

Prevalencia de infección por hemoparásitos de caninos que fueron atendidos en una clínica veterinaria de la ciudad de Medellín, durante el período comprendido entre agosto de 2011 y julio de 2013

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Daniel Isaza Arcila

Luis Miguel Grajales Patiño

Asesor

Rafael David Blanco Martínez

MVZ, MSc.

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Medicina Veterinaria

Caldas - Antioquia

2015

Tabla de contenido

Resumen	5
Abstract	6
Introducción	7
Justificación	9
Objetivos	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos	11
Marco teórico	12
<i>Ehrlichia canis</i>	12
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	15
<i>Babesia canis</i>	17
<i>Borrelia burgdorferi</i>	19
Metodos diagnósticos	21
Factores epidemiológicos que favorecen la transmisión y el desarrollo de la enfermedad	23
Antecedentes en Colombia y otros países	25
Metodología	28
Tipo de estudio	28
Población de estudio	28
Unidad de análisis	29
Criterios de inclusión	29
Plan de análisis	30
Resultados	31
Análisis estadístico de los datos	36
Discusión	40
Conclusiones	49
Recomendaciones	51
Referencias	52

Lista de tablas

Tabla 1. Discriminación por fecha y ubicación territorial.¡Error! Marcador no definido.2

Tabla 2. Discriminación por raza y edad.....¡Error! Marcador no definido.3

Tabla 3. Condición corporal, temperatura, mucosas, sangre en orina, decaimiento y presencia de ectoparásitos.¡Error! Marcador no definido.

Tabla 4. Porcentaje positivos prueba SNAP4DX. (*Ehrlichia ewingii*, *E. canis*, *Anaplasma platys*, *A. phagocytophilum*, *Dirofilaria*, *Borrelia burgdorferi*) y *Babesia sp* a través de extendido de sangre periférica.¡Error! Marcador no definido.

Tabla 5. Datos cuantitativos . Edad, temperatura y condición corporal.¡Error! Marcador no definido.

Tabla 6. Análisis según resultados hemoleucograma..... 37

Tabla 7. Análisis datos por sexo, mucosas, sangre en orina, decaimiento y p. ectoparásitos..... 389

Lista de apéndices

Apéndice A.	Aspectos éticos.....	67
--------------------	----------------------	----

Resumen

Las hemoparásitosis son enfermedades que causan destrucción de los glóbulos rojos de los perros, generando cuadros graves de anemia, estados febriles y deterioro progresivo, los agentes etiológicos generalmente son bacterias Gram negativas y algunos protozoos, su principal vector es la garrapata pero también se ha demostrado que puede transmitirse de manera iatrogénica. Por tanto el objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de infección por hemoparásitos en caninos que consultaron en una clínica veterinaria de la ciudad de Medellín durante el período comprendido entre Agosto de 2011 y Julio de 2013. Se realizó un análisis de tipo descriptivo retrospectivo en caninos de diferentes razas, edades y sexos que consultaron en el período mencionado; que a su vez presentaron signos clínicos asociados a la infección transmitida por hemoparásitos y que fueron positivos a la prueba indirecta de SNAP 4DX®. Fue calculada la frecuencia de infección y su asociación a algunos factores epidemiológicos utilizando las pruebas de Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher. El 26,3% de los caninos presentaron infección para al menos un hemoparásito siendo *Ehrlichia canis* el más frecuente con 89,47 %. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la infección y la condición corporal, la integridad de membranas mucosas y la presencia de sangre en orina, así como recuentos altos de leucocitos y neutrófilos.

Palabras Clave: Ehrlichiosis, epidemiología, infección, caninos, parásitos.

Abstract

The hemoparasitosis are diseases that cause destruction of red blood cells of dogs, causing severe cases of anemia, fevers and progressive deterioration, the etiological agents are generally Gram negative bacteria and some protozoa, its main vector is the tick but has also been shown that can be transmitted from iatrogenic way. Therefore the objective of this study was to determine the frequency of infection by blood parasites in dogs that looked at a veterinary clinic in the city of Medellin during the period between August 2011 and July 2013. A retrospective descriptive analysis was conducted in type dogs of different races, ages and sexes that consulted in the mentioned period; which in turn they presented associated infection transmitted by blood parasites and were positive for the indirect evidence of clinical signs 4DX® SNAP. It was calculated the frequency of infection and its association with some epidemiological factors using chi-square test and Fisher's exact test. 26.3% of the dogs were infected for at least one hemoparasite *Ehrlichia canis* being the most frequent with 89.47%. A statistically significant association between infection and body condition, integrity of mucous membranes and the presence of blood in urine, and high leukocyte and neutrophil found.

Key Words: Ehrlichiosis, epidemiology, infection, canine, parasites.

Introducción

Las hemoparasitosis son enfermedades causadas por diversos agentes etiológicos entre los que se encuentran principalmente protozoos, bacterias del orden *Rickettsiales* y *Espiroquetas* los cuales pueden habitar dentro o fuera de los glóbulos rojos u otras células sanguíneas (Benavides, 2011). Dichas enfermedades pueden desarrollarse en gran variedad de especies animales salvajes y domésticas, siendo algunas zoonóticas y con una amplia distribución mundial debido a sus formas de transmisión.

En los caninos, estos parásitos se transmiten principalmente por medio de vectores artrópodos como garrapatas, pulgas, tábanos y otras moscas, aunque también se ha comprobado que poseen transmisión iatrogénica por medio de agujas, jeringas, bisturís y material cortopunzante utilizado en procedimientos quirúrgicos. Algunos hemoparásitos pueden llegar a transmitirse por la vía transplacentaria (Añez et al., 2010) o por medio de transfusiones sanguíneas (Waner y Harrus, 2000). Independiente de la vía de transmisión, estos parásitos pueden llegar a causar afecciones graves a sus hospederos definitivos (Rodríguez et al. 2011).

El signo clínico más común de las infecciones por hemoparásitos en los caninos es la anemia debido a la eritrolisis producida; la cual puede ir acompañada en la mayoría de casos de fiebre intermitente, depresión, pérdida de condición corporal, debilidad generalizada y anorexia (Guillén, León, Aragort y Silva, 2001), aunque cada

agente etiológico dependiendo de condiciones propias relacionadas con su patogenicidad y condiciones del hospedero como estado nutricional, inmunológico o fisiológico, puede desarrollar signos clínicos variables dependiendo también de la etapa de la infección en que se encuentre y de factores epidemiológicos que favorecen el desarrollo de la enfermedad (Palmer, Rurangirwa, Kocan y Brown, 1999).

Dentro de estos factores podemos resaltar la presencia de los vectores y los ineficientes controles integrales que se dan contra los ectoparásitos; el uso de instrumentos veterinarios conteniendo sangre contaminada, condiciones higiénicas deficientes, hacinamiento, o aspectos relacionados con la comercialización, como es la movilización de animales (Benavides, Polanco, Vizcaino y Betancur, 2012).

A pesar de que en centros médicos veterinarios se realiza el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades hemoparasitarias en caninos, no hay cifras que cuantifiquen la población de mascotas afectadas que consultan a la clínica, por lo tanto el objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de infección por hemoparásitos en caninos que consultaron en una Clínica Veterinaria de la ciudad de Medellín durante el período comprendido entre Agosto de 2011 y Julio de 2013.

Justificación

Según la revista Dinero en un artículo del año 2012 escrito por la firma alemana (GFK) *Gesellschaft für Konsumforschung* el 29 % de los colombianos tiene al menos una mascota en casa y en Medellín el 86 % de estas personas tienen un canino de acuerdo con la encuesta de calidad de vida (2011) realizada por el departamento de planeación de la Alcaldía de Medellín, cerca del 20 % de los medellinenses tienen un perro en casa; es decir, existen alrededor de 473.000 caninos en Medellín, sin incluir los caninos del Valle de Aburra (encuesta calidad de vida realizada por el Departamento administrativo de Planeación 2011).

Si se aprecia la población canina en la ciudad de Medellín, asociado a la presencia de garrapatas en el departamento de Antioquia como lo son: *Rhipicephalus microplus* conocida anteriormente como *Boophilus microplus*, *Dermacentor nitens* y *Rhipicephalus sanguineus*, conocida como la garrapata marrón del perro, son dos variables de suma importancia para la propagación de la enfermedad ya que las garrapatas son los principales vectores en la transmisión de las hemoparasitosis caninas (López, Zuñiga, Villar, y Osorio, 1985), provocando así graves padecimientos físicos a las perros, además de los cambios psicológicos que pueden sufrir los propietarios por el deterioro de sus mascotas (Gómez, Atehortúa y Orozco, 2007), llegando a vulnerar el bienestar animal, ocasionando incluso la muerte tanto en animales como humanos, dado que algunas hemoparasitosis pueden llegar a ser zoonóticas (Rodríguez et al. 2011). Las hemoparasitosis son enfermedades que incurren en costos menores cuando se intervienen de manera profiláctica, pero

elevados cuando ocurren manifestaciones clínicas y es necesaria la hospitalización de la mascota ya que se debe hacer un tratamiento riguroso además que requiere constantes exámenes de laboratorio sobre el mismo paciente (Añez et al., 2010).

La importancia del presente estudio reside en determinar la frecuencia de infección por hemoparasitos en caninos, a través de programas de estadística que permitan la clasificación de las principales alteraciones asociadas a la enfermedad descritas en la historia clínica de cada paciente, para así tratar de determinar cuáles de estas alteraciones estarían relacionadas con las enfermedades hemoparasitarias en los caninos que consultaron en la clínica veterinaria objeto del estudio, teniendo en cuenta la ubicación de las mascotas, la edad, el sexo, la raza, signos clínicos, además de los síntomas compatibles con la enfermedad durante el examen físico y las ayudas diagnósticas realizadas (hemoleucograma, perfiles sanguíneos, pruebas específicas como SNAP 4DX y frotis sanguíneos), a su vez que el agente infeccioso más frecuente.

Así los resultados de este estudio, podrían ser de utilidad para los Médicos Veterinarios y propietarios de mascotas, ya que darán un acercamiento a la problemática de las hemoparásitosis en la clínica veterinaria y a partir de allí podrán establecerse medidas de prevención y control epidemiológico en las demás mascotas para evitar la propagación de dichas enfermedades y minimizar a su vez un posible contagio al ser humano.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la prevalencia de infección por hemoparásitos en caninos que consultaron en una Clínica Veterinaria de la ciudad de Medellín durante el período comprendido entre Agosto de 2011 y Julio de 2013.

