

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES DE *Ehrlichia canis*, *Anaplasma
phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* Y ANTÍGENOS
CIRCULANTES DE *Dirofilaria immitis*, A TRAVÉS DE LA
PRUEBA RÁPIDA DE ELISA, EN PERROS, DEL
MUNICIPIO DE SIQUINALÁ, ESCUINTLA.**

GEORGINA LARISSA BARAHONA MIJANGOS

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2013

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES DE *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*,
Borrelia burgdorferi Y ANTÍGENOS CIRCULANTES DE *Dirofilaria
immitis*, A TRAVÉS DE LA PRUEBA RÁPIDA DE ELISA, EN
PERROS, DEL MUNICIPIO DE SIQUINALÁ, ESCUINTLA.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

GEORGINA LARISSA BARAHONA MIJANGOS

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Zoot. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M.V. MSc. Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M. V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez
VOCAL V:	Br. Juan René Cifuentes López

ASESORES

M.V. JANIO ROLANDO JOHNSTON SANDOVAL
M.A. MANUEL EDUARDO RODRÍGUEZ ZEA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES DE *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* Y ANTÍGENOS CIRCULANTES DE *Dirofilaria immitis*, A TRAVÉS DE LA PRUEBA RÁPIDA DE ELISA, EN PERROS, DEL MUNICIPIO DE SIQUINALÁ, ESCUINTLA.

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO Y TESIS QUE DEDICO

- A DIOS:** Por permitirme disfrutar de la vida, dar a Jesucristo para mi redención. Gracias por ser mi Padre bueno y amoroso, eres todo para mí, este logro sea para tu gloria. TE AMO.
- A MI MAMI:** Mildred Elizabeth Mijangos Pacas. Gracias por ser un gran ejemplo de amor, perseverancia, valentía y fe en Dios. Te admiro, MUJER VIRTUOSA. TE AMO.
- A MI PAPITO:** Joaquín Francisco Mijangos Contreras. Mejor padre no puedo tener. Gracias por todos los consejos, lecciones y sobre todo por enseñarme a luchar por mis sueños. TE AMO.
- A MI MAMITA:** Irma Estela Pacas Ortiz. Me encantaría tenerte aquí... Gracias por ser el motor que empujó el cumplimiento de este sueño. Solo puedo decirte: MISIÓN CUMPLIDA. TE AMO. TE EXTRAÑO.
- A RICARDO:** Amor, gracias por aparecer en mi vida y enseñarme otra faceta del amor de Dios, eres muchísimo más de lo que pedí... Realmente TE AMO, MI REGALITO!!!.
- A MI PADRE:** Jorge Rodolfo Barahona Guillén. Por los buenos momentos.
- A MIS HERMANOS:** Jenny, Milvia y David. Gracias por su amor, comprensión y palabras de aliento que me impulsan a seguir adelante. Los amo.
- A MIS SOBRINOS:** Ana Esther, Alex y Gaby. Gracias por permitirme disfrutar de su inocencia, sus juegos y compañía. Los amo.
- A FAMILIA MIJANGOS CANEK:** Gracias por cada momento, hicieron cada día tan especial al permitirme por un tiempo ser nieta, hija y hermana; las tengo en mi corazón. Las amo.

**A LA MEMORIA DE
MIS ABUELITOS:**

Con cariño.

A MIS TIOS:

Por su apoyo incondicional.

**A JANIO Y ELBA
JOHNSTON:**

Por colaborar en mi formación profesional, los aprecio mucho. Gracias por su ayuda. Dios los bendiga.

A MIS AMIGOS:

Por brindarme su amistad, ayuda y apoyo los llevo en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS:** A Tú nombre sea toda la gloria, este logro que obtengo es totalmente tuyo.
- A UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:** A mi alma mater; por convertirme en una profesional guatemalteca.
- A FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA:** Por ser parte muy importante en mi formación académica.
- A CATEDRÁTICOS** Por facilitarme los conocimientos y enriquecer mi formación académica.
- A MIS ASESORES:** Al brindarme su ayuda, tiempo y consejos para la realización de este estudio.
- A MI FAMILIA:** No podría ser lo que soy sin todas sus enseñanzas. Este sueño es posible a ustedes.
- A FAMILIA MIJANGOS CANEK:** Por aguantarme los 6 meses y brindarme su compañía. Muchas gracias, me encanta compartir con ustedes y los agregaditos.
- A FAMILIA PINEDA MEJIA:** Por recibirme como un miembro más de su familia.
- A DISTRIBUIDORA ALVARADO:** Por permitirme realizar mi “EPS” en sus instalaciones y poner en práctica los conocimientos que adquirí a lo largo de mi formación profesional.
- A CLINICA VETERINARIA VISTA HERMOSA:** Por su colaboración y apoyo para desarrollar mis habilidades en la medicina de las especies menores.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
	3.1. General	4
	3.2. Específico	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
	4.1. Ehrlichiosis canina.....	5
	4.1.1. Historia.....	5
	4.1.2. Clasificación.....	5
	4.1.3. Ciclo biológico.....	6
	4.1.4. Patogenia.....	7
	4.1.5. Signos clínicos	8
	4.1.6. Diagnóstico	10
	4.1.7. Tratamiento.....	11
	4.2. Anaplasmosis canina	11
	4.2.1. Historia.....	11
	4.2.2. Clasificación.....	12
	4.2.3. Ciclo biológico.....	13
	4.2.4. Signos clínicos	14
	4.2.5. Diagnóstico	14
	4.2.6. Tratamiento.....	15
	4.2.7. Enfermedad rickettsiales en humanos	15
	4.3. Borreliosis canina	16
	4.3.1. Historia.....	16
	4.3.2. Clasificación.....	16
	4.3.3. Ciclo biológico.....	17
	4.3.4. Signos clínicos	18
	4.3.5. Diagnóstico	19
	4.3.6. Tratamiento.....	20
	4.3.7. Enfermedad en los humanos	20
	4.4. Dirofilariasis canina	21
	4.4.1. Historia.....	21
	4.4.2. Clasificación.....	21
	4.4.3. Ciclo biológico.....	22
	4.4.4. Patogenia.....	24
	4.4.4.1. Respuesta a los gusanos vivos	25
	4.4.4.2. Respuesta a los gusano muertos	25

4.4.5.	Signos Clínicos	26
4.4.6.	Diagnóstico	28
4.4.6.1.	Anamnesis.....	28
4.4.6.2.	Exploración Física	28
4.4.6.3.	Ayudas diagnósticas.....	28
4.4.6.4.	Pruebas inmunodiagnósticas.....	29
4.4.6.5.	Detección de microfilarias.....	30
4.4.7.	Tratamiento.....	30
4.4.7.1.	Tratamiento Adulticida	31
4.4.7.1.1.	Tratamiento de la clase 3.....	32
4.4.7.1.2.	Tratamiento del síndrome vena cava.....	33
4.4.7.2.	Tratamiento Microfilaricida.....	33
4.4.8.	Prevención.....	34
4.4.9.	Enfermedad en los humanos	34
4.5.	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.....	35
4.5.1.	Fases de un ensayo ELISA	35
4.5.2.	Tipos de técnica de ELISA.....	36
4.5.3.	Tipos de ELISA.....	37
4.5.3.1.	Anticuerpos marcados	37
4.5.3.1.1.	ELISA directo.....	37
4.5.3.1.2.	ELISA indirecto.....	38
4.5.3.1.3.	ELISA sándwich	38
4.5.3.1.3.1.	Doble (DAS)	38
4.5.3.1.3.2.	Heterólogo (HADAS)	39
4.5.3.2.	Antígeno marcado	40
4.5.3.2.1.	ELISA competitivo	40
4.6.	Kit de ELISA rápido (snap®).....	42
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	44
5.1.	Materiales.....	44
5.1.1.	Recursos humanos	44
5.1.2.	Recursos biológicos.....	44
5.1.3.	Recursos de laboratorio.....	44
5.1.4.	Centros de Referencia:.....	44
5.2.	Metodología.....	44
5.2.1.	Área de estudio.....	44
5.2.2.	Demografía	45
5.2.3.	Selección de la muestra.....	46
5.2.4.	Procesamiento de la muestra	46
5.2.5.	Interpretación	46

5.3. Análisis Estadístico	47
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
6.1. Resultados	48
6.2. Discusión.....	50
VII. CONCLUSIONES.....	53
VIII. RECOMENDACIONES	54
IX. RESUMEN	55
SUMMARY	57
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	59
XII. ANEXOS	66

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Caninos positivos y negativos a la prueba de ELISA.....	68
Tabla 2. Caninos positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.	68
Tabla 3. Caninos muestreados según el sexo.....	69
Tabla 4. Caninos machos positivos y negativos a la prueba de ELISA.	69
Tabla 5. Caninos Machos positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.	70
Tabla 6. Caninos hembras positivas y negativas a la prueba de ELISA.....	70
Tabla 7. Caninos hembras positivas a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.	71
Tabla 8. Animales infectados por sexo.....	71

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Porcentaje de caninos positivos y negativos a la prueba de ELISA.....	68
Gráfica 2. Número de caninos positivos, a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.	68
Gráfica 3. Porcentaje de caninos muestreados según el sexo.	69
Gráfica 4. Porcentaje de caninos machos positivos y negativos a la prueba de ELISA.....	69
Gráfica 5. Número de caninos machos positivos a la presencia de anticuerpos antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico. .	70
Gráfica 6. Porcentaje de caninos hembras positivas y negativos a la prueba de ELISA.....	70
Gráfica 7. Número de caninos hembras positivas a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico. .	71

I. INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis, es producida por una rickettsia intracelular obligada *Ehrlichia canis*, la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), es la responsable de transmitir la enfermedad. Al igual que la anterior la anaplasmosis, es causada por la rickettsia intracelular obligada *Anaplasma phagocytophilum*, las garrapatas del género *Ixodes*, son los vectores que diseminan la enfermedad a una amplia gama de mamíferos domésticos y silvestres. Las manifestaciones clínicas de estos entes etiológicos, son inespecíficos abarcando desde una infección aguda, una infección crónica o una infección subclínica.

La enfermedad de Lyme, es provocada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, transmitida por garrapatas del género *Ixodes*; produce una variedad de signos, pero el más frecuente es la artritis recurrente y la cojera que dura de 3 a 4 días, cambiando su intensidad de leve a severa.

La dirofilariasis, es una enfermedad grave potencialmente fatal causada por el nematodo *Dirofilaria immitis* que afecta a los perros; el corazón y los pulmones son los órganos más afectados por los parásitos adultos, causando bloqueos o roturas que pueden provocar daño cardíaco perjudicando otros órganos como el hígado y los riñones. La manifestación clínica, varía desde leve hasta grave como el síndrome de la vena cava; es transmitida por mosquitos de diferentes especies, por lo que el humano puede ser infectado.

Enfermedades como ehrlichiosis, anaplasmosis, borreliosis y dirofilariasis, por ser transmitidas por vectores tienen potencial zoonótico.

Asimismo, son potencialmente mortales en los animales infectados, es decir, pueden producir la muerte del perro, al no aplicarse tratamientos adecuados y también representan una fuente de infección para otros caninos. Por esto, es

importante conocer su existencia no sólo para generar la información, sino para prevenir su diseminación, con ello mantener a la población animal saludable.

La finalidad de este estudio, es utilizar un método de diagnóstico efectivo y confiable para identificar las entidades antes mencionadas. También el de generar información acerca de la presencia de anticuerpos de *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* y antígenos de *Dirofilaria immitis*, por medio de la prueba rápida de ELISA.

II. HIPÓTESIS

Existe la presencia de anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Borrelia burgdorferi*, y antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, en caninos pertenecientes al municipio de Siquinalá, Escuintla.

III. OBJETIVOS

3.1. General:

Comprobar la presencia de anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y Antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis* en caninos infestados naturalmente, en el municipio de Siquinalá, mediante la prueba rápida de ELISA.

3.2. Específico:

Determinar la presencia de anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*, a través de la prueba rápida de ELISA, en caninos del municipio de Siquinalá.

Determinar la presencia de anticuerpos circulantes de *Anaplasma phagocytophilum*, a través de la prueba rápida de ELISA, en caninos del municipio de Siquinalá.

Determinar la presencia de anticuerpos circulantes de *Borrelia burgdorferi*, a través de la prueba rápida de ELISA, en caninos en el municipio de Siquinalá.

Determinar la presencia de *Dirofilaria immitis* mediante antígenos circulantes a través de la prueba rápida de ELISA, en caninos del municipio de Siquinalá.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. EHRLICHIASIS CANINA

4.1.1. Historia:

Fue identificada por primera vez en Argelia en 1935. Históricamente la enfermedad cobró mucha importancia durante la guerra de Vietnam, causando la muerte de cientos de perros militares. Posteriormente se le prestó atención en 1987 cuando *E. chaffeensis*, un organismo muy emparentado, fue identificado como la causa de ehrlichiosis monocítica humana. Subsecuentemente, en 1996, se demostró que *E. chaffeensis* causa signos de enfermedad en los perros indistinguible de la infección provocada por *E. canis*. (Waerner, T. 2000)

La ehrlichiosis también es conocida como: Rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina, que representan diferentes aspectos de la enfermedad. Es reconocida como una enfermedad infecciosa importante, potencialmente fatal de los perros y otros miembros de la familia *Canidae* (zorro, coyote, chacal, etc.). (Waerner, T. 2000, Ehrlichiosis canina. s.f.)

4.1.2. Clasificación:

En 2001, fue sometido a una nueva reclasificación taxonómica; basados en el análisis de la secuencia genética del 16S del ARN ribosomal y el operón *groESL*, reforzada por características biológicas y antigénicas. (Hernández, G. s.f., Tamí, I. 2003, Paniagua, M. 2010)

Orden: *Rickettsiales*

Familia: *Anaplasmataceae*

Género: *Ehrlichiae*

Especie: *Ehrlichia canis*.

