UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

FACULTAD DE CIENCIAS DE AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CLÍNICA Y CIRUGÍA DE PEQUEÑAS ESPECIES

Tema de tesis:

Detección molecular de *Ehrlichia canis* en perros sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo asociados en el cantón Huaquillas (Ecuador)

Autor

M.V.Z. Luis Guillermo Gallardo Ramírez.

Modalidad de titulación:

Tesis de grado

TUTOR:

Johon Armando Luna Florín M.V.Z., M.Sc.

Machala, 2025

DEDICATORIA

Gracias a mi querida esposa, Katherine Orellana Luna, por ser mi compañera incansable, por un amor que supera cualquier obstáculo, por la paciencia y por compartir cada momento de esta larga transición. Gracias a todas tus atenciones incondicionales, muchos de mis logros son tuyos también y fue tu comprensión y abrazo los que me apoyaron para cumplir con el trabajo de culminación de maestría. A mis queridos hijos, César Gallardo Orellana y Sara Gallardo Orellana, gracias por ser fuente constante y permanente de inspiración y por ser mis motivadores. Gracias por su amor y alegría que nos dan todos los días. A mis padres, Luis Gallardo Galarza y María Ramírez Chamba, gracias por darme todo lo que soy; agradezco sus enseñanzas, amor y dedicación y apoyo sincero y leal que siempre me ha dado el impulso para lograr mis metas y objetivos en mis más de 40 años de vida. A todos ellos, este logro personal es para ustedes. Sin ustedes, nada de esto sería posible.

Luis Gallardo Ramírez.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi esposa Katherine Luna por su amor incondicional, paciencia y apoyo ilimitado. Gracias por ser mi fuerza en este proceso, por su comprensión y por siempre motivarme a seguir. A mis hijos César y Sara, por su alegría y amor, y por ser mi razón de ser. gracias por entender mis momentos de ausencia y siempre ser mi mayor motivación para esforzarme. A mis padres Luis y María Del Carmen, quienes desde pequeño me enseñaron el valor de la dedicación y el trabajo. Gracias por su incondicional apoyo, su sacrificio y su ejemplo, sin ustedes este logro no hubiese sido posible. A mi director Johon Luna Florín, por su orientación y apoyo en la investigación. A mis docentes, por su conocimiento, orientación y críticas constructivas. Gracias por ser mis guías en este camino y formación académica. A mis amigos y compañeros, por su amistad, apoyo, colaboración y compartir ideas e inquietudes. A aquellas personas que colaboraron directa o indirectamente con el mismo, gracias por su disposición y tiempo. Y a todas las personas que de una forma u otra creyeron en mí y me motivaron a seguir, este es su logro.

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

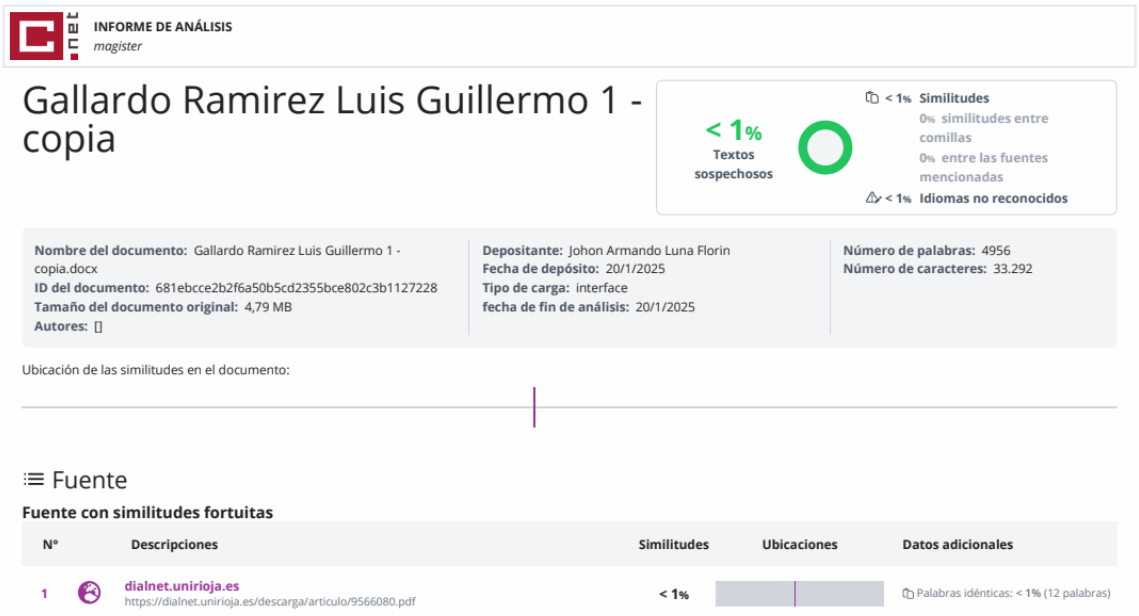
Yo, Luis Guillermo Gallardo Ramírez con C.C. 0705050151, declaro que el trabajo de "Detección molecular de Ehrlichia canis en perros sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo asociados en el cantón Huaquillas (Ecuador)", es original y auténtico; cuyo contenido: conceptos, definiciones, datos empíricos, criterios, comentarios y resultados son de mi exclusiva responsabilidad.

Luis Guillermo Gallardo Ramírez

0705050151

Machala, 2025/01/11

REPORTE DE SIMILITUD URKUND/TURNITIN



INFORME DE ANÁLISIS
magister

Gallardo Ramirez Luis Guillermo 1 - copia

< 1% Textos sospechosos

< 1% Similitudes
0% similitudes entre comillas
0% entre las fuentes mencionadas
< 1% Idiomas no reconocidos

Nombre del documento: Gallardo Ramirez Luis Guillermo 1 - copia.docx
ID del documento: 681ebcce2b2f6a50b5cd2355bce802c3b1127228
Tamaño del documento original: 4,79 MB
Autores: []

Depositante: Johon Armando Luna Florin
Fecha de depósito: 20/1/2025
Tipo de carga: interface
fecha de fin de análisis: 20/1/2025

Número de palabras: 4956
Número de caracteres: 33.292

Ubicación de las similitudes en el documento:

Fuente

Fuente con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	dialnet.unirioja.es https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/9566080.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (12 palabras)

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Johon Armando Luna Florín M.V.Z., M.Sc. con C.C. 0703240069 ; tutor del trabajo de "Detección molecular de Ehrlichia canis en perros sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo asociados en el cantón Huaquillas (Ecuador)", en opción al título de Magister en Maestría en Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies, ha sido revisado, enmarcado en los procedimientos científicos, técnicos, metodológicos y administrativos establecidos por el Centro de Posgrado de la Universidad Técnica de Machala (UTMACH), razón por la cual doy fe de los méritos suficientes para que sea presentado a evaluación.