Objetivos específicos

Describir la frecuencia de infección de los hemoparásitos en caninos a partir de la base de datos de la clínica.

Describir los síntomas y signos clínicos observados en los pacientes incluidos en el estudio.

Establecer la relación entre la infección por hemoparásitos en caninos y algunos factores de riesgo evaluados en la historia clínica.

Marco teórico

En Colombia las enfermedades hemoparasitarias en caninos son escasamente reportadas y subdiagnosticadas (Benavidez Ortiz, 2011). Muchas mascotas se constituyen como reservorios y hospederos definitivos para este tipo de enfermedades, generando así daños a la salud de la mascota, disminuyendo su calidad de vida, alterando su estado fisiológico, además de las alteraciones que sufren los propietarios por el deterioro continuo que causa la enfermedad a su mascota (Gómez, Atehortua y Orozco, 2007).

Agentes como *Ehrlichia canis*; *Anaplasma phagocytophilum*; *Babesia canis*; son los hemoparasitos más comunes en caninos (Greene C, 2008).

Ehrlichia canis

La rickettsia *Ehrlichia canis* es una bacteria Gram negativa intracelular obligada, parasitan el citoplasma de leucocitos, monocitos, macrófagos y granulocitos, circulan en grupos denominados mórulas, otras especies como *E. ewingii*, *E. platys* y *E. equi* también pueden afectar al perro con manifestaciones clínicas menos agresivas, su distribución está relacionada con la del vector *Rhipicephalus Sanguíneus* (Kelly y Lucas, 2009). El modo de transmisión en la garrapata es transestadial no transovarica, se infectan de *E. canis* cuando se alimentan de perros con las rickettsias en formas de

larvas o ninfas y transmiten la infección a otros perros susceptibles 150-155 días posteriores a la infección lo que permite que pueda sobrevivir en épocas frías, por otro lado los climas cálidos favorecen el crecimiento de las garrapatas.

El periodo de incubación varia de 8-20 días lo que favorece la presentación de la formas aguda, sub clínica y crónica (Breitschwerdt y Maggi, 2009). Durante la fase aguda ingresa al torrente sanguíneo y linfático se aloja en los macrófagos del sistema retículo endotelial, bazo, hígado y nódulos linfáticos; se replican por fisión binaria y desde allí pueden invadir otros órganos del cuerpo, esta fase puede durar de 2-4 semanas dependiendo del sistema inmunológico del hospedero; con signos y síntomas variables como: depresión, letargia, anorexia, pérdida de peso, fiebre, linfadenomegalia, esplenomegalia, petequias, equimosis en la piel y epistaxis en algunos casos; los signos más característicos son: fiebre, edema periférico, anemia, anorexia, debilidad, la trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común, leucopenia y anemia moderada; también pueden incluir sintomatología neurológica como: tetraparesia, polimiositis, hiporeflexia y artropatías (Aguiar, Hagiwara y Cabruna, 2008). Los perros no tratados oportunamente pueden desarrollar una fase subclínica, sin manifestaciones clínicas evidentes pero manteniendo un recuento bajo de plaquetas, lo que los convierte en portadores asintomáticos o sanos hasta por periodos de 3 años. En la fase crónica la forma más grave se caracteriza por la reducción de los elementos sanguíneos producidos por la medula ósea, durante la infección intervienen diferentes mecanismos inmunológicos como la Ig M y la Ig A de 4-7 días post infección,

Ig G 15 días post infección, con un efecto mínimo marcado durante la eliminación del organismo a nivel intracelular (Greene C, 2008).

Las Ehrlichias se multiplican en células hematopoyéticas maduras o inmaduras de los neutrófilos, eritrocitos y plaquetas en sangre periférica o en tejidos. También se pueden encontrar en órganos fagocíticos mononucleares (hígado, bazo, médula ósea) de hospedadores vertebrados. *Ehrlichia sp* puede cumplir fases de su ciclo de vida en las garrapatas, especialmente de los géneros, *Rhipicephalus sanguineus* y *Rhipicephalus microplus*, las cuales desempeñan el papel de vectores (López et al. 1985). En el caso de la Ehrlichiosis canina incluye un período de incubación de 8 a 20 días, seguido de una fase aguda, subclínica y a veces crónica. Durante la fase aguda, el parásito ingresa al torrente sanguíneo y linfático y se ubica en los macrófagos del sistema retículo endotelial (bazo, hígado y ganglios linfáticos) donde se replica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las Rickettsias hacia otros órganos del cuerpo. La fase aguda puede durar entre 2 y 4 semanas, los perros con un tratamiento inadecuado o no tratados, pueden desarrollar posteriormente una fase subclínica que aunque sin signos clínicos evidentes de la enfermedad mantienen recuentos bajos de plaquetas, estos pacientes se convierten en portadores sanos por un período que puede llegar a durar hasta 3 años. Durante el curso de la enfermedad, se dan recombinaciones repetidas, en los genes antigénicos proteicos de la membrana externa de Ehrlichias, que conduce a la generación de variaciones en epítomos inmunogénicos y permite que los microorganismos evadan los mecanismos de defensa del huésped y da como resultado infecciones persistentes. En

la fase crónica de la enfermedad en su forma más grave, el cuadro se caracteriza por la reducción de la producción de elementos sanguíneos de la médula ósea; manifestándose con debilidad, depresión, palidez de mucosas, también es común encontrar anorexia, pérdida progresiva de peso, fiebre, hemorragias de retina, mucosas y piel; puede desarrollarse edema en miembros posteriores y escroto; inflamación de los ojos, artritis, insuficiencia renal y glomerulonefritis (Waner y Harrus, 2000).

Anaplasma phagocytophilum

Pertenece también al grupo de las Rickettsias, es una bacteria gram negativa intracelular obligado afecta las plaquetas del huésped, se puede encontrar individual, en pares o en grupos formando mórulas dentro de una vacuola, también puede ser transmitido por vectores como la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* y mosquitos que cumplen como vectores mecánicos y biológicos, entre ellos: mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*); la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*); tábanos o de forma iatrogénica por fómites contaminados con sangre como ocurre en procedimientos quirúrgicos, agujas y materiales no desinfectados correctamente (Kocan, De la Fuente., Guglielmone y Meléndez, 2003). La transmisión biológica en la garrapata puede ocurrir entre estadios de larva a adulto sin nueva exposición en la fase como ninfa y transestadios de larva a ninfa y de ninfa a adulto, el ciclo comienza en las células del intestino medio, donde se forman múltiples colonias de la rickettsia

Anaplasma sp y termina en las glándulas salivares, desde allí se transmite al huésped vertebrado, dentro de cada ciclo se desarrollan dos estadios: una forma vegetativa que se divide por fisión binaria capaz sobrevivir fuera de la célula, invadir e infectar a su vez otras garrapatas o la segunda forma que es la infectiva; existen casos donde la transmisión transovárica ha sido reportada. También tiene la capacidad de atravesar la barrera placentaria dentro del huésped y transmitirse de madre a feto durante la gestación. La infección aguda se caracteriza por invadir las plaquetas, seguida por trombocitopenia marcada en los análisis sanguíneos, el período de incubación puede ocurrir de 7-14 días (Foglia, Capiello y Oliva 2006), pero se describen reportes donde las mascotas infectadas no son afectados clínicamente y raramente presentan signos de hemorragias (Gaunt et al. 2010). Otros trabajos describen signos y síntomas como: fiebre, anorexia, letargia, pérdida de peso, linfadenomegalia, proliferación de macrófagos en nódulos linfáticos, hígado y bazo; además que también se mencionan otras afecciones en los análisis sanguíneos como: hematocrito bajo, monocitosis, baja concentración de albumina; además de la presencia de ectoparásitos (Harrus, Aroch, Levy y Bark, 1997, & Eddlestone et al. 2007). La fase crónica se asocia con parasitemias esporádicas y trombocitopenias de tipo cíclicas, pero los signos clínicos en los perros infectados no son evidentes lo que dificulta su diagnóstico (Inokuma et al. 2002).

Para *Anaplasma sp*, la patogenia de la enfermedad tiene un período subclínico de 28 a 35 días, pero en animales muy sensibles (sin previa exposición a artrópodos vectores), por la virulencia del organismo y por una gran carga parasitaria, puede ser

de 2 a 3 semanas. En aquellos animales que son inmunocompetentes, la infección tiende a ser crónica; no obstante los signos clínicos observables en el paciente animal en los casos agudos son: fiebre de 40,5 °C, decaimiento, anorexia, deshidratación, palidez e ictericia de mucosas. Clínicamente se diferencia de la babesiosis porque en la anaplasmosis no se presenta hemoglobinuria y en el análisis de laboratorio se detecta una acidez metabólica (Allen y Kuttler, 1981; Wilches, 1993; Camacho et al. 2001).

Babesia canis

Se conoce como un parásito intracelular que afecta los eritrocitos pertenecientes al género *Babesia*, con elevada incidencia de aparición en nuestro medio. Es un microorganismo piriforme que aparece en forma individual o en pares dentro del glóbulo rojo (Jefferies, Ran, Muhl nickel y Irwin, 2003). Dentro del hospedador los merozoitos se adhieren a la membrana del eritrocito formando un complejo especializado (endocitosis) destruyen la membrana del endosoma y se transforma en trofozoito entrando en contacto directo con el citoplasma del eritrocito, durante su siguiente evolución dando lugar a numerosos merozoitos por un proceso que se conoce como merogonia o fisión binaria, (Stegeman, Birkenheuer, Kruger, y Breitschwerdt, 2003) luego de dividirse abandonan la célula y se dirigen hacia otras para infectarlas. Las garrapatas ingieren los merozoitos una vez dentro se produce esquizogonia en las células epiteliales intestinales y se forman macromerozoitos, luego

de varios ciclos de esquizogonia en otros tejidos incluyendo los oocitos y las células de las glándulas salivares de la garrapata, se forman micromerozoitos que son la forma infecciosa, de allí comienza nuevamente el ciclo de los esporozoitos cuando alcanzan la sangre del huésped. El período de incubación varia de 10-21 días, las parasitemias en sangre comienzan a los 3-4 días postinfección, solo pueden ser vistas a los 20 días post infección en extendidos de sangre periférica debido picos de la enfermedad. Los eritrocitos infectados aumentan su fragilidad osmótica lo que produce hemólisis y anemia. La enfermedad puede manifestarse de manera hiperaguda, aguda, subclínica o crónica. La presentación aguda es la más común con signos como: fiebre, anorexia, anemia, mucosas pálidas, vomito, linfadenomegalia y trombocitopenia en análisis sanguíneo, ictericia, petequias y hematuria. De la forma subclínica no se manifiestan alteraciones evidentes pero son potencialmente una fuente de contagio para perros susceptibles en el caso de los cachorros. En Suramérica la transmisión vectorial, usualmente se da por garrapatas que inyectan esporozoitos a través de su saliva durante la alimentación (Jefferies et al. 2003).