Esta enfermedad es causada por una rickettsia *Ehrlichia canis*, bacteria intracelular obligada, Gram-negativa, cocoide pleomórfica pequeña (0.5 µm de diámetro), aeróbica, parasitan el citoplasma de los leucocitos (monocitos, macrófagos y granulocitos) circulantes, en grupos denominados mórulas. (Waerner, T. 2000, Ehrlichiosis canina. s.f.)

4.1.3. Ciclo Biológico:

Es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus*; que ocurre entre los estados de desarrollo (transestadial) y no transováricamente. Se ha demostrado que las larvas y las ninfas se infectan al alimentarse de perros con la fase aguda. Los perros en fase subclínica también pueden ser una fuente de infección. (Waerner, T. 2000)

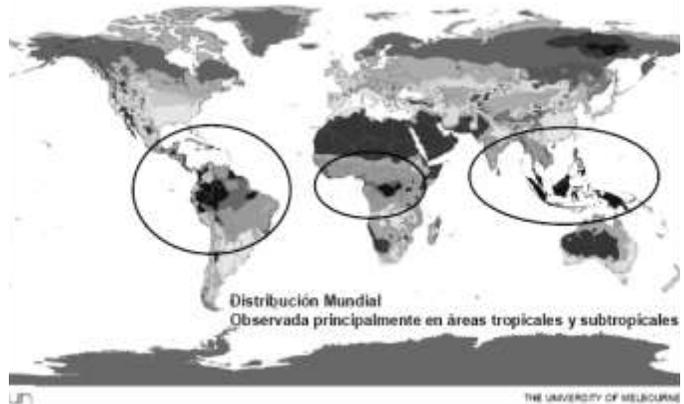
En la garrapata la *Ehrlichia* se disemina desde el intestino a las glándulas salivares a través de las células sanguíneas. Al alimentarse, las garrapatas inyectan en el lugar, las secreciones de las glándulas salivares contaminadas con *Ehrlichia canis*. Los tres estados (larva, ninfa y adulto), son capaces de transmitir la enfermedad. Se ha demostrado que las garrapatas pueden sobrevivir como adultos 155 a 568 días sin alimentarse y transmitir la infección por 155 días después de infectarse. Este fenómeno permite a las garrapatas sobrevivir durante el invierno e infectar a los huéspedes en el verano siguiente. Las garrapatas son más abundantes durante las estaciones cálidas, y la mayoría de los casos agudos ocurren durante esos períodos. Como la transmisión de *Ehrlichia* es mecánica, no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden también transmitir la rickettsia. (Waerner, T. 2000)

Fig. 2: Vector de *Ehrlichia canis*,
Rhipicephalus sanguineus.



Los perros de regiones endémicas y aquellos que viajan hacia o desde áreas endémicas deben ser considerados como candidatos potenciales a enfermarse. La distribución de la enfermedad está relacionada con la distribución del vector *Rhipicephalus sanguineus*, se ha descrito su ocurrencia en cuatro continentes incluyendo Asia, África, Europa y América. (Waerner, T. 2000, Hernández, G. s.f.)

Fig.3: Distribución mundial de *Ehrlichia canis*.



4.1.4. Patogenia:

El período de incubación varía de 8 a 20 días, la infección consiste en la fase aguda, subclínica y crónica. (Waerner, T. 2000)

Durante la fase aguda, comienza 1 – 3 semanas después de la infección, el parásito ingresa al torrente sanguíneo y linfático, se localiza en los macrófagos del sistema retículo-endotelial del bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se duplica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas, diseminan a las rickettsias hacia otros órganos del cuerpo. Puede tener una duración de 2 - 4 semanas. (Waerner, T. 2000; Couto, C. 2000)

En ésta fase, las células mononucleares infectadas se marginan en los vasos pequeños o migran dentro de los tejidos endoteliales, induciendo vasculitis. La mayoría de los perros inmunocompetentes sobreviven. (Couto, C. 2000)

Los perros mal o no tratados pueden desarrollar posteriormente una fase subclínica, aunque sin signos clínicos de la enfermedad mantiene recuentos bajos

de plaquetas. Posee una duración hasta de 5 años en los perros con infección natural. Algunos animales eliminan al microorganismo durante esta fase; éste persiste a nivel intracelular en la mayoría, llevando a la fase crónica del proceso. (Ehrlichiosis canina. s.f., Couto, C. 2000)

Muchas de las anomalías clínicas y clinicopatológicas que desarrollan durante la fase crónica se originan a partir de las reacciones inmunes contra el organismo intracelular; El resultado de esta fase es una enfermedad indefinida, crónica, con pérdida de peso y alteraciones de la médula ósea. (Couto, C. 2000)

4.1.5. Signos Clínicos:

Las mucosas pálidas solo durante el establecimiento de la pancitopenia. La hepatomegalia, esplenomegalia y linfadenopatía son el resultado de la inmunoestimulación activa (hiperplasia linfocítica). El edema intersticial o alveolar secundario a la vasculitis, hemorragia parenquimatosa pulmonar secundaria a la vasculitis o trombocitopenia e infecciones resultantes de la neutropenia son responsables por la disnea o tos en algunos perros. (Couto, C. 2000)

La poliuria, polidipsia y proteinuria se observa en algunos perros con insuficiencia renal. (Couto, C. 2000)

La rigidez, intolerancia al esfuerzo y articulaciones dolorosas y tumefactas se reconocen en algunos perros con poliartritis supurativa. Los depósitos de complejos inmunes en las articulaciones pueden llevar a la poliartritis aséptica supurativa, resultado de la inmunoestimulación crónica. (Couto, C. 2000)

Las manifestaciones oftálmicas son comunes y comprenden vasos retinianos tortuosos, infiltrados retinianos perivasculares, hemorragia retiniana, uveítis anterior y desprendimiento de retina exudativo. (Couto, C. 2000)

Los signos del sistema nervioso central pueden incluir depresión, ataxia, dolor, paresia, nistagmo y fenómenos convulsivos. (Couto, C. 2000)

Tabla 1. Manifestaciones clínicas asociadas con la infección con *Ehrlichia canis* en caninos. (Couto, C. 2000)

Aguda	Fiebre
	Secreción oculonasal serosa o purulenta
	Anorexia
	Pérdida ponderal
	Disnea
	Linfadenopatía
	Infestación con garrapatas a menudo evidente
Subclínica	Sin anomalías clínicas
	Garrapatas no suelen estar presentes
Crónica	Garrapatas no suelen estar presentes
	Depresión
	Pérdida ponderal
	Membranas mucosas pálidas
	Dolor abdominal
	Evidencia de hemorragia; epistaxis, hemorragia retiniana, etc.
	Linfadenopatía
	Esplenomegalía
	Disnea, incremento en los ruidos pulmonares, infiltrados pulmonares intersticiales o alveolares.
	Anormalidades oculares: retinitis perivascular, desprendimiento de retina, uveítis anterior (hifema), o posterior, edema corneal.
	Anormalidades del SNC: dolor meníngeo, paresia, deficiencias de pares craneanos, convulsiones.
	Hepatomegalía
	Arritmias y deficiencias del pulso
	Poliuria y polidipsia
	Rigidez, tumefacción, articulaciones dolorosas, poliartritis supurativa

Durante el curso de la enfermedad, ocurren recombinaciones repetidas en los genes antigénicos proteicos principales de la membrana externa de la ehrlichia, que conduce a la generación de variaciones en epítopes inmunogénicos y permite que los microorganismos evadan los mecanismos de defensa del huésped y den como resultado infecciones persistentes. (Ehrlichiosis canina. s.f.)

Diferentes mecanismos inmunológicos intervienen en la patogénesis de la enfermedad, entre los días 4 y 7 posteriores a la infección aparece IgM e IgA y la IgG aumenta a partir del día 15, esta respuesta humoral tiene un efecto mínimo en la eliminación del organismo intracelular y no proporcionan protección ante una nueva infección, en cambio produce efectos perjudiciales en el progreso de la enfermedad debido a las consecuencias inmunopatológicas. (Ehrlichiosis canina. s.f.)

4.1.6. Diagnóstico:

Identificando el microorganismo (mórulas) mediante aspiración citológica en una aguja fina en el bazo, ganglios linfáticos y pulmones, en el líquido cefalorraquídeo y junto con los leucocitos del líquido articular o la sangre circulante, puede confirmarse el diagnóstico, pero es un proceso arduo y difícil. Con frecuencia suelen encontrarse plasmocitos en las muestras citológicas. (Birchard, S. 2002)

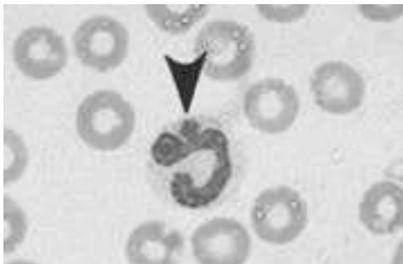


Fig. 4: Mórula intracitoplasmática de *Ehrlichia canis* en un neutrófilo, en sangre periférica de un perro infectado.

La prueba de fluorescencia indirecta para anticuerpos (FIA) para *E. canis* es muy sensible, siendo el método habitual de diagnóstico de la ehrlichiosis canina. Los títulos mayores de 1:10 se consideran positivos, aunque quizá estos títulos no se detecten hasta 2 o 3 semanas después de la inoculación. La técnica de ELISA directa constituye una excelente prueba para el diagnóstico confirmatorio de la ehrlichiosis canina (Birchard, S. 2002)

4.1.7. Tratamiento:

La doxiciclina es el fármaco de elección para tratarla a dosis de 5 a 10mg/kg VO cada 12 o 24 horas durante 21 días; no debe utilizarse en cachorros, causa manchas en el esmalte dental. Como alternativa puede utilizarse tetraciclina a dosis de 22 mg/kg VO cada 8 horas, durante 14 a 21 días, administrada con el estómago vacío. El cloranfenicol también es eficaz, pero no se recomienda, se usó en perros con citopenias. ((Birchard, S. 2002, 30)

El diprionato de imidocarb (Imizol) y la anticolinesterasa parasimpático-mimética, administrados a dosis de 5 mg/Kg, por vía IM o SC, que se repite a los 14 días, han sido eficaces en perros con ehrlichiosis resistente y en perros con infecciones mixtas por *E. canis* y *Babesia canis*. (Birchard, S. 2002)

Se instituye un tratamiento de sostén (sangre, hemoderivados, líquidos) cuando sea necesario. (Birchard, S. 2002, Morgan, R. 2003)

4.1.8. Prevención:

El control de la garrapata constituye el punto principal de la prevención de ehrlichiosis. Además en las zonas endémicas durante la estación de las garrapatas pueden utilizarse dosis bajas de doxiciclina (2 mg/kg VO cada 24 horas) o de tetraciclina (6.6 mg/kg VO cada 24 horas). (Birchard, S. 2002)

4.2. ANAPLASMOSIS CANINA

4.2.1. Historia:

Es una enfermedad emergente, descrita por primera vez en 1994 con el agente causal de la ehrlichiosis granulocítica humana, posee un conflicto en las descripciones históricas, debido a la falta de especiación definitiva del organismo. Sólo recientemente se ha identificado la especie exacta y precisa, siendo posible

por biología molecular (PCR) específicamente el gen 16S ribosomal ARN. Como resultado de estas investigaciones, las especies *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* y el agente causal sin nombre de la ehrlichiosis granulocítica humana, se encontraron diferencias insuficientes para justificar su designación como especies separadas. Estos organismos son filogenéticamente más relacionados con las especies del género *Anaplasma*, por ello las reclasificarán como *Anaplasma phagocytophilum*.(Lester, J. 2005, Alleman, R. 2008, *Anaplasma phagocytophilum*. 2009.)

Historicamente, *E. ewingii* y *E. equi* (ahora *A. phagocytophilum*) fueron considerados como los principales agentes de la ehrlichiosis granulocítica en los perros. (Lester, J. 2005)

4.2.2. Clasificación:

En 2001, fue sometido a una nueva reclasificación taxonómica; basados en el análisis de la secuencia genética del 16S del ARN ribosomal y el operón *groESL*, reforzada por características biológicas y antigénicas. (Hernández, G. s.f., I, Tamí. 2003, Paniagua, M. 2010)

Orden: *Richettsiales*
Familia: *Anaplasmataceae*
Género: *Anaplasma*
Especie: *Anaplasma phagocytophila*.

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria Gram-negativa, mide 0.5 – 0.8mm x 1.2 – 3mm, intracelular obligado, con tropismo a los neutrófilos. (Alleman, R. 2008, *Anaplasma phagocytophilum*. 2009.)

Este organismo posee una distribución mundial, se han reportado casos en Estados Unidos, Inglaterra, Noruega, Suecia, Suiza y Alemania; con menor

frecuencia en Asia y América del Sur. La mayoría de casos son temporales y coinciden con la época de reproducción de la garrapata (verano). (Alleman, R. 2008)

4.2.3. Ciclo Biológico:

El vector primario es la garrapata del género *Ixodes*. *Ixodes scapularis* responsable de la infección en el norte y este de Estados Unidos. *Ixodes pacificus* transmite la infección en el oeste de Estados Unidos e *Ixodes ricinus* en Europa. Este organismo puede infectar un amplio rango de huéspedes que incluye: perro, gato, caballo, rumiantes, personas y diferentes especies silvestres. El venado cola blanca y varias especies de roedores pequeños son considerados el reservorio primario. Se sospecha que la transmisión a un huésped susceptible requiere una exposición prolongada y que la garrapata se alimente por lo menos 24 horas o más. (Lester, J. 2005, Alleman, R. 2008, *Anaplasma phagocytophilum*. 2009)

Fig. 5: Vector *Ixodes scapularis*.