Johon Armando Luna Florín M.V.Z., M.Sc.
C.C. 0703240069

Machala, 2025/01/11

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Luis Guillermo Gallardo Ramírez con C.C. 0705050151, autor del trabajo de titulación "Detección molecular de Ehrlichia canis en perros sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo asociados el cantón Huaquillas (Ecuador)", en opción al título de Magister en Maestría en Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies, declaro bajo juramento que:

- El trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional. En consecuencia, asumo la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.
- Cede a la Universidad Técnica de Machala de forma exclusiva con referencia a la obra en formato digital los derechos de:
    a. Incorporar la mencionada obra en el repositorio institucional para su demostración a nivel mundial, respetando lo establecido por la Licencia *Creative Commons Atribution-NoCommercial* – Compartir Igual 4.0 Internacional (CC BY NCSA 4.0); la Ley de Propiedad Intelectual del Estado Ecuatoriano y el Reglamento Institucional.
    b. Adecuarla a cualquier formato o tecnología de uso en INTERNET, así como correspondiéndome como Autor la responsabilidad de velar por dichas adaptaciones con la finalidad de que no se desnaturalice el contenido o sentido de la misma.

Luis Guillermo Gallardo Ramírez

0705050151

Machala, 2025/01/11

RESUMEN

El presente estudio fue diseñado y ejecutado para determinar la presencia de *Ehrlichia canis* en perros con sintomatología y sin sintomatología provenientes del cantón Huaquillas, Ecuador a través de técnicas de diagnóstico molecular y epidemiológico. Para esto, se trabajó con dos grupos de estudio: el Grupo A, que consistió en 30 perros con anticuerpos positivos para E. canis detectados por la prueba de inmunocromatográfica específica, y en el Grupo B: se incluyeron 30 perros con infección asintomática de E. canis, pero con factores de riesgo presentes, como antecedente reciente de picadura de garrapata o diagnóstico previo de ehrlichiosis.

La detección molecular, especialmente la PCR, se utiliza principalmente en situaciones donde el diagnóstico clínico es incierto o cuando el tratamiento debe iniciarse rápidamente, dada la posibilidad de complicaciones graves como daño a órganos internos, hemorragias o problemas neurológicos.

Las herramientas para detección molecular son técnicas que permiten identificar material genético específico de patógenos. Las principales herramientas son: 1. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa): Amplifica secuencias específicas de ADN, permitiendo la detección de patógenos a partir de muestras biológicas. Es ampliamente utilizado por su alta sensibilidad.

Este estudio se centra en la detección molecular por medio de la amplificación del ADN, utilizando cebadores específicos o Primers, para pruebas de PCR de punto final donde las variables de raza, sexo, carga parasitaria y edad, fueron objeto de análisis para identificar la presencia del patógeno en ambos grupos e identificar si existe algún razonamiento entre ellas y el contagio.

Palabras clave: Ehrlichia canis, PCR, diagnóstico molecular, factores de riesgo.

ABSTRACT

The present study was designed and executed to determine the presence of Ehrlichia canis in dogs with and without symptoms from the Huaquillas canton, Ecuador, using molecular and epidemiological diagnostic techniques. To do this, we worked with two study groups: Group A, which consisted of 30 dogs with positive antibodies for E. canis detected by the specific immunochromatographic test, and Group B, which included 30 dogs with asymptomatic E. canis infection but with present risk factors, such as a recent history of tick bite or previous diagnosis of ehrlichiosis.

Molecular detection, especially PCR, is mainly used in situations where the clinical diagnosis is uncertain or when treatment must be initiated rapidly, given the possibility of serious complications such as damage to internal organs, bleeding or neurological problems.

Molecular detection tools are techniques that allow the identification of specific genetic material of pathogens. The main tools are: 1. PCR (Polymerase chain reaction): Amplifies specific DNA sequences, allowing the detection of pathogens from biological samples. It is widely used due to its high sensitivity.

Molecular detection tools are techniques that allow the identification of specific genetic material from pathogens. This study focuses on molecular detection by means of DNA amplification, using specific primers or Primers, for end-point PCR tests where the variables of race, sex, parasitic load and age were analyzed to identify the presence of the pathogen in both groups and to identify if there is any reasoning between them and contagion. us. The main tools are: 1. PCR (Polymerase chain reaction): Amplifies specific DNA sequences, allowing the detection of pathogens from biological samples. It is widely used for its high sensitivity.

Keywords: Ehrlichia canis, PCR, molecular diagnosis, risk factors

ÍNDICE GENERAL

Tabla de contenido

DEDICATORIA 2
AGRADECIMIENTOS 3
RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA 4
REPORTE DE SIMILITUD URKUND/TURNITIN 5
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR 6
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR 7
RESUMEN 8
ABSTRACT 9
ÍNDICE GENERAL 10
INTRODUCCIÓN 12
Objetivo General: 13
Objetivos Específicos: 13
CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO. 14
1.1 *Ehrlichia canis* y la Ehrlichiosis Canina 14
1.2 Agente etiológico 15
1.3 Historia y evolución de Ehrlichia Canis 15
1.4 Taxonomía 16
1.5 Ciclo biológico de *Ehrlichia canis* 17
1.6 Manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis 17
1.7 Diagnóstico Molecular de *Ehrlichia canis* 18
1.8 Factores de Riesgo Asociados con *Ehrlichia canis* 19
1.9 Impacto en la Salud Pública y Bienestar Animal 19
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA. 20
2.1 TIPO DE ESTUDIO. 20
2.2 PARADIGMA. 20
2.3 UBICACIÓN. 20
2.4 POBLACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA. 20
2.4.1 Criterios de exclusión. 21
2.4.2 Criterios de inclusión. 21
2.5 MATERIALES. 21
2.6 INMUNOCROMATOGRAFÍA. 21
2.7 EXTRACCIÓN DE ADN. 23
2.8 DETECCIÓN MOLECULAR DEL ADN DE E. canis. 24
CAPITULO 3 RESULTADOS 26

Prevalencia en sintomáticos 26
3.2 Prevalencia en asintomáticos 26
3.3 Análisis por raza: 27
CAPITULO 4 DISCUSIÓN. 29
CAPITULO 5 CONCLUSIONES 32
CAPITULO 6 RECOMENDACIONES 34
A la vista de nuestro análisis se proponen las siguientes medidas: 34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 36
ANEXO A 39
ANEXO B 42

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por garrapatas representan un serio problema de salud para los perros en las áreas tropicales y subtropicales, dado que los factores ambientales en estos lugares propician la proliferación de los vectores. En medicina veterinaria, una de las más significativas es la Ehrlichiosis canina, una infección intracelular ocasionada por Ehrlichia canis que infecta principalmente los leucocitos. Esta enfermedad puede variar de manifestaciones asintomáticas a cuadros graves y llegar a ser letal en ausencia de tratamiento. Asimismo, la manifestación de la enfermedad es muy variable, por lo que algunos perros infectados seguirán siendo asintomáticos, lo que facilita su periodo de latencia y la dispersión de la enfermedad. En Ecuador, la ehrlichiosis canina ha sido reportada en varias regiones, por otro lado, en el cantón Huaquillas que, al ser un cantón de clima cálido, y alta presencia del vector Rhipicephalus sanguineus, el cual hace lo mismo con E. canis.