Las lesiones al hospedador generalmente dependen de la patogenicidad del agente implicado, del sistema inmune del canino y de la posibilidad de coinfecciones con otros microorganismos incluidos otras especies de hemoparásitos (Boozer y Mancitire, 2003).

En la patogenia de la babesiosis canina, los organismos se podrían detectar a la primera semana post-infección y los picos de parasitemia se detectan a las 3-4 semanas. Estos picos en muchos perros suponen un 2-6% de los eritrocitos infectados,

aunque en algunos casos el número de parásitos puede ser mucho mayor. La patogenicidad de las babesias viene determinada principalmente por factores dependientes del parásito, como son la especie y subespecie; en segundo lugar por algunos factores propios del huésped como son la edad, sexo, estado nutricional y finalmente la respuesta inmune generada por el hospedador contra el parásito. En el caso de las Babesias, se encuentran involucrados dos mecanismos de acción patógena diferentes que dan lugar a dos síndromes, el primero caracterizado por shock hipotensivo y el segundo por anemia hemolítica, que a su vez constituye el principal signo clínico observado en animales con babesiosis (Camacho et al. 2001).

Borrelia burgdorferi

Reconocido como una espiroqueta, Gram negativa es el causal de la enfermedad de Lyme, transmitida por la picadura de garrapatas del género *Ixodes ricinus*, *I. dentatus*, *I. escapularis* principalmente. Los signos de la enfermedad son generalmente inespecíficos, el más patognomónico es la artritis periarticular afectando el carpo y el tarso (Levy, Dombach, Barthold y Wsamoen, 1993). Algunas manifestaciones menos frecuentes como: cardiopatías, nefropatías, alteraciones neurológicas (McKenna et al. 1995). Sin embargo solo un bajo porcentaje de infectados desarrolla síntomas compatibles con la enfermedad (Levy et al. 1993). Las espiroquetas se adaptan rápidamente a los cambios de ambientes entre el artrópodo

en descanso, durante su fase de alimentación, y el hospedador mamífero. De hecho, las borrelias que pasan de la garrapata hacia el mamífero son enemigas a los efectos de la inmunidad pasiva transferida en el suero, sugiriendo que están preparadas para la evasión de la respuesta inmune en el instante que entran al hospedador. Hay claras evidencias de que existen un número de productos génicos nuevos de esta bacteria que sólo se expresan en el hospedador mamífero (Barthold., 1998). Tienen la capacidad de permanecer en el lumen del intestino medio tanto tiempo como la garrapata se encuentre en vida libre, estadio no parasitario, y puede tardar algunos meses, allí se agrega cerca de la periferia de las microvellosidades y en los espacios intercelulares del epitelio intestinal (Burgdorfer, Hayes y Benach, 1988). Una vez que encuentra un hospedador, induce a las espiroquetas a que pasen a través del epitelio intestinal hacia la hemolinfa a los alveolos de las glándulas salivares y finalmente cuando el ixódido ha permanecido alimentándose 1.5-2 días, pasan a los conductos salivares (De Silva y Fikrig, 1996). Mientras la garrapata se alimenta se produce una rápida multiplicación de las espiroquetas para producir una dosis suficientemente infectiva de las mismas (Piesman, 1995). De esta manera cuando una ninfa se alimenta las espiroquetas se multiplican en el intestino para alcanzar una cantidad por encima de las 100.000 bacterias por ejemplar (De Silva y Fikrig, 1996). Las ninfas sobreviven varios meses sin alimentarse y las espiroquetas pueden sobrevivir en el vector semanas e inclusive meses. Cuando una ninfa se alimenta, las espiroquetas tienen que multiplicarse e invadir el hemocele e infectar las glándulas salivares mientras que al mismo tiempo, evitan ser digeridas por la garrapata junto con la sangre del hospedador. Una vez en el vertebrado, estas bacterias deben multiplicarse mucho más evitando ser

destruidas por el sistema inmune del hospedador y estar preparadas para infectar a las larvas que puedan alimentarse sobre dicho hospedador (De Silva y Fikrig, 1997). El diagnóstico es complejo y debe basarse en la clínica, análisis serológicos, respuesta al tratamiento y en la exclusión de otros procesos, incluyendo enfermedad articular degenerativa, osteocondritis disecante, proceso de dislocación del ancóneo, panosteitis o enfermedad inmunomediada (Levy, Doombach, Barthold y Wasomen, 1996).

Métodos diagnósticos

Para el diagnóstico de enfermedades hemoparasitarias transmitidas por vectores, a nivel de campo y clínica se puede utilizar el test comercial SNAP® 4DX® de laboratorios IDEXX, el cual es una solución práctica ya que con un tiempo de espera de 8 minutos y con solo una pequeña cantidad de sangre 0.3 ml, se puede determinar la presencia de anticuerpos para *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* o *Anaplasma platys* y antígenos de *Dirofilaria immitis*; basado en la técnica de ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA) mediante el método de sándwich, que consiste en añadir primero una porción del anticuerpo sin enzima y luego una porción de la muestra, luego se añade otra porción del anticuerpo con la enzima para que el resultado sea más específico. Es una prueba basada en péptidos ya que solo permite evaluar anticuerpos muy específicos $< = 300$ frente a *Anaplasma sp* y *Borrelia sp*, evitando malos diagnósticos o falsos positivos, la diferencia de las

pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o directa (IFAT) y western blot ya que estos identifican todos los anticuerpos de las células enteras, SNAP® 4DX® ofrece especificidad de al menos 98 % según el laboratorio (Courtney y Zeng, 2001).

Análisis de sangre o frotis sanguíneo es una técnica de bajo costo que permite obtener diagnósticos oportunos, mediante conteo de células rojas y blancas, donde se puede observar anomalías morfológicas de las células o lesiones más específicas de cada una. Las tinciones utilizadas en los laboratorios son las conocidas tipo Romanowsky donde se usan combinaciones de colorantes de azul de metileno y eosina, que sirven y se utilizan para distinguir morfológicamente la célula: forma y dimensión glóbulos rojos (rosa pálido), núcleo (púrpura), citoplasma (azulado), linfocitos y monocitos (gris), neutrófilos (pardo), eosinófilos (naranja), basófilos (azul oscuro) (Pérez, Estepa y Mendoza, 2011).

Para la detección de la *Babesia sp* se pueden utilizar tinciones más específicas de tipo Romanowsky, como la tinción de Giemsa que permite visualizar cambios morfológicos precisos e identificar ciertos hemoparasitos como es el caso de *Babesia sp* o la tinción de Wright para evaluar morfología e identificar granulaciones citoplasmáticas (Pérez, Estepa y Mendoza, 2011). La toma de la muestra se puede recolectar de zonas periféricas como la oreja, es ideal realizarlo con sangre fresca para tratar de preservar la estructura del eritrocito, determinando así la forma de presentación en pares o tétradas que son las más comunes para las babesias (Collin.G.,. 2004).

Recientemente se han hecho estudios para diagnosticar la ehrlichiosis por medio de la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular que consiste en la amplificación de un fragmento mínimo de ADN específico, arrojó resultados con prevalencias hasta del 33 % en Medellín (Carrillo et al. 2012), en el Valle del Cauca con variaciones entre 10 – 92,8 % (Rojas, et al. 2013) y un estudio previo en las ciudades de Villavicencio, Bogotá y Bucaramanga el cual indicó una prevalencia de 40.6 % por reacción en cadena polimerasa (PCR) y inmunofluorescencia directa e indirecta (IFAT) para la detección de anticuerpos (Vargas et al. 2012).

La técnica de observación mediante tinción de Wright o Giemsa utilizada como prueba de rutina para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina; se sugiere que no aporta un diagnóstico definitivo, debido a los bajos resultados en comparación con otras técnicas como IFI o PCR (Contreras, Sanabria, Arcila, Castellanos y Bedoya, 2007; Vargas et al. 2012).

Factores epidemiológicos que favorecen la transmisión y el desarrollo de la enfermedad

A pesar de las diferentes formas de transmisión de los hemoparásitos, la principal y sobre la que mayor control epidemiológico se debe ejercer para impedir la propagación de los hemoparásitos es la transmisión vectorial; por tanto es en el manejo

integrado de estos agentes donde se controla la transmisión y el desarrollo de las enfermedades hemoparasitarias (López, 1980). Se ha considerado que la respuesta de las poblaciones de artrópodos a las variaciones en el clima no es lineal y que, por lo tanto, un pequeño incremento en la temperatura puede aumentar hasta en diez veces la población de determinado artrópodo (Who, 2000).

El cambio climático no sólo puede afectar enfermedades causadas por protozoos, virus o bacterias, sino que puede influir en la fisiología de los animales y el hombre y participar indirectamente en enfermedades de origen tóxico, carencial o metabólico (Torremorell, 2010).

Los efectos biológicos del cambio climático

Según Kovacs et al. (2001) son clasificados en cuatro clases los efectos biológicos del cambio climático, así: 1) “*efectos en fisiología*”: tasas metabólicas o de desarrollo de procesos en plantas y animales; 2) “*efectos en distribución de especies*”: en respuesta a los cambios en la temperatura y en la precipitación; 3) “*efectos en fenología*”: tiempo de los eventos del ciclo evolutivo o del ciclo de vida, y 4) “*adaptaciones*”: reducción en el tiempo para producir una generación y tasas más rápidas de crecimiento.