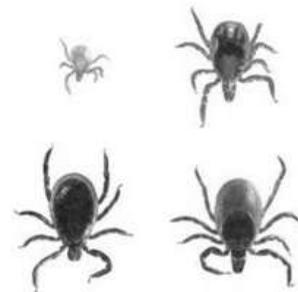


Fig. 6: Vector *Ixodes pacificus*.

Fig. 7: Vector *Ixodes ricinus*.



Un sello distintivo de esta enfermedad es la forma de infección, puede presentarse subclínica o crónica. (Alleman, R. 2008)

4.2.4. Signos Clínicos:

Los animales con una infección aguda a menudo tienen signos vagos de infección que incluyen: fiebre, letargia, malestar, anorexia y dolor muscular general, con ello renuencia al movimiento. (Alleman, R. 2008)

Los signos más frecuentes, que alertan a una infección con *A. phagocytophilum* es el dolor en las articulaciones y la claudicación resultante de poliartritis. Otros signos menos comunes incluyen: problemas gastrointestinales (vómito, diarrea, o ambos), respiratorios (tos, respiración laboriosa). Signos en el sistema nervioso central (meningitis), pueden ocurrir, resultando en ataxia, ataques nerviosos, o manifestaciones neurológicas (estupor, torpeza); pero estos signos son raramente observados. (Alleman, R. 2008)

4.2.5. Diagnóstico:

La identificación microscópica de la mórula en neutrófilos circulantes en la sangre periférica y a veces en el líquido sinovial. Estos se encuentran mayormente en la fase aguda de la infección. La mórula no puede ser distinguida de la causada por la infección de *Ehrlichia spp.* (Alleman, R. 2008)

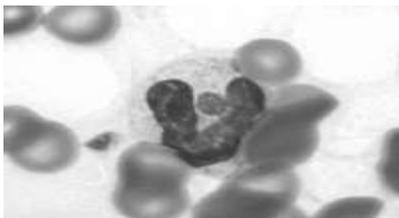


Fig. 8: Mórula intracitoplasmática de *Anaplasma phagocytophilum* en un neutrófilo tóxico, en sangre periférica de un perro infectado.

La infección por *A. phagocytophilum* puede ser diagnosticada por serología, con inmunofluorescencia indirecta o ELISA. (Alleman, R. 2008)

La amplificación del ácido nucléico es el método más sensitivo para detectar el ADN del organismo en la sangre periférica de los animales infectados; al igual que los análisis de PCR. (Alleman, R. 2008)

La descripción de la enfermedad y la patogénesis de las diversas condiciones clínicas y patológicas se complican aún más por la capacidad de una garrapata para albergar y transmitir múltiples agentes patógenos, y por el hecho que los perros pueden ser infectados con múltiples especies de garrapatas. No es raro tener resultados de las pruebas serológicas positivas para *Ehrlichia* spp., así como *Anaplasma* sp. (Lester, J. 2005)

La seroprevalencia de ehrlichiosis o anaplasmosis se relaciona con la prevalencia del microorganismo en las poblaciones de garrapatas, la densidad de animales, y las especies de *Anaplasma* y *Ehrlichia* que se encuentran en el área geográfica. (Lester, J. 2005)

4.2.6. Tratamiento:

El tratamiento para la anaplasmosis canina es igual al utilizado para la infección con las especies de *Ehrlichia*; doxiciclina. (Birchard, S. 2002)

La dosis óptima y la duración de la terapia no han sido establecidas firmemente, pero en dosis oral 5 a 10 mg/kg, 2 veces al día por 30 días es recomendada; no debe utilizarse en cachorros, puede causar manchas en el esmalte dental. En la mayoría de los casos los signos se resuelven rápidamente, 24 – 48 horas, después de la terapia, los perros infectados presentan un mejoría marcada. (Alleman, R. 2008)

4.2.7. Enfermedad Rickettsiales en Humanos:

E. canis, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* provocan la ehrlichiosis monocítica humana y *A. phagocitophilum* es el agente de la ehrlichiosis granulocítica humana. Después de 12 días de la picadura de la garrapata, algunos desarrollan exantema maculopapulosa o petequial que afecta al tronco o a las extremidades, aunque es raro en éstas. En las infecciones por *E. canis* puede aparecer dolor

abdominal, vómito, diarrea, coagulación intravascular diseminada, convulsiones y coma. (Morgan, R. 2003)

4.3. BORRELIOSIS CANINA

4.3.1. Historia:

El género *Borrelia* fue nombrado así, en honor al bacteriólogo francés Amedée Borrel en 1907. *Borrelia burgdorferi* debe su nombre a Willi Burgdorfer, que junto a Alan G. Barbour, la aislaron de pacientes con síntomas parecidos a artritis en 1982. La enfermedad de Lyme fue descrita por primera vez a finales de la década de 1970; durante una investigación de una epidemia inusual de artritis reumatoidea juvenil en Lyme, Connecticut. Las manifestaciones de esta enfermedad fueron evidentes en Europa desde el comienzo del siglo. El agente pudo ser aislado de las garrapatas Ixodes en 1982. (*Borrelia burgdorferi*. 2011)

Es también llamada borreliosis de Lyme, artritis de Lyme, eritema crónico migratorio (ECM) con artritis. (Acha, P. 2001)

4.3.2. Clasificación:

Orden: *Spirochaetales*

Familia: *Spirochataceae*

Género: *Borrelia*

Especie: *Borrelia burgdorferi* (Espiroquetas. s.f.)

El género *Borrelia*, está formado por bacterias de forma helicoidal, alargadas, finas y activamente móviles. *B. burgdorferi* tiene de 11 a 39 micrones de largo y de 7 a 11 flagelos periplásmicos. Báculos, Gram negativos. (Acha, P. 2001, Espiroquetas. s.f.)

Ésta enfermedad ha emergido como una infección multi-compleja de significancia en el mundo, y se han reportado casos en países de Europa, China, Japón, Australia Estados Unidos, México y países de la antigua Unión Soviética.

Es la infección causada por garrapatas más frecuente en Europa y Estados Unidos tanto en animales como en seres humanos. (Salinas, J. 1999, Tinoco, L. 2007, Acha, P. 2001)

4.3.3. Ciclo Biológico:

El agente etiológico se transmite por la picadura de garrapatas del género *Ixodes*: *I. scapularis* (anteriormente *I. dammini*) en la costa nororiental y en los estados nortños del occidente medio de los Estados Unidos, *I. pacificus* en la costa occidental de este país. *I. ricinus* en Europa, *I. holocyclus*, posiblemente en Australia y en Asia *I. persulcatus*. De las enfermedades transmitidas por vectores, esta representa 95% de las que se notifican en Estados Unidos, donde anualmente ocurren alrededor de 12,500 casos en humanos. (Reyes, E. 2011, Acha, P. 2001)



Fig. 9: Vector *Ixodes scapularis*.

Fig. 10: Vector *Ixodes pacificus*.



Fig. 11: Vector *Ixodes ricinus*.

El ciclo involucra tanto animales silvestres (venado cola blanca, ratones del género *Peromyscus*, ardillas grises, zarigüeyas y mapaches), como animales domésticos (perros, caballos, bovinos) los cuales permanecen generalmente asintomáticos. La infección en las garrapatas es adquirida a través de la picadura a un reservorio, esta no se transmite de forma vertical entre las garrapatas. Las garrapatas adultas son abundantes en primavera y otoño; las ninfas en primavera e inicio del verano, y las larvas al término del verano y al principio del otoño. Todos los estadios de desarrollo de la garrapata parasitan al hombre, pero la fase de ninfas es la principal responsable de la transmisión de *B. burgdorferi* al hombre. (Chomel, B. 2002, Acha, P. 2001.)

La vía de infección es por la picadura de una garrapata infectada. Para que se produzca la infección, la garrapata debe permanecer 48 horas adherida al animal. (Birchard, S. 2002)

4.3.4. Signos Clínicos:

La mayoría de perros primoinfectados nunca muestran signos clínicos de enfermedad. La inmunodeficiencia del hospedero puede participar en el establecimiento de la enfermedad clínica. La poliartritis aguda es la forma más corriente de la borriellosis reconocida en los caninos. La artritis no erosiva crónica normalmente es subclínica, pero puede ser séptica o inmunomediada debido a la presencia de la espiroqueta en la sinovia o líquido sinovial (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Las principales alteraciones clínicas son la claudicación, fiebre, linfadenopatía, anorexia, pérdida de peso, letargo; sin embargo, puede que el animal no muestre otros signos sistémicos aparte de la claudicación. Estos signos en ocasiones resuelven después de algunos días, pero luego pueden recurrir de un modo periódico. Los signos agudos son más comunes durante los meses de verano. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La insuficiencia renal progresiva aguda y la glomerulonefropatía con pérdida de proteínas se han asociado a la infección en los perros, especialmente en los labradores y golden retrievers. La artritis reumatoide, la meningitis y la miocarditis también se han encontrado asociadas a la infección crónica en perros. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.3.5. Diagnóstico:

La claudicación puede ser aguda o crónica y progresiva. La inflamación de una o más articulaciones puede ser evidente; al igual que signos de dolor considerable a la palpación de las articulaciones en las que no sea certera la inestabilidad articular. (Birchard, S. 2002)

El análisis del líquido sinovial revela un incremento del recuento de células nucleadas (media, 46.300/ul), con predominio de los neutrófilos no degenerados (43- 85%). Aunque los signos clínicos de fiebre, distensión articular y claudicación pueden ser ondulantes, los hallazgos del análisis del líquido sinovial por lo regular son anormales. (Couto, C. 2000)

El diagnóstico puede confirmarse con la identificación de la *Borrelia* en las biopsias de tejidos preparadas con coloraciones especiales. (Couto, C. 2000)

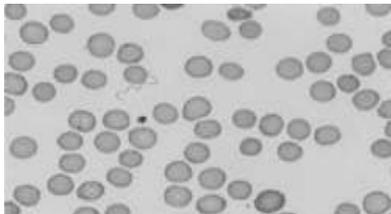


Fig. 12: Frotis sanguíneo de un perro infectado, revelando la presencia de *Borrelia burgdorferi*.

La seroprevalencia de los anticuerpos frente a *Borrelia* es mayor que la prevalencia de la enfermedad clínica atribuible a la borreliosis; por tanto la enfermedad se diagnostica basándose únicamente en los títulos de anticuerpos. (Birchard, S. 2002)

Están disponibles los análisis serológicos para los anticuerpos dirigidos contra la espiroqueta y consisten en la inmunofluorescencia indirecta (FIA) y análisis enzimoinmunsorbente (ELISA). Un título inmune positivo sólo constituye evidencia de exposición al agente y no es indicativo de enfermedad. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.3.6. Tratamiento:

Tratar a todos los perros con signos clínicos que sugieran borreliosis y con títulos positivos con antibióticos durante 14 a 30 días. La elección apropiada es doxiciclina (10 mg/kg cada 12 horas), no debe utilizarse en cachorros, puede causar manchas en el esmalte dental, cefalexina o amoxicilina (22mg/kg cada 8 horas). Las infecciones resistentes se tratan con cefalosporinas de tercera generación o azitromizina (5 mg/kg cada 12 horas). (Birchard, S. 2002)

Los animales con infección activa pueden mostrar una respuesta rápida al tratamiento con antibióticos, especialmente al principio de la infección. Si el tratamiento es eficaz, repetir las pruebas después de 1 a 3 meses para confirmar el diagnóstico. (Birchard, S. 2002)

Si la respuesta inicial al tratamiento no es suficiente, se debe considerar el uso de antibióticos alternativos y otros diagnósticos. (Birchard, S. 2002)

Algunas veces se requiere una antibioterapia prolongada (semanas a meses) para los animales con infecciones crónicas-estabilizadas. (Birchard, S. 2002)

4.3.7. Enfermedad en los Humanos:

Empieza como una lesión cutánea anular, no pruriginosa y eritematosa que aparece varios días después de la picadura de la garrapata y progresa produciendo fiebre con síntomas seudogripales, poliartritis, meningitis, miocarditis

y uveítis. (Birchard, S. 2002)

La transmisión de la infección requiere una adherencia prolongada de las garrapatas (48 horas), por lo que las medidas para reducir la exposición a las garrapatas es la mejor manera de prevenirla. (Birchard, S. 2002)

Los perros no suponen un riesgo en la transmisión horizontal a los humanos; sin embargo, pueden servir como una fuente menos importante de garrapatas infectadas. (Birchard, S. 2002)

4.4. DIROFILARIASIS CANINA

4.4.1. Historia:

La primera observación fue realizada en 1626, por Francesco Birago en la necropsia de un perro de caza de su propiedad. Años más tarde, el médico francés J.B. Panthot publicó una nota sobre la presencia de 31 vermes en el ventrículo derecho de una perra usada para demostraciones anatómicas (Panthot, 1679) junto con el primer dibujo del parásito. Entre 1806 y 1875 la existencia de dirofilariosis canina fue denunciada en Italia, Estados Unidos, Japón, China y Brasil. (Simón, F. 2011)

4.4.2. Clasificación:

Filo: *Nematoda*
Clase: *Secernentea*
Subclase: *Spiruria*
Orden: *Spirurida*
SuperFamilia: *Filaroidea*
Familia: *Onchocercidae*
Género: *Dirofilaria*

Especie: *Dirofilaria immitis* (Johnstone, C. 1998)

Es un gusano filiforme de color blanco. Los machos miden de 12 a 16 cm, las hembras de 25 a 30 cm. Son gusanos delgados y de color blanco. En la boca no tiene labios hay papilas cervicales insignificantes, El extremo final del macho está curvado en espiral, con una cola cónica redondeada; posee unas alas laterales pequeñas, con 5 pares de papilas preanales pedunculadas y 1 a 6 grandes papilas postanales, además 6 pares de papilas postanales. La espícula izquierda mide de 0.324 a 0.375 mm, es aguzada. La derecha de 0.19 a 0.229, es roma. El extremo posterior de la hembra redondeado, la vulva se sitúa justo detrás del esófago. (Soulsby, E. 1987, Quiroz, H. 2005, Brito M. s.f.)