Con todo, el impacto de la ehrlichiosis canina está poco documentado y no se ha investigado en perros sintomáticos y asintomáticos en esta área. Por lo tanto, la epidemiología y la vigilancia son fundamentales en la comprensión de la progresión de la enfermedad y el desarrollo de medidas integrales para su prevención. Es crucial detectar la enfermedad antes de la aparición de los síntomas.

Por lo cual la detección molecular es una técnica fundamental en la microbiología moderna que permite identificar patógenos de manera precisa y específica a través del análisis de su material genético. Esta metodología ha revolucionado la forma en que se diagnostican diversas enfermedades, permitiendo la detección temprana y el seguimiento de infecciones incluso cuando los síntomas clínicos no son visibles, en estado subclínico y con factores de riesgo asociados como a la exposición a garrapatas y la historia clínicas de los pacientes y las infecciones presentes.

Los cebadores específicos (también conocidos como primers) son secuencias cortas de ADN o ARN que se utilizan en técnicas de amplificación molecular, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para iniciar la síntesis de una secuencia de ADN específica que está presente en el patógeno o la muestra de interés. En el contexto de la detección molecular, los cebadores son herramientas fundamentales para asegurar que la amplificación se dirija únicamente a la región deseada del genoma del patógeno 16S rRNA de *E. canis*, lo que permite su identificación precisa.

Objetivo General:

- Determinar la presencia molecular de Ehrlichia canis en perros sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo asociados en la ciudad de Huaquillas, Ecuador, con el fin de establecer su prevalencia y su relación con las condiciones clínicas y ambientales de los animales afectados.

Objetivos Específicos:

- Identificar la prevalencia molecular de Ehrlichia canis en perros sintomáticos y asintomáticos mediante la prueba de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).
- Determinar los factores de riesgo asociados a la infección por Ehrlichia canis, considerando la presencia de vectores, las condiciones ambientales y el historial médico de los perros del cantón Huaquillas.
- Comparar las manifestaciones clínicas observadas en perros infectados sintomáticos con las condiciones de perros asintomáticos.
- Proponer medidas de prevención y control basadas en los resultados obtenidos, orientadas a disminuir la incidencia de Ehrlichia canis en el cantón Huaquillas.

CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO.

1.1 *Ehrlichia canis* y la Ehrlichiosis Canina

La *Ehrlichia canis* es un patógeno intracelular obligado, miembro del género Ehrlichia en la familia Anaplasmataceae que da origen a la ehrlichiosis canina. *E. canis* se distribuye en todo el mundo y su principal vehículo de transmisión son las garrapatas, particularmente Rhipicephalus sanguineus, la garrapata marrón del perro, que es el vector biológico. E. canis infecta a los leucocitos del perro, donde se replica produce una gran variedad de signos clínicos, que varían de leves a severos. Los signos iniciales a menudo aparecen dentro de una a dos semanas después de la exposición sexual, incluida la fiebre, anorexia y linfadenopatía. E. Canis puede causar eritema, así como varios grados de alteraciones de la conciencia que van desde el letargo hasta el coma. Ocasionalmente se ven daños en el hígado, los riñones y el sistema nervioso central (1). EMC es una enfermedad infecciosa que afecta a perros domésticos y especies silvestres; tiene distribución mundial, pero está muy extendida en áreas tropicales y subtropicales (2).

La infección provocada por E. canis es incierta en términos generales, y tanto su gravedad como su progresión no están desarrolladas. Del mismo modo, la enfermedad es para la mayoría de las infecciones subclínica asintomática; algunas de ellas presentan progresión de los signos y síntomas desde la forma aguda hasta la crónica, y varias de las mortales siguen dedicándose a no hacer seguimiento. Es, por lo tanto, crítico que se haga una identificación, dado que varias de estas complicaciones tienen medios adicionales y, posteriormente, pronóstico.

La infección por E. canis puede ocurrir en tres fases clínicas: aguda, subclínica y crónica. Los signos clínicos de la fase aguda incluyen fiebre, linfadenopatías, anorexia y letargia. En la fase subclínica, el microorganismo puede permanecer en el hospedero sin causar signos evidentes. Finalmente, si las infecciones no se tratan, estas pueden ser crónicas; la

trombocitopenia, la anemia y variadas otras anormalidades hematológicas son frecuentes signos significativos de la enfermedad acerca de las alteraciones crónicas severas (3).

1.2 Agente etiológico

La garrapata marrón del perro, Rhipicephalus sanguineus, es un ectoparásito cosmopolita que se destaca por su capacidad para transmitir diversos patógenos que afectan a los perros, entre los cuales se encuentran Ehrlichia canis, el agente etiológico de la ehrlichiosis canina, y Babesia canis, el protozoo responsable de la babesiosis canina. R. sanguineus es cosmopolita y, además, se empareja con estilos de vida humanos con los que se ha adaptado con notable éxito. La especie habita el interior de las construcciones humanas, desde cuya geotermia y humedad logro subsistir y mantener sus actividades de vida durante todo el año, incluso en áreas de clima templado. (4)

1.3 Historia y evolución de Ehrlichia Canis

La primera identificación de *Ehrlichia canis* se remonta a 1935. Los investigadores Donatien y Lestoquard, en el Instituto Pasteur de Argelia, describieron los síntomas de fiebre y anemia de un perro enfermo infectado por garrapatas; la naturaleza de la bacteria se describió al observar células sanguíneas de perros enfermos y dos microorganismos se encuentran dentro de los monocitos, pero por error se asociaron inicialmente con especies de Rickettsia (5).

En 1945, el bacteriólogo alemán Paul Ehrlich renombró el agente patógeno como Ehrlichia canis en honor a él y a su contribución al estudio de las enfermedades infecciosas. Desde esta fecha, la enfermedad fue reconocida como la causa de lo que había sido referido hasta entonces como “tifus canino”. Más tarde conocido, específicamente, como ehrlichiosis canina, una patología causada por la bacteria Ehrlichia canis que es transmitida por garrapatas y que en su mayoría afecta a los perros (6).

E. canis se reportó en diferentes áreas del mundo durante los próximos decenios. Se había mencionado en África e India y se había probado como patología hasta los Estados

Unidos y, más actualmente, en naciones como Chile (7). Los signos clínicos de la enfermedad resultaron ser fiebre, una enfermedad de leve gravedad y algunos signos asociados, como anorexia y secreción nasal.

Un caso clínico fue reportado en 2012, ubicado en Arica, Chile, presentando un significado clínico de E. canis. Los autores refirieron un caso clínico de una perra mestiza siberiana, que sufrió una enfermedad grave, junto al desarrollo de hematomas y sangrado oral después de un período corto (8). Después de una disminución significativa en el recuento plaquetario, el diagnóstico molecular se confirmó por PCR. La pertinencia de las técnicas moleculares en la detección de E. canis se relaciona con la detección de patologías, como se describe en este paciente.

Hasta el momento, el E. canis es un patógeno disciplinario en la medicina veterinaria y la identificación es indispensable para eludir complicaciones graves. Adicionalmente, la prevención sigue siendo fundamental para el trabajo, a pesar del progreso significativo en el presente. Evidentemente, el seguimiento implica el dominio del control, el entorno y el instinto para acciones preventivas, como la higiene (9).