Se han descrito como cambios importantes que aumentan la capacidad vectorial de los artrópodos, los siguientes: 1) aumento de las tasas de supervivencia y de la

distribución de vectores, lo cual aumenta su abundancia y disponibilidad en determinadas zonas. 2) mayor duración e intensidad del patrón temporal de actividad del vector a través del año. 3) incremento de las tasas de desarrollo y reproducción del patógeno dentro del vector y, por lo tanto, reducción del período extrínseco de incubación (Who 2000 y Kovacs et al., 2001).

Factores sociales que pueden contribuir y aun ser más relevantes que el clima, afectan la distribución de plagas y enfermedades. Si se enfoca en una mediación del problema de salud exclusivamente en el cambio climático, se pueden ignorar tales factores y se obtienen pronósticos menos precisos. Algunos factores sociales y económicos que deben considerar, enunciados por (Torremorell., 2010), son: alteración del hábitat, presencia de especies invasoras, agricultura, viajes y migración, resistencia a pesticidas y medicamentos, malnutrición, urbanismo y calentamiento urbano, densidad de población, calidad de los servicios de salud, pobreza, educación o falta de conocimiento. A lo anterior se suman aspectos que pueden afectar el microclima e influir en la dispersión y el establecimiento de una especie de artrópodo, como son: vegetación, capa de residuos orgánicos (basuras, hojarasca) y capa subyacente del suelo (Torremorell, 2010).

Antecedentes en Colombia y otros países.

En Colombia se reportó los primeros hallazgos hacia 1899, en la primera Escuela Oficial de Veterinaria de la Universidad Nacional de Bogotá, que fundó y dirigió

el científico francés Claude Véricel. Donde los primeros casos descritos fueron en bovinos, en base a enfermedades febriles con signos y síntomas compatibles con *Babesia spp* la cual había sido diagnosticada en Estados Unidos por Víctor Babes (medico, biólogo rumano) años anteriores. Pero para la época, la confirmación de Smith y Kilborne en 1893 de que a *Babesia bigemina* la transmitían las garrapatas, motivó una exhaustiva investigación en muchos países del mundo, orientada a darle un mejor perfil al diagnóstico, a confirmar factores incidentes en la epidemiología de las parasitosis y a desarrollar métodos químicos y, posteriormente, inmunoprolácticos para el control de las “fiebres por garrapatas” (*tick fever*). En las décadas 30 a 50, en las facultades de Medicina Veterinaria de la época se llevaron a cabo trabajos de tesis sobre el diagnóstico de hemoparasitosis y sobre diferentes alternativas químicas para su control entre ellos tratamientos con acaricidas pero los resultados no tuvieron ningún tipo de éxito (Osorno, 1940 y Corpoica, 1970). En 1940 se realizó la primera descripción académica de la presencia de garrapatas en Colombia, en un documento que ha sido recientemente reimpresso como clásico por revista *Biomédica* (Biomédica, 2011). Allí se presentan unas claves para su clasificación y se describe con detalle la existencia de garrapatas blandas del género *Ornithodoros spp.*, y se describen como vectores de la fiebre recurrente de humanos (Osorno, 1940). Pero fue especialmente en las décadas de los 60 a los 80, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), mediante convenios internacionales (ICA-Universidad de Texas A&M-Universidad de Illinois y Convenio Colombo-Alemán), que se realizaron estudios epidemiológicos y proyectos de investigación con mayor involucramiento y con mayor disciplina científica que dejaron una cuantiosa información y suficiente personal capacitado en el tema de

las hemoparasitosis que afectan a las especies domésticas. La presencia de hemoparasitos en caninos fue datada en un estudio realizado por Batista Jiménez. A, en 1980, donde se realizó análisis o extendido de gota gruesa, tinción de Giemsa, Wright y se obtuvieron resultados positivos para *Babesia sp* de 0.93 %, observados en 2 muestras de 216 caninos seleccionados del departamento de Córdoba, Colombia. No se encontró la presencia de *E. canis* y *T.evansi* (Vizcaíno *et al.* 1975; Bishop 1980; Corrier 1975; Vizcaíno *et al.* 1980; Vizcaíno y Betancourt, 1983).

En Norteamérica, Nelson y Couto (1995) mencionan alta prevalencia en *E. canis* en Arkansas, Florida, Oklahoma y Arizona debido a la presencia de *R. sanguineus* en estos estados (Nelson y Couto, 1995). En América del sur, López *et al.* (1999) describen el primer caso de *E. canis* en Chile, en la clínica veterinaria San Agustín. En cuanto a *Babesia* existe evidencia clínica de presencia de *B.gibsoni* en Carolina del Norte (Birkenheuer, Levy, Savary, Gager, y Breitschwerdt, 1999).

En investigaciones realizadas a 250 perros procedentes de siete áreas rurales boscosas de la ciudad de Río de Janeiro, Brasil, mediante la técnica de frotis sanguíneo, refieren una frecuencia de infección de 5.2 % de *B. canis* y de un 4.8% *E.canis*. (O'Dwyer, Massard y Pereira de Souza, 2001). En otro estudio realizado en el sureste de Estados Unidos en 120 perros, Macintire *et al.* (2002) encontraron que esta enfermedad se puede presentar de manera subclínica en la raza American Pitt Bull Terrier ya que en dicho estudio observaron que el 55 % (18/33) resultó positivo al parásito (Macintire *et al.* 2000).

Metodología

Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo retrospectivo, con un muestreo no probabilístico, donde se analizaron los registros de todos los pacientes caninos que consultaron en una clínica veterinaria de la Ciudad de Medellín aplicando criterios de inclusión para la selección de la muestra.

Población de estudio

La población de estudio estuvo constituida por un total de 848 registros de caninos, seleccionados de la base de datos de la clínica veterinaria. Los criterios de inclusión fueron pacientes con signos, síntomas o antecedentes que los ubicaran como compatibles y/o sospechosos con la enfermedad y que además fueron sometidos a pruebas específicas (frotis sanguíneo, SNAP 4DX), entre otros exámenes como hemograma, para un análisis total de 72 historias clínica.

Unidad de análisis

La unidad de análisis es la base de datos con las historias clínicas (72) de los caninos que cumplan con los criterios de inclusión.

Criterios de inclusión

Estuvieron incluidos en el estudio los registros de caninos que consultaron a la Clínica Veterinaria, que presentaron síntomas y signos clínicos asociados a la infección con algún tipo de hemoparásito (*Ehrlichia sp*, *Anaplasma sp*, *Babesia sp*, *Borrelia sp*) y además que les fue realizada la prueba diagnóstica indirecta SNAP® 4DX y/o alguna prueba de microscopía para hemoparasitos como extendido de sangre periférica o frotis sanguíneo. Además debían tener registrados en su historia clínica los siguientes datos clínicos, epidemiológicos y resultados de diagnóstico por el laboratorio: edad, sexo, raza, recuento de eritrocitos, hematocrito, recuento de plaquetas, recuento de leucocitos, recuento de neutrófilos, temperatura corporal, resultados de la evaluación de mucosas, sangre en orina, condición corporal según la *Body Condition Scoring Chart in dogs and cats* del hospital veterinario de la universidad del estado de Ohio en Estados Unidos clasificada en una escala de 1 a 5 y la evaluación de la presencia de ectoparásitos.

Plan de análisis

Las características de la población se describieron utilizando medidas de frecuencia. La asociación entre las variables (sexo, raza, resultados de la evaluación de mucosas, sangre en orina y evaluación de la presencia de ectoparásitos) y la infección por hemoparásitos se obtuvo a través de análisis bivariado con la prueba de independencia Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher y las comparaciones de la infección por hemoparásitos según las variables edad, recuento de eritrocitos, hematocrito, recuento de plaquetas, recuento de leucocitos, recuento de neutrófilos, temperatura corporal y condición corporal. Para el análisis se utilizó un nivel de significancia de 0.05. Los datos fueron analizados en el paquete IBM Statistics software versión 19 del año 2011.

Resultados

Este estudio incluyó 72 historias clínicas de caninos en su mayoría machos 56,94 % (41/72) y el resto hembras 39,24 % (31/72). con mayor afluencia entre los meses de Agosto – Noviembre del año 2012, seguido por el período comprendido entre Abril - Julio del año 2013; los datos fueron obtenidos de pacientes provenientes de diferentes comunas de la ciudad, pero en su mayoría residentes de La Candelaria, seguidos por Villahermosa y Buenos Aires ambos (tabla 1).

Tabla 1. Discriminación por fecha y ubicación.

DISCRIMINACIÓN POR FECHA		
	%	n
Agosto - Noviembre 2011	4,17%	3
Diciembre - Marzo 2012	11,11%	8
Abril - Julio 2012	15,28%	11
Agosto - Noviembre 2012	30,56%	22
Diciembre - Marzo 2013	16,67%	12
Abril - Julio 2013	22,22%	16
DISCRIMINACIÓN POR UBICACIÓN		
	%	n
Aranjuez	6,94%	5
Bello	1,39%	1
Buenos aires	22,22%	16
Castilla	1,39%	1
La candelaria	25,00%	18
Manrique	15,28%	11
Poblado	1,39%	1
Popular	2,78%	2
San Javier	1,39%	1
Villahermosa	22,22%	16

De las 72 historias clínicas analizadas se reportaron 22 caninos de razas diferentes, con mayor presencia de mestizos, así como ejemplares de raza Labrador y French Poodle. Distribuidos entre los 2,5 y 132 meses de edad (tabla 2).

Tabla 2. Discriminación por raza, edad y sexo.