Las hembras son vivíparas, por lo que descargan directamente estadíos larvarios denominados microfilarias; tiene una cola larga, delgada y recta; miden 218 a 340 micras de largo y 8 micras de ancho. Su cuerpo está cubierto de una cutícula finamente estriada, el extremo anterior está aplanado y redondeado y el extremo posterior delgado terminado en punta, provisto de un pequeño dardo de movimientos rápidos de retracción y proyección que le confiere movilidad por los pequeños vasos sanguíneos. (Quiroz, H. 2005, Brito M. s.f.)

Los parásitos adultos tienen una longevidad de 5 a 6 años y durante este período las hembras pueden producir millones de microfilarias, que a su vez pueden vivir de 2 a 3 años, presentan una marcada periodicidad nocturna (se encuentran en la sangre periférica durante la noche y desaparecen completamente durante el día, donde se refugian en los órganos profundos. (Brito M. s.f.)

4.4.3. Ciclo Biológico:

Los adultos de *Dirofilaria immitis* se encuentran principalmente en el ventrículo derecho y en las arterias pulmonares de los perros. Tras el

apareamiento, las hembras producen microfilarias. Las microfilarias circulan por el torrente sanguíneo, alcanzando la sangre periférica. (Simón, F. 2011)

Las microfilarias circulantes son ingeridas por el mosquito hembra; alrededor de 30 especies de mosquito pueden servir como hospedero intermediario, pero las especies más involucradas son *Culex sp.*, *Anopheles sp.*, y *Aedes sp.*; al alimentarse de la sangre de un hospedador infectado. (Simón, F. 2011, Brito M. s.f.)

Fig. 13: Vector *Culex sp.*

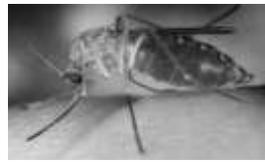


Fig. 14: Vector *Aedes sp.*

Fig. 15: Vector *Anopheles sp.*



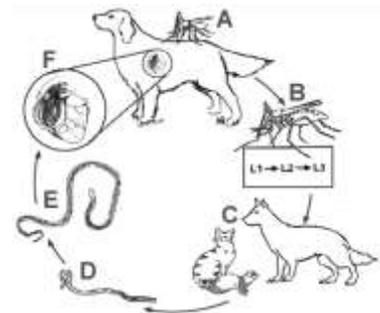
Durante las primeras 24 horas tras la toma de sangre, las microfilarias se encuentran en el estómago del insecto; durante las siguientes 24 horas, emigran a los túbulos de Malpighio, donde se desarrollan durante los siguientes 15 o 16 días. Hacia los primeros 6 o 7 días, las larvas en desarrollo se encuentran dentro de las células de los túbulos. El 4 día tras la infestación del mosquito, aparece la larva “estado salchicha” que es la larva de segundo estado; mide 220-240 micras por 20-25 micras de diámetro. En este estado ha aumentado el número de células excretoras e intestinales que, finalmente, producen sus órganos respectivos, que son evidentes en la forma de “salchicha alargada” que aparece el día noveno tras la infestación. En este momento mide 500 por 20 micras. Este último estado se alimenta sobre las células de los tubos de Malpighio y penetra en la cavidad corporal. Desde allí, las larvas migran a través del tórax, terminando en los espacios cefálicos de la cabeza o en la cavidad oral. El estado final, infestante

(larva del tercer estadio), se forma en el lumen de la probóscide y mide de 800 a 900 micras. (Simón, F. 2011, Brito M. s.f.)

El desarrollo tarda unos 15 a 17 días en países templados, mientras que en países tropicales puede acortarse a 8 o 10 días. (Brito M. s.f.)

Al alimentarse el mosquito de la sangre de un hospedador apto para su desarrollo, las microfilarias salen por la probóscide, penetrando a través de la herida por la picadura, la migración es adyacente al sitio de la infestación, encontrándose en las membranas submusculares y pocas en el tejido subcutáneo. La muda a la siguiente etapa, L4, ocurre a los 7 días post-infección; continúa su migración durante 60 a 90 días hasta la última muda para alcanzar la forma de adulto inmaduro. Las formas juveniles emigran al lado derecho del corazón o arteria pulmonar en unos pocos días después de la muda final; donde sobreviven hasta 7 años; teniendo en ese tiempo una longitud de 3.2 a 11 cm. En los dos meses siguientes se alcanza la madurez sexual y el apareamiento, las hembras fecundadas comienzan a producir microfilarias aproximadamente 6½ meses (192 días) post-infección. Las microfilarias son liberadas en la circulación, para que se repita el ciclo, logrando sobrevivir hasta 2 años, puede producirse la transmisión transplacentaria, encontrándose microfilarias en los cachorros recién nacidos. (Simón, F. 2011, Brito M. s.f.)

Fig. 16: Ciclo de vida de *Dirofilaria immitis*



4.4.4. Patogenia:

El comienzo de la enfermedad y su gravedad reflejan ampliamente el número de dirofilarias adultas, que varía de 1 a más de 250 en un solo perro. Hasta que la carga de gusanos adultos supera los 50 en un perro de 25 kg, casi todos se encuentran en las arterias pulmonares. La carga de 75, aproximada-

mente, se acompañan de gusanos situados en la aurícula derecha. El síndrome de la vena cava se acompaña, típicamente, de cargas de gusanos de 100 o más; debido a la oclusión mecánica del canal de salida ventricular derecha, válvula tricúspide, venas cavas o arterias pulmonares. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Fig. 17: Gusano adulto de *Dirofilaria immitis*.



4.4.4.1. Respuesta a los gusanos vivos:

La lesión endotelial de la arteria pulmonar y la consiguiente proliferación mioíntima vellosa afecta con gran frecuencia a los lóbulos pulmonares caudales y medio; que constituyen la lesión característica.

El aumento de tamaño arterial lobar pulmonar, la tortuosidad y la obstrucción de las ramas menores empiezan a las pocas semanas de la llegada de los gusanos.

El flujo sanguíneo intrapulmonar queda obstruido a medida que la enfermedad progresa y la sangre es desviada a lóbulos menores afectados. Las pequeñas arteriolas distales quedan lesionadas y dejan escapar plasma y células inflamatorias al parénquima pulmonar que las rodea. Esto provoca una enfermedad pulmonar intersticial y alveolar, con posibles signos de fiebre, tos, leucocitosis y disnea. (Birchard, S. 2002)

4.4.4.2. Respuesta a los gusanos muertos:

La enfermedad más grave se ve en respuesta a los fragmentos de gusanos muertos, que son barridos a las pequeñas arteriolas. La muerte de los gusanos puede ser espontánea o puede estar provocada por fármacos. La adaptabilidad vascular pulmonar y el flujo sanguíneo quedan gravemente alterados, provocando una hipertensión pulmonar y una mayor post-carga ventricular derecha. La hipertensión pulmonar crónica puede ocasionar insuficiencia del

ventrículo derecho y signos de insuficiencia congestiva derecha, especialmente junto con la incompetencia tricuspídea secundaria. El ventrículo derecho se dilata y luego se hipertrofia, a medida que se requieren presiones sistólicas más elevadas. La enfermedad parenquimatosa pulmonar (infarto y consolidación) se produce secundariamente a la tromboembolia arterial pulmonar, infartación arterial, fibrosis, neumonitis por hipersensibilidad y al aumento de la permeabilidad vascular. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.5. Signos Clínicos:

Éstos reflejan la carga de gusanos adultos, la duración de la infestación y la interacción huésped/parásito. Muchas veces se destacan signos respiratorios. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La intolerancia al ejercicio, tos, disnea, fatiga, pérdida ponderal y los crepitantes respiratorios se presentan en perros dirofilariosis moderada y avanzada. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La hemoptisis se presenta en la enfermedad grave acompañada de tromboembolia pulmonar e hipertensión pulmonar. Puede verse antes, pero se presenta con mayor frecuencia después del tratamiento adulticida. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La disnea aguda y las mayores densidades alveolares pulmonares pueden aparecer secundariamente a la muerte espontánea de los gusanos. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Síncope: Acompaña a la enfermedad arterial pulmonar grave y a la hipertensión pulmonar. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Presión venosa central elevada: Indica una hipertensión pulmonar grave con insuficiencia cardíaca congestiva derecha (ICC) de incipiente a avanzada. Incluye un pulso yugular prominente, venas yugulares distendidas, hepatomegalia y ascitis. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La enfermedad arterial y tromboembolismo pulmonares graves pueden asociarse con epistaxis, coagulación intravascular diseminada (CID), trombocitopenia y posible hemoglobinuria. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Hemoglobinuria: Consecuencia de una enfermedad glomerular grave manifestada por amiloidosis o por una glomerulonefritis por inmunocomplejos. Sus manifestaciones consisten en proteinuria, hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, azoemia, edemas periférico o ascitis. Es un signo del síndrome caval. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

La congestión hepática crónica secundaria a la enfermedad, puede ocasionar daño hepático permanente y cirrosis. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

En ocasiones, los gusanos aberrantes pueden motivar embolización del encéfalo, ojo o de otras arterias sistémicas. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Muchos perros son asintomáticos, presentan una infección oculta, en la cual no hay microfilarias circulantes, se relaciona con una respuesta inmunológica que destruye a las microfilarias dentro del pulmón (infección oculta verdadera), infección unisexual, presencia de gusanos estériles o existencia de vermes inmaduros (infección prepatente). Las infecciones ocultas con frecuencia se asocian con signos morbosos llamativos. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.6. Diagnóstico:

Se basa en una prueba positiva de inmunodiagnóstico o en la presencia de microfilarias en la sangre periférica del perro, con o sin hallazgos clínicos o radiológicos, compatibles con la enfermedad. La prueba no está indicada en los cachorros de menos de 6 meses de edad. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.6.1. Anamnesis:

La mayoría de los perros infectados no han recibido tratamiento profiláctico. Algunos carecen totalmente de signos; otros tienen una taquipnea inexplicada, intolerancia al ejercicio o tos.

Los signos compatibles con hipertensión pulmonar, con o sin ICC derecha evidente, se acompaña de una dirofilariosis grave. (Birchard, S. 2002)

4.4.6.2. Exploración Física:

Los hallazgos varían desde clínicamente normales a signos de ICC derecha. Pueden auscultarse crepitantes pulmonares, roncus y ruidos bronquiales fuertes. En la infección grave, se nota, en forma variable, sonidos pulmonares aumentados o anormales (sibilancias y crujidos), segundo tono cardíaco (S₂) ruidoso y a menudo desdoblado, soplo o click eyectivo en la base izquierda, soplo de la insuficiencia tricuspídea o arritmias cardíacas. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Los signos de hipertensión pulmonar y descompensación cardíaca pueden ser evidentes. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.6.3. Ayudas Diagnósticas:

Incluir un hemograma; donde la eosinofilia es la alteración más frecuente; recuento de plaquetas, perfil bioquímico del suero y un análisis de orina. La radiografía de tórax descubre la gravedad de la enfermedad. Los patrones

característicos comprenden agrandamiento ventricular derecho, comba en el tronco pulmonar y arterias pulmonares lobares tortuosas y con dilatación central y sección periférica. Las arterias de los lóbulos caudales, las cuales suelen afectarse con mayor intensidad, se evalúan mejor en la vista dorso-ventral (DV); bajo condiciones normales el ancho de estos vasos no es mayor que el de la novena costilla (en la intersección costilla-vasos). En la vista lateral, el ancho de la arteria lobar derecha craneal en su intersección con la cuarta costilla no es mayor que el diámetro más estrecho de la costilla en los perros normales. La dilatación de las arterias lobares (sin la concurrente distensión venosa) es fuertemente sugestiva de enfermedad. Es habitual la observación de infiltrados intersticiales o alveolares en manchas sugestivas de infartación, edema, neumonía o fibrosis. Estas opacidades pulmonares son principalmente perivasculares. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

El electrocardiograma (ECG) por lo usual es normal. La enfermedad avanzada puede inducir desvío del eje a la derecha o arritmia. Los perros con insuficiencia cardíaca congestiva inducida por la parasitosis casi siempre tienen registros ECG de agrandamiento ventricular derecho. Las alteraciones en los cuadros avanzados, comprenden dilatación atrial y ventricular derecha, hipertrofia ventricular derecha, movimiento septal paradójico, corazón izquierdo pequeño y dilatación de la arteria pulmonar. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.6.4. Pruebas Inmunodiagnósticas:

Son semicuantitativas porque los rápidos e intensos resultados positivos se consideran en relación con concentraciones antigénicas más elevadas. Detectan el antígeno verminoso circulante del canal reproductivo de las hembras adultas. En su mayor parte son análisis inmunoabsorbentes enzimáticos (ELISA), aunque también son accesibles, un método de hemaglutinación y otro inmunocromatográfico. Estas pruebas son muy específicas y poseen buena sensibilidad. Los

resultados positivos son constantes en presencia, como mínimo, de 3 hembras de 7 a 8 meses o más adultas. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.6.5. Detección de Microfilarias:

La prueba de Knott modificada (prueba de concentración por centrifugación) o una prueba de filtro Milipore, es aceptable para descubrir las microfilarias. Cada método tiene ventajas e inconvenientes, pero su eficacia es similar. Una prueba de concentración debe utilizarse para evaluar los perros con resultados serológicos positivos o signos sugestivos de la enfermedad por gusanos cardíacos y para valorar la eficacia del tratamiento microfilaricida. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Fig. 18: Detección de microfilarias por el método de Knott.