1.4 Taxonomía

Ehrlichia y Anaplasma son dos géneros de una familia de bacterias llamada Anaplasmataceae. La anterior estaba custodiada en la familia Rickettsiaceae y la posterior en Anaplasmataceae, ambos grupos formas de un tipo de bacterias conocidas como Rickettsiales. No obstante, a medida que pasó el tiempo y la ciencia progresa y surgen nuevos campos de estudio como el análisis de secuencias genéticas, se halló que Ehrlichia y Anaplasma compartían más características de las que se pensaba inicialmente. Como resultado, sus clasificaciones familiares se reorganizaron para incluir a Ehrlichia y Anaplasma en la misma familia, con otros géneros, Neorickettsia y Wolbachia. (10, 11).

Las especies de *Ehrlichia* se clasifican en tres grupos principales, según el tipo de células que afectan. Uno de estos grupos es el genogrupo E.

Tabla 1

Especies de *Ehrlichia*

Genogrupo	Especies Incluidas	Enfermedades Asociadas	Huésped Afectado
Genogrupo *E. canis*	*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*	Ehrlichiosis en perros y humanos	Perros y humanos
Genogrupo *E. phagocytophila*	*E. phagocytophila*, *E. equi*, *A. platys*	Ehrlichiosis Granulocítica Humana (HGE)	Perros, humanos y plaquetas
Genogrupo *E. senetsu*	*E. sennetsu*, *E. resticii*, *E. bovis*	Enfermedades menos comunes pero importantes	Animales (principalmente perros)

1.5 Ciclo biológico de *Ehrlichia canis*

El ciclo biológico de E. canis implica tanto al vector como al hospedador. La bacteria se replica dentro de las células mononucleares del hospedador infectado se pueden producir estados de infección crónica. Al alimentarse de un hospedador, las garrapatas infectadas liberan saliva infectada en el torrente sanguíneo del hospedador, transmitiendo el patógeno durante un festín. De esta manera, se mantiene la presencia del patógeno en áreas endémicas para el vector en un ciclo interminable (12).

1.6 Manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis

La ehrlichiosis canina se divide en tres fases principales:

La ehrlichiosis canina se divide en tres fases principales:

- Fase aguda: ocurre entre 1 y 3 semanas después de que el perro ha sido infectado. Los síntomas más comunes que se dan en este periodo son fiebre, letargia, linfadenopatía, y epistaxis presentada más comúnmente en perros jóvenes (13).
- Fase subclínica: la fase siguiente es la latente. Los perros parecen estar sin síntomas, pero el patógeno sigue agravando en el cuerpo del animal (14).
- Fase crónica: anemia, trombocitopenia severa infecciones secundarias, y, en casos graves multiorgánicos (15).

1.7 Diagnóstico Molecular de *Ehrlichia canis*

El diagnóstico de E. canis ha sido tradicionalmente clínico y ha consistido en observar los signos clínicos y varios cambios en el hemograma. Si bien es posible, la técnica de laboratorio no permite verificar las indicaciones clínicas y el cuadro hemograma en varios casos, especialmente en la enfermedad asintomática o en una etapa temprana de su desarrollo. Uno de los enfoques sujetos al diagnóstico actual y específico es la detección molecular. (16), la reacción en cadena de la polimerasa ha demostrado ser un método sensible y específico para la identificación del ADN patógeno en muestras biológicas. La ventaja de este método es la capacidad de buscar directamente el patógeno en sangre, que, respectivamente, le permite establecer de manera confiable el diagnóstico en un animal asintomático o diminuto.

La PCR de punto final es una de las técnicas más utilizadas. Consiste en utilizar cebadores específicos que actúan sobre secuencias genéticas del patógeno que permiten la amplificación. Por esta razón, es posible detectar cantidades bajas de ADN bacteriano o libre de otros microorganismos. La alta sensibilidad y especificidad de esta técnica facilitan detectar la presencia del agente infeccioso. El diagnóstico es muy preciso y mejora la evaluación en poblaciones caninas. (17)

1.8 Factores de Riesgo Asociados con *Ehrlichia canis*

Varios factores de riesgo pueden contribuir a la adquisición de Ehrlichia canis. La exposición a garrapatas infectadas, la falta de prevención a través de antiparasitarios y la presencia de condiciones inmunológicas predisponentes son los más relevantes. El contacto frecuente con áreas rurales o boscosas donde las garrapatas son comunes aumenta el riesgo de infección (18). Asimismo, perros que han sido tratados previamente por hemoparasitosis o que han sido diagnosticados recientemente con ehrlichiosis son más susceptibles a reinfecciones o a la progresión de la enfermedad a estados crónicos.

No obstante, la carga parasitaria de garrapatas y otros hemoparásitos también desempeña una función crítica en la transmisión de E. canis. En este sentido, las garrapatas son los vectores clave de esta bacteria, ya que pueden contaminar la sangre del perro con E. canis durante su alimentación. Sea recientemente o en un pasado corto, la presencia de garrapatas también representa un signo esencial para identificar a los perros en peligro (19).

1.9 Impacto en la Salud Pública y Bienestar Animal

Además, la ehrlichiosis canina es significativa en términos de su impacto en la salud pública. Aunque Ehrlichia canis no es una bacteria zoonótica directa, la presencia de garrapatas infectadas plantea un riesgo de infección del mismo tipo de personas, particularmente en áreas endemicidad de la enfermedad. Por lo tanto, es crítico para asegurarse de que el manejo de perros infectados sea apropiado no solo para proteger su bienestar, reducir el riesgo de complicaciones que podrían comprometer la calidad de su vida, sino también para el riesgo reducido de exposición a la infección en los seres humanos a través del vector infectado (20).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA.

2.1 TIPO DE ESTUDIO.

La investigación se basa en un diseño observacional y descriptivo transversal con un enfoque cuantitativo.

2.2 PARADIGMA.

El paradigma de este estudio es positivista lógico porque se incluyen métodos de observación no experimental siendo un tipo de estudio descriptivo.

2.3 UBICACIÓN.

Huaquillas es un cantón situado al suroeste de la provincia de El Oro, en Ecuador. Limita al norte con el cantón Arenillas, al este con el cantón Las Lajas, al sur con la frontera internacional con Perú y al oeste con el Océano Pacífico. El cantón es reconocido por ser un área de tráfico y comercio internacional, como consecuencia de que la entrada y salida de mayoristas y minoristas nacionales e internacionales transitan a través de sus amplías vías de acceso.

2.4 POBLACIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

Para esta investigación se utilizó un total de 60 animales (*n=60*), de los cuales 30 presentaron sintomatología referente a la enfermedad *E canis.* Todos los animales pasaron por la aplicación de un test de inmunocromatográfica (IC). Las muestras que dieron positivo al IC fueron sometidas a estudio de PCR en un solo paso siguiendo la metodología de Vásquez (2024), con modificaciones. Así mismo se analizaron por medio de PCR 30 animales sin presentación clínica de Ehrlichiosis pero que presentaban dos patrones de inclusión. El primer patrón de inclusión que presenten una carga considerable de garrapatas y el segundo que hayan pasado los últimos 8 meses por un diagnóstico presuntivo y confirmado de Ehrlichiosis canina.