RAZA	%	Cant
Basset Hound	1,39%	1
Beagle	5,56%	4
Bulldog Francés	1,39%	1
Bulldog Ingles	2,78%	2
Cocker Spaniel	1,39%	1
French Poodle	12,50%	9
Fila Brasileiro	1,39%	1
Fox Terrier	1,39%	1
Golden Retriever	1,39%	1
Husky Siberiano	1,39%	1
Labrador	15,28%	11
Mastín Napolitano	2,78%	2
Mestizo	16,67%	12
Pastor Alemán	4,17%	3
Pinscher	9,72%	7
Pitbull	4,17%	3
Pomerania	1,39%	1
Pug	2,78%	2
Schnauzer	8,33%	6
Teckel	1,39%	1
Weimaraner	1,39%	1
Yorkshire	1,39%	1
EDAD	%	Cant
1 año o menos	36,11%	26
1 – 3 años	22,22%	16
3 – 6 años	12,50%	9
Más de 6 años	29,17%	21
SEXO	%	Cant
Machos	56,94	41
Hembras	39,24	31

De los datos consignados en las historias clínicas se encontró que 17 de 72 perros presentaron un condición corporal de 3,0. También se identificó que 35 caninos tenían temperatura corporal entre 39 – 39,9°C (medida rectalmente), mientras que 37 con un tenían temperaturas entre 38-38,9°C (tabla 3).

En el registro de los datos de las historias clínicas durante la exploración física de los perros, 33 tenían mucosas descritas como rosadas consideradas normales; seguidas por mucosas congestivas, pálidas e ictéricas. En cuanto a la presencia de sangre en la orina se encontró que 8 perros fueron positivos. Respecto al estado anímico de los animales que ingresaron a consulta 49 de los pacientes se clasificaron como decaídos (tabla 3).

Según los datos de la anamnesis al examinar físicamente el canino e indagar con los propietarios de estos sobre la presencia de ectoparásitos tales como pulgas y garrapatas, en 37 de los perros se observó la presencia de pulgas y garrapatas por el médico tratante y/o el propietario (tabla 3).

Tabla 3. Condición corporal, temperatura, mucosas, sangre en orina, decaimiento y presencia de ectoparásitos.

CONDICIÓN CORPORAL	%	n
1	0,00%	0
1,5	2,78%	2
2	18,06%	13
2,5	19,44%	14
3	23,61%	17
3,5	13,89%	10
4	8,33%	6
4,5	11,11%	8
5	2,78%	2
TEMPERATURA (°C)	%	n
38-38,9	37,50%	27
39-39,9	48,61%	35
40- 40,9	8,33%	6
41 O MAS	5,56%	4
MUCOSAS	%	n
Congestivas	31,94%	23
Ictéricas	9,72%	7
Rosadas	45,83%	33
Pálidas	12,50%	9
SANGRE EN ORINA	%	n
Positivo	11,11%	8
Negativo	88,89%	64
DECAIMIENTO	%	n
Positivo	68,06%	49
Negativo	31,94%	23
PRESENCIA DE ECTOPARÁSITOS	%	n
Positivo	51,39%	37
Negativo	38,89%	28
Ha Tenido	9,72%	7

Se encontró que la frecuencia de infección por hemoparásitos en la muestra evaluada n=72 el agente de mayor causal fue *Ehrlichia canis*; seguido por *Babesia spp* y *Anaplasma sp* (tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje positivos a la prueba SNAP 4DX (*Ehrlichia ewingii*, *E. canis*, *Anaplasma platys*, *A. phagocytophilum*, *Dirofilaria* y *Borrelia burgdorferi*) y *Babesia sp* a través del extendido de sangre periférica.

(p=72)	%	n
Negativos	73,61%	53
Ehrlichia sp.	23,61%	17
Anaplasma sp.	1,39%	1
Babesia sp.	1,39%	1

Análisis estadístico de los datos

Comparación estadística entre la edad, la temperatura y la condición corporal. El estadístico es significativo en el nivel < 0.05 (ver tabla 5).

Tabla 5. Datos cuantitativos para la edad, temperatura y condición corporal.

	EDAD (AÑOS)	TEMPERATURA (°C)	CONDICION CORPORAL (1 – 5)
n	72	72	72
Media	3,82	39,2	3,06
Mediana	2	39,1	3
Desv. Tip	3,48	0,76	0,88
Minimo	0,2	38	1,5
Maximo	11	41,2	5
Percentil 25	0,68	38,63	2,5
Percentil 50	2	39,1	3
Percentil 75	7	39,7	3,5
DIAGNÓSTICO			
Negativo	2	39	3.0
Positivo	6	39,2	2.5
Valor de p	0,324	0,072	0,037

Relacionados con la infección por hemoparasitos, hay significación estadística con la condición corporal valor de < 0.037 .

Análisis según los datos del hemoleucograma, eritrocitos, hematocrito, plaquetas, leucocitos y neutrófilos. La significación estadística según el valor de $p < 0.05$ (tabla 6).

Tabla 6. Análisis según los resultados del hemoleucograma.

DIAGNÓSTICO	ERITROCITOS	HEMATOCRITO	PLAQUETAS	LEUCOCITOS	NEUTROFILOS
Negativo	5,3	36	175	8400	5874
Positivo	5,68	37	150	11000	8640
Valor p	0,673	0,929	0,364	0,037	0,024

Se encontró significación estadística para los leucocitos y neutrófilos valor de $p < 0,037$ y $0,024$ respectivamente.

Para variables de tipo cualitativo, tales como sexo, apariencia de las membranas mucosas, presencia de sangre en orina, decaimiento y presencia de ectoparásitos. Se utilizaron las pruebas de análisis bivariado de chi cuadrado y prueba exacta de Fisher, resultando estadísticamente significativas, la apariencia de las membranas mucosas y la presencia de sangre en orina (tabla 7).

Tabla 7. Análisis de los datos por sexo, mucosas, sangre en orina, decaimiento y presencia de ectoparásitos.

		DIAGNÓSTICO				VALOR P
		NEGATIVO		POSITIVO		
		n	%	n	%	
Sexo	Macho	28	52,80%	13	68,40%	0,239 †
	Hembra	25	47,20%	6	31,60%	
Mucosas	Congestivas	16	30,20%	7	36,80%	0.021 †
	Ictéricas	2	3,80%	5	26,30%	
	Pálidas	7	13,20%	2	10,50%	
	Rosadas	28	52,80%	5	26,30%	
Sangre en orina	Negativa	50	94,30%	14	73,70%	0.026.‡
	Positiva	3	5,70%	5	26,30%	
Decaimiento	Negativo	18	34,00%	5	26,30%	0,540 †
	Positivo	35	66,00%	14	73,70%	
Presencia de ectoparásitos	Negativo	22	41,50%	6	31,60%	0,638 †
	Positivo	26	49,10%	10	52,60%	
	Ha tenido	5	9,40%	3	15,80%	

† Chi-cuadrado. ‡Exacta de Fisher.

El estadístico es significativo en el nivel o valor de $p < 0.05$; relacionado con mucosas valor de $p < 0.021$; y la presencia de sangre en orina valor de $p < 0.026$.

Discusión

Los caninos son víctimas ocasionales de las enfermedades hemoparasitarias debido a que estas se relacionan con la distribución y presencia del vector o la garrapata, además que tiene la capacidad de vivir en condiciones climáticas adversas y nuestro medio puede favorecer su desarrollo y crecimiento. En Colombia se reporto de manera individual en la ciudad de Manizales, la presencia de *E. canis* en un perro de raza Labrador de 6 años de edad el cual se diagnostico por medio de examen clínico veterinario, exámenes de laboratorio y prueba específica como el SNAP; se describió en el caso la pérdida progresiva de la condición corporal, conjuntiva pálida y positivo a *Ehrlichia sp* según el resultado del test SNAP (Benavidez y Ramírez, 2003). En el presente estudio se encontró que 11 caninos el 15,27 % presentó una condición corporal inferior a 3,0 y a su vez fueron positivos a *E. canis*, además que 1 paciente de raza Labrador fue positivo a la prueba de SNAP 4DX y 2 perros de 6 años fueron positivos a la misma enfermedad. Variables como la edad, la raza, la alteración en la condición corporal o la pérdida de la misma y la prueba específica como método diagnostico reflejan cierta similitud entre ambos estudios.

En enfermedades concomitantes como la Dirofilariosis (*Dirofilaria Immitis*) se presentó un reporte de caso de un canino de 3 años de edad de raza Pastor Alemán positivo a una prueba de anticuerpo a *Ehrlichia canis* realizada en el laboratorio de la universidad de Antioquia, con signos como pérdida de la condición corporal clasificada en 2 en una escala de 1 a 5, mucosas pálidas y presencia de garrapatas (Gomez,

Alzate y Orozco, 2006). Otro caso de coinfección como lo es *Babesia vogeli*, donde se tomaron muestras de sangre de 91 perros de diferentes zonas del país: 21 perros de Bogotá; 31 de Villavicencio y 39 Bucaramanga; por medio de pruebas de detección molecular, reacción en cadena de polimerasa (PCR) e inmunofluorescencia directa e indirecta (IFAT) obtuvieron 37 perros positivos un 40.6 % (14 en Villavicencio; 23 en Bucaramanga) a inmunoglobulinas G contra *E. canis* y 5 positivos a *B. vogeli* con ambas técnicas (Vargas Et al. 2012). En el presente estudio se utilizó el test de SNAP 4DX que permite identificar otros agentes como *Anaplasma sp*, *Borrelia sp* y *Dirofilaria sp*, pero no se presentaron reacciones cruzadas con alguno de ellos; a pesar de que la incidencia de *Ehrlichia canis* y *Babesia sp* en el estudio fue menor 23,6 % (17/72) y 1,38 % (1/72) respectivamente, a diferencia del estudio de referencia 40,6 % (37/91) para *E. canis* y 5,49 % (5/91) para *Babesia vogeli*; se puede demostrar la presencia de los patógenos de *E. canis* y *Babesia sp* en perros de la ciudad de Medellín como en otras zonas del país en el caso de Villavicencio y Bucaramanga.

En otro estudio realizado en Montería donde se tomaron muestras sanguíneas de 200 perros de la zona para determinar mediante frotis sanguíneo y gota gruesa con tinción de Giemsa la presencia de *Ehrlichia canis*; en las muestras analizadas no se determino la presencia de *E. canis* (Mendoza, Espitia, y Revueltas, 2000). En cuanto a la técnica utilizada para diagnosticar la presencia del agente se debe tener en cuenta el ciclo del parásito y el período de incubación, debido a que el frotis sanguíneo es una prueba de observación y que la presencia o no en sangre de las Ehrlichias suele determinarse por la presencia de mórulas 7 días o más postinfección, además que

pueden manifestarse de manera transitoria, por lo tanto la prueba realizada puede ser de baja sensibilidad pero también de diagnóstico favorable para determinar la presencia del patógeno posterior al tratamiento (Almao, García y Mujica, 2013). En el presente estudio se demuestra que la prevalencia obtenida de *E. canis* fue mayor pero difiere en el método diagnóstico teniendo en cuenta que se utilizó el test SNAP 4DX, que es una prueba de detección de anticuerpos versus una prueba de observación, para realizar un diagnóstico oportuno y determinar el éxito del tratamiento ambas pruebas son de utilidad debido a que sirven para determinar el estado de la infección o la eliminación del patógeno, debido a que un perro puede ser positivo inclusive un año después de un primer resultado en la prueba de Elisa (Benavidez J y Ramírez G, 2003).

En la ciudad de Cali se tomaron muestras sanguíneas de 101 perros para detectar por medio de un test comercial basado en la técnica de Elisa ImmunoComb (Biogal Galeb Labs) la presencia de anticuerpos contra *E. canis*; en el estudio estuvieron implicados 32 razas caninas de las cuales Labradores, Schnawzer, Pastor Alemán, Poodles y Mestizos con edades entre los 6 y 144 meses de edad presentaron una seropositividad del 49.5 % (49/101) de las muestras analizadas, entre los cuales 16 fueron de raza Labrador y 6 de raza Pastor Alemán (Silva, Sánchez y Loaiza, 2008). En el presente estudio se encontró una menor incidencia de *E. canis* 23,6 % (17/72) en comparación con el estudio anterior 49,5 % (49/101), la semejanza entre ambos estudios se ve reflejada en la técnica de Elisa utilizada como método diagnóstico para la detección de anticuerpos de *E. canis*, lo que ratifica que el test de SNAP 4DX es una

herramienta de diagnóstico útil en el consultorio veterinario, en cuanto a las razas puras como el Labrador pueden ser más susceptibles a la enfermedad pero no se encontraron estudios que relacionen la enfermedad con la raza en específico; igual se ratifica que no hay predilección del patógeno hacia la edad, tanto perros adultos como jóvenes pueden presentar la enfermedad (Silva, Sánchez y Loaiza, 2008).

En la ciudad de Medellín se reportó en la universidad de Antioquia un estudio donde se analizaron 1046 historias clínicas de pacientes en el año 2011, como resultado encontraron 42 perros positivos a *Ehrlichia canis*, provenientes de diferentes zonas de la ciudad, donde las razas puras se determinaron como susceptibles 74 %; los machos presentaron mayor incidencia de la enfermedad un 69 %, que las hembras 13 %; al igual que los jóvenes más afectados clasificados entre los 25 y 60 meses de edad y la procedencia en Medellín con 29 % (Cadavid G, Franco E y Morales Z, 2012). En contraste con el estudio anterior la mayor parte de los perros positivos a *E. canis* fueron mayores de 60 meses (11/19) lo que ratifica nuevamente que la edad no es un factor predisponente (Silva, Sánchez y Loaiza, 2008); las hembras al igual que el estudio mencionado presentaron una menor incidencia de la enfermedad 31,5 % (6/19) en relación a los machos 68,5 % (13/19), para la raza los mestizos presentaron menor incidencia 21,05 % (4/19) frente a la enfermedad, que los de razas puras 78,95 % (15/19) y la procedencia 94,7 % (18/19) procedentes de las comunas de la ciudad de Medellín. Teniendo en cuenta lo anterior los machos pueden estar más expuestos al factor de riesgo debido a su interacción con el medio ambiente, o asociarse con el comportamiento, además que las razas puras siguen siendo más susceptibles a las

enfermedades hemoparasitarias (Árraga, 1992). La similitud con la procedencia de ambos casos puede asociarse con la ubicación geográfica de cada clínica veterinaria (centro oriente-noroccidente) dentro de la ciudad de Medellín.

En otro estudio realizado en la ciudad de Medellín en busca de nuevos métodos diagnósticos frente a *Ehrlichia canis*, utilizaron pruebas de técnica molecular como la PCR junto con la prueba de Elisa SNAP 4DX, tomaron muestras de sangre de 33 perros procedentes de diferentes consultorios que incluyeran al menos 2 signos o síntomas que se asociaran con la enfermedad como: hipertermia, enflaquecimiento, presencia de garrapatas, linfadenopatía, petequias, depresión, pérdida de peso, hepatomegalia, esplenomegalia (Carrillo et al. 2012). Como resultado obtuvieron 11 pacientes positivos con la técnica molecular o PCR, de estos 11 positivos 10 fueron sometidos a la prueba de Elisa (SNAP 4DX), de los cuales 5 pacientes resultaron positivos para *E. canis* (Carrillo et al. 2012). En comparación se puede demostrar que otras técnicas diagnósticas para el caso de la PCR pueden ser más específicas y de mayor sensibilidad a diferencia del test de SNAP 4DX; sin embargo la prueba de Elisa puede revelar resultados en poco tiempo, no requiere manipulación por equipos o personal capacitado, lo que puede presentarse como algunas ventajas frente a la PCR, cotejando los resultados de la frecuencia de *E. canis* frente al estudio anterior fue menor, solo se puede demostrar cierta asociación con algunos de los criterios de inclusión seleccionados para ambos estudios.

En el presente estudio se obtuvo a *Ehrlichia canis* como el hemoparásito más frecuente con un 23,6 % de caninos positivos, una cifra importante, dado el riesgo que

representan las garrapatas para la dispersión de la infección y la consecuente enfermedad en otros caninos, a su vez porque la ehrlichiosis ha sido identificada en otras ciudades del país como un microorganismo con potencial zoonótico. En Cartagena de Indias, (Montes, De la Vega, Del Risco, Bello, y Fortich, 2012) diagnosticaron un paciente humano con coinfección de Babesiosis y Ehrlichiosis, siendo primer caso de coinfección conocido de la región Caribe colombiana. En países vecinos como Venezuela (Pérez, Bodor, Zhang, Rikihisa y Qingming, 2006) encontraron 6 pacientes humanos positivos a *Ehrlichia canis* entre 20 pacientes con signos clínicos compatibles con Ehrlichiosis monocítica utilizando prueba de PCR (Pérez, et al., 2006); recientemente se ha reportado el primer caso de ehrlichiosis monocítica humana en Colombia, producida por *Ehrlichia chaffeensis* diagnosticada por medio de serología (Hidrón, Muñoz y Vega, 2014). Sin embargo en el presente estudio no podemos afirmar que la enfermedad causada por *E. canis* tenga un comportamiento zoonótico ya que no se han reportado este tipo de casos en la ciudad de Medellín.

Se encontró que la condición corporal es un factor importante en la presentación de las hemoparasitosis, el 40,27 % de los pacientes presentaron una condición corporal entre 1,5 a 2,5, (29/72) de los cuales 11 perros fueron positivos a hemoparasitos y 18 perros negativos; el 23,6 % de los pacientes con una condición corporal de 3,0 (17/72) de los cuales 3 perros fueron positivos y 14 perros negativos; el 36,1 % de los pacientes presentaron una condición corporal entre 3,5 a 5,0 (26/72) de los cuales 5 fueron positivos a hemoparasitos y 21 perros negativos, se puede asumir con lo anterior que estadísticamente hay una clara tendencia a tener mayor porcentaje de

positivos cuando la condición corporal es más baja o mala. Como se menciona en la literatura el estadio crónico de la Ehrlichiosis es caracterizada principalmente por fiebre intermitente, inapetencia, caquexia y pérdida de condición corporal, debido al avance progresivo de la enfermedad en la misma fase, además la destrucción progresiva de las células sanguíneas por la invasión del patógeno conlleva a un estado de anemia causando una disminución del gasto energético, del mismo modo se ha encontrado relación significativa entre la condición corporal (Guillén T., et al. 2001) y el nivel de hematocrito de los canes positivos a hemoparásitos (Angulo y Rodríguez, 2005).

Se encontró que estadísticamente hay significancia para el conteo de leucocitos y de neutrófilos a la infección por hemoparásitos; valor de $p < 0,037$ y valor de $p < 0,024$ respectivamente, debido a que estas células se encuentran ligadas al sistema de defensa frente al estímulo de sustancias extrañas o antígenos como primera respuesta; son provenientes y originadas en la médula ósea, el patógeno (hemoparásito) puede causar una disminución en su liberación por la formación de múltiples complejos inmunes (Ag-Ac) o por el daño directo a la médula ósea, los neutrófilos se pueden ver más afectados en la producción debido a que su vida es de pocas horas, lo que obliga a que se puedan agotar las reservas de la médula y luego se liberen neutrófilos inmaduros a la sangre lo que difiere en una respuesta más efectiva (Greene C, 2008). Resultados similares fueron reportados en un estudio en México por (Romero, Padilla y Alvarado, 2011) donde se describen los principales cambios a nivel hematológico para perros positivos a *Ehrlichia canis*, diagnosticados por medio de SNAP 4DX, encontrando en el 85 % (32/50) de los positivos una o más alteraciones hematológicas:

anemia 38%; trombocitopenia 19 %; leucocitosis 47 %; neutropenia 16 %; linfocitosis 69 %; eosinofilia 72 % y basofilia 22 %. En comparación con el presente estudio, el 100 % de los pacientes positivos presentaron una o más alteraciones hematológicas: anemia 10,5 %; leucocitosis 52,15 %; neutropenia 57,8 %; trombocitopenia 47,1 %; de esta manera se podría afirmar que estadísticamente existe relación entre los resultados de los leucocitos para ambos estudios, podría asociarse como se menciona anteriormente a que se encuentran ligados a la primera línea de defensa del organismo frente a estímulos antigénicos o sustancias extrañas (Green. C, 2008) ya que clínicamente los pacientes positivos a enfermedades hemoparasitarias pueden manifestar algún cambio hematológico, como se menciona en el artículo de referencia (Romero, Padilla y Alvarado, 2011).

El cambio en la coloración de las mucosas es uno de los signos que se presenta durante la infección por hemoparásitos el cual puede variar dependiendo del estadio o de la fase en la que se encuentre la enfermedad, en inicio de la fase aguda puede haber congestión de las mucosas debido a los estados febriles al igual que en la fase clínica se puede evidenciar congestivas debido a la hemolisis causada por la invasión y destrucción de los glóbulos rojos, signos como petequias en las zonas periféricas del paciente se pueden presentar en las etapas iniciales; en la fase o etapa de cronicidad se pueden observar como pálidas debido a la baja producción de los elementos sanguíneos en la médula ósea, además de la invasión hacia los órganos del sistema linfático como el bazo que está íntimamente involucrado en la hematopoyesis (Greene C, 2008). En el caso de los pacientes con ictericia o coloración amarilla de las

mucosas. La ictericia es un pigmento que se produce por concentraciones altas de bilirrubina indirecta 1,5 mg/dl a nivel sérico; la bilirrubina se transporta a la sangre en el plasma unida a la albumina, básicamente la pigmentación amarilla se origina por una deficiencia en la conjugación de bilirrubina indirecta a directa a nivel hepático (Graciela, A Mira. s.f). En el presente estudio se pudo observar que de los 19 perros positivos a hemoparasitos; 14 perros presentaron alteración en las mucosas así: congestivas 7; ictéricas 5; pálidas 2; los 5 restantes presentaron mucosas rosadas las cuales durante el examen físico se determinaron como normales. Se puede asumir que hay relación significativa entre la infección y la integridad de mucosas con un valor de $p < 0,021$ ya que estadísticamente el 73,68 % de los positivos (14/19) presentaron alteración en las mucosas, además que uno de los signos clínicos más comunes de las infecciones por hemoparasitos en los caninos es la anemia en los estadios de cronicidad, debido a la eritrolisis producida (Guillén T., et al., 2001) la cual en ocasiones es enmascarada por la hemoconcentración debido a deshidratación presentada y puede llegar a presentar valores hemáticos normales (Villanueva, 2001).

La orina con sangre se puede presentar debido a la falla en la coagulación por la trombocitopenia encontrada en los animales infectados, donde 8 perros presentaron sangre en orina para un total de 11,11 % con sintomatología, los cuales tenían conteo plaquetario con promedio de $156,9 \times 10^3 \mu\text{L}$ y un valor de $p < 0.026$ lo cual es considerado bajo con un 4,12 %, según lo establecido como media en estudios realizados en la ciudad de Medellín (Bossa, Valencia, Carvajal, y Rios, 2012).

Conclusiones

A partir de los resultados encontrados en este estudio, se pudo concluir una frecuencia de infección por hemoparásitos en caninos baja en comparación con algunos de los estudios referenciados, sin embargo *Ehrlichia canis* fue el agente de mayor frecuencia en la población positiva a los hemoparásitos.

Por otro lado como resultado de la investigación estadística presentada, recolección de datos, ayudas diagnósticas y pruebas específicas se puede concluir la relación que existe entre la enfermedad y los diversos signos y síntomas asociados. Teniendo en cuenta que cualquier mascota en el caso de los perros podría ser susceptible o padecer la enfermedad ya que permite que no haya una predilección específica por raza, edad o el sexo. Como primer parámetro realizar un examen clínico veterinario completo, a cada paciente o mascota, análisis sanguíneo, presencia de ectoparásitos en el caso de las garrapatas, determinar si hubo contacto directo con el agente infeccioso para el caso de los machos, zonas y épocas que permitan la propagación y diseminación de la enfermedad, pacientes susceptibles por la edad, cachorros y edad media o adultos, cambios de ánimo de la mascota, al igual que los cambios fisiológicos evaluados, falta de control químico para evitar la infestación o tratamientos inestables.

Se puede concluir que *Ehrlichia canis*, se describe como el agente de mayor incidencia relacionado con la enfermedad hemoparasitaria de los caninos que

consultan a la clínica veterinaria de la ciudad de Medellín, por su capacidad de adaptarse, la forma de reproducción y la forma de contagio al huésped definitivo.



Recomendaciones

Es importante la prevención y control químico de vectores artrópodos, ya que son estos los primeros eslabones en la cadena de la infección hemoparasitarias y es donde propietarios y médicos veterinarios deben enfocar sus esfuerzos para evitar la presentación de hemoparasitos en sus mascotas. Evitar la transmisión por medio de fómites, material quirúrgico contaminado entre otros.

Recomendar a los pacientes que ingresan a la clínica veterinaria con signos y síntomas compatibles de enfermedades hemoparasitarias, la realización de pruebas específicas para detectar y realizar un diagnóstico oportuno, así enfocar un tratamiento para cada enfermedad, además de evitar complicaciones subyacentes como la cronicidad de la enfermedad y el deterioro progresivo de la mascota.

Para los pacientes que son portadores asintomáticos, la manera más adecuada de controlar la dispersión o diseminación de la enfermedad radica en el control de las garrapatas, sea por medio de control biológico o lo más recomendado control químico, collares, spray, pipetas entre otros productos ofrecidos por los laboratorios. Evitar el traslado de mascotas sanas a zonas endémicas de garrapatas.

Referencias

Aguiar, D., Hagiwara, M., Cabruna, M. (2008). In Vitro Isolation and Molecular Characterization Of An Ehrlichia Canis Strain From São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 489-493.

Almao M., García M., & Mujica., R, 2013 *Ehrlichia canis* en el caserío "La Isla", Municipio Palavecino, estado Lara. *Revista del colegio de Medicos Veterinarios estado de Lara*. 5(1), 86-89.

Angulo Campos, J. M., & Rodríguez Vílchez, L. A. (2005). *Diagnóstico situacional de cuatro hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua* (Tesis de pregrado) Universidad Nacional Agraria.

Añez Rojas, N., Romero, O., Valbuena, H., Crisante, G. Rojas, A., & Bolivar, A. M. (2010). Detección de transmisión transplacentaria de Anaplasma marginale en bovinos asintomáticos. *FCV-LUZ*, XX, 20(4), 377-382.

Arias, S., Suárez, F., Álvarez, I., Gutiérrez, E., Castellanos, I., & Cardona, L. (2010). Meningoencefalitis por histoplasmosis en un canino: reporte de caso. *Revista de Medicina Veterinaria*, 12(20), 39-47.

Árraga de Alvarado Cruz, Maria. (1992). *Ehrlichiosis canina en Maracaibo, estado de Zulia, Venezuela. reporte de 55 casos*. Recuperado de: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23683/2/articulo_6.pdf.

Batista Jiménez, A. (1980) Prevalencia de parásitos hemáticos en caninos del Departamento de Córdoba (Tesis de pregrado). Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.

Benavides Ortiz, E. (2011). Perspectiva tropical de rickettsias y otros agentes transmitidos por garrapatas en mascotas. *III Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales*, XXXI, 31(Supl), 11-73.

Benavides Ortiz, E., Polanco Palencia, N., Vizcaino Gerdt, O., & Betancur Hurtado, Ó. (2012). Efecto terapeutico de un farmaco frente a los hemoparasitos del bovino, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* *Revista Ciencia animal*, 7(1), 31-49.

Benavides, J. A., Ramírez, G. F. (2003). Ehrlichiosis canina reporte de un caso. *Revista Colombiana de ciencias pecuarias*, 16(3), 32-36.

Ernesto, Osorno (2011) Las garrapatas de la republica de Colombia, *Revista Biomédica*, 26(3), 317-336.

Birkenheuer, A., Levy, M., Savary, K., Gager, R., Y Breitschwerdt, E. (1999). Babesia gibsoni infections in dogs from North Carolina. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 2(5), 35-41.

Bishop, J. P. (1992). *Immune response of cattle inoculated with irradiated Babesia bigemina*. (Thesis). Galveston: Texas A&M University.

Body Condition Scoring Chart. *The Ohio State University, veterinary medical center*. Recuperado de <http://vet.osu.edu/vmc/companion/our-services/nutrition-support-service/body-condition-scoring-chart>.

Boozer, A., & Mancitire, D. (2003). Canine Babesiosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small animal practice*, 33(3), 885-904.

Bossa Miranda, M. A., Valencia Celis, V. C., Carvajal Giraldo, B. A., & Rios Osorio, L. A. (2012). Automated hemogram values for healthy dogs aged 1 to 6 years

attended at the Veterinary Hospital - Universidad de Antioquia (Colombia) *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(3), 409-416.

Breitschwerdt, E., Maggi, R. (2009). A confusing case of canine vector-borne disease: Clinical signs and progression in a dog co-infected with *Ehrlichia canis* and *Bartonella vinsonii* ssp. *Berkhoffii*. *Parasites & Vectors*, 2(1), 10-16. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2679395/>.

Burgdorfer, W., Hayes, S. F., & Benach, J.L. (1988). Development of *Borrelia burgdorferi* in Ixodid tick vectors. *Ann N Y Acad Sci*, 539(2), 172-176. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3190091>.

Cadavid Gil, V.A., Franco Estrada, Y. M., & Morales Zapata, L. M. (2011). Frecuencia de presentación de Ehrlichiosis canina en la clínica de pequeñas especies de la universidad de Antioquia, en el periodo comprendido entre enero a junio de 2011. (Tesis de pregrado) Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia.

Camacho, A., Pallas, E., Gestal, J., Guitlan, F., Olmeda, A., Goethert, H., & Telford, S. (2001). Infection of dogs in north-west Spain with a *Babesia microti*-like agent. *The Veterinary record*, 149(18), 552-555. Recuperado de <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/149/18/552>.

Carrillo Bonilla, L. M., Betancur Cardona, S., Roldán Cardona, D., Pérez Jaramillo, J. E., Galeano Rivera, D., Loaiza Echeverri, É. T., & Giraldo Echeverri, C. A. (2012). Implementation of a PCR-based method for the diagnosis of Ehrlichia spp, in canine in Medellin (Colombia). *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 7(2), 38-46.

Collin G. Ludford, (2004). Babesia argentina, plasmodium vivax and P. falciparum: Antigenic cross-reactions. *Science Direct*, 32(3), 317-326. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014489472900598>.

Contreras Díaz, S., Sanabria Bustos, E., Arcila, V. H., Castellanos, V., & Bedoya M, J. T. (2007). Validación diagnóstica de pacientes con sintomatología clínica compatible con Ehrlichiosis mediante evaluación en frotis sanguíneo, prueba de IFI con antígeno de Ehrlichia canis, y cuadro hemático con recuento de plaquetas. *Spei Domus*, 3(4), 17-21.

Courtney, C. H., Zeng, Q. Y., (2001). Comparison of heartworm antigen test kits in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol*, 96(4), 317–322. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11267758>.

Eddlestone, S. M., Gaunt, S.D., Neer, T. M., Boudreaux, C. M., Gill, A., Haschke, E., & Corstvet, R. E. (2007). PCR detection of *Anaplasma platys* in blood and tissue of dogs during acute phase of experimental infection. *Exp Parasitol*, 115(2), 205-210.

Foglia, M. V., Cappiello, S., & Oliva, G. (2006). Tick-transmitted diseases in dogs: clinic pathological findings. *Parassitologia*, 48(1), 135-136.

Gaunt, S. D., Beall, M. J., Stillman, B. A., Lorentzen, L., Diniz, P. P. V. P., Chandrashekar, R., & Breitschwerdt, E. B. (2010). Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasit Vector*, 3(1), 33-34.

Gómez, G., Atehortua, H., & Orozco, P., (2007). La influencia de las mascotas en la vida humana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(3), 377-386.

Gómez G., L., Alzate G., G. J., & Orozco P., S. C. (2006). Reporte de un caso de *Dirofilaria immitis* en un perro. Hallazgo de antígenos y confirmación del parásito a la necropsia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(1), 70-79.

Greene, C. (2008). Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por Wolbachia. (Eds.). *Enfermedades infecciosas, perros y gatos*, 1(28), 227-259.

Guillén, A. T., León, A., Aragort, E. A., & Silva, M. (2001). Diagnóstico de hemoparásitos en el instituto de investigaciones veterinarias. Período 1986-2000. *Veterinaria tropical*, 26 (1), 47-62.

Harrus, S., Aroch, E. Levy, I., & Bark, H. (1997). Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet. Rec*, 141(3), 247-250.

Hidrón Botero, A., Muñoz Ramirez, F., & Vega Miranda, J. (2014). Primer caso de ehrlichiosis monocítica humana reportado en Colombia. *Asociacion Colombiana de infectologia*, 18(4), 162-166.

Inokuma, H., Kujii, K., Matsumoto, M., Okuda, K., Nakagome, R. Kosugi, M. Hirakawa, K., & Onishi, T. (2002). Demonstration of Anaplasma (Ehrlichia) platys inclusions in peripheral blood platelets of a dog in Japan. *Vet. Parasitol*, 110(2), 145-152.

Jefferies, R., Ran, U. M., Muhlnickel, C. J., & Irwin, P. J. (2003). Two Species of Canine Babesia in Australia: Detection and Characterization by PCR. *Journal of Parasitology*, 89(2), 409-412.

Kelly, P., & Lucas, H. (2009). Failure to demonstrate Babesia, Anaplasma or Ehrlichia in thrombocytopenic dogs from St Kitts. *Journal of Infect on Developing Countries*, 3(7), 561-563.

Kocan, K. M., De la Fuente, J., Guglielmone, A. A., & Meléndez, R. D. (2003). Antigens and Alternatives for Control of Anaplasma marginale Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(4), 698-712.

Levy, S. A., Dombach, D. M., Barthold, S. W., Wsamoen T. (1993). *Canine Lyme Borreliosis. The Compendium*, 21(1), 51-64.

Levy, S. A., Doombach, D. M., Barthold, S. W., Wasmoen, T. L. (1996). Borreliosis canina por enfermedad de Lyme. (Symposium sobre la Enfermedad de Lyme en Perros) Universidad de Madrid, España.

López, G. (1980). Bioecología y distribución de garrapatas en Colombia. Control de garrapatas. *Revista Instituto Colombiano Agropecuario*. 34(3), 33-43.

López, V., Zuñiga, A., I., Villar, C., & Osorio, G. D. (1985). Distribución de garrapatas en 25 municipios del departamento de Antioquia. *Revista ICA*, 20(4), 40-44.

Macintre, D., Bordeaux, M., West, G., Bourne, C., Wright, J., & Conrad, P. (2000). *Babesia gibsoni* infection among dogs in the southeastern United States. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 220(3), 325-329.

McKenna, P., Clement, J., Van Oijck, D., Lauwerys, M., Carey, O., Van den Bogaard, T., & Bigaignon G. (1995). Canine Lyme in Belgium. *Vet Rec*, 136(10), 244-247.

Mendoza E. Á., Espitia G. Á., & Revueltas C. G. (2000). Prevalencia de *Ehrlichia canis* en la ciudad de Montería, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 5(2), 20.

Mira. A Graciela. (s.f) *Hepatopatías en caninos y felinos*. Recuperado de <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00014500.pdf>.

Montes Farah, J., De la Vega, Del Risco, F., Bello Espinosa, A., & Fortich Salvador, A. S. (2012). Coinfección de babesiosis y ehrlichiosis: un caso en Cartagena de Indias, Colombia. *Ciencias Biomédicas*, 3(2), 339-345.

Nelson, R. W., & Couto, C. G (2000). *Medicina Interna de Animales Pequeños*. Buenos Aires, Argentina: Intermedica.

O'Dwyer, L. H., Massard, C. L., & Pereira de Souza, J. C. (2001). Hepatozoon canis infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 94(3), 143-150.

Osorno Mesa, E. (2006). Las garrapatas de la República de Colombia. *Rev Acad Col Ciencias*, 26(3), 1-20.

Palmer, G. H., Rurangirwa, F. R., Kocan, K. M., & Brown, W. C. (1999). Molecular Basis for Vaccine Development against the Ehrlichial Pathogen *Anaplasma marginale*. *Parasitology Today*, 15(7), 281-286.

Parrado, M., Vargas, F., Hernández, G., & Vergara, H. (2003). Asociación de los resultados de una prueba serológica (elisa) y frotis sanguíneo en caninos con sintomatología compatible con ehrlichiosis. *Revista Orinoquía*, 7(1-2), 6-11.

Pérez Ecija, R. A., Estepa, J. C., & Mendoza, F. J. (2011). *Citología sanguínea en pequeños animales. Hallazgos más comunes y su interpretación*. Recuperado de <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/7130/analisis-y-estudio-del-frotis-sanguineo>.

Pérez, M., Bodor, M., Zhang, C., Rikihisa, Y., & Qingming, X. (2006). Human infection with Ehrlichia canis Accompanied by clinical signs in Venezuela. *Annals of the New York academy of sciences*, 12(1), 110-117.

Piesman, J. (1995). Dispersal of the Lyme disease spirochete Borrelia burgdorferi to salivary glands of feeding nymphal Ixodes scapularis (Acari, Ixodidae). *J Med Entomol*, 32(4), 519-521.

Rodríguez Vivas, R. I., Bolio González, M., Ramírez Cruz, G., Cob Galera, L., Rosado Aguilar, A., & Manrique Saide, P. (2011). Hemoparásitos de animales domésticos y silvestres. Recuperado de

<http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap5/09%20Hemoparasitos.pdf>.

Rojas Triviño, A., Rueda Hurtado, A., Díaz Molano, D. M., Mesa Cobo, N. C., Benavides Montaña, J. A., Imbachi López, K., & López Bermúdez, R. (2013). Identificación de Ehrlichia canis (Donatien & Lestoquard) Moshkovski mediante PCR anidada. *Veterinaria y Zootecnia*. 7(1), 37-48.

Romero Blancas, V. H., Padilla Arellanes, S., & Alvarado Enríquez, N. (2011). Cambios hematológicos en pacientes positivos a ehrlichiosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán. *XXII Encuentro de investigación veterinaria y producción animal*, 22 (1), 140-152.

Silva Molano, R. F., Sánchez Ucrós, N., & Loaiza Echeverri, A. M. (2008). Reporte de presentación de Ehrlichia canis en muestras sanguíneas de caninos en la ciudad de Cali, Colombia. *Veterinaria y zootecnia*, 2(1), 27-31.

SNAP 4Dx Test Kit package insert. Westbrook, ME: IDEXX Laboratories; 2008.

Stegeman, J. R., Birkenheuer, A. J., Kruger, J. M., & Breitschwerdt, E. B. (2003). Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 222(7), 959-963.

Vargas Hernández, G., André, M. R., Faria, J. L., Munhoz, T. D., Hernandez Rodriguez, M., Machado, R. Z., & Tinucci Costa, M. (2012). Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*, 186(3-4), 254-260.

Villanueva, V. J. (2001). Diagnóstico de las anemias. *Revista de posgrado de la Vía. catedra de medicina*, 107(2), 1-10.

Vizcaíno, G. O., Carson, C. A, Lee AJ, Ristic M. (1978). Efficacy of attenuated anaplasma vaccine under laboratory and field conditions in Colombia. *Am J Vet Rev*, 39(2), 229-233.

Vizcaíno, G. O., Corrier, D. E., Terry, M., Carson, C. A., Lee A.J., Kuttler, K. L., et al. (1980). Comparison on three methods of immunization against bovine anaplasmosis: Evaluation of protection afforded against field challenge exposure. *Am J Vet Rev*, 41(7), 1066-1068.

Vizcaíno, G. O., Betancourt, E.A. (1983). *Anaplasma marginale*: evaluación de dosis mínima infectiva. *Revista ICA*, 18(4), 329-334.

Waner, T., & Harrus, S. (2013). Ehrlichiosis monocítica canina. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 68(1), 12-18.

Apéndice. A

Aspectos éticos

Se obtuvo la aprobación para la ejecución de la investigación, a través de un consentimiento informado leído, firmado y aprobado por el representante legal de la clínica veterinaria.



CLINICA VETERINARIA
CARACAS



CONSENTIMIENTO INFORMADO

En forma libre la Clínica Veterinaria Caracas (CVC) otorga permiso a los señores Luis Miguel Grajales C.C 71.381.623 de Medellín y a Daniel Isaza C.C 1152435621 de Medellín, para que dispongan de las historias clínicas como objeto de estudio para su trabajo de grado, así mismo se comprometen a no alterar el contenido de las mismas, no retirar documentación de la institución, y mantener la confidencialidad de la información.

Atentamente,



Gilma Elena Patiño
Gerente Y Representante Legal
C.C 42991231 de Medellín