4.4.7. Tratamiento:

La clasificación de la magnitud morbosa es útil para guiar el tratamiento. Los perros con enfermedad leve (clase 1) a moderada (clase 2) reciben la terapia adulticida. Los pacientes con enfermedad grave (clase 3), o aquellos en clase 2 en quienes se desea un manejo más conservador, se tratan con un régimen posológico alternativo. Los perros con síndrome caval (clase 4) no deben recibir medicaciones adulticidas hasta realizar la extracción quirúrgica de los gusanos. (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

Tabla 2. Clasificación de la magnitud de la enfermedad. (Couto, C. 2000)

Clase	Manifestación Clínica	Patrones roentgenográficos	Anormalidades clinicopatológicas
1 (leve)	Ninguna; o tos ocasional, fatiga con la actividad o ligera pérdida de la condición.	Ninguno	Ninguna

2 (moderada)	Ninguna, o tos ocasional, fatiga con la actividad o ligera a moderada pérdida de la condición.	Agrandamiento ventricular derecho y/o cierta dilatación arterial pulmonar; ± opacidades perivasculares e intersticiales/ alveolares mixtas	± Anemia leve (Volumen celular aglomerado 20 a 30 %) ± proteinuria (2 + tiras reactivas)
3 (pronunciada)	Pérdida general de la condición o caquexia; fatiga con la actividad o esfuerzos leves; tos ocasional o persistente; ± disnea; ± insuficiencia cardíaca derecha.	Agrandamiento ventricular ± atrial derecho; dilatación arterial pulmonar moderada a marcada; opacidades alveolares/intersticiales mixtas perivasculares o difusas; ± evidencia de tromboembolismo.	± Anemia (Volumen celular aglomerado < 30%); ± proteinuria (≥ 2 + en tiras reactivas)
4 (muy grave)	Síndrome caval. o de la vena cava.	Agrandamiento arterial pulmonar y cardíaco derecho.	Anemia hemolítica, incremento de las actividades enzimáticas hepáticas y CID. Hemoglobinemia y hemoglobinuria.

4.4.7.1. Tratamiento Adulticida:

Los compuestos arsenicales orgánicos eficaces son el diclorhidrato de melarsomina (2.5 mg/kg) y la tiacetarsamida sódica (2.2 mg/kg); los autores no recomiendan esta última por efectos tóxicos. Se administran en la musculatura epaxial a nivel de la tercera a quinta vértebra lumbar, a cada lado de la línea media dorsal; 2 dosis, separadas por 24 horas. Se debe implementar reposo estricto durante 4 a 6 semanas después de la terapia adulticida para reducir las secuelas del efecto vermicida y tromboembolismo pulmonar. (Birchard, S. 2002)

Contradicciones tratamiento adulticida:

- ✓ Insuficiencia hepática
- ✓ Síndrome nefrótico
- ✓ Insuficiencia renal avanzada.

- ✓ Combinación de ICC derecha y azoemia renal grave
- ✓ Enfermedades graves concomitantes (Birchard, S. 2002)

4.4.7.1.1. Tratamiento de la dirofilariasis clase 3:

La enfermedad arterial pulmonar grave se presenta en el 10% de los perros infestados en las regiones altamente endémicas. Muchas veces las infestaciones son ocultas. (Birchard, S. 2002)

Opción 1: Perros que no precisan de oxigenoterapia suplementaria continua, comen y tienen mucosas normales o de color rosa pálido. Una dosis de diclorhidrato de melarsomina (2.5 mg/kg) y dos dosis de seguimiento, con 24 horas de intervalo, al cabo de 1 a 2 meses. (Birchard, S. 2002)

Opción 2, 3 y 4: Perros hemodinámicamente inestables que precisan oxígeno suplementario, están anoréxicos y tienen mucosas de color muy pálido, gris o cianóticas. (Birchard, S. 2002)

Opción 2: Animales con muchos gusanos en el corazón derecho y las arterias pulmonares. Extracción con pinzas de los gusanos adultos de las arterias pulmonares; tratar con adulticida para matar, si quedan, los gusanos restantes después de haber estabilizado al paciente. (Birchard, S. 2002)

Opción 3: Confinar al animal en jaula 1 a 3 semanas antes, durante y después del tratamiento adulticida; al igual que aplicar aspirina (5mg/kg al día) juntamente con la opción 1 (Una dosis de diclorhidrato de melarsomina (2.5 mg/kg) y dos dosis de seguimiento, con 24 horas de intervalo, al cabo de 1 a 2 meses). (Birchard, S. 2002)

Opción 4: Confinar al animal en jaula, aplicar aspirina (5 mg/kg al día) y heparina (75 unidades/kg, SC, cada 8 horas) 1 semana antes, durante y 3 semanas

después del segundo tratamiento adulticida conjuntamente con la opción 1 (Una dosis de diclorhidrato de melarsomina (2.5 mg/kg) y dos dosis de seguimiento, con 24 horas de intervalo, al cabo de 1 a 2 meses). (Birchard, S. 2002).

4.4.7.1.2. Tratamiento del Síndrome de la Vena Cava:

Se ve frecuentemente en perros jóvenes que han sido objeto de una gran inoculación L3 en un breve período el año anterior. Produciendo un colapso cardiovascular agudo y shock. (Birchard, S. 2002)

La extracción quirúrgica de los gusanos es el único tratamiento agudo recomendado. Se administra terapia de soporte durante 1 a 3 semanas; luego de esto se aplica el tratamiento adulticida para eliminar los gusanos restantes. (Birchard, S. 2002)

4.4.7.2. Tratamiento Microfilaricida:

Antes de aplicar este se debe terminar con el tratamiento adulticida, se recomienda realizarlo 4 semanas después del anterior. La ivermectina y milbemicida oxima son microfilaricidas muy eficaces; se acompañan de un menor número de complicaciones y son los más fáciles de utilizar. (Birchard, S. 2002)

Ivermectina (50 µg/kg) en dilución 1:9 (1 ml de Ivermectina por 9 ml de propilenglicol o agua) a dosis de 1 ml/ 20 kg VO, 4 semanas después del tratamiento adulticida. (Birchard, S. 2002)

Realizar una prueba de concentración de microfilarias a las 3 semanas. Si es positiva, hay 2 opciones:

- Si se descubren pocas microfilarias puede iniciarse la profilaxis con macrólidos y el resto de las microfilarias desaparecerá en un periodo de 6-8 meses.

- Repetir el protocolo de ivermectina; luego repetir, a las 3 semanas, la prueba de concentración de microfilarias. Los resultados positivos de esta prueba indican que probablemente persisten gusanos adultos, lo que exige la repetición de la fase terapéutica adulticida. (Birchard, S. 2002)

Milbemicina oxima: Dosis de 0.5 mg/kg. Mismo protocolo que ivermectina. (Birchard, S. 2002)

4.4.8. Prevención:

Está indicada en todos los perros que viven en las regiones endémicas; donde las condiciones cálidas y húmedas sostenidas son importantes para la transmisión de la parasitosis. (Couto, C. 2000)

La terapia profiláctica puede comenzarse a las 6-8 semanas de edad. Antes de administrar la quimioprofilaxis por primera vez, los perros con suficiente edad para haber sido infectados con anterioridad deben ser analizados por antígeno o microfilarias circulantes. En la actualidad existen tres drogas para prevenir la enfermedad por gusanos cardíacos: los macrólidos (ivermectina (6 a 12 µg/kg), oxima de milbemicina (0.5 a 0.99 mg/kg)) una vez al mes y dietilcarbamazina (2.5 a 3 mg/kg VO a diario). (Couto, C. 2000, Birchard, S. 2002)

4.4.9. Enfermedad en los Humanos:

La *Dirofilaria immitis* al infectar al hombre a menudo causan cuadros pulmonares o cutáneos. *D. immitis* es transmitida por una variedad de mosquitos. En el hombre, parece que el parásito inicia su ciclo desde el tejido subcutáneo, llega al corazón y muere, es arrastrado luego al pulmón con la circulación y allí forma un trombo. Generalmente se encuentra un parásito muerto, que forma un nódulo de 1 a 4 cm en el pulmón. En general, el parásito es un ejemplar juvenil; en pocas ocasiones se han encontrado hembras maduras. En radiología, esta imagen se llama “lesión en moneda”. (Acha, P. 2001)

4.5. ENSAYO INMUNOABSORBENTE LIGADO A ENZIMAS

También conocida como ELISA por sus siglas en inglés (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); es un procedimiento de ensayo inmunoenzimático concebida en 1971 en Suecia y Holanda. Es una técnica altamente sensible y de gran especificidad, que permite realizar en un corto espacio de tiempo estudios sobre grandes poblaciones, de manera sencilla y económica. Esta técnica presenta además una buena reproducibilidad y facilidad en la interpretación de los resultados. (¿Cómo se estudian las inmunoglobulinas? s.f., Técnicas Inmunológicas III. 2009)

Se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con un enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

El área de sus aplicaciones médicas se ha expandido en forma sostenida, siendo utilizada como sustituto de la técnica de Radioinmunoensayo en la medición de hormonas, inmunoglobulinas, antígenos y anticuerpos, en infecciones bacterianas, micóticas, parasitarias o viricas. (Naranjo, W. s.f.)

4.5.1. Fases de un Ensayo ELISA:

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

- ⊕ Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina). El anticuerpo conjugado al enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sandwich, etc. El antígeno marcado se

emplea en ensayos de competición de antígeno. (Métodos de Biología Celular: ELISA. s.f.)

- ⚡ Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos. La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas. (Métodos de Biología Celular: ELISA. s.f.)

- ⚡ Formación de una o más capas de inmunocomplejos. En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti-primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. En el caso del anticuerpo unido a la placa se incubaba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado. Se ensayan diferentes relaciones de antígeno frente a una cantidad fija de antígeno marcado. Es el ensayo de competición del antígeno. (Métodos de Biología Celular: ELISA. s.f.)

- ⚡ Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. (Métodos de Biología Celular: ELISA. s.f.)

4.5.2. Tipos de Técnica de ELISA:

- ⚡ Técnicas cualitativas: esta técnica nos indica la ausencia ó presencia de un antígeno o anticuerpo determinando. Los kits incluyen controles positivos y negativos para poder determinar esta presencia o ausencia de antígenos. Ejemplo: HIV, Hepatitis, etc. (Naranjo, W. s.f.)

- ⊗ Técnicas cuantitativas: esta técnica nos indica la cantidad de antígeno ó anticuerpo presente en la muestra. Los kits incluyen +/- 6 estándares (sueros de diferentes concentraciones del antígeno objetivo) con los cuales se realiza una curva para así poder determinar la concentración de la muestra. Ejemplo: Hormonas, Marcadores tumorales, etc. (Naranjo, W. s.f.)
- ⊗ Técnicas semi-cuantitativas: esta técnica nos da indicio de la cantidad de antígeno ó anticuerpo presente en la muestra con la utilización de un estándar ó calibrador. Ejemplo: ANA, nDNA, etc. (Naranjo, W. s.f.)

4.5.3. Tipos de ELISA:

4.5.3.1. Anticuerpos Marcados:

4.5.3.1.1. ELISA Directo:

Consta de las siguientes etapas:

Fijación al soporte insoluble (“tapizado”) de antígenos específicos. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición de anticuerpos marcados (“conjugados”) con una enzima; si los anticuerpos reaccionan con los antígenos, el complejo quedará solubilizado. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)



Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

4.5.3.1.2. ELISA Indirecto:

Consta de las siguientes etapas:

Fijación al soporte insoluble de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)



ELISA indirecto

Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Añadidura de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

4.5.3.1.3. ELISA Sándwich:

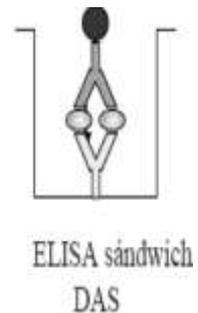
4.5.3.1.3.1. Doble (DAS):

Consta de las siguientes etapas:

Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Añadidura de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítipo diferente de los anticuerpos con los que se han tapizado el soporte) conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)



Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

4.5.3.1.3.2. Heterólogo (HADAS):

Consta de las siguientes etapas:

Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición de la muestra problema (extracto vegetal, sangre, suero, plasma, etc.), de tal forma que si está presente el agente patógeno de diagnóstico (antígeno), reaccionará específicamente con los anticuerpos fijados al soporte. Lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado y los restos de la muestra no fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)



Añadidura de anticuerpos específicos del antígeno a detectar (deben tener un epítopo diferente de los anticuerpos con los que se ha tapizado el soporte), los cuales reaccionan con los antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijados a los anticuerpos. Lavado para eliminar los anticuerpos que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición de anticuerpos conjugados con una enzima anti-anticuerpos empleados en el paso anterior. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Añadidura de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcador. Se puede parar la reacción si se desea. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

4.5.3.2. Antígeno Marcado:

4.5.3.2.1. ELISA Competitivo:

Consta de las siguientes etapas:

Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no

fijados. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Adición en concentración conocida de una mezcla de antígenos del anticuerpo utilizado en el paso anterior, marcados con una enzima y antígenos desconocidos objeto de estudio. Paralelamente, añadir únicamente antígenos del anticuerpo usado en el paso anterior, marcados con una enzima. Lavar para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Añadidura de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno a estudio no tienen nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte. Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra. (Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f.)

El desarrollo de la biología molecular y la producción de anticuerpos monoclonales, ha permitido disponer, en los últimos años, de reactivos de diagnóstico de gran sensibilidad y especificidad, incluso en forma de KITS, de fácil y sencilla realización e interpretación. (Técnicas Inmunológicas III. 2009)

4.6. KIT DE ELISA RÁPIDO (SNAP®)

La muestra y el conjugado se combinan en el tubo para la muestra. El conjugado de la muestra contiene el anticuerpo con una enzima ligada a este. El complejo enzima-anticuerpo se une al antígeno de una muestra infectada. (SNAP® Test Use ELISA Technology. 2011.)