2.4.1 Criterios de exclusión.

- Pacientes que no pertenecen al cantón Huaquillas.

2.4.2 Criterios de inclusión.

- Grupo 1: Pacientes con sintomatología compatible a E. canis más IC positivo.
- Grupo 2: Pacientes sin sintomatología y que presente carga moderada o alta de garrapatas con historial de haber tenido diagnóstico confirmado y/o presuntivo de Ehrlichiosis canina los últimos 8 meses.

2.5 MATERIALES.

Recursos de materiales para el estudio.

- Tubos EDTA.
- Termociclador.
- Tubos cónicos para molecular 1.5 – 0,2 ml.
- Puntas con filtro para pipeta de 20 - 200.
- Pipetas.
- Guantes.
- Quick DNA microprep (50 preps).
- Marcador de peso molecular.
- Cebadores específicos.
- Taq de polimerasa.
- Gel Agarosa.
- dNTPS.

2.6 INMUNOCROMATOGRAFÍA.

La población de este estudio de esta investigación fue tomada de pacientes que llegaron a consulta en el cantón Huaquillas, los mismo que presentaron sintomatología clínica compatible a Ehrlichiosis. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas de la vena cefálica, tras la

desinfección del área y colocadas en un tubo de 1 ml de EDTA, posteriormente se aplicó el test de inmunocromatográfica (SensPERT Anaplasma/Ehrlichia canis AB Combo Test Kit, de la casa comercial Disprovef y desarrollado por *BioNote, Inc*., Corea del Sur).

La muestra se colocó según las indicaciones del inserto en la prueba del dispositivo de prueba. Manipulé el reactivo de desarrollo en el pozo en cuestión según las instrucciones del kit. Se dejó el test en reposo durante 10 minutos para permitir que la muestra y los reactivos reaccionaran adecuadamente. Se observaron las líneas formadas en la ventana de resultados del dispositivo para realizar la interpretación del test.

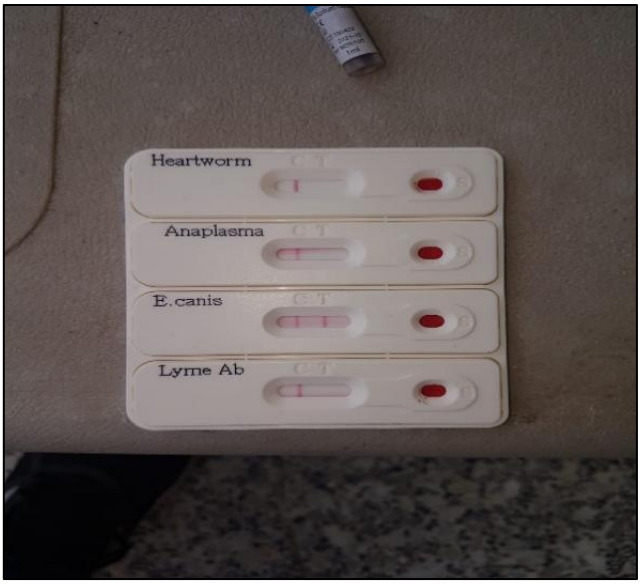
Los resultados fueron los siguientes:

- **Heartworm:** Negativo; solo línea de control visible.
- **Anaplasma:** Negativo; solo línea de control visible.
- **E. canis:** Positivo; se ven líneas de control y prueba.
- **Lyme Ab:** Negativo; solo línea de control visible.

El test utilizó el antígeno respectivo para Ehrlichia canis que pudo ser detectado en la muestra observada. Como la respuesta fue positiva para E. canis, es recomendable acudir al veterinario para determinar el diagnóstico y tratamiento adecuado.

Figura 1

Diagnóstico de Ehrlichia canis en perros mediante test rápido



2.7 EXTRACCIÓN DE ADN.

Para la realización de la prueba, se siguieron los pasos contemplados en el estuche del kit diagnóstico (*Quick-DNA Microprep Kit de Zymo Research)*, desde la colocación de la muestra en el dispositivo hasta la adición del reactivo de desarrollo en el pozo destinado para ello. Luego, se dejó la prueba en stand by durante 10 minutos para que las condiciones de reacción entre los reactivos y la muestra fueran las adecuadas. Pasado este tiempo, las líneas en la ventana de resultados mostraron de manera clara y concisa el diagnóstico que permitió una fácil interpretación del mismo.

En relación con la seguridad biológica en torno a la preparación de las muestras necesarias, se aseguró el uso de pipetas estériles y la preparación en un ambiente apropiado para mantener las condiciones asépticas. Luego, homogeneizamos la muestra y agregamos extracto de muestra homogeneizada, 95 µl de Lysis Buffer y 5 µl de Proteinase K. Posteriormente, incubamos a 55° C durante 10-20 minutos para asegurar la lisis completa de las células y la digestión de la proteína. Se le agrega 350 µl de BindingBuffer al eluido, luego se transfirió la mezcla a una columna de centrifugación insertada en un tubo de recolección y centrifugar a 12,000 x g durante 1 minuto. Luego se lavó el ADN agregando 200 µl de Wash Buffer a la columna y centrifugar a 12,000 x g por 1 minuto; luego centrifugar a 12,000 x g por 1 minuto y repitieron este paso con otros 200 µl de Wash Buffer y centrifugaron en cada caso; luego centrifugar a 12,000 x g por 2 minutos para eliminar cualquier residuo del buffer de lavado. Para la elución del ADN, coloco la columna de centrifugación en un nuevo y limpio tubo de recolección y agregamos 10 - 50 µl de tampón de elución directamente a la matriz de la columna, e incubar a temperatura ambiente (18 - 25°C) durante 1 minuto. Posteriormente, se centrifugó a 12,000 x g durante 1 minuto para eluir el ADN purificado. Finalmente, almacenamos el ADN purificado a -20° C para su almacenamiento a largo plazo. Se consiguió

una cantidad adecuada de ADN, en el rango de 10 -50 µl, que a su vez se almacenó a -20°C antes de ser utilizado para realizar las pruebas rápidas de diagnóstico de E. canis.

2.8 DETECCIÓN MOLECULAR DEL ADN DE E. canis.

Para determinar la presencia de *E. canis*, se llevó a cabo un ensayo de PCR dirigido al gen 16S rRNA de *E. canis* utilizando pares específicos de cebadores en cada muestra de sangre.

- **Forward** CANIS 5′-CAA-TTA-TTT-ATA-GCC-TCT-GGC-TAT AGG-A-3′
- **Reverse** GA1UR 5′-GAG-TTT-GCC-GGG-ACT-TCT-TCT-3`

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de reacción de 25 µl. La mezcla maestra de PCR contuvo 1 µl de cada cebador ($10\ pmol/\mu l$), MgCl2 1,5 ul, dNTPS 0,5 ul, Buffer 10x 2,5 ul, 0,5 µl de Taq polimerasa y 13 µl de agua sin ADNasa. Finalmente, se añadió 5,0 µl de plantilla de ADN.

El procedimiento de ciclo térmico fue; un ciclo de cinco minutos a 95 °C, 40 ciclos de 30 Segundos a 95 °C, 30 Segundos a 62 °C, un minuto a 72 °C y ciclo final de cinco minutos a 72 °C.

Tabla 2

Los productos de PCR amplificados se visualizaron en gel de agarosa al 2 %.

Componente	**Volumen (µL)**
Buffer 10X	2,5
$MgCl_2$ (50 mM)	1,5
dNTPs (10 mM)	0,5
Primer Forward (10 µM)	1
Primer Reverse (10 µM)	1
ADN molde	5,0
Taq polimerasa (5 U/µL)	0,5
Agua libre de nucleasas	13
Total	25

El resultado del amplificado en las muestras que dieron **409 pb (POSITIVAS),** En la PCR, después de que se ha realizado la amplificación, el producto de la reacción se puede analizar mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, que separa los fragmentos de ADN por su tamaño. Los resultados pueden interpretarse observando la presencia o ausencia de bandas en el gel.

CAPITULO 3 RESULTADOS

Para esta investigación se utilizó una muestra de 60 animales (*n=60*) con y sin sintomatología referente positiva a la enfermedad *Ehrlichia canis*. De los cuales se realizó un test de inmunocromatográfica dando como resultado 30 animales positivos. A estos animales positivos se sometieron a una prueba de PCR, dando positivo 5 muestras. De total de muestras sin sintomatología (n =30), una sola de ellas dio positivo a PCR de punto final.

Prevalencia en sintomáticos

3.1 Prevalencia en perros sintomáticos

De un total de 30 muestras de perros sintomáticos, el **16,7%** fueron positivas para *Ehrlichia canis* mediante la prueba de PCR. Esto sugiere que, aunque los perros presentan síntomas compatibles con ehrlichiosis, el diagnóstico molecular confirma la infección en una proporción limitada, lo que podría indicar una posible subestimación de la prevalencia basada únicamente en los signos clínicos.

3.2 Prevalencia en asintomáticos

De las 30 muestras analizadas de perros asintomáticos con factores de riesgo, el 3**,0%** fueron positivas. Esto resalta que los perros asintomáticos con exposición previa o factores de riesgo (como picaduras de garrapatas) pueden representar una fuente significativa de infección subclínica.

Estos datos evidencian la necesidad de estrategias de diagnóstico molecular para detectar infecciones subclínicas, especialmente en grupos de riesgo, ya que los asintomáticos muestran una prevalencia considerablemente mayor que los sintomáticos.

Figura 2

Grafico de porcentajes de los resultado de PCR, punto final

3.3 Análisis por raza:

La detección de *Ehrlichia canis* varía significativamente según la raza de los perros analizados:

En la raza French, el 50,0% de las muestras resultaron positivas, siendo la raza con mayor prevalencia confirmada, en los Chihuahua, el 40,0% de las muestras fueron positivas, mostrando una alta incidencia en esta raza, además en los Bulldog Francés, el 25,0% de las muestras resultaron positivas, en lo que respecta a los animales Mestizos, solo el 14,3% resultaron positivos, a pesar de ser numerosos en la muestra, finalmente, otras razas como (American Bully, Doberman, Pitbull, Rottweiler, Sharpei) mostraron 0,0% de detección, lo que puede deberse a un tamaño de muestra limitado.

Al comparar los grupos se observó la prevalencia más alta en sintomáticos, esto sugiere que los perros con síntomas evidentes pueden ser portadores importantes del patógeno, lo que implica un riesgo de transmisión subclínica. La importancia del diagnóstico molecular PCR nos permitió identificar infecciones que no son evidentes mediante la observación clínica, subrayando la relevancia de esta herramienta en programas de vigilancia activa.

CAPITULO 4 DISCUSIÓN.

Los resultados de este estudio demuestran una prevalencia molecular del 16,7% entre los perros sintomáticos y del 3,0% entre los perros asintomáticos, pero con factores de riesgo. Este hecho subraya la importancia del diagnóstico molecular basado en PCR para permitir la detección temprana y precisa de este patógeno, incluso en la totalidad de los animales que no presentan signos clínicos obvios. Igualmente, estudios anteriores han demostrado la importancia de la PCR para una identificación precisa de Ehrlichia canis en perros, en particular entre los perros infectados con infecciones subclínicas. Por ejemplo, Mota et al, 2015, informaron de su prevalencia baja entre los perros sintomáticos, lo que corrobora los datos de nuestro estudio, y, por lo tanto, destacaron esa limitación de solo diagnosticar basándose en observación clínica.

La menor prevalencia en los perros sintomáticos podría explicarse por diagnósticos erróneos realizados a partir únicamente de los signos clínicos, lo que resalta la necesidad de herramientas moleculares para verificar las infecciones sospechadas. Este resultado se ajusta a los resultados en Brasil, donde Ferreira et al. (2012) encontraron que muchos de los perros sintomáticos no fueron confirmados molecularmente, lo que implica que otros factores, como las infecciones concomitantes, pueden complicar el diagnóstico. (Ferreira et al., 2012).

En contraste, la alta prevalencia de esta infección en perros clinicamente asintomáticos, 3.0%, sugiere que los animales actúan como reservorios del patógeno, perpetuándolo en su ambiente. La evidencia directa de este fenómeno es proporcionada por un estudio realizado por Corbellini et al. (2017) Quienes informaron una alta prevalencia de E. canis en perros asintomáticos en Argentina. Estos hallazgos demuestran que el patógeno puede permanecer latente en aparentes animales “sanos”. El estudio realizado por Osorio et al. (2016) también ha demostrado que los perros asintomáticos que presentan exposición a los factores de riesgo fueron importantes reservorios para la infección en Perú.

En este estudio, el análisis de las razas de perros muestra prevalencias altas en las razas pequeñas de French y Chihuahua, con el 50% y el 40%, respectivamente. Esto puede estar relacionado con varios factores, incluido el mayor contacto con el medio ambiente humano, lo que aumenta la exposición a las garrapatas, y posiblemente a una mayor susceptibilidad genética o inmunológica a Ehrlichia canis. De hecho, un estudio de abastecido en Brasil realizado por Mota et al. (2015). También encontró una mayor proporción de las pequeñas razas, sugiriendo que la cercanía a los humanos y las condiciones de vida están influyendo en una mayor exposición a estos vectores.

Por otra parte, aunque los mestizos fueron la mayor parte de la muestra, presentaron una menor prevalencia, inferior al 15% de los casos. Este resultado podría estar asociado con la idea de que los perros mestizos, si bien por una parte tienen una mayor quantodiversidad, tienen una tendencia a ser "libremente manejados" más abiertos que pueden reducir su exposición al riesgo o hacerse menos vulnerables. Al respecto, Corbellini et al. (2017) reportaron resultados similares en Argentina en donde los perros mestizos presentaron una menor prevalencia de los perros con dirofilariosis que las razas puras, lo que llevaría que a los factores ambientales y de manejo tendrían un peso asociado a la enfermedad.

En términos de género, aunque los machos presentaron una proporción de positividad mayor en comparación con las hembras, es decir 60.0% y 40.0%, respectivamente, la diferencia no fue significativa estadísticamente debido al tamaño de la muestra. En términos de edad, como se mencionó anteriormente, el tamaño fue mayor en animales de 3 a 6 años que experimentaron una mayor prevalencia, lo cual podría estar relacionado con las oportunidades acumulativas de exposición al vector en animales vivos y activos en esta etapa dedicada a actividades acompañantes y oportunidades de infección. Este hallazgo es laudatorio con el de otras investigaciones, en las Etapas de Vida de González et al. (2011) un nivel mayor de Ehrlichia

canis fue reportado en perros de mediana edad debido a las exposiciones acumulativas aceptables a orejas.

CAPITULO 5 CONCLUSIONES

La detección molecular de *Ehrlichia canis* mediante PCR en perros del cantón Huaquillas confirmó la presencia del patógeno en individuos sintomáticos y asintomáticos con factores de riesgo. Sin embargo, la prevalencia detectada en perros sintomáticos fue menor de lo esperado, lo que sugiere que la presencia de signos clínicos no es un criterio exclusivo para el diagnóstico preciso de la enfermedad.

La utilización de la prueba de PCR permitió detectar infecciones que no eran evidentes mediante signos clínicos ni pruebas serológicas rápidas. Esto demuestra la necesidad de implementar estrategias de diagnóstico molecular en programas de vigilancia epidemiológica, dado que la serología puede sobrestimar la presencia del patógeno al detectar infecciones pasadas y no necesariamente activas.

Se identificó que razas pequeñas como el French Poodle y el Chihuahua presentaron la mayor prevalencia de infección, con tasas del 50.0% y 40.0%, respectivamente. Esto podría estar relacionado con factores genéticos, manejo, exposición ambiental o diferencias en el sistema inmune. En contraste, los perros mestizos, a pesar de su alta exposición a vectores, mostraron una prevalencia menor (14.3%), lo que podría estar asociado con mayor resistencia o tratamientos previos contra ectoparásitos.

La identificación de perros asintomáticos con infección confirmada refuerza la hipótesis de que la ehrlichiosis canina puede mantenerse en la población a través de la transmisión subclínica, favoreciendo la persistencia del patógeno en el ambiente. Esto resalta la necesidad de fortalecer estrategias de control de vectores y diagnóstico temprano en poblaciones de riesgo.

Los hallazgos de este estudio evidencian la urgencia de desarrollar programas de control y prevención enfocados en el monitoreo de garrapatas, diagnóstico molecular en perros de riesgo y educación de propietarios sobre la importancia del manejo sanitario adecuado.

Los resultados obtenidos indican la necesidad de implementar sistemas de vigilancia activa en el cantón Huaquillas para evaluar la evolución de la prevalencia de *Ehrlichia canis*, especialmente considerando que el área cuenta con factores ambientales y climáticos propicios para la proliferación de vectores.

CAPITULO 6 RECOMENDACIONES

A la vista de nuestro análisis se proponen las siguientes medidas:

Dirigidas a propietarios de mascotas y veterinarios para destacar la importancia del diagnóstico temprano mediante pruebas moleculares como PCR. Con enfasis en la identificación de factores de riesgo, como la exposición a garrapatas, condiciones ambientales, y el manejo adecuado de perros promoviendo el uso regular de antiparasitarios tópicos y orales efectivos realizar fumigaciones en áreas de alta exposición a vectores aumentar la limpieza y desinfección de espacios donde habitan las mascotas realizar pruebas moleculares de rutina en perros con factores de riesgo para identificar infecciones subclínicas, establecer protocolos en las clínicas veterinarias para realizar pruebas de PCR en perros que han estado expuestos a garrapatas implementar controles periódicos en perros que han recibido tratamiento por ehrlichiosis para evitar recaídas o reinfecciones mantener un registro actualizado del historial médico de los animales colaborar con autoridades locales para establecer programas integrales de salud animal y ambiental y de la importancia del manejo de vectores como garrapatas, principal medio de transmisión del patógeno.

La utilidad de herramientas moleculares como la PCR para la identificación precisa de infecciones en perros con signos clínicos compatibles con ehrlichiosis, así como en aquellos asintomáticos con factores de riesgo. Esto permitirá una detección más precisa del patógeno y evitará diagnósticos erróneos basados únicamente en la sintomatología o pruebas serológicas rápidas.

Se deben desarrollar programas de capacitación para médicos veterinarios sobre la importancia del diagnóstico molecular en la identificación de *Ehrlichia canis*.

Se sugiere la difusión de material informativo en clínicas veterinarias y centros de adopción para fomentar prácticas de control de vectores.

Se recomienda realizar investigaciones futuras que analicen con mayor profundidad la predisposición genética de ciertas razas a la infección por *Ehrlichia canis*, se recomienda la incorporación de pruebas de PCR en perros que ingresan a refugios o centros de adopción para evitar la propagación del patógeno dentro de estas poblaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez, R. et al. (2018). *Ehrlichiosis in dogs: Pathogenesis, clinical signs, and molecular detection*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 48(6), 1223-1234.
2. Otranto, D., Dantas-Torres, F., Breitschwerdt, E. B., & Gabrielli, S. (2010). Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: Part one. *Trends in Parasitology, 26*(4), 157-163. https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.003
3. Harrus, S., Kass, P. H., Klement, E., & Waner, T. (1997). Canine monocytic ehrlichiosis: A retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *The Veterinary Record, 141*(14), 360-363. https://doi.org/10.1136/vr.141.14.360
4. Sanches, G. S., Villar, M., Couto, J., Ferrolho, J., Fernandez de Mera, I. G., André, M. R., ... & Domingos, A. (2021). Comparative proteomic analysis of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) tropical and temperate lineages: uncovering differences during Ehrlichia canis infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 611113.
5. Ormaza, C. M. (2021). Historia y diagnóstico molecular de *Ehrlichia canis* en caninos. *Revista Latinoamericana de Investigación Veterinaria*, 19(3), 50-55.
6. Rudoler, N., Baneth, G., Eyal, O., Van Straten, M., & Harrus, S. (2006). Evaluation of an attenuated strain of *Ehrlichia canis* as a vaccine for canine monocytic ehrlichiosis. *Vaccine*, 24(8), 1151-1157. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.10.029
7. Pérez, M., Bodor, M., Zhang, C., Xiong, Q., & Rikihisa, Y. (2023). Molecular Diagnosis of *Ehrlichia canis* in Dogs and Ticks from Yucatan, Mexico. *Journal of Medical Entomology*, 52(1), 101-106. https://doi.org/10.1093/jme/tjz157

8. López, J., Abarca, K., Mundaca, M. I., Caballero, C., & Valiente-Echeverría, F. (2012). Identificación molecular de Ehrlichia canis en un canino de la ciudad de Arica, Chile. *Revista chilena de infectología*, *29*(5), 527-530.
9. Bowman, D. W., Little, S. E., Lorentzen, L., Shields, J., & Sullivan, M. P. (2023). *Ehrlichia canis*. En *Wikipedia*. Recuperado de https://en.wikipedia.org/wiki/Ehrlichia_canis
10. Fang, R., Jiang, J., & Li, J. (2023). Phylogenetic analysis of *Ehrlichia* and *Anaplasma* based on 16S rRNA gene sequences: New insights into the classification of tick-borne pathogens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 73(4), 1-10. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005175
11. Jiang, J., Wang, J., & Li, Z. (2022). Taxonomy and epidemiology of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species: Advances in molecular diagnostics and clinical relevance. *Pathogens*, 11(6), 1-12. https://doi.org/10.3390/pathogens11060643
12. Sainz, Á., Roura, X., Miró, G., & Estrada-Peña, A. (2015). Guidelines for prevention and management of canine ehrlichiosis. *Journal of Small Animal Practice*, 56(7), 505–515.
13. Harrus, S., & Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (Ehrlichia canis): An overview. *The Veterinary Journal*, 187(3), 292–296.
14. Bhojraj, S. et al. (2021). *Molecular diagnostic tools for detection of Ehrlichia canis: A review*. Veterinary Parasitology, 285, 109-118.
15. Amurrio, A. B., & Cossio, C. V. H. (2024). Eficiencia diagnóstica en distemper canino: Evaluación comparativa de tres técnicas en la Veterinaria de Guadalupe. *Revista Científica de Veterinaria y Zootecnia UNITEPC*, *3*(1), 7-12.

16. Rosas, J. et al. (2019). *Epidemiology of Ehrlichia canis in rural areas of Latin America: Risk factors and transmission dynamics*. Tropical Medicine and International Health, 24(12), 1435-1445.
17. Olsson, M. et al. (2017). *Factors influencing the transmission of Ehrlichia canis: A review of risk factors*. Veterinary Research, 48(1), 1-10.
18. Cohen, R. et al. (2020). *Zoonotic risks of Ehrlichia canis: An overview of epidemiology and public health concerns*. Journal of Applied Microbiology, 129(4), 889-898.

ANEXO A

Tabla A1

Pacientes sintomáticos por medio de inmunocromatográfica positivos.

N.º MUESTRA	NOMBRE MUESTRA	MÉDICO REFERENCIA	DETECCIÓN	OBSERVACIÓN
1	Caramelo	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
2	Negro	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
3	Jacinto	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
4	Manchas	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
5	Saltarín	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
6	Blanco	Gallardo L.	Detectado	Positivo A (IC)
7	Tigresa	Gallardo L.	Detectado	Positivo A (IC)
8	Bruno	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
9	Mocha	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
10	Camila	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
11	Muñeca	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
12	Camilo	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
13	Kenny	Gallardo L.	Detectado	Positivo A (IC)
14	Queen	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
15	Odín	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
16	Thor	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
17	Hércules	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
18	Evans	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
19	Cloe	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
20	Black	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
21	Linda	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
22	Alicia	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
23	Gabana	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
24	Sasha	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
25	Nena	Gallardo L.	No detectado	Positivo A (IC)
26	S/N	Aguilar F.	No detectado	Positivo A (IC)
27	S/N	Aguilar F.	No detectado	Positivo A (IC)

28	S/N	Aguilar F.	Detectado	Positivo A (IC)
29	S/N	Aguilar F.	Detectado	Positivo A (IC)
30	S/N	Aguilar F.	No detectado	Positivo A (IC)

Tabla 2

Pacientes asintomáticos con factores de riesgo identificados

N.º MUESTRA	NOMBRE MUESTRA	MEDICO REFERENCIA	DETECCIÓN	OBSERVACIÓN
1	Zeus	Gallardo L.	No detectado	20 días en tratamiento
2	Kira	Gallardo L.	No detectado	20 días en tratamiento
3	Dulce	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
4	Enana	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
5	Fiorela	Gallardo L.	No detectado	Hace 2 meses paso el Tratamiento
6	Blanquita	Gallardo L.	No detectado	Hace 2 meses paso el Tratamiento
7	Suco	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
8	Goliat	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
9	Lobo	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 4 meses
10	Muñeco	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 4 meses
11	Negro	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 6 meses
12	Fideo	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 6 meses
13	Rosa	Gallardo L.	Detectado	Presencia de Garrapatas
14	Mia	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 4 Meses
15	Chita	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 6 meses
16	Cloe	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 6 meses

17	Sasha	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 2 meses
18	Conan	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 2 meses
19	Lucas	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
20	Sasy	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas y Síntomas de E. Canis
21	Suca	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
22	Pastor	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
23	Byron	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
24	Rudy	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
25	Pinina	Gallardo L.	No detectado	Hace 2 meses paso el Tratamiento
26	Negrita	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
27	Blanco	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
28	Mia	Gallardo L.	No detectado	Tratamiento hace 1 mes y medio
29	Negrito	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
30	Cuki	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas
31	Moli	Gallardo L.	No detectado	Presencia de Garrapatas

ANEXO B

Figura B1

Muestra positiva 1 (Carril 8 positivo; Carril 9 negativo; Carril 10 negativo)

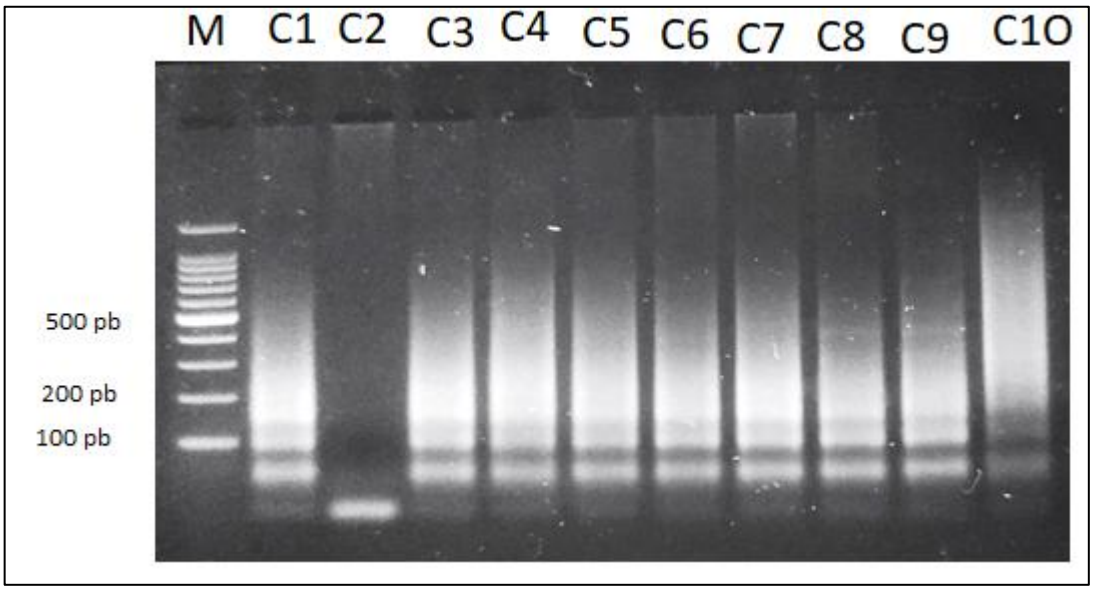


Figura B2

Recolección de muestras a pacientes del cantón Huaquillas