

intemperie con respecto a los que pasaban mayor tiempo en casa (Adrianzén *et al.*, 2003). Además, se halló que el 38% de los individuos que tenían permanencia exclusiva en casa tenían garrapatas; esto quiere decir que, a pesar de no exponerse al medio exterior, pueden tener contacto con garrapatas. Esto puede deberse a que la mayoría de hogares en Piura poseen un jardín mediano o un parque grande alrededor los cuales son abonados con excremento de los establos bovinos y equinos como tradición; este abono trae los diferentes estadíos de los ectoparásitos de los perros que viven en estos lugares, lo que puede permitir el contagio a los canes del hogar. En un estudio realizado en la ciudad de Piura, descubrieron *Amblyomma maculatum*, *Ixodes sp.* *Rhipicephalus sanguineus* en perros que vivían en establos, por lo tanto, esto nos puede indicar que las heces que son extraídas de los establos para abono de parques y jardines llevarían consigo garrapatas en varios estadíos (Glenny *et al.*, 2004).

Los signos clínicos más comunes que este estudio encontró fueron debilidad, letargia, membranas mucosas pálidas, anorexia, linfadenomegalia y esplenomegalia, estos signos también fueron descritos en un estudio realizado en Yucatán, México (Rodríguez –Vivas, 2004). A pesar de que uno de los signos clínicos más hallados son la uveítis e hifema durante las fases agudas de la enfermedad, en este estudio no se llegó a observar esto (Pontes *et al.*, 2004).

Este estudio halló un 4.2 % de *Anaplasma sp.*, en los animales muestreados, lo cual es mayor con respecto al porcentaje hallado en el estudio realizado en la ciudad de Lima, el cual fue de 3.3% (Kennedy, 2012). Se encontró que el distrito de 26 de octubre cuenta con la mayor cantidad de individuos que presentan anticuerpos para *Anaplasma sp.* (2/3 individuos), mientras que en Piura se halló 1 individuo que presentaba anticuerpos para *Anaplasma sp.*

El presente estudio utilizó el hemograma para evaluar las alteraciones que se pueden encontrar en los pacientes que son sospechosos de presentar alguna de estas enfermedades hemoparasitarias. Las alteraciones hematológicas de los animales positivos más resaltantes que se hallaron en este estudio fueron: anemia, leucocitosis, monocitosis y trombocitopenia. En cuanto a neutrófilos y linfocitos, el 46% de los individuos presentó neutrofilia y el 36% presentó

linfopenia; sin embargo, también se encontró que el 49% y 46% de los muestreados obtuvieron neutrófilos y linfocitos sin alteraciones en su morfología.

El 33% de los individuos muestreados positivos a *E. canis* mostraron cuadros bicitopénicos (anemia y trombocitopenia); esto es un hallazgo frecuente reportado por otro autor, el cual indica que estos resultados son importantes para el diagnóstico hematológico, ya que un animal con signos clínicos compatibles a erlichiosis canina, y que manifieste trombocitopenia y anemia (bicitopenia), es muy probable que esté cursando con la enfermedad (Hoyos *et al.*, 2007).

La trombocitopenia es uno de los hallazgos más comunes en este estudio, se halló 54% de trombocitopenia en los animales con serología positiva a *E. canis*, provocado por el aumento del consumo de plaquetas debido a los cambios inflamatorios en el endotelio vascular, incremento del secuestro de plaquetas a nivel de bazo y destrucción inmunológica lo que resulta en la disminución del tiempo de vida de las plaquetas, además se ha encontrado un factor de inhibición de migración de plaquetas, el propósito de este factor es aumentar el secuestro de plaquetas y estasis lo que lleva a reducir la cantidad de plaquetas circulantes en sangre periférica (Harrus *et al.*, 1999).

En los pacientes que tuvieron serología negativa también se obtuvieron alteraciones en la serie leucocitaria, de manera similar a lo hallado en los pacientes con erlichiosis. Se determinó que un 38% presentó leucocitosis y un 50% monocitosis. Esto puede sugerir que los pacientes podrían presentar un proceso inflamatorio crónico. Las enfermedades de tipo infecciosas también pueden contribuir a este tipo de hallazgos, por lo que sería necesario realizar otras pruebas complementarias para poder determinar que patología pueda estar cursando con estos hallazgos. Se debe tener en cuenta que cada patología puede ocasionar distintas alteraciones hematológicas en la serie blanca, por lo que cada individuo debe ser estudiado independientemente para una correcta interpretación. Se debe considerar la posibilidad que alguno de estos pacientes puede estar también infectado con la bacteria *Ehrlichia canis* y que la serología haya salido negativa, esta reportado que en algunos casos se pueden obtener resultados

falsos negativos debido principalmente a una baja seroconversión (Cépeda & Zapata, 2013; Sánchez, 2016).

En el estudio, además de evaluar las alteraciones hematológicas que se encontraron en un perro afectado con alguno de estos hemoparásitos, también se realizaron frotices sanguíneos de las muestras para evaluar la morfología de las células y buscar cuerpos de inclusión. Se detectaron mórulas de *Ehrlichia canis* en 2 pacientes, lo que equivale en 5% del total de animales positivos por serología, esto indica que la sensibilidad de esta técnica es muy baja. Se encontró resultados similares a los ya reportados en otros estudios, los cuales reportaron que la sensibilidad de encontrar mórulas es baja debido a que el tiempo de formación de estas es de 12-17 días y suelen hallarse durante la infección aguda (Mylonakis *et al.*, 2003).

Otro estudio reportó la baja sensibilidad de esta técnica, ya que mediante la técnica de PCR no se logró confirmar la presencia de *E. canis* de muestras que habían dado positivo a la técnica de frotis sanguíneo, esto es debido a la presentación de estructuras similares a las mórulas, que en realidad son granulaciones basófilas en linfocitos activos o la superposición de plaquetas sobre monocitos que pueden asemejar la apariencia de mórulas de *E. canis* (Romero *et al.*, 2010).

Con el presente estudio se corrobora que la Erlichiosis canina es una enfermedad presente en la ciudad de Piura, a pesar de encontrar un alto porcentaje en la población canina; este fue menor al encontrado anteriormente por el estudio de San Miguel en el 2006; esto se puede deber a que sólo en este estudio se muestrearon perros que tenían dueño, mas no perros callejeros. Además, este estudio reporta por primera vez la presencia de *Anaplasma sp.* en la población canina de esta ciudad, la cual fue mayor a la encontrada en un estudio realizado en la ciudad de Lima. Estas enfermedades se pueden mitigar implementando un eficiente control de garrapatas y regulando la interacción con animales potencialmente infectados.

CONCLUSIONES

- Se determinó una frecuencia positiva a *E. canis* de 55% en la ciudad de Piura.
- Se reporta por primera vez una frecuencia positiva a *Anaplasma sp.* de 4.2% en la ciudad de Piura.
- Se encontró una asociación significativa entre las variables permanencia temporal y nula en casa con la presencia de anticuerpos contra *E. canis*, por lo tanto, es necesario realizar un mejor control de ectoparásitos en los caninos, por medio de antiparasitarios externos en los canes y desinfección del medio ambiente de estos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adrianzén J, Chávez A, Casas E, Li O. (2003). Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. Rev Inv Vet, Perú 14(1): 43-48.
2. Alleman, R., Wamsley, H. (2008). An update on anaplasmosis in dogs. 2016, de dvm 360
Sitio web: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/update-anaplasmosis-dogs>
3. Banco Central de Reserva del Perú Sucursal Piura [BCRP]. (2016). Caracterización del Departamento de Piura. Departamento de Estudios Económicos de la Sucursal de Piura.
Sitio web: <http://www.bcrp.gob.pe/docs/Sucursales/Piura/piura-caracterizacion.pdf>
4. Baneth, G. (2006). Canine Ehrlichiosis – A Silent Killer. IP- Infecciosos & Parasitic Diseases, Facultad de Medicina Veterinaria, Israel.
5. Cépeda O., Zapata J. (2013). Detección Serológica por Elisa indirecta de hemoparásitos y *dirofilaria immitis* en caninos de Bogotá, Colombia. Bogotá: Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad La Salle, Colombia.
6. Contreras A, Gavidia C, Li O, Díaz D, Hoyos L. (2009). Estudio retrospectivo de caso-control de ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Periodo 2002-2005. Rev. Investig. Vet. Perú, 20 (2): 1-53.
7. Córdova, L. (2013). Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en la comunidad Jardines de Manchay en el distrito de Pachacamac [Tesis Bachiller]. Lima: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma.
8. Cowell, R; Tyler R.; Meinkoth J. (1999). Citología y Hematología Diagnóstica en el perro y el gato. Segunda Edición. Barcelona, España.
9. Díaz, A., Villegas, E., Yerren, J. (2013). Boletín del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú – Análisis Estacional. Senamhi, Piura
<http://www.senamhi.gob.pe/load/file/03501SENA-31052013.pdf>

10. Dolz, G., Ábrego, L., Romero, L., Campos-Calderón, L., Bouza-Mora, L., Jiménez, A. (2013). Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. 2016, de IV Congreso latinoamericano de enfermedades rickettsiales. San José Sitio web: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v55s1/art08.pdf>
11. Ferreira RF, Cerqueira AMF, Pereira AM, Guimarães CM, De Sá AG, Abreu FS. (2007). Anaplasma platys diagnosis in dogs: comparison between morphological and molecular tests. Intern J Appl Res Vet Med, 5, 113-119.
12. Glenn, M., Mendoza. L& Falconí, E. (2004). Detección de anticuerpos contra Borrelia burgdorferi e identificación de garrapatas ixodidas en Piura Y Amazonas, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 20 (1).
13. Gordillo, E. (2010). Manual práctico de toma y manejo de muestras en perros y gatos [Tesis Bachiller]. Veracruz: Facultad de Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana.
14. Greene, C. (2012). Infectious diseases of the dog and cat. 4ta Edición, Georgia, USA. Editorial Elsevier.
15. Harrus S., Waner T., Bark H., Jongejan F., Cornelissen A. (1999). Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. Journal of Clinical Microbiology, 2745-2749.
16. Hoyos L., Li O., Alvarado A., Suárez F., Díaz D. (2007). Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. Lima, Perú. Rev. Investig.vet. Perú.18(2).
17. Huerta, E. & Dámaso, B. (2015). Factores asociados a la infección por Ehrlichia canis en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica, 32(4), 756-760.
18. IDEXX laboratorios. (2008). Manual del operador del analizador hematológico IDEXX VetAutoread, Maine, USA.
19. Inokuma H, Ohono K, Yamamoto S. (1999). Serosurvey of Ehrlichia canis y Hepatozoon canis infection in dogs in Yamaguchi Prefecture, Japan. J Vet Med Sci 61, 1153-1155.

20. Kennedy, V. (2012). Detección de anticuerpos contra Ehrlichia canis, Anaplasma phagocitophilum, Borrelia burgdorferi y antígenos de Dirofilaria immitis perros destinados a actividades de caza [Tesis Bachiller]. Lima: Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
21. Manzano-Román, R., Díaz, V., Pérez, R. (2012). Garrapatas: Características anatómicas, epidemiológicas y ciclo vital. Detalles de la influencia de las garrapatas sobre la producción y sanidad animal. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca. España. Cordel de Merinas, 40-52.
22. Mylonakis, M. E., A. F. Koutinas, C. Billinis, L. S. Leontides, V. Kontos, O. Papadopoulos, T. Rallis, and A. Fytianou. (2003). Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): a comparison between five methods. Vet. Microbiol. 91,197- 204
23. Nelson, R., Couto, G. (2009). Small Animal Internal Medicine. 4ta Edición, Philadelphia, USA. Editorial Elsevier.
24. Ortega P. (2005). Frecuencia y alteraciones hematológicas asociadas a Ehrlichia spp. en perros domésticos en la ciudad de Cardel, Veracruz, México. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Veracruz: Universidad Veracruzana. 30 (1).
25. Pontes A, Mendes P, Luiz J. (2004). Uveitis in dogs infected with Ehrlichia canis. Rev. Ciencia Rural Santa María, 34 (4), 1289-1295.
26. Reyes P. (2003). Determinación de Hemoparásitos de canidos en la zona conurbada Veracruz-Boca del Rio, durante el periodo 1999-2002. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Veracruz: Universidad Veracruzana.
27. Rodríguez-Vivas R, Albornoz R, Bolio G. (2004). Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. Vet Parasitol 127, 75-79.

28. Romero L, Dolz G, Romero J, Meneses A, Jiménez M, Salazar L. (2010). Evaluación del diagnóstico de *Ehrlichia canis* mediante frotis sanguíneo y técnica molecular en perros de Costa Rica. *Rev. Ciencias Veterinarias*, 28 (1): 23-36.
29. Romero, V. (2011). Cambios hematológicos en pacientes positivos a erlichiosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán [Tesis Bachiller]. Michoacán: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
30. Rubio, A., Salas, E., Gómez, G. (2011). Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma sp* en canes de la ciudad de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 22, 233-238.
31. Sánchez A. (2016). Frecuencia y asociación de alteraciones hematológicas según diagnóstico presuntivo en pacientes caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Cayetano Heredia en el período 2013. [Tesis Bachiller]. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
32. San Miguel S. (2006). Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la provincia de Sullana [Tesis Bachiller]. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Alas Peruanas.
33. Tateishi V., Lí O., Hoyos L., Rivera H., Alberto Manchego S., Barrios L., Juan More B. (2015). Identificación Hematológica y Molecular de *Anaplasma platys* en Caninos Domésticos de Lima Metropolitana con Signos Clínicos Compatibles con Anaplasmosis. *Rev Inv Vet Perú*, 26, 111-118.
34. Torres, H. (2003). Estudio de características demográficas de la población canina en la ciudad de Lanco y nivel de conocimiento de sus propietarios sobre algunas zoonosis [Tesis Bachiller]. Chile: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
35. Trapp, S., Dagnone, A., Vidotto, O., Freire, R., Amude, A., Autran de Morais, S. (2006). Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Veterinary Parasitology*, Elsevier, 140, 223–230. 2016.
36. Vilela L. (2015). Carpeta Georeferencial región Piura- Perú. Oficina de Gestión de la Información y estadística- Dirección general parlamentaria, Lima-Perú.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha de información de los pacientes

Ficha de estudio para Ehrlichia y Anaplasma

Número de muestra

Datos

Nombre del paciente

Raza

Edad

Sexo

Distrito

Permanencia en casa

Exclusiva

Temporal

Nula

Vive con otros animales. Especifique

Motivo de consulta:

Tiempo de aparición de los signos

Historia clínica:

	SI	NO
Presencia de garrapatas	()	()
Vómitos	()	()
Diarrea	()	()
¿Come?	()	()
¿Consume agua? ¿Cantidad?	()	()
¿Presenta sangrados?	()	()
¿Presenta problemas al caminar?	()	()
Estado de ánimo		

<u>Examen clínico</u>	SI	NO
Pirexia	()	()
Epistaxis	()	()
Letargia	()	()
Cojeras	()	()
Petequias	()	()
Linfoadenomegalia	()	()
Esplenomegalia	()	()
Descarga oculonasal	()	()
Reflejo tusígeno	()	()
Otros		
<u>Resultados</u>	Si	No
Ehrlichia canis	()	()
Anaplasmosis	()	()