El contenido del tubo para la muestra, al ser agregado al dispositivo SNAP, comienza a fluir en la matriz. El complejo conjugado-antígeno se une al anticuerpo marcado en la matriz. Al ser el dispositivo SNAP activado; la muestra fluye hacia atrás por la matriz. Un flujo bidireccional proporciona una segunda oportunidad al complejo conjugado-antígeno para unirse al anticuerpo. (SNAP® Test Use ELISA Technology. 2011)

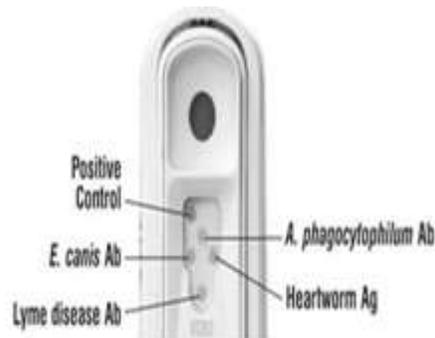
La solución de lavado limpia la matriz de restos del complejo conjugado-antígeno-anticuerpo, que puedan interferir con los resultados. (SNAP® Test Use ELISA Technology. 2011)

La solución de sustrato incolora, interactúa con las enzimas del conjugado. Cada enzima convierte múltiples moléculas del sustrato de incoloras a azules, amplificando la señal. Esta reacción forma puntos azules en la ventana del dispositivo SNAP, para la lectura fácil de un resultado positivo. Cualquier tonalidad azul en las marcas específicas para la muestra indica la presencia de anticuerpos de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, y antígenos de *Dirofilaria immitis*. (SNAP® Test Use ELISA Technology. 2011)

Esta prueba detecta anticuerpos IgM y especialmente la IgG para *A. phagocytophilum* y *E. canis*, por medio del péptido sintético de la proteína de superficie principal (p44/MSP2) se detectan los anticuerpos específicos de *A. phagocytophilum* y las proteínas de membrana externa P30 y P30-1 se utilizan

para detectar los anticuerpos específicos de *E. canis*. Al igual que en las anteriores, detecta anticuerpos contra el péptido C6 de *B. burgdorferi*; que solo está presente cuando existe una infección activa. (Shiwen, W. 2012)

También detecta antígenos (glucoproteína) que se encuentra en todas las partes del parásito adulto, aunque la principal fuente de antígeno circulante es el tracto genital de la hembra madura de *D. immitis*. (Aiello, S. eds. 2000)



V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES:

5.1.1 Recursos Humanos:

Estudiante de Medicina Veterinaria

2 médicos veterinarios asesores de tesis

5.1.2 Recursos Biológicos:

Sangre de 40 perros (*Canis familiaris*)

40 caninos

5.1.3 Recursos de Laboratorio

40 tubos de ensayo con anticoagulante EDTA

Jeringas

40 Kits de ELISA (Kit SNAP 4DX®)

5.1.4 Centros de Referencia:

Biblioteca Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Internet

5.2 METODOLOGÍA:

5.2.1 Área de Estudio

La investigación se llevó a cabo en el municipio de Siquinalá, departamento de Escuintla, Guatemala.

El municipio de Siquinalá se encuentra ubicado en el noroeste del departamento de Escuintla, con una altitud de 336.58 msnm, tiene una extensión territorial de 170 kilómetros cuadrados; se encuentra a una distancia de 82 kilómetros de la ciudad capital y a 23 kilómetros de la cabecera departamental.

Sus coordenadas geográficas son latitud norte 14°18' 21" y longitud oeste 90°57'58".

Sus límites y colindancias son: al norte con Santa Lucía Cotzumalguapa y Escuintla, al sur con La Democracia, al este con Escuintla (municipio) al oeste con Santa Lucía Cotzumalguapa.

El municipio cuenta con los siguientes centros poblados: cabecera municipal (casco urbano) 3 aldeas, 2 comunidades, 27 fincas, 17 colonias, 1 anexo, 1 callejón, 8 caseríos, 4 granjas y 1 villa.

El clima que predomina en la mayor parte del municipio es cálido en sus partes bajas y semitemplado en la parte media del territorio, registrándose temperaturas entre 16 °C la mínima, 32 °C la máxima. La época lluviosa inicia en mayo y finaliza en octubre, dando inicio posteriormente la época seca. Las precipitaciones pluviales anuales pueden alcanzar hasta los 400 mm, los meses más lluviosos, son de julio a septiembre.

5.2.2. Demografía:

Para el año 2009, se contaba con una población de 20,843 habitantes; que se encuentra distribuida entre el área rural 74% y urbana 26%. La distribución por sexo es muy similar, con una mínima diferencia de 1.8% al sexo masculino. (Plan de Desarrollo Siquinalá, Escuintla. 2011)



Fig. 1: Localización del Municipio de Siquinalá.

5.2.3. Selección de la muestra:

Se procedió a tomar las muestras de sangre de 40 caninos al azar; que estén parasitados por garrapatas, sean mayores de 6 meses de edad. Se dividió el municipio en 4 partes, se tomaron 10 muestras de la parte norte, 10 muestras de la parte sur, 10 muestras de la parte este y 10 muestras de la parte oeste.

5.2.4. Procesamiento de la muestra:

Se tomó una muestra de sangre (2 ml), procedente de la vena cefálica; se colocó en un tubo de ensayo con anticoagulante EDTA. Usando la pipeta cuentagotas del kit, se transfirieron 3 gotas de muestra (sangre entera) al tubo de ensayo del kit.

Se le agregaron 4 gotas del conjugado (anti-HW/AP/LY/EC: HRPO), en posición vertical; se tapa el tubo de ensayo, se homogenizó delicadamente.

Se colocó el dispositivo (SNAP 4DX®) en una superficie horizontal, se depositó el contenido del tubo de ensayo dentro del pozo para la muestra.

La muestra fluyó por la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en 30 a 60 segundos aproximadamente.

Al aparecer color en el círculo de activación, se presionó el activador de la prueba con firmeza, hasta que quedó al mismo nivel con el cuerpo del dispositivo (SNAP 4DX®). El resultado se leyó en 8 minutos a partir del momento de activación.

5.2.5. Interpretación:

Si el resultado es positivo, se observa un punto azul en la casilla determinada para cada agente etiológico y el control positivo de la prueba.

Si el resultado es negativo, solo se observa un punto azul en la casilla del control positivo de la prueba.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Los resultados se anotaron en una ficha de datos (ver Anexo 1).

Para el análisis de datos se realizó estadística descriptiva para cada agente etiológico.

La presentación de resultados se ejecutó en gráficas y tablas de resultados (ver anexo 2).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 RESULTADOS:

En este estudio, se utilizaron en total 40 muestras sanguíneas provenientes de perros del municipio de Siquinalá, a las cuales, se les realizó la prueba de ELISA rápida (SNAP 4 dx) para la detección de anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*; de estas muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

Del total de caninos evaluados, reveló que el 63% de éstos, se hallan positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos de 1 o más agentes etiológicos; y el 37% negativos. (Ver Anexos, Gráfica 1)

De la cantidad de muestras positivas, 18 caninos presentaron con anticuerpos circulantes para *Ehrlichia canis*; que representa el 72% de las muestras positivas. (Ver Anexos, Gráfica 2)

En la cantidad de muestras positivas, 4 caninos mostraron anticuerpos circulantes para *Anaplasma phagocytophilum*; que representa el 16% de las muestras positivas. (Ver Anexos, Gráfica 2)

Concerniente a la cantidad de muestras positivas, se apreció un total de 3 caninos con antígenos circulantes para *Dirofilaria immitis*; que representa el 12% de las muestras positivas. (Ver Anexos, Gráfica 2)

No se localizaron muestras positivas para *Borrelia burgdorferi*. (Ver Anexos, Gráfica 2)

En 2 caninos, se detectó positividad a anticuerpos circulantes de *Ehrlichia*

canis y *Anaplasma phagocytophilum*. Además, los 3 caninos positivos a antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, coincidieron con positividad para anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*.

La cantidad de animales, muestreados y con resultados positivos, según el sexo; dio como resultado el 60% para los machos y 40% para las hembras. (Ver Anexos, Gráfica 3)

Del total de machos muestreados se determinó un 67% positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos y 33% negativos. (Ver Anexos, Gráfica 4)

Con respecto a la cantidad de muestras positivas, resultó un total de 13 caninos con anticuerpos circulantes para *Ehrlichia canis*; que representa el 81% de la población de machos positiva. (Ver Anexos, Gráfica 5)

De la cantidad de muestras positivas, aparecieron 2 caninos con antígenos circulantes para *Dirofilaria immitis*; que representa el 13% de la población de machos positiva. (Ver Anexos, Gráfica 5)

En cuanto a cantidad de muestras positivas, solo había 1 canino con anticuerpos circulantes para *Anaplasma phagocytophilum*; que representa el 6% de la población de machos positiva. (Ver Anexos, Gráfica 5)

Por el lado de las hembras, el 56% fueron positivas, a la presencia de anticuerpos/antígenos y 44% negativas. (Ver Anexos, Gráfica 6)

Referido a la cantidad de muestras positivas solo 5 caninos con anticuerpos circulantes para *Ehrlichia canis*; representa el 56% de la población de hembras positiva. (Ver Anexos, Gráfica 7)

De la cantidad de muestras positivas surgieron 3 caninos con anticuerpos circulantes para *Anaplasma phagocytophilum*; representando el 33% de la población de hembras positiva. (Ver Anexos, Gráfica 7)

En relación a la cantidad de muestras positivas apareció 1 canino con antígenos circulantes para *Dirofilaria immitis*; indicando el 11% de la población de hembras positiva. (Ver Anexos, Gráfica 7)

La edad promedio de los perros es de 3 a 5 años aproximadamente, siendo en su totalidad sin raza definida.

6.2 DISCUSIÓN:

ELISA es una prueba serológica utilizada para la detección de antígeno y/o anticuerpos circulantes en una muestra, mediante el empleo de enzimas, unidas al antígeno o al anticuerpo. (Calderón, R. 2007)

El desarrollo de color en la ventana de resultados de la prueba indicó la presencia de anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y antígeno del parásito del corazón *Dirofilaria immitis*. (Calderón, R. 2007)

Los resultados, demuestran la existencia de anticuerpos circulantes, al estar estos perros expuestos al vector con ello a la presencia del agente etiológico en el municipio de Siquinalá. El diagnóstico positivo no indica en qué fase de la infección se encuentra el perro, ya sea, aguda, subclínica o crónica, incluso puede presentarse luego de un tratamiento efectivo lo relevante es, que indica la exposición del perro al agente etiológico. (Buriticá, E. Salazar, H. 2011, Lorente, C. 2004)

No se encontró la presencia de anticuerpos de *Borrelia burgdorferi*, debido a que la distribución geográfica de esta enfermedad, comprende actualmente sólo el hemisferio norte (Estados Unidos, Europa y Asia). (Osorio A, Gonzalo, M. 2001, Rubio, A. Salas, E. Gómez, G. 2011)

No hay una diferencia estadísticamente significativa, en relación al sexo y a la presencia de positividad a la prueba. (Ver Anexo 3)

El agente etiológico, con más casos positivos es *Ehrlichia canis*, puede corresponder a la alta distribución que tiene su vector *Rhipicephalus sanguineus*; ya que, se ha descrito que ocurren casos en cuatro continentes (Asia, África, Europa y América). Está garrapata es más activa y abundante durante el verano, donde se ve favorecido su desarrollo. Además, es capaz de transmitir otros agentes patógenos, entre los que se encuentra: *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma platys*, *Haemobartonella canis*, por lo que no es raro encontrar más de una enfermedad asociada en el mismo animal. Lo cual se pudo comprobar al encontrar 2 caninos con una coinfección de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*. (Warner, T. Harrus, S. 2004, Las garrapatas – “Ticks” – (Ixodida). sf.)

La dirofilariasis, ha sido descrita en todo el mundo sobre todo en zonas tropicales y subtropicales o con humedad constante, debido a que el clima cálido y húmedo proporciona las condiciones ecológicas ideales para el desarrollo del mosquito vector. Muñoz (2003) cita que los culícidos requieren un medio húmedo para desarrollar sus larvas y una temperatura media mayor a 14° centígrados para completar su propio ciclo biológico. Además, la temperatura media debe sobrepasar los 14° centígrados durante dos semanas aproximadamente para que las larvas (L₁) maduren (L₃) dentro del mosquito; si la temperatura es más baja de los 14° centígrados no maduran, sobreviviendo en el mosquito hibernante para completar su desarrollo al darse las condiciones medioambientales favorables. El

parásito se ha adaptado a zonas de clima continental, en las que su transmisión se limita a las estaciones templadas y cálidas. (Muñoz M. 2003)

En el municipio de Siquinalá, predomina el clima cálido y semitemplado; registrando temperaturas que oscilan entre 16° - 32° centígrados, permitiendo que las condiciones ambientales sean las ideales para el desarrollo de los vectores (garrapata, mosquito) con ello, la transmisión de los diferentes agentes etiológicos y el desarrollo del ciclo biológico de estas entidades infecciosas en los caninos.

VII. CONCLUSIONES

1. En el presente estudio, se comprobó la presencia de anticuerpos circulantes contra *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, en perros del municipio de Siquinalá, Escuintla.
2. Se encontró que el 63% de la población muestreada son positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos de los diferentes agentes etiológicos; y el 37% son negativos.
3. A la población canina, que resultó positiva a la prueba de ELISA (SNAP 4dx), en 18 caninos, se manifestaron anticuerpos a *Ehrlichia canis* representando el 72% de las muestras positivas.
4. De los caninos muestreados a través de ELISA SNAP 4dx, 4 caninos, mostraron anticuerpos a *Anaplasma phagocytophilum*, representando el 16% de las muestras positivas.
5. Usando la prueba de ELISA rápida, 3 caninos, resultaron positivos a antígenos a *Dirofilaria immitis*; representando el 12% de las muestras positivas.
6. De las 40 muestras procesadas en ninguna se localizó la presencia de anticuerpos circulantes contra *Borrelia burgdorferi*.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio con un mayor número de muestras sanguíneas y en diferente época del año para conocer cómo se comportan estos agentes etiológicos, en el municipio de Siquinalá, Escuintla.
2. Mantener un mayor control de los diferentes vectores de estas enfermedades, para evitar la propagación de las mismas.
3. Realizar este mismo estudio en otros departamentos, para generar la información del comportamiento de estos agentes etiológicos en toda la república.

IX. RESUMEN

Las enfermedades más importantes causadas por rickettsias encontramos a *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*; siendo transmitidas por un vector, la primera por *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata marrón del perro) y la segunda por las garrapatas del género *Ixodes*, dependiendo de su localización geográfica.

El padecimiento clásico provocado por estos agentes, empieza con un curso agudo a crónico; inducido por una infección de las células mononucleares, donde parasitan el citoplasma de los monocitos, macrófagos y granulocitos.

Al igual que la anaplasmosis, la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, responsable de la enfermedad de Lyme; es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, dependiendo de su localización geográfica.

En la infección con este agente, se pueden presentar diversas manifestaciones clínicas, desde enfermedades en las articulaciones, hasta anomalías neurológicas, cardíacas y renales; siendo el signo clínico más común la claudicación.

La dirofilariasis o enfermedad por gusano de corazón, es causada por el nematodo *Dirofilaria immitis*, transmitido por varias especies de mosquitos, siendo los géneros más implicados *Culex sp.*, *Anopheles sp.*, y *Aedes sp.*

Los signos clínicos de la enfermedad dependen de varios factores: estadio del ciclo de vida, severidad de la infestación y la respuesta del huésped.

En la actualidad existen en el mercado test comerciales de diagnóstico de estas enfermedades basados en la técnica de ELISA.

El objetivo de este estudio es generar información acerca de la presencia de anticuerpos de *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* y antígenos de *Dirofilaria immitis*, por medio de la prueba rápida de ELISA; en perros del municipio de Siquinalá, Escuintla.

Para ello, se utilizaron en total 40 muestras sanguíneas procedentes de perros de la población, luego se realizó la prueba rápida de ELISA; de estas muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

Del total de caninos evaluados, reveló que el 63% de éstos, se hallan positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos de 1 o más agentes etiológicos; y el 37% negativos. (Ver Anexos, Gráfica 1)

De la cantidad de muestras positivas, se encontró un total de 18 caninos con anticuerpos circulantes para *Ehrlichia canis*; que representa el 72% de las muestras positivas; 4 caninos con anticuerpos circulantes para *Anaplasma phagocytophilum*; que representa el 16% de las muestras positivas; 3 caninos con antígenos circulantes para *Dirofilaria immitis*; que representa el 12% de las muestras positivas. No se localizaron muestras positivas para *Borrelia burgdorferi*.

En 2 caninos, se detectó positividad a anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*. Además, los 3 caninos positivos a antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, también coincidió con positividad para anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*.

Los resultados, demuestran la existencia de anticuerpos y antígenos circulantes, indicando que estos perros estuvieron expuestos al vector en algún momento de su vida y, con esto, a la presencia del agente etiológico en el municipio de Siquinalá.

SUMMARY

The most important diseases caused by rickettsia are *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*, being transmitted by a vector, the first by *Rhipicephalus sanguineus* (brown dog tick) and the second by Ixodes ticks, depending on your geographic location. The classic illness caused by these agents, starts with an acute to chronic; induced by infection of mononuclear cells, which parasitize the cytoplasm of monocytes, macrophages and granulocytes.

As anaplasmosis, *Borrelia burgdorferi*, responsible for Lyme disease, is transmitted by Ixodes ticks, depending on geographic location. In infection with this agent can have various clinical manifestations, from joint disease, to neurological, heart and kidney abnormalities, being the most common clinical sign claudication.

The heartworm or heart worm disease is caused by the nematode *Dirofilaria immitis*, transmitted by several species of mosquitoes, being more involved the genres *Culex sp.*, *Anopheles sp.*, and *Aedes sp.* Clinical signs of the disease depend on several factors: the life cycle stage, severity of the infestation and the host response.

The aim of this study is to generate information about the presence of antibodies to *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* and heartworm antigens, through ELISA rapid test, in dogs of Siquinalá, Escuintla.

To do this, was used a total of 40 blood samples from dogs of the population and then underwent rapid ELISA test; these samples gave the following results: Of total dogs evaluated, it was found that 63% of them are positive for the presence of antibodies / antigens of one or more causative agents, and 37% is negative.

From the number of positive samples, was found a total of 18 dogs with antibodies to *Ehrlichia canis*, which represents 72% of the positive samples, 4 dogs with antibodies to *Anaplasma phagocytophilum*, which represents 16% of the positive samples, 3 dogs with circulating antigens to *Dirofilaria immitis*, which represents 12% of the positive samples. No positive samples were found for *Borrelia burgdorferi*.

In two dogs, it was found circulating antibody positivity *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*. Furthermore, 3-positive dogs circulating antigen *Dirofilaria immitis*, were also positive with antibodies for *Ehrlichia canis*. The results demonstrate the existence of antibodies and circulating antigens, indicating that these dogs were exposed to vector at some point in his life and, with this, the presence of the etiologic agent in Siquinalá.

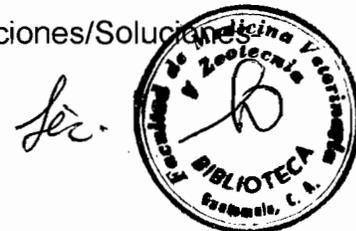
X. BIBLIOGRAFÍA

1. ¿Cómo se estudian las inmunoglobulinas? s.f. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/-ca051.htm>
2. Acha, P; Szyfres B. 2001. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 3 ed. Organización Panamericana de la Salud. v.3. 94-98 p.
3. Aiello, S Eds. 2000. El manual Merck de Veterinaria. 5 ed. Editorial Océano. Barcelona 2558 p.
4. Alleman, R; Wamsley, H. 2008. An update on anaplasmosis in dogs. (en línea). s.l. Consultado 03 ago. 2011. Disponible en <http://veterinary-medicine.dvm360.com/vetmed/Medicine/ArticleStandard/Article/detail/506867>
5. *Anaplasma phagocytophilum*. 2009. (en línea). s.l. Consultado 03 ago. 2011. Disponible en <http://www.aabb.org/resources/bct/eid/Documents/16-9s.pdf>
6. Birchard, S; Sherding, R. 2002. Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies. 2 ed. Editorial McGraw Hill. Madrid.v.2 147-149, 153-154, 655-666 p.
7. *Borrelia burgdorferi*, Lyme disease spirochete. 2011. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://www.metapathogen.com/borrelia/>

S



8. Brito M. s.f. Dirofilariosis Canina. (en línea). Habana, CU. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://infoservet.isch.edu.cu/Soporte/%40/%28-SALUD%2520Y%2520CRIANZA%2520CANINA%29%2520Dirofilariosis%2520canina.doc>
9. Buriticá, E. Salazar, H. 2011. Notas Técnicas. Infección por Ehrlichia canis: patogenia, diagnóstico y recomendaciones terapéuticas. Rev. Ciencia Animal, vol. 4, n. 1, pp. 103-106. (en línea). Colombia. Consultado 12 mar. 2012. Disponible en <http://revistas.ut.edu.co/index.php/CIENCIANIMAL/article/viewFile/634/483>
10. Calderón, R. 2007. Inmunoquímica. México (En línea). Consultado 12 Mar. 2012. Disponible en <https://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>
11. Chomel, B. 2002. Zoonosis Bacterianas de Aparición Reciente. Rev Panam Salud Publica, 11(1). (en línea). s.l. Consultado 13 ago. 2011. Disponible en http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049892002000-100017&sc-ript=sci_arttext&tlng=en
12. Ehrlichiosis canina. s.f. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 13 jun. 2011. Disponible en <http://www.mayorslab.com.ar/enfermedades/ehrlichiosiscanina.pdf>
13. Espiroquetas. s.f. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en clon.uab.es/recursos/descargar.asp?clau='0000002211'
14. Fundamentos y Tipos de ELISAs. s.f. (En línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones%20ELISA%20protocolos.pdf>



15. Hernández, G. Ehrlichiosis y Babesiosis canina. s.f. Situación actual y futuro...(en línea). Colombia. Consultado 13 jun. 2011. Disponible en <http://dover.com.co/edcontinuada/images/pdfs/ehrlichiosis.pdf>
16. Hoyos, L; Li, O; Alvarado, A; Suárez, F; Días, D. 2007. Evaluación del Examen Hematológico en el Diagnóstico de Ehrlichiosis Canina. Rev. investig. Vet. V. 18 n.2. (en línea). Lima, PE. Consultado 06 oct. 2011. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S16099117200700-0200007&script=scj_arttext
17. Johnstone, C. 1998. Clasificación de los nematodos de importancia veterinaria. (en línea). Pennsylvania, USA. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/table1.htm
18. Johnstone, C. 1998. Parásitos del Corazón. *Dirofilaria immitis*. (en línea). Pennsylvania, USA. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_6dsp.htm
19. Las garrapatas – “Ticks” – (Ixodida). sf. (En línea) Consultado 27 jun. 2012. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/dpesante/0000/capitulo-24.PDF>
20. Lester, J; Breitschwerdt, E; Collis, C; Hegarty B. 2005. *Anaplasma phagocytophilum* infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. (en línea). Canadá. Consultado 13 jun. 2011. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1187793/>
21. Lorente, C. Evaluación Hematológica e Inmunofenotípica de “Ehrlichiosis Canina”: Evolución tras la Administración de “Diproprionato de



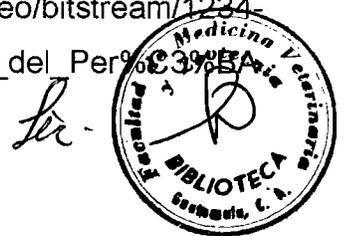
Imidocarb". 2004 España. (En línea). Consultado 27 jun. 2012. Disponible en <http://eprints.ucm.es/tesis/vet/ucm-t28229.pdf>

22. Métodos de Biología Celular: ELISA. s.f. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/43929963/metodo-ELISA>
23. Morgan, R; Bright, R; Swartout, M. 2003. Clínica de Pequeños Animales. 4 ed. Madrid, ES. 1122-1124 p. Consultado 04 oct. 2011. Disponible en http://books.google.com.gt/books?id=DKXj4wO8ZcgC&pg=PA1122&lpq=PA1122&dq=ehrlichiosis+canina&source=bl&ots=lh1HdzORU&sig=wmkUTaNV0PGXb6iv1a8GYI9AgJk&hl=es&ei=rNeLTrXhArs0gHApoz6BA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=10&ved=0CGkQ6AEwCTgU#v=onepage&q=ehrlichiosis%20canina&f=false
24. Muñoz M. *Dirofilaria immitis*. Enfermedad del Gusano del Corazón. 2003 Chile. (en línea). Consultado 28 jun. 2012. Disponible en <https://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvm971d/doc/fvm971d.pdf>
25. Naranjo, W; Pérez, J; Ruelas, A. s.f. Lavador de Pruebas ELISA. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://proton.ucting.udg.mx/expodec/abr2003/memoria/electronica/EL-13.PDF>
26. Nelson, R; Couto, C; Bunch, S; Grauer, G; Hawkins, E; Johnson, C; Lappin, M; Meric, S; Ware, W; Willard, M. 2000. Medicina Interna de Animales Pequeños. 2 ed. Editorial Intermédica. Argentina. 177-192 p.
27. Osorio, A; Gonzalo, M. 2001. Búsqueda de la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* sensu lato mediante PCR en garrapatas ixoideas chilenas silvestres. Rev. méd. vol.129, n.3, pp. 270-276. (en línea). Chile. Consultado

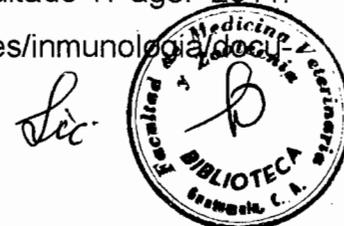


do 24 ene. 2012. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872001000300006&script=sci_arttext

28. Paniagua, M; Guzmán, C. 2010. Características Hematológicas, Bioquímicas e Histopatológicas de Ehrlichiosis Canina (Hospital Universitario de Veterinaria). (en línea). Tesis Lic. M. V. Santa Cruz de la Sierra, Bo. U.A.G.R.M. Consultado 04 oct. 2011. Disponible en http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/PANIAGUA%20LILIANA-20101105-113350.pdf
29. Plan de Desarrollo Siquinalá, Escuintla. 2011. (en línea). Guatemala, GT. Consultado 28 ago. 2011. Disponible en http://www.segeplan.gob.gt/2.0/index.php?option=com_k2&view=item&task=download&id=39
30. Quiroz, H. 2005. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa. México. 620-624 p.
31. Reyes, E; Ruíz, H; Escobedo, J; Rodríguez, I; Bolio, M; Polanco, A; Manrique, P. 2011. Situación Actual y Perspectivas para el Estudio de las Enfermedades Zoonóticas Emergentes, Reemergentes y Olvidadas en la Península de Yucatán, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems, V.14 n. 1. (En línea). Yucatán, MX. Consultado 13 ago. 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/939/93915703003.pdf>
32. Rubio, A; Salas, E; Gómez, G. 2011. Presencia de Anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma sp* en Canes de la Ciudad de Lima. Rev Inv Vet, vol. 22, n. 3, pp 233-238. (en línea). Perú. Consultado 12 mar. 2012. Disponible en http://ateneo.unmsm.edu.pe/ateneo/bitstream/1234-56789/2719/1/Revista_de_Investigaciones_Veterinarias_del_Peru_2011_08v22n3_2011.PDF



33. Salinas, J; Ávalos, R; Riojas, V; Martínez, A. 1999. Serological Survey of Canine Borreliosis. Rev. Latinoam. Microbiol. 41:1-3. (en línea). Nuevo León, Monterrey, MX. Consultado 13 ago. 2011. Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-1999/mi991a.pdf>
34. Shiwen, W. Jing, H. Zhang, L. 2012. Serological investigation of vector-borne disease in dogs from rural areas of China. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 102 – 103. (en línea). China. Consultado 12 ene. 2012. Disponible en <http://apjtb.com/zz/20122/5.pdf>
35. Simón, F. 2011. La dirofilariasis animal y humana en España. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/7338/>
36. SNAP® Test Use ELISA Technology. 2011. (en línea). USA. Consultado 02 sept. 2011. Disponible en http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/small-animal/inhouse/snap/common/technology.jsf
37. Soulsby, E. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Editorial Interamericana. 7 ed. México. 307-311 p.
38. Tamí, I. 2003. Ehrlichiosis humana: Ehrlichia trombocítica en sangre periférica. Rev. Soc. Ven. Microbiol. V. 23 n. 2. (en línea). Caracas, VE. Consultado 18 jul. 2011. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S131525562003000200007&script=sci_arttext
39. Técnicas Inmunológicas III. 2009. (en línea). s.l. Consultado 17 ago. 2011. Disponible en <http://www.ucm.es/info/saniani/troncales/inmunologia/documentostemas/Tema%2012.pdf>



40. Tinoco, L; Quiroz, H; Quintero, M; Renteria, T; Barreras, A; López, G; Hori, S; Tamayo, A; Rico, O; Moro, M; Inasco J. 2007. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in Dogs from a Mexico- U.S. Border Desert region: Pilot Study. J Anim. Vet. Adv. 6 (6): 787-789. (en línea). s.l. Consultado 13 ago. 2011. Disponible en <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2007/787-789.pdf>
41. Waerner, T; Harrus, S. 2000. Ehrlichiosis monocítica canina. (en línea). New York, USA. Consultado 13 jun. 2011. Disponible en http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/waner_es/ivis.pdf



XI. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de Datos

“Determinación de la presencia de Anticuerpos circulantes de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y Antígenos circulantes de *Dirofilaria immitis*, a través de la Prueba Rápida de ELISA, en perros, del municipio de Siquinalá, Escuintla”.

Nº de perro:

Sexo:

Raza:

Edad aproximada:

Juvenil (1 año)

Adulto (1 a 7 años)

Senil (8 años en adelante)

Anexo 2. Tabla de Resultados

Nº de Muestra	Sexo	Raza	Positivo / Negativo			
			EC	AP	BB	DI
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

Tabla 1. Caninos positivos y negativos a la prueba de ELISA.

Caninos Muestreados	Positivos	Negativos
40	25	15

Gráfica 1. Porcentaje de caninos positivos y negativos a la prueba de ELISA.

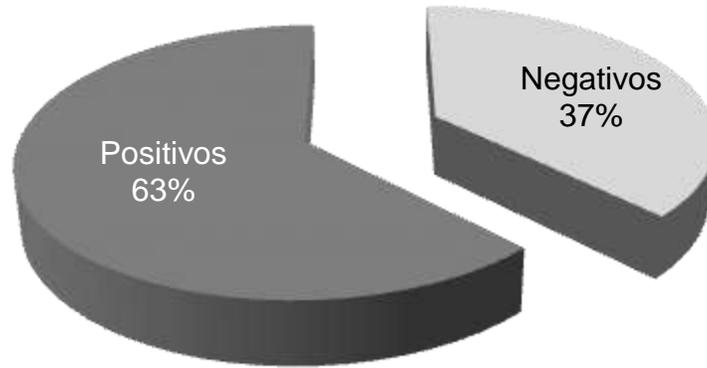


Tabla 2. Caninos positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.

Muestra Positiva	Positivo a:			
	<i>E. canis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>B. burgdorferi</i>	<i>D. immitis</i>
25	18	4	0	3

Gráfica 2. Número de caninos positivos, a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.

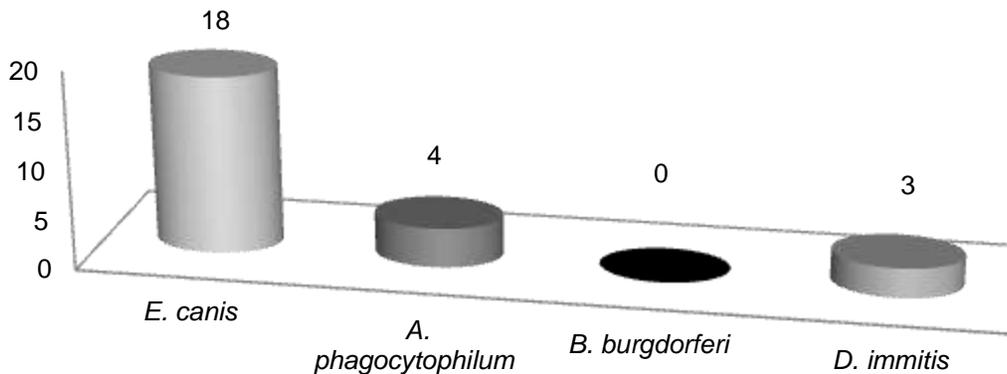


Tabla 3. Caninos muestreados según el sexo.

Caninos Muestreados	Machos	Hembras
40	24	16

Gráfica 3. Porcentaje de caninos muestreados según el sexo.

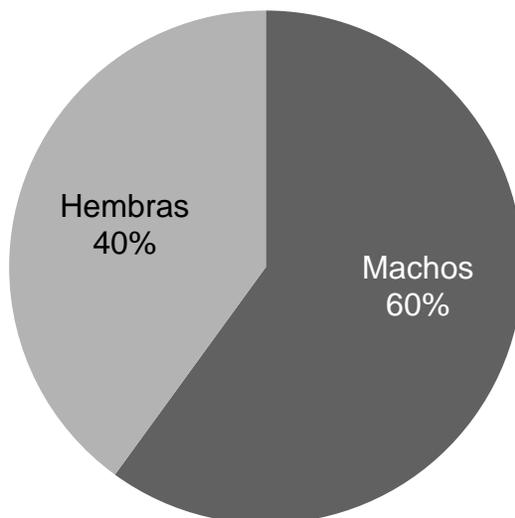


Tabla 4. Caninos machos positivos y negativos a la prueba de ELISA.

Caninos Muestreados	Positivos	Negativos
24	16	8

Gráfica 4. Porcentaje de caninos machos positivos y negativos a la prueba de ELISA.

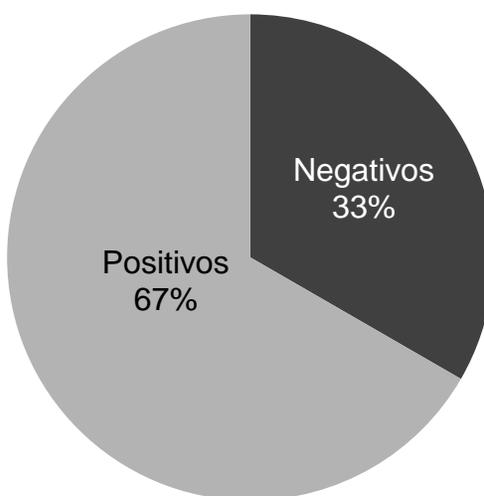


Tabla 5. Caninos Machos positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.

Muestra Positiva de Caninos Macho	Positivo a:			
	<i>E. canis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>B. burgdorferi</i>	<i>D. immitis</i>
16	13	1	0	2

Gráfica 5. Número de caninos machos positivos a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.

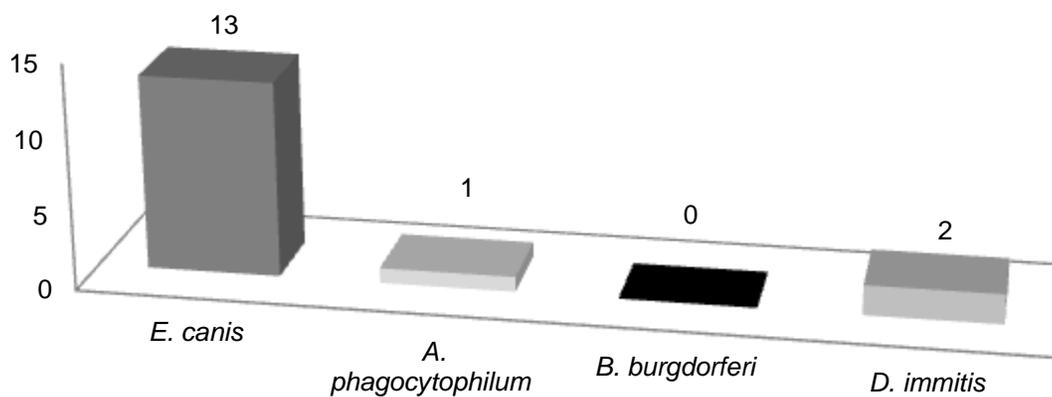


Tabla 6. Caninos hembras positivas y negativas a la prueba de ELISA.

Caninos Muestreados	Positivos	Negativos
16	9	7

Gráfica 6. Porcentaje de caninos hembras positivas y negativas a la prueba de ELISA.

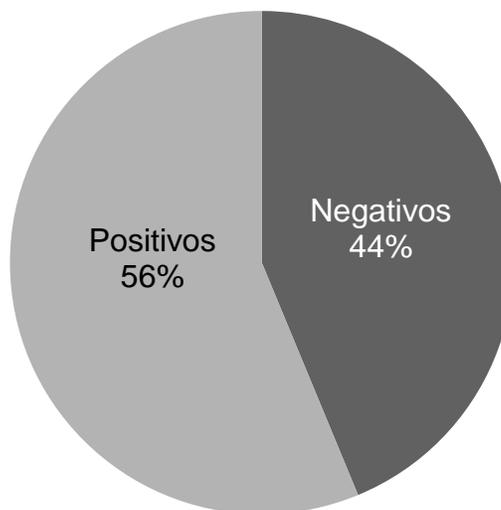
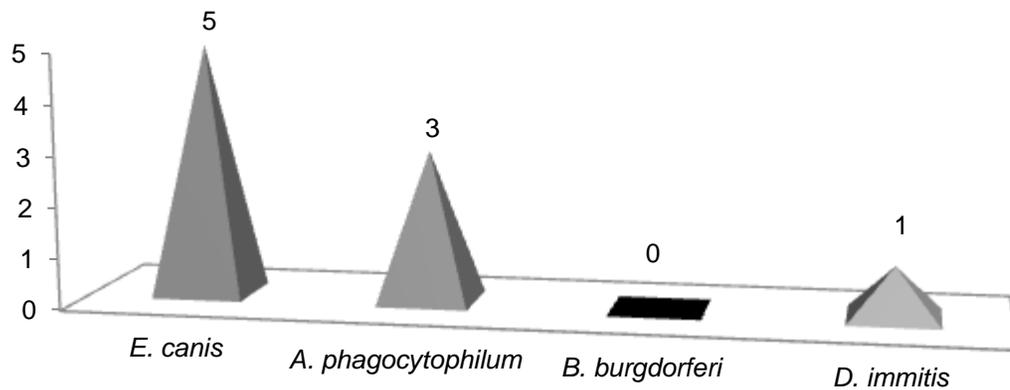


Tabla 7. Caninos hembras positivas a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.

Muestra Positiva de Caninos Hembras	Positivo a:			
	<i>E. canis</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>B. burgdorferi</i>	<i>D. immitis</i>
9	5	3	0	1

Gráfica 7. Número de caninos hembras positivas a la presencia de anticuerpos/antígenos a la prueba de ELISA; según cada agente etiológico.



Anexo 3. Prueba χ^2 . Utilizada para comprobar si dos características cualitativas están relacionadas entre sí.

Tabla 8. Animales infectados por sexo.

Resultado	Positivos	Negativos	Total
Machos	16	8	24
Hembras	9	7	16
Total	25	15	40

H_0 = No existe diferencia entre el sexo del canino y la presencia de positividad a la prueba.

H_a = Existe diferencia entre el sexo del canino y la presencia de positividad a la prueba.

$$X^2 = [(ad) - (bc) - N/2]^2 * N / (a+b)(c+d)(a+c)(b+d)$$

$$X^2 = [16*7 - (8*9) - 40/2]^2 * 40 / (16+8)(9+7)(16+9)(8+7) =$$

$$X^2 = 16,000 / 144,000 =$$

$$X^2 = 0.11$$

X^2 calculado (0.11) > X^2 tabulado (3.84) = No se rechaza la H_0 ; estableciendo que no hay diferencia entre el sexo del canino y la presencia de positividad a la prueba.

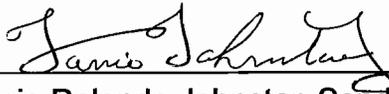
**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE "MEDICINA VETERINARIA"**

**"DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CIRCULANTES DE *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*,
Borrelia burgdorferi Y ANTÍGENOS CIRCULANTES DE *Dirofilaria
immitis*, A TRAVÉS DE LA PRUEBA RÁPIDA DE ELISA, EN
PERROS, DEL MUNICIPIO DE SIQUINALÁ, ESCUINTLA."**



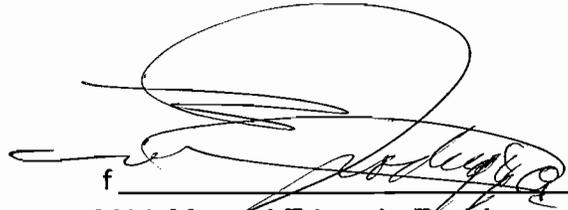
f

Br. GEORGINA LARISSA BARAHONA MIJANGOS



f

M.V. Janio Rolando Johnston Sandoval
ASESOR PRINCIPAL



f

M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea
ASESOR

IMPRÍMASE:



f

MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO

