



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Frecuencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

## **TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

## **AUTOR**

Alejandra CORNEJO HERRERA

## **ASESOR**

Mg. Luis Antonio GÓMEZ PUERTA

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Cornejo A. Frecuencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2024.

---

### Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Alejandra Cornejo Herrera
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	73086289
URL de ORCID	-
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Luis Antonio Gómez Puerta
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10810335
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-7909-979X">https://orcid.org/0000-0002-7909-979X</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	César Miguel Gavidia Chucán
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09222190
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Rose Mary Barreto Rios
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40740191
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Ana Miluska Vargas Calla
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45705704
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública
Grupo de investigación	ATENEO - Abocado a responder amenazas y oportunidades del sector pecuario.

Agencia de financiamiento	-
Ubicación geográfica de la investigación	<p>Edificio: Clínica de Animales Menores, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM</p> <p>Edificio: Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM</p> <p>País: Perú</p> <p>Departamento: Lima</p> <p>Provincia: Lima</p> <p>Distrito: San Borja</p> <p>Dirección: Av. Circunvalación 2800</p> <p>Latitud: -12.0814566</p> <p>Longitud: -76.9877077</p>
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2023-2024
URL de disciplinas OCDE	<p>4.03.01 -- Ciencia veterinaria</p> <p><a href="http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01">http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01</a></p>



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **lunes 08 de abril de 2024**, a las **12:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0044-EPMV/FMV-2024** integrado por los siguientes profesores:

<b>MV. PhD. GAVIDIA CHUCÁN CÉSAR MIGUEL</b>	<b>Presidente del Jurado</b>
<b>MV. Mg. GÓMEZ PUERTA LUIS ANTONIO</b>	<b>Asesor de la Tesis</b>
<b>MV. Mg. BARRETO RIOS ROSE MARY</b>	<b>Miembro del Jurado</b>
<b>MV. Mg. VARGAS CALLA ANA MILUSKA</b>	<b>Miembro del Jurado</b>

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Doña: **CORNEJO HERRERA ALEJANDRA**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“FRECUENCIA DE *EHRlichia chaffeensis*, *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* Y *BARTONELLA* SP. EN PERROS ATENDIDOS EN LA CLÍNICA DE ANIMALES MENORES DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA – UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS”,**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **dieciocho (18)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las 12.45 horas, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por GAVIDIA  
CHUCÁN César Miguel FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 25.04.2024 19:15:09 -05:00

.....  
Gavidia Chucán César Miguel: MV. PhD Prof. Principal DE

.....  
Barreto Rios Rose Mary : MV. Mg. Prof. Auxiliar TC

.....  
Gómez Puerta Luis Antonio : MV. Mg.Prof. Auxiliar TC

.....  
Vargas Calla Ana Miluska : MV .Mg. Prof. Auxiliar TC





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

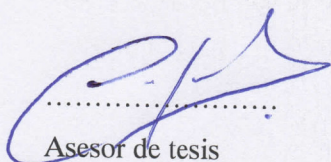


## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Luis Antonio Gómez Puerta en mi condición de asesor, acreditado con la Resolución Directoral No 0058-EPMV/FMV-2022, de la tesis de investigación, cuyo título es “**Frecuencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos**” presentado por la bachiller Alejandra Cornejo Herrera para optar el título de Médico Veterinario CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 8% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

San Borja, 05 de febrero del 2024

  
Asesor de tesis



## ÍNDICE

ÍNDICE.....	2
RESUMEN.....	4
ABSTRACT .....	5
I. INTRODUCCIÓN .....	9
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	12
2.1. <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	12
2.1.1. Taxonomía .....	12
2.1.2. Historia y distribución.....	13
2.1.3. Morfología .....	14
2.1.4. Transmisión.....	15
2.1.5. Patogenia .....	17
2.1.6. Signos clínicos.....	18
2.1.7. Diagnóstico .....	19
2.1.8. Prevención, control y tratamiento .....	20
2.1.10. Antecedentes.....	21
2.1.10.1. En el Perú .....	21
2.1.10.2. En Latinoamérica.....	22
2.1.10.3. En el mundo.....	24
2.2. <i>Ehrlichia chaffeensis</i> .....	25
2.2.1. Taxonomía .....	25
2.2.2. Historia y distribución.....	25
2.2.3. Morfología .....	26
2.2.4. Transmisión.....	27
2.2.5. Patogenia .....	28
2.2.6. Signos clínicos.....	28
2.2.7. Diagnóstico .....	29
2.2.8. Prevención, control y tratamiento .....	30
2.2.10. Antecedentes.....	30
2.2.10.1. En el Perú .....	30
2.2.10.2. En Latinoamérica.....	32
2.2.10.3. En el mundo.....	33
2.3 <i>Bartonella</i> spp. ....	35
2.3.1. Taxonomía .....	35



2.3.2. Historia y distribución.....	36
2.3.3. Morfología .....	37
2.3.4. Transmisión.....	38
2.3.5. Patogenia .....	39
2.3.6. Signos clínicos .....	40
2.3.7. Diagnóstico .....	40
2.3.8. Prevención, control y tratamiento .....	41
2.3.10. Antecedentes.....	42
2.3.10.1. En el Perú .....	42
2.3.10.2. En Latinoamérica.....	43
2.3.10.3. En el mundo.....	45
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
3.1. Lugar de ejecución y periodo de duración .....	47
3.2. Tamaño de muestra .....	47
3.3. Descripción del material experimental .....	48
3.4. Metodología .....	48
3.4.1. Toma de muestra.....	49
3.4.2. Conservación .....	49
3.4.3. Extracción de ADN .....	49
3.4.4. Diagnóstico molecular por PCR .....	50
3.4.4.1. <i>Anaplasma</i> sp. ....	50
3.4.4.2. <i>Ehrlichia</i> sp.....	51
3.4.4.3. <i>Bartonella</i> sp. ....	53
3.4.5. Electroforesis en gel agarosa.....	54
3.4.6. Secuenciamiento .....	54
3.5. Análisis de datos.....	55
3.6. Consideraciones éticas.....	55
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>74</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>75</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>90</b>

## RESUMEN

En los últimos años, enfermedades transmitidas por vectores se han generalizado de manera mundial, afectando la salud de humanos y animales domésticos. La distribución de estas enfermedades incluye áreas donde sus principales vectores, pulgas y garrapatas, están presentes, siendo el clima tropical y subtropical de Perú, un lugar idóneo para su proliferación. Debido a la cercanía cada vez mayor de las personas con sus mascotas, la probabilidad de picaduras por estos ectoparásitos aumenta, siendo un riesgo zoonótico latente. El objetivo del estudio fue determinar la presencia de *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Bartonella* sp., en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos ubicada en Lima, Perú. Para lo cual se colectó muestras de sangre de 214 perros, las cuales fueron analizadas mediante PCR, hallándose 2.8% (6/214) para *Anaplasma* sp., 5.14% (11/214) para *Ehrlichia* sp., y 0.46% (1/214) para *Bartonella* sp., y, mediante secuenciamiento molecular, se encontró que la especie de *Bartonella* corresponde con *B. rochalimae*. No se encontró positivos para *A. phagocytophilum* ni *E. chaffeensis*, pero sí a las especies *A. platys* y *E. canis*, respectivamente. No se encontró relación estadísticamente significativa entre las variables evaluadas las cuales fueron edad, sexo, raza, presencia de pulgas y garrapatas y distrito de procedencia. Este estudio demuestra que al menos uno de los patógenos zoonóticos estudiados se encuentra en perros en Lima.

Palabras clave: *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Bartonella* sp., PCR, perros.

## ABSTRACT

In recent years, vector-borne diseases have become widespread throughout the world and affect the health of humans and domestic animals. The distribution of these diseases includes areas where their main vectors, fleas and ticks, are present, in the tropical and subtropical climate of Peru, an ideal place for their proliferation. Due to the increasing proximity of people to their pets, the probability of bites from these ectoparasites increases, representing a latent zoonotic risk. The objective of the study was to determine the presence of *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Bartonella* sp., in dogs treated at the Small Animal Clinic of the Faculty of Veterinary Medicine of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos located in Lima, Peru. Samples from 214 dogs, which were analyzed by PCR, finding 2.8% (6/214) for *Anaplasma* sp., 5.14% (11/214) for *Ehrlichia* sp., and 0.46% (1/214) for *Bartonella* sp., and, through molecular sequencing it was found that the *Bartonella* specie corresponded to *B. rochalimae*. No positive results were found for *A. phagocytophilum* or *E. chaffeensis*, but they were positive for the species *A. platys* and *E. canis*, respectively. No statistically significant relationship was found between the variables evaluated for age, sex, breed, presence of fleas and claws, and district of origin. This study demonstrates that at least one of the pathogens studied is found in dogs in Lima.

Keywords: *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Bartonella* sp., PCR, dogs.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

ARNr Ácido ribonucleico ribosomal

°C: Grados centígrados

CDC: Centro de Control de Enfermedades

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

ELISA: Inmunoensayo enzimático

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

IgG: Inmunoglobulina G

IgM Inmunoglobulina M

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

pb: Pares de bases

μl: Microlitros

μm: Micrómetro

ml: Mililitro

sp: Especie

spp: Especies

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de la garrapata

Figura 2. Ciclo biológico de la pulga

Figura 3. PCR de *Anaplasma* sp.

Figura 4. PCR de *Ehrlichia* sp.

Figura 5. PCR de *Bartonella* sp.

Figura 6. Electroforesis de *Anaplasma* sp.

Figura 7. Diversidad genética de *Anaplasma platys*

Figura 8. Electroforesis de *Ehrlichia* sp.

Figura 9. Diversidad genética de *Ehrlichia canis*

Figura 10. Electroforesis de *Bartonella* sp.

Figura 11. Diversidad genética de *Bartonella rochalimae*

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía de *Anaplasma phagocytophilum*

Cuadro 2. Distribución y hospederos de *Anaplasma* spp.

Cuadro 3. Taxonomía de *Ehrlichia chaffeensis*

Cuadro 4. Distribución y hospederos de *Ehrlichia* spp.

Cuadro 5. Taxonomía de *Bartonella* spp.

Cuadro 6. Distribución y hospederos de *Bartonella* spp.

Cuadro 7. Características (variables) de perros muestreados

Cuadro 8. Variables de resultados de *Anaplasma* sp.

Cuadro 9. Variables de resultados de *Ehrlichia* sp.

Cuadro 10. Variables de resultados de *Bartonella* sp.



## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores son de gran importancia ya que existen patógenos que se encuentran en artrópodos vectores que pueden llegar a afectar la salud de animales y humanos (Bakken y Dumler, 2008; Woldehiwet, 2010). El contacto cercano que existe entre animales domésticos y silvestres con los humanos ha permitido que ambos puedan verse afectados por los mismos vectores y patógenos (Hernandez y Marien, 2013; Álvarez *et al.*, 2018). En este escenario, especies de *Ehrlichia* sp., *Anaplasma* sp. y *Bartonella* sp., han surgido como patógenos infecciosos de interés en la medicina humana y veterinaria (Paddock y Childs, 2003; Xue-Lian *et al.*, 2019).

La ehrlichiosis humana es una enfermedad transmitida por garrapatas duras causada principalmente por *Ehrlichia chaffeensis*, este mismo vector también es el transmisor de *Anaplasma phagocytophilum*, causante de la anaplasmosis humana, estas enfermedades están estrechamente relacionadas ya que pueden compartir el mismo vector y presentación clínica (Oteo y Brouqui, 2005; Dumler *et al.*, 2007; Wolf *et al.*, 2020; Theran *et al.*, 2022). Por otro lado, tenemos al hemopatógeno *Bartonella* sp., aunque se han reportado más de 35 especies, las más relevantes implicadas en perros y humanos son *B. clarridgeiae*, *B. elizabethae*, *B. henselae*, *B. quintana* y *B. vinsoni berkhoffi*; todas ellas son transmitidas por ectoparásitos chupadores de sangre (pulgas, piojos y garrapatas), principalmente pulgas (Diniz *et al.*, 2013; Álvarez *et al.*, 2018; Lannino *et al.*, 2018).

Los perros domésticos son potenciales fuentes de contagio para la transmisión de estos patógenos a los humanos, debido a que comparten el mismo ambiente y pueden ser

potencialmente parasitados por el mismo vector (Lannino *et al.*, 2018). La transmisión ocurre mediante la mordida del vector al consumir sangre para alimentarse, en el caso de *Bartonella*, puede ser también mediante la inoculación de heces de los artrópodos a través de mordeduras o arañazos (Chomel *et al.*, 2006; Rizzo *et al.*, 2015).

En los tres casos la distribución de los vectores es mundial, aunque las garrapatas se encuentran principalmente en climas tropicales y subtropicales, han logrado adaptarse a ambientes más hostiles, además, el cambio climático y en consecuencia el desplazamiento de animales, ha favorecido su distribución cosmopolita. Es así como actualmente existen reportes de estas enfermedades, tanto en caninos como humanos, a lo largo de todo el mundo, incluyendo nuestro país (Jiménez, 2021).

En Perú, existen reportes de la presencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella* sp. en vectores (garrapatas y pulgas) y humanos principalmente (Anaya *et al.* 2017; Rizzo *et al.*, 2019), los escasos informes en animales son en áreas rurales, reportando por ejemplo prevalencias en perros de 7.3% de *B. rochalimae*, 2.6% de *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (Diniz *et al.*, 2013) y en caballos 9% de *A. phagocytophilum* (Masgo *et al.*, 2019), mientras que *E. chaffeensis* no se ha reportado en animales, únicamente en humanos con mascotas positivas a ehrlichiosis, encontrándose 16.66% (Lam, 2010); sin embargo, en otros países de Sudamérica si se ha reportado en perros, igualmente en áreas rurales en Chile la prevalencia de *Bartonella* spp fue de 4.3% (Gonçales *et al.*, 2022), y en Brasil, *E. chaffeensis* fue de 0.7% (Muller *et al.*, 2018), siendo *A. phagocytophilum* quien presentó un resultado mayor, 10.9% en un área urbana (Silveira *et al.*, 2017). La capital del Perú, Lima, es la región del país con mayor densidad poblacional, siendo que, en Lima Metropolitana, a enero del 2023, la población actual es de 10 millones 151 mil habitantes, y según estudios recientes más de la mitad de viviendas tienen o han tenido al menos un perro en casa (Arauco *et al.*, 2014; Soriano 2014; Rendón, 2016). Además, existe una problemática de canes vagabundos, los cuales son potenciales transmisores de estos parásitos y enfermedades a perros domésticos sanos, y por consiguiente, a los humanos (Cáceda *et al.*, 2021).

El clima y la problemática de canes callejeros son características que potencian la presencia de estas enfermedades y que tiene Lima, por lo que es importante mantener al día la situación epidemiológica de ellas. La Clínica de Animales Menores de la FMV-UNMSM, si bien tiene una única sede en el distrito de San Borja, debido a ser un centro de referencia por su experiencia y servicios, recibe diariamente pacientes de múltiples distritos de la capital, incluso de zonas fuera de Lima Metropolitana o de otros departamentos.

Es por ello, que el objetivo de la presente investigación fue determinar la frecuencia de *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Bartonella* sp. en muestras de sangre de perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la FMV-UNMSM, planteando como hipótesis que entre los patógenos a evaluar *Anaplasma phagocytophilum* presenta la mayor frecuencia,, y a su vez, determinar si existe relación con el sexo, edad, raza, presencia de pulgas y garrapatas y distrito de procedencia.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *Anaplasma phagocytophilum*

#### 2.1.1. Taxonomía

*Anaplasma phagocytophilum* es una bacteria gramnegativa que pertenece a la clase *Alphaproteobacteria*, orden *Rickettsia*, familia *Anaplasmataceae*, género *Anaplasma* dentro del cual se encuentra *A. phagocytophilum* (antes *Ehrlichia phagocytophila*), *A. platys* (antes *Ehrlichia platys*), *A. marginale*, *A. ovis* y *A. centrale* (Uilenber *et al.*, 2004) (Cuadro 1).

Este agente se observó por primera vez microscópicamente en 1951, en neutrófilos de ovejas infectadas, nombrándose *Rickettsia phagocytophila*, luego, se descubrió que su morfología era diferente a las rickettsias, por lo que se reclasificó como *Cytoecetes phagocytophila*. Mas adelante, el género *Cytoecetes* fue eliminado, por lo que en 1984 se incluyó en el género *Ehrlichia*, de tal forma que pasó a denominarse *Ehrlichia phagocytophila* manteniéndose así hasta el 2001, cuando se reclasificó dentro del género *Anaplasma* como *Anaplasma phagocytophilum* (Dumler *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2005) siendo así como se denomina hasta el momento.

Cuadro 1. Taxonomía actual de *Anaplasma phagocytophilum* (Uilenber *et al.*, 2004).

Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Rickettsia</i>
Familia	<i>Anaplasmataceae</i>
Género	<i>Anaplasma</i>
Especie	<i>A. phagocytophilum</i> , <i>A. platys</i> , <i>A. marginale</i> , <i>A. ovis</i> , <i>A. centrale</i>

### 2.1.2. Historia y distribución

En 1883, *Anaplasma* spp. fue descubierta en una investigación relacionada a la fiebre de la garrapata, aunque inicialmente se le consideró como un estadio de *Babesia bigemina* (Delgado y Montoya, 2018). En 1910, se usó por primera vez el término “*Anaplasma*” para denominar a corpúsculos encontrados en eritrocitos de bovino africano con anemia infecciosa aguda, se reconoció como un nuevo género de parásito a *Anaplasma marginale*, y a la enfermedad como anaplasmosis, aunque distintos autores lo consideraban protozoarios o virus (Pérez *et al.*, 2005).

En 1932, la “fiebre de las garrapatas” fue descrita en ovinos en Escocia, encontrando el mismo agente causal, demostrando además que era transmitida por *Ixodes ricinus*. En 1951, se observó por primera vez en un microscopio, y en 1955 se le encontró dos ácidos nucleicos, descartando que podría ser un virus. En 1961, se determinó que pertenecía al género *Rickettsia* y en 1973 se clasificó en la familia *Anaplasmataceae* dentro del orden *Rickettsia* (Pérez *et al.*, 2005).

En 1969, se describieron los primeros casos en caballos, el agente se denominó *Ehrlichia equi* (actualmente *A. phagocytophilum*) y se comprobó experimentalmente que podía infectar a perros, gatos y primates, y, por ende, humanos. En 1994, se describieron en Estados Unidos los primeros casos de infección granulocítica en humanos, acuñando el término “Ehrlichiosis granulocítica humana” cuyo agente causal fue “agente de la EGH”, tras estudios moleculares se confirmó que el “agente de la EGH”, *E. phagocytophilum* y *E. equi* (actualmente *A. phagocytophilum*), eran muy similares y se concluyó que eran el mismo agente causal (Chen *et al.*, 1995). En 1996, se reportó por primera vez dicho agente en perros

de Minnesota y Wisconsin, y estos casos coincidieron con el reporte de la enfermedad en humanos (Creig *et al.*, 1996).

Desde esas apariciones y hasta la fecha, se han reportado casos en perros y humanos alrededor del mundo, si bien su principal vector es la garrapata del género *Ixodes*, la cual radica principalmente en Norteamérica y Europa, se considera que la enfermedad puede tener una distribución mundial, ya que también existen reportes en Sudamérica, y si bien se puede presentar en cualquier momento del año, la mayoría de los brotes son estacionales ya que coinciden con la aparición de vectores la cual sucede en primavera y principios del verano (Ulloa 2018) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resumen de la distribución y hospederos principales según especie (adaptado de Delgado y Montoya, 2018).

Especie	Célula	Hospedero	Distribución
<i>A. phagocytophilum</i>	Granulocitos	Humanos	Europa América Norte de África
<i>A. platys</i>	Plaquetas	Perros	América
<i>A. marginale/centrale</i>	Eritrocitos	Bovinos	América
<i>A. ovis</i>	Eritrocitos	Ovinos y caprinos	Norteamérica

### 2.1.3. Morfología

*A. phagocytophilum* es una bacteria intracitoplasmática obligada, gram negativa que puede tener forma bacilar, cocoide o pleomórfica, con ausencia de flagelo, la estructura de la pared celular externa es bilaminar, la cual es fina y sin engrosamientos, aunque con abundantes pliegues (Pérez *et al.*, 2005; Bakken y Dumler, 2008). Dentro de los granulocitos infectados, las bacterias están presente como mórulas dentro de vacuolas intracitoplasmáticas, estas vacuolas miden de 1.5 a 6 µm, mientras que las mórulas pueden ser de dos tipos, unas pequeñas, de 0.2 a 0.4 µm, electrodensas, con ribosomas condensados en el centro, que se denominan “células elementales”, y otras grandes, de 0.8 a 1.5 µm, con ribosomas repartidos por el citoplasma, estos se denominan “células reticulares” (Pérez *et al.*, 2005).



Pueden verse bajo microscopía de extensiones de sangre periférica, mediante tinción Giemsa se ve de color púrpura y con tinción Macchiavello, el color es rojo en contraste con el citoplasma teñido de azul (Bowman, 2011).

Tiene un genoma pequeño, de 1.5 kb, el cual carece de vías biosintéticas codificadas por genes para lipopolisacáridos, peptidoglicano, glucólisis y glutamato, por lo que su fuente de carbono es la glutamina. Posee al menos 100 genes parálogos que codifican para la proteína de superficie principal Msp2, cada bacteria expresa una sola variante de Msp2, también codifica genes para la secreción de tipo IV y II, y la proteína arquinina-A (Bakken y Dumler, 2008).

#### 2.1.4. Transmisión

La transmisión puede ser mediante vectores, de manera iatrogénica o transplacentaria, principalmente ocurre mediante vectores, en este caso, las garrapatas del género *Ixodes* son las principales transmisoras, en el noroeste de Estados Unidos, el principal vector es *Ixodes scapularis* y en el este, *Ixodes pacificus*, sin embargo, también se considera a *Dermacentor silvarum*, *Haemophysalis punctata* y *Rhipicephalus sanguineus* como posibles transmisores (Carrade *et al.*, 2009; Woldehiwet, 2010; Delgado y Montoya, 2018).

El principal reservorio es el venado de cola blanca, además pueden actuar como tal ratones, ardillas y animales silvestres, las aves no son en sí reservorios competentes, pero contribuyen a la dispersión al poder transportar garrapatas por largas distancias; los animales afectados suelen ser los domésticos, como la vaca, oveja, gato, perro y el humano (Pérez *et al.*, 2005; Bonilla, 2014; Rojero *et al.*, 2017).

La capacidad vectorial de las garrapatas duras, se debe a su extenso periodo de alimentación y que esta se da durante casi todos los estadios, además, tienen la capacidad de transmitirse de manera transtadial, tienen una alta capacidad reproductiva y pueden mantenerse vivas durante amplios periodos sin alimentarse (Márquez *et al.*, 2005).

El ciclo de vida involucra el huevo, larva, ninfa y adulto (Figura 5). Las hembras son fecundadas sobre el animal hospedero y se alimentan de 1 a 3 semanas, una vez llenas de

sangre, caen a desovar en el ambiente, donde los huevos eclosionan y las larvas buscan un hospedero para alimentarse por días y caen nuevamente para convertirse en ninfas, estas ninfas suben nuevamente a un hospedero y una vez alimentadas caen al suelo donde mudan, durante la primera semana o incluso un par de meses, a la etapa adulta, esta última sube nuevamente al hospedero a alimentarse y a reproducirse. Completar el ciclo puede requerir de 2 a 3 meses (Bowman, 2011; Rojero *et al.*, 2017) (Figura 1).

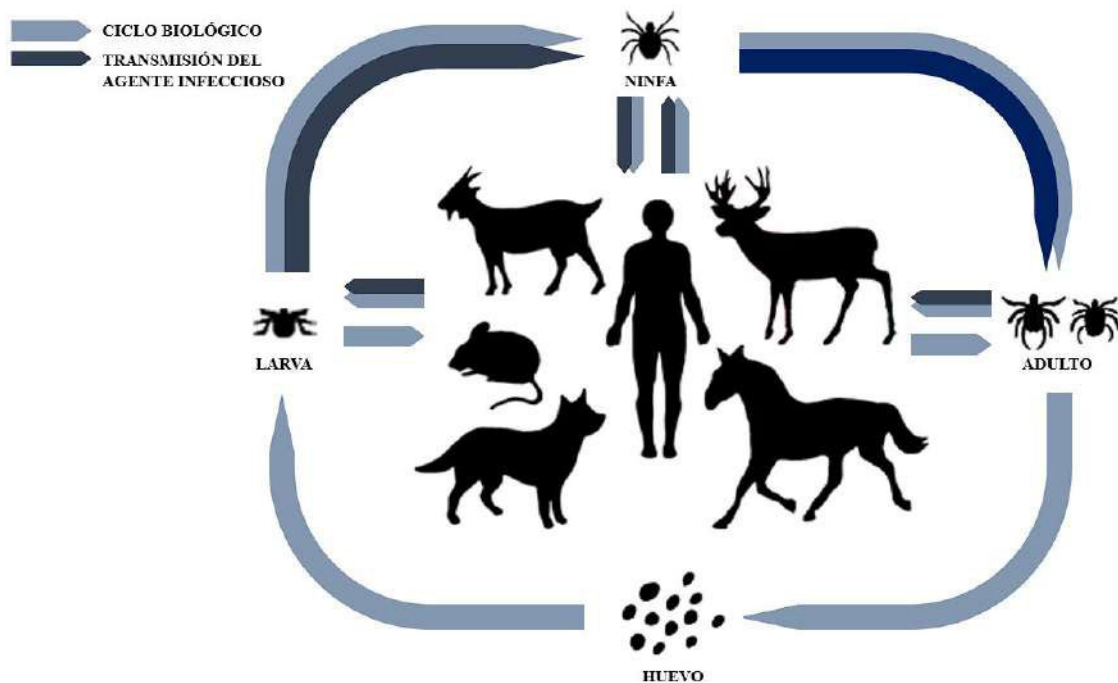


Figura 1. Esquema general del ciclo biológico de la garrapata de la familia *Ixodes*, incluyendo la transmisión de *Anaplasmataceae* y sus principales hospederos (Adaptado de Rojero *et al.*, 2017).

Por su naturaleza hematófaga, la garrapata adquiere el agente de un hospedero infectado al momento de alimentarse, la bacteria llega a las células del intestino medio, donde pasa a las células musculares y luego a los demás tejidos, incluyendo las glándulas salivales. Se multiplica dentro de las vacuolas e involucra 2 estadios: reticular, donde se divide por fisión binaria y forma colonias grandes que contienen un gran número de microorganismos, luego avanza a formar vacuolas elementales, la cual la forma infecciosa. El vector necesita de al menos 24 a 48 horas de consumir sangre para poder transmitir los patógenos a otros animales susceptibles (Carrade *et al.*, 2009; Delgado y Montoya, 2018).

Las garrapatas se encuentran en climas tropicales y subtropicales principalmente y mayormente en épocas de humedad alta. Las larvas y ninfas absorben vapor de agua atmosférico y de esa manera mantienen el equilibrio del agua en su organismo, además, la tasa respiración de respiración es baja, así como su metabolismo, lo que les permite mantenerse con vida por periodos duraderos sin acceso a alimento. Por otro lado, es importante resaltar que el cambio climático actual puede tener cierto efecto en la distribución actual de las garrapatas, así como en su ciclo reproductivo (Jimenez, 2021).

Respecto a la aparición según la estación del año, se conoce que, en primavera, tras el alza de la temperatura ambiental y fotoperiodo, y con una adecuada humedad relativa, las garrapatas se dirigen hasta las zonas más altas de la vegetación en espera de encontrar un hospedero. Conforme aumenta la temperatura y disminuye la humedad, las garrapatas ocupan una posición al medio o mas baja en la vegetación para acumular las reservas energéticas que podrían haber perdido. Durante el invierno, de no haber encontrado un hospedero, la temperatura baja y el fotoperiodo corto, hacen que las garrapatas no busquen más un hospedero activamente (Jimenez, 2021).

#### 2.1.5. Patogenia

La garrapata infectada, al alimentarse de la sangre del hospedero, le transmite las bacterias, para ello debe estar adherida al menos durante 36 horas, una vez que ingresa en el torrente sanguíneo va en busca de las células blanco, neutrófilos en este caso (Carrade *et al.*, 2009; Cuperus, 2010).

En la superficie del neutrófilo se encuentra la proteína de membrana PSGL-1 (Ligando-1 de glicoproteína P-selectina) a la cual *A. phagocytophilum* se une mediante su antígeno de membrana Msp2 (proteína principal de superficie 2) e ingresa por endocitosis mediada por balsas lipídica denominadas caveolas (Bakken y Dumler, 2008; Carrade *et al.*, 2009).

Dentro del neutrófilo, *A. phagocytophilum* secreta la proteína AnkA (arquinina) la cual desregula las funciones bactericidas del neutrófilo, entre otros mecanismos de defensa, tal como la disminución de la adherencia endotelial, evasión de las vías fagolisosomales,

bloquea la actividad de NADPH oxidasa y retrasa la apoptosis celular hasta 45 horas (Bakken y Dumler, 2008; Carrade *et al.*, 2009; Cuperus, 2020).

Una vez que ha ingresado, la célula densa (forma infectiva) se desarrolla a células reticuladas (forma replicativa) dentro de su mórula, las cuales se replican mediante fisión binaria, pudiendo formar de 15 a 20 organismos por célula, luego estas mismas maduran en células densas; una mezcla de células densas y reticuladas se liberan por exocitosis o lisis celular del neutrófilo, pudiendo infectar otras células en el torrente sanguíneo o llegar a otros órganos como hígado, bazo o médula ósea (Bakken y Dumler, 2008; Cuperus, 2010; Rikihisa, 2010).

El periodo de incubación en perros es de 8 a 15 días post-inoculación y la bacteremia hasta 28 días, normalmente se resuelven por si solas, sin embargo, se ha encontrado bacteremia en ovejas hasta 25 meses después de la infección primaria, por lo que no se descarta que en perros también se pueda encontrar por mayor cantidad de tiempo (Carrade *et al.*, 2009; Woldehiwet, 2010; Greene, 2012).

#### 2.1.6. Signos clínicos

En caninos la enfermedad es inespecífica, pudiendo haber animales asintomáticos, sin embargo, predispone a infecciones secundarias que pueden agravar el cuadro (Rikihisa, 2011; Rubio, 2011). La enfermedad inicia de 5 a 21 días luego de la picadura, y dura de 2 a 4 semanas; el signo más común es la fiebre alta de hasta 41 °C, también se puede presentar claudicación, tumefacción y dolor articular, debilidad muscular, linfadenomegalia, esplenomegalia y malestar general. A nivel hematológico se observa linfopenia y trombocitopenia principalmente, también puede verse anemia y aumento de transaminasas hepáticas. Esta fase algunos la superan sin tratamiento, la aparición de severidad de los signos depende de la edad y el sistema inmune, dependiendo de la respuesta del animal puede haber una pronta recuperación o puede seguir con una considerable pérdida de peso, aborto, fallo cardiopulmonar e incluso la muerte (Alleman *et al.*, 2008; Rubio, 2011; Greene, 2012; Calvache, 2014).

En los animales que sobreviven a la enfermedad, luego de varias semanas disminuye el agente del torrente sanguíneo y los valores hematológicos vuelven a la normalidad. Los animales pueden permanecer infectados persistentemente y estos vienen a ser “portadores asintomáticos de la enfermedad”. También pueden existir reinfecciones, debido a que los títulos de anticuerpos empiezan a disminuir luego de 8 meses de haber sido eliminada la bacteria (Alleman *et al.*, 2008; Calvache, 2014).

En humanos se considera también inespecífica, normalmente autolimitante, en caso de presentarse síntomas, los más comunes son la fiebre, el dolor de cabeza, mialgia y malestar general, menos común se presentan erupciones cutáneas. Igual que en caninos, se pueden presentar infecciones secundarias, suele ser más grave en pacientes ancianos, diabéticos e inmunosuprimidos. Las complicaciones son raras pero mortales, pudiendo ocurrir una dificultad respiratoria aguda, insuficiencia renal aguda o colapso hemodinámico, aunque, la mayoría se suele recuperar en menos de 2 meses (Oteo y Brouqui, 2005; Bakken y Dumler, 2011; Greene, 2012).

#### 2.1.7. Diagnóstico

El diagnóstico se basa en primera instancia en la anamnesis, considerando si es un área endémica y temporada que favorezca la presencia del vector, además de la presentación clínica, la cual aparece regularmente 1 o 2 semanas después haber sido mordido por una garrapata, luego, se continúa con los hallazgos en el examen clínico y finalmente se confirma mediante descartes o pruebas de laboratorio (Coronado, 2016; Ulloa, 2018; Julca 2020).

Se pueden encontrar alteraciones en los exámenes hematológicos y bioquímicos, principalmente trombocitopenia, leucopenia, aumento de transaminasas hepáticas y fosfatasa alcalina, anemia no regenerativa, neutropenia, hiperglobulinemia e hiponatremia (Khon *et al.*, 2008).

Visualización microscópica: *A. phagocytophilum* infecta granulocitos, lo que permite que se puedan observar en un frotis sanguíneo, se utiliza la tinción Giemsa-Wright y mediante microscopía óptica a 100X se observan las “mórulas” en los neutrófilos circulantes. Hay mayor sensibilidad en la primera semana de la infección, donde hasta un 30% de los

neutrófilos están infectados, luego va bajando la carga lo que dificulta su detección en la fase crónica. Es un método de bajo costo y puede confundirse con otros miembros de la familia *Anaplasmataceae* (Bakken y Dumler, 2008; Allison y Little, 2013; Ulloa, 2018).

ELISA: Es una prueba que utiliza el antígeno de proteína Msp2/p44 recombinante para detectar anticuerpos en el suero. Es la técnica rápida más usada, sin embargo, puede dar un falso negativo en una fase aguda por el retraso en la formación de anticuerpos, además, tiene reacción cruzada con otras especies de *Anaplasma* (Barth *et al.*, 2014; Coronado, 2016).

Inmunofluorescencia indirecta: Es una técnica rápida y confiable para encontrar anticuerpos en suero, se basa en la unión del anticuerpo posiblemente presente en el suero del sujeto a evaluar, con antígenos en la superficie y citoplasma de células infectadas. La desventaja es la posible reacción cruzada con *A. platys* o *E. canis* (Barth *et al.*, 2014).

PCR: Identifica secuencias específicas del ADN, existen el PCR convencional y en tiempo real para detectar *A. phagocytophilum* en sangre periférica, capa leucocitaria, médula ósea o tejido esplénico. La mayoría detecta el gen ARN ribosomal 16S por ser muy sensible en el diagnóstico, sin embargo, este puede confundirse con otros anaplasmas, por lo que se prefiere usar *msp4*, *groEL* o *ankA* para diferencia de otras especies de *Anaplasma*, teniendo una sensibilidad del 100% (Allison y Little, 2013; Barth *et al.*, 2014; Julca, 2020).

#### 2.1.8. Prevención, control y tratamiento

La prevención se logra principalmente controlando la presencia de los vectores transmisores, en este caso las garrapatas, evitando que parasiten a los animales y humanos, y en caso de que ya haya ocurrido una infestación, esta se debe eliminar, para ello, se recomienda el uso de antiparasitarios externos sobre los animales y esporádicamente realizar limpieza y fumigaciones en el medio ambiente donde estos se encuentran a fin de evitar la propagación e infestación de estos ectoparásitos (Bowman, 2009; Greene, 2012).

Para la prevención mediante acaricidas pueden utilizarse diferentes productos, tales como jabones, champús, collares, sprays, tabletas masticables, entre otros. Existen diferentes



compuestos activos que se utilizan en mascotas como por ejemplo lactonas macrocíclicas, organofosforados, piretroides, fenilpirazoles, entre otros. Los productos comerciales están hechos a base de una o más de estos elementos, incluyendo otros compuestos activos, de tal forma que no son específicos solo para garrapatas, sino que además funcionan para pulgas y otros insectos (Greene, 2012; Gutierrez, 2016).

El control del ambiente, incluye tanto a las áreas donde se encuentran las mascotas, como zonas aledañas, que pueden ser jardines o habitaciones; normalmente se lleva a cabo mediante la aplicación de garrapaticidas y desinfectantes, aunque, cabe resaltar que tales productos son tóxicos y no deben usarse de manera indiscriminada, ya que pueden causar el efecto contrario, permitiendo el desarrollo de garrapatas resistentes (Gutierrez, 2016).

El tratamiento recomendado son fármacos derivados de las tetraciclinas y enrofloxacinas, el más usado y que ha demostrado mejor efectividad es la doxiciclina, se usa a 5-10 mg/kg cada 12-24 horas, el tratamiento dura de 21 a 30 días o más según sea el caso, es importante no acortar el tratamiento ya que de ser así podría establecerse una infección persistente y eventualmente reinfecciones, otra opción de tratamiento en caninos es el uso de imidocarb; también, según sea el caso, se incluye terapia de soporte con fluidos e incluso transfusiones sanguíneas (Matthewman *et al.*, 1994; Greene, 2012; Allison y Little, 2013).

## 2.1.10. Antecedentes

### 2.1.10.1. En el Perú

Para la detección de anaplasmosis, los estudios principalmente se enfocan en la detección serológica, utilizando principalmente la prueba SNAP 4DX (IDEXX), la cual es de uso comercial y accesible en la clínica diaria, sin embargo, como se mencionó anteriormente, este examen puede tener una reacción cruzada con *A. platys* no permitiéndonos diferenciar la especie (Wong *et al.*, 2011).

Existen diversos estudios en el norte del país; en Lambayeque, de 88 muestras de perros aparentemente sanos y con antecedente de garrapatas, se encontró una prevalencia de 22.7% a *Anaplasma* sp. teniendo una seropositividad múltiple de 21.6 % con *Ehrlichia* sp. adicional a ello, mediante un examen hematológico se encontró que el 2.3 % fueron

positivos a *A. platys* (Álvarez *et al.*, 2020); en una clínica veterinaria de la ciudad de Piura, de 71 perros que llegaban a consulta con signos compatibles con enfermedades hemoparasitarias y con antecedentes de garrapatas, la prevalencia fue de 4.2% a *Anaplasma* sp., resaltando que todos estos también eran positivos a *Ehrlichia* sp. (Naranjo, 2018); de 169 muestras sanguíneas de perros de 3 distritos en Tumbes, la prevalencia global de 37.9% para *Anaplasma* sp. (Julca, 2020); y en la provincia de San Martín, de 65 muestras, la prevalencia fue de 43.01%, obteniéndose un mayor número de casos en el distrito de Tarapoto (19/65), evaluando variables resaltantes como el grado de instrucción del propietario y la exposición del perro a la calle no encontrándose una relación estadísticamente significativa (López, 2022).

Sin embargo, también existen otras marcas de menor costo en el mercado con las cuales se han hecho estudios, por ejemplo, en los distritos de José Leonardo Ortiz, La Victoria y Chiclayo, mediante el uso del kit VetScan *Anaplasma* Rapid Test, se evaluó 78 muestras de sangre de perros hallándose una prevalencia global de 55.13% y una prevalencia de 57.7%, 73.98% y 34.62% respectivamente (Delgado y Montoya, 2018).

En Lima, se menciona un reporte de caso de un perro que fue positivo mediante SNAP 4DX, el cual presentaba signología clínica compatible (Rubio *et al.*, 2011) y en el distrito de Comas, de 162 muestras evaluadas con el kit Anigen *E. canis/Anaplasma* Ab se encontró una prevalencia de 43.2%, resaltando que no se encontró una asociación significativa con la presencia de garrapatas (Porrás, 2023).

También se ha estudiado en otras especies, por ejemplo, en Chiclayo, de 100 muestras de caballos aparentemente sanos y con antecedentes de exposición a garrapatas, mediante una prueba hematológica (frotis con tinción Wright y naranja de acidrina), se encontró que el 9% tenía cuerpos de inclusión compatibles con *Anaplasma phagocytophilum* (Masgo *et al.*, 2019).

#### 2.1.10.2. En Latinoamérica

En países aledaños al Perú también se han reportado casos de *Anaplasma* sp. y *Anaplasma phagocytophilum* mediante distintos métodos tales como ELISA (SNAP 4DX), IFI y PCR.

En Costa Rica, de perros que visitan parques recreativos, se tomó distintos tipos de muestra para evaluar la presencia de *A. phagocytophilum*, de 408 sueros se encontró que 2.7% eran positivos mediante IFI, de 374 muestras sanguíneas, un perro resultó positivo mediante PCR, y de 122 grupos de garrapatas, un grupo de *Rhipicephalus sanguineus* fue positivo mediante PCR (Bonilla, 2014); también en Costa Rica, de distintas ciudades se colectaron 300 muestras de sangre de caballos, 342 de perros y 160 muestras de garrapatas las cuales se evaluaron mediante PCR anidadas, de las muestras de caballo ninguno resultó positivo, sin embargo, el 0.9% de perros y el 1.2% de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* fueron positivas, resaltando que las garrapatas provenían de un perro sin sintomatología clínica (Campos et al., 2013).

En la ciudad de Santo Domingo de Tsáchilas, en Ecuador, se evaluó mediante SNAP 4DX 100 muestras sanguíneas de perros, obteniéndose 21 diagnósticos positivos de los cuales 10 fueron para *Anaplasma* sp., correspondiente al 47.62% siendo la de mayor presentación (Calvache, 2014).

Con la misma metodología SNAP 4DX, de 498 perros de 3 ciudades de Colombia, se encontró una prevalencia global de 33%, correspondiendo el 12% a Medellín, 40% a Barranquilla y 51% a Cartagena (McCown et al., 2015). Por otro lado, en Managua, Nicaragua, de 153 muestras evaluadas mediante tinción Diff-Quick y Wright se encontró 11.04% positivos a *Anaplasma phagocytophilum* (Gadea y Moreno, 2021).

En México, en Culiacán, Sinaloa, de 153 muestras sanguíneas de perros se encontró mediante SNAP 4DX 13.77% de positivos a *Ehrlichia* sp. y 1.3% a *Anaplasma* sp., las cuales se procesaron mediante PCR amplificando el gen 16S ARNr encontrándose 4 muestras positivas a *Anaplasma* sp. y a estas se les realizó un PCRN resultando 3 muestras positivas a *Anaplasma phagocytophilum* (Coronado, 2014); en la zona centro de Tamaulipas, de 384 muestras evaluadas mediante PCR no se encontró la presencia de *Anaplasma phagocytophilum*, sin embargo, si se encontró 103 muestras positivas a *Ehrlichia canis* (Merino et al., 2021); y en Campeche, mediante PCR también, se evaluó la presencia de *A. phagocytophilum* en zarigüeyas y perros, encontrándose un 3% y 27% de prevalencia respectivamente (Rojero et al., 2017).

En Brasil, de 62 muestras de sangre de perros que viven en el área residencial de Belo Horizonte, se encontró mediante IFI 48% de seropositividad y un 10.9% de positivos mediante PCR a *Anaplasma phagocytophilum* (Silveira *et al.*, 2017).

Los estudios también se han hecho en personas, en Chile, de 58 muestras de sangre de estudiantes y personal del Hospital Clínico Veterinario Docente de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás en Talca, se halló mediante IFI un 25.9% de seropositivos a *Anaplasma* sp., encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al uso de medidas de seguridad, extracción y hallazgos de ectoparásitos en la ropa (Weinbor *et al.*, 2018).

En México, de 1014 muestras de sangre de paciente humanos, se encontró mediante IFI 8.38% de seropositividad, de los cuales el 24.7% mantuvieron sus valores en un segundo muestreo 4 meses después, además, de estos seropositivos mediante PCR amplificando el gen groEL se encontró *Anaplasma phagocytophilum* en el 7.10% (Sosa *et al.*, 2021).

#### 2.1.10.3. En el mundo

Numerosos estudios se han realizado en Europa y Norteamérica señalando directamente al agente *A. phagocytophilum*, principalmente en países como Alemania, Italia y Estados Unidos mediante IFI y PCR principalmente, en perros con antecedente de haber tenido garrapatas o de signología clínica, encontrándose prevalencias desde un 0% hasta un máximo de 55.4% mediante IFI y de 0% hasta un máximo de 9.5% mediante PCR (Carrade *et al.*, 2009).

De igual manera, se ha encontrado ADN de *A. phagocytophilum* en los ectoparásitos transmisores, principalmente *Ixodes scapularis* en Estados Unidos, hasta un 53%, e *Ixodes ricinus* en Europa, hasta un 34% (Perez *et al.*, 2005).

El último compendio de casos en humanos reportados hasta 2022, señala que de un total de 110 casos reportados y confirmados mediante PCR, a nivel mundial el 50% de los casos corresponden a Estados Unidos, seguido de un 10% en China, y el resto distribuido entre países de Europa, Asia y África (Dumic *et al.*, 2022).

## 2.2. *Ehrlichia chaffeensis*

### 2.2.1. Taxonomía

*Ehrlichia* es una bacteria gramnegativa de la clase *Alphaproteobacteria*, orden *Rickettsia*, familia *Anaplasmataceae*, género *Ehrlichia* en el que se encuentran las especies *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. ruminatum*, *E. muris* y *E. mineirensis* (Cuadro 3). Antes del 2001, se clasificaba al género *Ehrlichia* y *Wolbachia* dentro de la familia *Rickettsiaceae*, sin embargo, en base a estudios moleculares, se demostró que estaban mas cercanamente relacionados con el género *Anaplasma* y *Neorickettsia*, por lo que se los clasificó finalmente dentro de una sola familia (Dumler *et al.*, 2001).

Cuadro 3. Taxonomía actual de *Ehrlichia chaffeensis* (adaptado de Dumler *et al.*, 2001).

Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Rickettsia</i>
Familia	<i>Anaplasmataceae</i>
Género	<i>Ehrlichia</i>
Especies	<i>E. canis</i> , <i>E. chaffeensis</i> , <i>E. ewingii</i> , <i>E. ruminatum</i> , <i>E. muris</i> , <i>E. mineirensis</i>

### 2.2.2. Historia y distribución

En 1954, se reportó los primeros casos de infección por *Ehrlichia* en humanos en Japón, la cual fue denominada como «Fiebre del Sennetsu», el agente causal se denominó *Ehrlichia sennetsu* (Misao y Kobayashi, 1955). En 1986, se reportó un caso de ehrlichiosis monocítica humana en Estados Unidos, en un paciente con sintomatología compatible con Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas, en la que se encontró la presencia de un agente muy relacionado con *E. canis*; a partir de ello, se empezó a realizar mayor investigación en la enfermedad. Actualmente se sabe que el agente causal es *E. chaffeensis* (Maeda *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 1991).

A partir de la década de 1990 se reportaron casos de *Ehrlichia chaffeensis* en humanos a lo largo del continente americano, incluyendo Perú (Oteo y Brouqui, 2005; Paulino, 2011; Gomez *et al.*, 2017). En 1992 se demostró experimentalmente que los perros

podían ser infectados por *Ehrlichia chaffeensis* (Dawson y Ewing, 1992) y en 1996 se reportaron los primeros casos de perros infectados con *E. chaffeensis* de manera natural en Virginia, Estados Unidos (Dawson *et al.*, 1996).

La enfermedad se considera de distribución mundial, la mayor incidencia se produce en los meses de primavera-verano y principios de otoño, que es cuando las especies de garrapatas involucradas en la transmisión se encuentran más activas (Paulino, 2011) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resumen de la distribución y hospedero principal según especie (adaptado de Paulino, 2011).

Especie	Célula	Hospedero	Distribución
<i>E. canis</i>	Mononucleares Linfocitos	Perros	Mundial
<i>E. chaffeensis</i>	Mononucleares Neutrófilos Linfocitos	Humanos Perros Venado	Mundial (principalmente Norteamérica)
<i>E. ewingii</i>	Neutrófilos Eosinófilos	Perros	Mundial (principalmente Norteamérica)

### 2.2.3. Morfología

La descripción morfológica de *E. chaffeensis* se basa en su observación en los leucocitos que infecta, principalmente monocitos. Es una bacteria pequeña y no mótil, tiene pared celular de tipo gram-negativa y se replica por fisión binaria, reside y crece en vacuolas en el citoplasma de la célula que infecta y forman agregados llamados mórulas (Dumler *et al.*, 2007; Tamez, 2015).

De manera similar a *A. phagocitophylum*, las células dentro de las mórulas pueden ser de dos tipos, unas se denominan “células densas” las cuales son predominantemente cocoides, tienen un ADN nuclear condensado y miden de 0.4 a 0.6  $\mu\text{m}$  de diámetro; el otro tipo son las “células reticulares”, las cuales son de forma cocoide o cocobacilar, tiene fibrillas



de ADN dispersadas por el citoplasma de manera uniforme y miden de 0.4 a 0.6  $\mu\text{m}$  por 0.7 a 1.9  $\mu\text{m}$ . Una mórula puede medir de 1 a 6  $\mu\text{m}$  de ancho y puede contener de 1 a 40 o más células (Paddock y Chils, 2003).

La mayoría de los antígenos proteicos producidos están codificados por un multigen familiar, varían entre 28 y 32 kDa en tamaño molecular y se expresan en la membrana externa. Las secuencias de aminoácidos de la membrana externa son proteínas similares a las de *A. phagocytophilum*. El tamaño del genoma es de aproximadamente 1250 kpb (Dumler *et al.*, 2001).

#### 2.2.4. Transmisión

*Ehrlichia* spp. se transmite mediante garrapatas duras o de la familia *Ixodidae*. *Amblyomma americanum* es el transmisor principal de *Ehrlichia chaffeensis* en Norte América (Paddock y Childs, 2003; Dumler *et al.*, 2007). Esta garrapata se encuentra distribuida predominantemente en los estados del sur de Estados Unidos de América. Sin embargo, se ha aislado a *E. chaffeensis* de otras garrapatas incluyendo a *Rhipicephalus sanguineus* (Ndip *et al.*, 2001), *Dermacentor variabilis* (Roland *et al.*, 1998), *Ixodes pacificus* (Kramer *et al.*, 1999), *Ixodes ricinus* (Alekseev *et al.*, 2001), *Amblyomma testidinarium*, *Haemaphysalis yeni* (Cao *et al.*, 2000), *Amblyomma parvum* (Tomassone, 2008) e *Ixodes ovatus* (Shibata *et al.*, 2000).

El venado de cola blanca es la especie que se considera como hospedero completo y suficiente para mantener el ciclo de transmisión de *E. chaffeensis*, ya que esta especie es la principal fuente de sangre para las garrapatas adultas y estadios juveniles de *Amblyomma americanum* (Lockhart *et al.*, 1998; Paddock y Childs, 2003; Rojero *et al.*, 2007).

También, de manera similar a *A. phagocytophilum*, se ha aislado en otras especies, tales como, cabras domésticas (Dugan *et al.*, 2000), caninos domésticos (Dawson *et al.*, 1996; Breitschwerdt *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2016), coyotes (Kocan *et al.*, 2000), zorros (Davidson *et al.*, 1999), mapaches (Comer *et al.*, 2000), zarigüeyas (Lockhart *et al.*, 1998) y aves migratorias (Alekseev *et al.*, 2001).

El ciclo de vida de las garrapatas duras es similar entre sí, explicado con mayor detalle en el punto 2.1.4.

#### 2.2.5. Patogenia

Las células mayormente infectadas por *E. chaffeensis* son los monocitos, aunque también se ha observado en linfocitos y segmentados. Ingresa a las células afectadas mediante endocitosis mediada por receptores y OMP1-P28 (proteínas de membrana codificadas por *E. chaffeensis*) a través de caveolas, de manera similar a *A. phagocytophilum* (Paddock y Childs, 2003).

Mediante marcadores como Rab5 y EEA1 (antígeno 1 de endocitosis mediada), la vacuola al ingresar se une a TfRs (transferrinas) que no permiten la maduración de endosomas y por tanto, la unión a los lisosomas, también, la ausencia de LPS (lipopolisacáridos) y peptidoglicanos hace que no puedan ser reconocidos por el sistema inmunológico; entre otros mecanismos de defensa, *Ehrlichia chaffeensis* tiene la habilidad para obtener colesterol de la célula hospedera, previene la activación de NADPH oxidasa e inhibe la apoptosis (Paddock y Childs, 2003; Rikihisa, 2010; Rikihisa, 2015).

Dentro del macrófago, su desarrollo de células densas a reticuladas y replicación general es igual a *A. phagocytophilum*, las células infectadas tienen 1-2 mórulas, pero ha encontrado hasta 15 en individuos inmunosuprimidos (Rikihisa, 2015).

Una vez que fueron liberadas por exocitosis o lisis celular, se diseminan vía sanguínea llegando al hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos (Delgado y Hernández, 2023).

#### 2.2.6. Signos clínicos

En caninos, la presentación de los signos clínicos y ciclo de ellos suele ser igual que con otras especies de *Ehrlichia*, siendo *E. canis* de la cual más se ha reportado, y es muy similar a *A. phagocytophilum*. Puede ir desde una enfermedad asintomática hasta ocasionar manifestaciones clínicas severas, los signos clínicos que principalmente se observan son fiebre y pérdida de peso, pudiendo verse también vómitos, depresión, malestar general e

incluso signos neurológicos. A nivel hematológico el hallazgo más común es la trombocitopenia y linfocitosis. Se ha reportado que *E. chaffeensis* puede permanecer en sangre hasta 4 meses sin mostrar signología (Breitschwerdt *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2016).

En humanos, del mismo modo suele ser inespecífico, los signos más comúnmente reportados son la fiebre, cefalea, mialgia y malestar general, otras manifestaciones que se pueden presentar durante el transcurso de la enfermedad son problemas respiratorios y neurológicos, algunos pacientes desarrollan sarpullido o “rash” y patrones hemorrágicos tales como petequias, máculas o eritema difuso. A nivel hematológico se presenta principalmente trombocitopenia y a las dos semanas de iniciados los síntomas, anemia, aumento de transaminasas hepáticas, fosfatasa alcalina y bilirrubina. Es de baja mortalidad, esta sucede normalmente en pacientes inmunocomprometidos o por complicaciones secundarias (Paddock y Childs, 2003; Dumler *et al.*, 2007; Paulino, 2011; Oteo y Brouqui, 2016).

#### 2.2.7. Diagnóstico

La sospecha clínica es muy similar a *A. phagocytophilum* y a otras especies de *Ehrlichia*, por lo mismo, pueden llegar a confundirse o ser enfermedades concomitantes, por lo que, de igual forma, debe confirmarse mediante pruebas de laboratorio.

Visualización microscópica: es posible observarlas en sangre periférica, médula ósea o aspirado de tejidos. Se observan mórulas con coloraciones tipo Romanowski como una inclusión granular basófila en el citoplasma de monocitos y linfocitos (Allison y Little, 2013; Gutierrez, 2016).

ELISA: Es conocida la prueba SNAP 4DX que se usa para la detección anticuerpos contra *E. canis*, sin embargo, es específica para ella y de mayor utilidad en su campo puesto que es la especie que mayormente afecta a caninos; sin embargo, para *E. chaffeensis* se ha optimizado una prueba ELISA que utiliza los péptidos sintéticos TRP120 y TRP32 (Chikeka *et al.*, 2026; Franco *et al.*, 2019).

Inmunofluorescencia indirecta: Los ensayos por IFI son el gold estándar para el diagnóstico de CME y HME, utilizan la IgG anti *E. canis*, pero estos no diferencian anticuerpos de las diferentes especies de *Ehrlichia*, ya que se ha reportado reactividad cruzada entre *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *A. phagocitophilum* impidiendo determinar el agente etiológico (Allison y Little, 2013).

PCR: Se utilizan métodos de diagnóstico molecular que se basan en la detección de ácidos nucleicos; es un método sensible regularmente para la infección en etapa aguda en perros. Los ensayos se basan en diferentes genes diana, por ejemplo, 16S ARNr, p28, p30, dsb, entre otros, los más usados son 16S ARNr, p28 y p30 por su alta sensibilidad. Existen distintas metodologías para el diagnóstico por PCR, PCR de un solo paso, PCR anidadas y PCR en tiempo real (Franco *et al.*, 2019).

#### 2.2.8. Prevención, control y tratamiento

El manejo de la prevención, control y tratamiento es el mismo que en el caso de *A. phagocitophilum*, explicado en el punto 2.1.8.

Adicional a ello, en el caso de *E. chaffeensis* se ha estudiado el desarrollo de una vacuna a partir de una cepa atenuada, la cual ha presentado una respuesta inmune adecuada en perros (McGill *et al.*, 2016), si bien, no se ha presentado de manera comercial, es un punto de partida para la protección en personas en riesgo y en el caso de perros, control de la ehrlichiosis causada por *E. canis*, que actualmente es una enfermedad de alta presentación a nivel mundial en la clínica diaria.

#### 2.2.10. Antecedentes

##### 2.2.10.1. En el Perú

De manera similar a *Anaplasma* sp., los estudios realizados para *Ehrlichia* sp. en perros se dan principalmente mediante el uso de la prueba SNAP 4DX, por ejemplo, en Maynas, Iquitos, se evaluó a 30 perros sospechoso de ehrlichiosis y trombocitopenia donde se encontró una prevalencia de 60%, resaltando que no hubo una asociación significativa con la presencia de garrapatas (Villaverde, 2017), sin embargo, este test solo permite la

detección de anticuerpos contra *E. canis* y *E. ewingii*, por lo que para poder evaluar *Ehrlichia chaffeensis* se requiere de otros métodos como la IFI o PCR.

Inicialmente los estudios fueron realizados en humanos mediante IFI para determinar si existía exposición ante el agente, en regiones fuera de Lima tenemos que:

En Ancash, de 130 sueros de pacientes humanos febriles del Instituto Nacional de Salud, que fueron previamente negativos para rickettsiosis y enfermedad de Carrión, se encontró que el 9.2% fueron seropositivos a *E. chaffeensis* (Anaya *et al.*, 2019). Por otro lado, en Loreto, Madre de Dios, Tumbes y Tacna, de un total de 1634, se encontró una seroprevalencia de contacto reciente para *Ehrlichia* sp. de 3.7% y de contacto pasado de 19% (Anaya *et al.*, 2019);

En cuatro localidades a lo largo del país, se evaluó un total de 160 muestras encontrando una seroprevalencia global para *E. chaffeensis* de 13%, encontrándose positivos según sus localidades: 25% de Huaral, 23% de Cochapata, 3% de Pampas y 3% de Santo Tomás, también se buscó *A. phagocytophilum* mas no se encontró positivos (Moro *et al.*, 2009). También, en la ciudad de Trujillo, se evaluó a 50 perros mediante el kit de diagnóstico BioNote para *E. canis*, encontrándose 20% se positivos, por lo que a sus dueños se les realizó frotis con coloración Wright modificado mas no se encontró positivos (Chávez, 2020).

De manera similar a otras regiones del Perú, en Lima, se evalúa principalmente en personas, sin embargo, la técnica para ello suele variar desde tinciones sanguíneas hasta el uso de PCR. y los individuos de estudio son principalmente individuos que haya sido expuestas a un hospedero, en decir al perro, más que al vector transmisor, tenemos que:

Mediante PCR anidada, de 60 muestras de propietarios de perros con ehrlichiosis se determinó una frecuencia de 16.66% para *E. chaffeensis*, los resultados positivos provenían de los distritos de Lurín, San Juan de Lurigancho, Comas, Chorrillos, Carabayllo y Ate (Lam, 2010).

Mediante una prueba hematológica, para encontrar *E. canis*, de 91 propietarios cuyos perros tenían historia de ehrlichiosis en los últimos 6 meses previos al estudio, no se encontró pacientes positivos, sin embargo, el 15.4% fueron pacientes sospechosos (corpúsculos de inclusión en células mononucleares y ausencia de trombocitopenia), también se evaluó mediante IFI la frecuencia de pacientes seropositivos encontrándose 14.3%, resaltando que no se encontró diferencia significativa con respecto a la tenencia de perros con ehrlichiosis (Barrios *et al.*, 2013).

Mediante IFI, de 95 personas dueñas de perros con historial de ehrlichiosis menor a 1 año, se encontró una seroprevalencia de 31.6% contra *E. chaffeensis*, resaltando que el 40% de los positivos fueron personas expuestas a artrópodos vectores (Gómez *et al.*, 2017). También mediante IFI, se evaluó a 90 individuos que realizaban actividades veterinarias y que tuvieron contacto con perros con ehrlichiosis, y se encontró una seropositividad de 23.33% para *E. canis* y 20% para *E. chaffeensis* (Paulino, 2011).

Si bien los estudios son principalmente en humanos, tenemos un estudio en el que de 30 muestras evaluadas de perros provenientes de perros sospechosos a ehrlichiosis, se encontró un 43.3% para *Ehrlichia* spp. mediante PCR, y el 36.7% fueron positivos para *E. canis*, por lo que existe un 6% de muestras con una posible infección con otra especie de *Ehrlichia*, posiblemente *E. ewingii* o *E. chaffeensis* (Vicente, 2017).

#### 2.2.10.2. En Latinoamérica

En países cercanos al Perú, también se ha reportado casos de *E. chaffeensis* mediante IFI y PCR, tanto en humanos como en perros y en los vectores transmisores.

En Venezuela, a 12 perros con sospecha de ehrlichiosis (inclusiones intracitoplasmáticas, anemia y trombocitopenia), se les realizó PCR para detectar *E. canis* y *E. chaffeensis*, en el que se encontró un 100% para *Ehrlichia canis* y un 33% de coinfección (Gutiérrez *et al.*, 2009).

De varias regiones de Brasil, se colectó muestras de sangre de 1134 perros y examinó mediante ELISA, encontrándose un 0.7% de seropositividad para *E. chaffeensis*, de los

cuales 7 de ellos también fueron positivos mediante IFI, en todas las regiones donde se colectó hubo al menos un positivo (Gonçalves *et al.*, 2022).

En Monterrey, México, se colectaron 400 garrapatas provenientes de 380 perros de un centro de control y clínicas veterinarias, estas correspondiendo a *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus boophilus microplus*, *Amblyomma* sp., y *Dermacentor* sp., se encontró *Ehrlichia* spp. en el 9% donde el 7.25% fue positiva para *E. canis* y el 1.75% fue positiva para *E. chaffeensis*, donde todas estas fueron *Rhipicephalus sanguineus* (Tamez, 2015).

En la región del Chaco, Argentina, se colectaron garrapatas de la vegetación y de hospederos mamíferos, incluidos humanos, las cuales fueron 200 *Amblyomma parvum*, 26 *Amblyomma tigrinum* y 13 *Amblyomma pseudoconcolor*, estos se evaluaron mediante PCR para encontrar *E. chaffeensis*, obteniendo una prevalencia global de 11.3%, los cuales se encontraron en *Amblyomma parvum* colectadas de un perro, una cabra, un zorro y ganado, resaltando que la secuencia encontrada fue 99.6% idéntica a la cepa Arkansas. En vista de los resultados, otras 108 garrapatas se colectaron de la vegetación, de humanos y de dos especies de armadillos, se evaluaron igualmente mediante PCR y la prevalencia global encontrada fue de 11.2% siendo todas las garrapatas infectadas de la especie *Amblyomma parvum* (Tomassone *et al.*, 2008).

Reportes de caso en humanos tenemos que, en Colombia, se informó el caso de una persona adulta con antecedentes y signos compatibles con *E. chaffeensis*, el cual se confirmó mediante IFI (Hidrón *et al.*, 2014), de manera similar, en Venezuela, un niño de 9 años con un cuadro clínico compatible con ehrlichiosis, se evaluó mediante IFI al 4to día, donde el resultado fue negativo, sin embargo a la evaluación hematológica se encontró inclusiones intracitoplasmáticas, por lo que al día 35 se reevaluó mediante IFI encontrándose un resultado positivo y mediante PCR se confirmó que el agente causal fue *E. chaffeensis* (Martínez *et al.*, 2008).

#### 2.2.10.3. En el mundo

Los principales estudios se han realizado en Estados Unidos, ya que es donde se encuentra el vector principal *Amblyomma americanum*, en perros, los primeros casos son

relativamente recientes, el primer estudio, mediante PCR se evidenció la presencia de *E. chaffeensis* en perros naturalmente infectados en el sureste de Virginia, Estados Unidos, de 38 muestras tomadas de 5 refugios y una perrera, el 42% fueron positivos para *E. chaffeensis* y el 32% para *E. ewingii* (Dawson *et al.*, 1996).

En el Hospital Veterinario de la Universidad de Carolina del Norte, se seleccionaron 12 perros que se presentaron que fueron seropositivos a *Ehrlichia* sp. y con sintomatología compatible, los cuales fueron evaluados mediante PCR para diferenciar las especies de *Ehrlichia*, encontrándose 3 positivos a *Ehrlichia chaffeensis*, resaltando que se realizó un monitoreo durante el tratamiento y se encontró cierta persistencia al tratamiento y ADN hasta un año después a diferencia de otras especies de *Ehrlichia*, adicionalmente en este estudio se encontró también ADN de *Bartonella vinsonii* subesp. *berkhoffi* en siete perros (Breitschwerdt *et al.*, 1998)

En la zona sur y centro de Estados Unidos, de un total de 8,662 muestras sanguíneas de perros provenientes de escuelas veterinarias, veterinarias privadas y laboratorios, las cuales se evaluaron mediante ELISA para *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*, encontrándose resultados de 0.8%, 2.8% y 5.1% respectivamente (Beall *et al.*, 2012).

Adicionalmente, *E. chaffeensis* se ha reportado también en otro animales, en Georgia, de 35 venados de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) de un área infestadas de *Amblyomma americanum*, se encontró que el 77% fue positivo mediante IFI, el 20% fue positivo mediante PCR de sangre, bazo o linfonódulos y el 14% fue positivo a cultivo celular sanguíneo, incluyendo a 2 individuos que fueron negativos mediante PCR, resaltando que todas las secuencia coinciden genotípicamente con la cepa Arkansas (Lockhart *et al.*, 1997); en otro estudio, de 38 muestras de sangre de cabras de la granja de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Georgia que estaban parasitados por *Amblyomma americanum*, se encontró un 73.7% de positivos mediante IFI y un 15.8% de positivos mediante PCR (Durgan *et al.*, 2000).

Fuera de Estados Unidos, también existe casos reportados, en Corea del Sur, tenemos el caso de dos perros, uno fue un American Pitbull Terrier de 5 años, macho, de crianza



outdoor, y el otro un Shih-tzu de 3 años, macho, de crianza indoor, ambos con cuadros compatibles con ehrlichiosis, y se comprobó positivos a *E. chaffeensis* mediante PCR (Yu *et al.*, 2008).

También se han realizado estudio en los parásitos vectores, en Limbe, Camerún, se colectó 63 garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* de 5 perros provenientes de una perrera y se evaluó mediante PCR la presencia de *E. canis*, *E. chaffeensis* y *E. ewingii*, encontrándose un 56%, 6% y 0% respectivamente, una de ellas tenía una coinfección, los resultados obtenidos fueron idénticos al genotipo norteamericano (Ndip *et al.*, 2016), en otro estudio similar en el sur de China, de 717 garrapatas evaluadas por PCR para detectar *E. chaffeensis*, encontrándose positivos según su especie, un 55.2% de 29 adultos *Amblyomma testudinarium*, 11.7% de 240 adultos *Haemaphysalis yengi* y 4.2% de 215 ninfas de *Haemaphysalis yengi* (Cao *et al.*, 2000).

También, se ha estudiado la enfermedad en perros inoculados experimentalmente, en un estudio, se infectó 2 beagles y se hizo un seguimiento durante 2 meses, en uno de los perros se encontró ADN de *E. chaffeensis* hasta 4 meses después, mientras que, en el otro caso fue hasta los 81 días, los títulos de anticuerpos aparecieron al día 23 (1:64) y luego aumentaron hasta la semana 7 y 8 (1:16.384) y se mantuvieron altos durante todo el monitoreo (Zhang *et al.*, 2003); en otro estudio, en infectó 3 grupos de perros y se los vigiló durante 6 semanas encontrando mediante PCR la presencia de *Ehrlichia chaffeensis* durante todo el estudio, aunque resaltando que no presentaron signos clínicos, probablemente por la forma de infección ya que las garrapatas al inocular el patógeno naturalmente también van acompañados de factores antiinflamatorios, inmunomoduladores y anti hemostáticos que protegen al patógeno (Nair *et al.*, 2016).

## 2.3 *Bartonella* spp.

### 2.3.1. Taxonomía

*Bartonella* es una bacteria gramnegativa de la clase *Alphaproteobacteria*, orden *Rhizobiales*, familia *Bartonellaceae*, género *Bartonella*, en la cual *B. bacilliformis*, *B. henselae* y *B. quintana* son las especies más frecuentes, además se ha reportado *B.*

*rochalimae* y *B. vinsonii* en caninos y humanos (Hernandez *et al.*, 2001; Diniz *et al.*, 2013; Lopardo, 2021). Sin embargo, son más de 35 especies, las cuales además son de difícil cultivo, por lo que para manejo práctico de diagnóstico se presenta regularmente como *Bartonella* sp. (Chomel y Kasten, 2010; Lopardo, 2021) (Cuadro 5).

En 1993, mediante el análisis filogenético y secuenciamiento de la fracción 16S del ARN ribosómico, debido tener mayor proximidad a géneros como *Brucella* y *Agrobacterium*, fue retirado del orden *Rickettsia*, y se incorporaron especies que anteriormente pertenecían al género *Rochalimaea* (Hernandez *et al.*, 2001).

Cuadro 5. Taxonomía actual de *Bartonella* spp (Lopardo, 2021).

Clase	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden	<i>Rhizobiales</i>
Familia	<i>Bartonellaceae</i>
Género	<i>Bartonella</i>
Especies	<i>B. henselae</i> , <i>B. quintana</i> , <i>B. bacilliformis</i> , <i>B. koehlerae</i> , <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i> , <i>B. bovis</i> , <i>B. clarridgeiae</i> , <i>B. rattimassiliensis</i> , <i>B. tamiae</i> , <i>B. tribocorum</i> , <i>B. rousetii</i> , <i>B. schoenbuchensis</i> , <i>B. chomelii</i> , <i>B. doshiae</i> , <i>B. grahamii</i> , <i>B. birtlesii</i> , <i>B. mayotimonensis</i> , <i>B. elizabethae</i> , <i>B. washoensis</i> , <i>B. rochalimae</i> , <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i> , <i>B. melophagus</i> , <i>B. alsatica</i> , <i>B. volans</i>

### 2.3.2. Historia y distribución

El hallazgo reportado más antiguo de *Bartonella* es en un diente de 4,000 años de antigüedad, específicamente *B. quintana*, por lo que se sabe que la enfermedad ha afectado a los humanos durante miles de años (Lopardo *et al.*, 2021). Inicialmente se conocían dos presentaciones, una ocasionada por *B. bacilliformis* que se denominó la “verruca peruana” o “enfermedad de Carrión”, de la cual se registró una epidemia alrededor de 1870 en La Oroya; y otra ocasionada por *B. quintana* la cual alrededor de 1949 afectó tropas de la primera guerra mundial y se denominó “fiebre de las trincheras” (Alexander, 1995; Gamboa, 2021). En 1986, se aisló *B. elizabethae* de sangre de un paciente con endocarditis severa en Massachusetts, y más adelante diversas especies de *Bartonella* se detectaron en roedores y mamíferos en Perú, Ecuador, Colombia, Estados Unidos, China, Bangladesh, Tailandia y Sudáfrica (Pretorius *et al.*, 2004; Zurita *et al.*, 2016; Gamboa, 2021).

Se sabe que las especies de *Bartonella* son transmitidas por insectos vectores, picadura de pulgas o moscas y arañazos o mordedura de animales. Algunas especies, como *B. bacilliformis* tiene limitación geográfica a Sudamérica, debido a la distribución de su vector; otras, como *B. quintana*, *B. henselae*, *B. elizabethae* y *B. vinsonii* son de distribución mundial por el mismo motivo (Lopardo *et al.*, 2021) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resumen de la distribución y hospederos principales según especie de *Bartonella* sp. reportados en perros y humanos (adaptado de Álvarez *et al.*, 2018; Laninno *et al.*, 2018).

Especie	Célula	Hospederos	Distribución
<i>B. volans</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Caballos	Norteamérica
<i>B. washoensis</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Conejos	Norteamérica
<i>B. elizabethae</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Ratas	Europa Norteamérica Asia
<i>B. henselae</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Gatos	Mundial
<i>B. koehlerae</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Gatos	Norteamérica
<i>B. clarridgeiae</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Gatos	Europa Norteamérica Asia
<i>B. quintana</i>	Eritrocitos	Humanos Perros Gatos Monos	Sudamérica Norteamérica Europa África
<i>B. rochalimae</i>	Eritrocitos	Humanos Perros	Sudamérica
<i>B. vinsonii berkhoffi</i>	Eritrocitos	Humanos Perros	Europa América

### 2.3.3. Morfología

Son bacterias aerobias y con estructura de gram-negativos, en forma de bacilos o cocabacilos, pequeñas, delgadas, cortas y ligeramente curvadas en forma de varilla; *B. bacilliformis* y *B. clarridgeiae* están provistos de flagelos unipolares (Hernandez *et al.*, 2001;

Dehio, 2004). Se colorean con tinción de Gram y son catalasa, oxidasa, ureasa y nitrato reductasa negativos (Gamboa, 2021). Las colonias son rugosas, adherentes e incrustadas en el agar en un primer aislamiento, pero luego de varios subcultivos pasan a ser lisas y pierden adherencia (Hernandez *et al.*, 2001). Se consideran microorganismos intracelulares facultativos y se localizan principalmente en células sanguíneas (eritrocitos) (Dehio, 2007).

#### 2.3.4. Transmisión

Las pulgas son consideradas los principales transmisores de *Bartonella* sp. en perros, gatos y humanos, sin embargo, también se ha aislado en piojos, moscas y garrapatas (Billeter *et al.*, 2018; Chomel y Kasten, 2010). Las pulgas tienen una distribución mundial, existen al menos 15 especies reportadas que parasitan a los perros, siendo *Ctenocephalides felis* y *Pulex* spp. las pulgas de mayor importancia, ya que son las que más se han reportado en perros (Chomel *et al.*, 1996).

La infección natural por *Bartonella* puede ocurrir mediante la inoculación de heces de los artrópodos a través de arañazos, mordeduras o contaminación autoinfligida de heridas inducidas por el huésped, o por la mordedura del vector al momento de consumir sangre para alimentarse (Dehio, 2002; Álvarez *et al.*, 2018; Lannino *et al.*, 2018).

Las pulgas tienen un ciclo de vida de cuatro partes, que consta de huevos, larvas, pupas y adultos. Los huevos son arrojados por la hembra en el medio ambiente, estos se convierten en larvas en aproximadamente 3 a 4 días y se alimentan de desechos orgánicos del medio ambiente, luego de 3 a 4 semanas las larvas se convierten en pupas, y pueden permanecer en este estado hasta 5 meses en espera de que se den las condiciones adecuadas de temperatura y humedad o si aparece un estímulo externo como puede ser la vibración provocada por un nuevo hospedero, una vez que son adultas buscan un huésped para alimentarse y reproducirse (Figura 2).

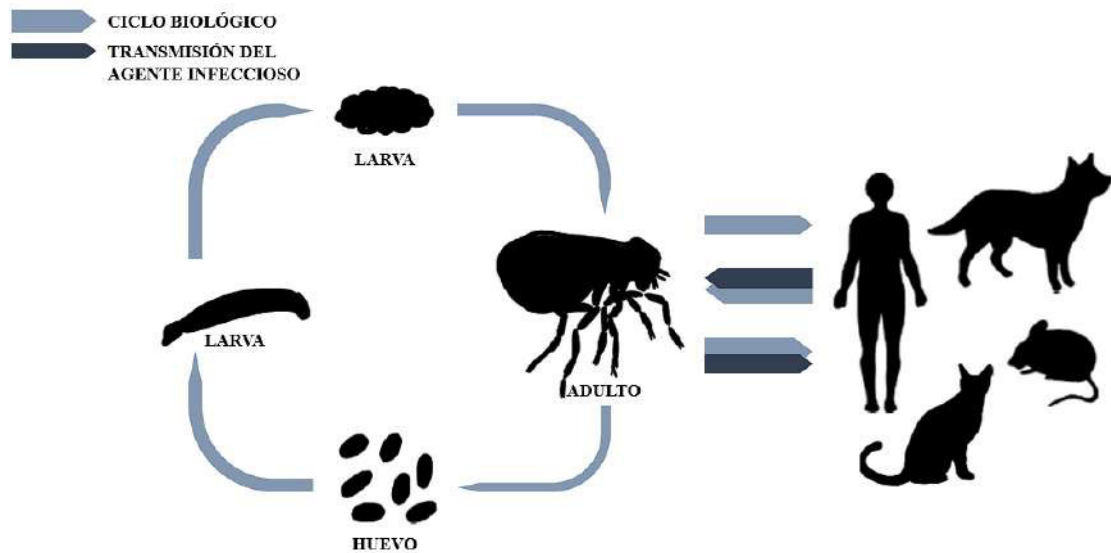


Figura 2. Esquema general del ciclo biológico de la pulga, incluyendo la transmisión de *Bartonella* spp. y sus principales hospederos (Adaptado de CDC, 2017).

### 2.3.5. Patogenia

Tras la inoculación, *Bartonella* no se van directo a los glóbulos rojos, si no que se mantienen en un nicho inicial o nicho primario, donde puede ocurrir una primera multiplicación, no se sabe con exactitud cuál es este nicho, pero se acepta que podrían ser las células endoteliales (Chomel, 2010; Álvarez *et al.*, 2018; Harms y Dehio, 2012).

El factor de virulencia VirB/D4 T4SS (Sistema de secreción tipo IV), permite el ingreso al nicho primario, además de otorgarle mecanismos de defensa ya que inhibe la apoptosis celular, modula la angiogénesis y permite la formación del invasoma, esta es la vacuola que se forma al momento de ingresa y se acumula en el espacio perinuclear y contiene las bacterias, y las protege de fusionarse con el lisosoma (Dehio, 2004).

Luego de aproximadamente 5 días, se van al torrente sanguíneo donde infectan los glóbulos rojos mediante 3 pasos: la adhesión, al eritrocito mediante adhesinas y VirB/D4, la deformación, mediante la deformina, que permite una invaginación en la pared del eritrocito para lograr la invasión, es decir, la entrada al eritrocito. Dentro, los mecanismos de defensa son similares a los del primer nicho, pudiendo varias los factores de virulencia entre las diferentes especies de *Bartonella*, permitiendo la persistencia en el eritrocito, donde se

multiplican y se liberan posteriormente para continuar el ciclo invadiendo nuevamente células endoteliales u otros órganos (Dehio, 2004; Chomel, 2010; Harms y Dehio, 2012).

#### 2.3.6. Signos clínicos

En caninos, aunque se considera una enfermedad autolimitante, se ha informado diferentes manifestaciones clínicas según la especie, *B. henselae* se ha relacionado a hemangiosarcomas esplénicos, peliosis hepática, linfadenitis piogranulomatosa, hepatitis, nódulos pulmonares, dermatitis, paniculitis, endocarditis y epistaxis; *B. vinsonii berkhofii*, a endocarditis, arritmias, miocarditis, paniculitis, linfadenitis granulomatosa y rinitis granulomatosa; *B. clarridgeiae* a endocarditis y hepatitis; *B. washoensis* y *B. quintana* a endocarditis, como podemos ver, si bien los signos clínicos pueden variar según la especie, las afecciones cardiológicas es el signo común entre todas, principalmente la endocarditis (Billeter *et al.*, 2008; Tabar *et al.*, 2009; Álvarez *et al.*, 2018; Lannino *et al.*, 2018).

En humanos, lo más común es ver lesiones vasoproliferativas cutáneas, además de lesiones en hígado y bazo, principalmente en pacientes inmunosuprimidos (Álvarez *et al.*, 2018; Gamboa, 2021). *B. henselae* ocasiona linfadenopatía, angiomas bacilar, peliosis bacilar y endocarditis, mientras que *B. quintana* presenta los mismos signos adicionando picos de fiebre, dolor de cabeza y huesos, en ambos casos otros síntomas que pueden presentarse son los trastornos neurológicos como el insomnio o pérdida de la memoria (Hernandez *et al.*, 2001; Harms y Dehio, 2012).

#### 2.3.7. Diagnóstico

El diagnóstico de *Bartonella* es dificultoso, primeramente, se da por la presencia de un cuadro clínico compatible, antecedentes epidemiológicos, suele ser considerado luego de haber eliminado los otros posibles diagnósticos presuntivos de la presentación de la enfermedad (Pérez *et al.*, 2011; Álvarez *et al.*, 2018). Las pruebas de laboratorio existentes son:

Tinción: Tradicionalmente se usa tinción Gram y Gimenez, sin embargo, se ha reportado con mayor efectividad el uso de naranja de acidrina, con ella se observan pequeños bacilos pleomórficos y móviles, con contracciones cuando se realiza un montaje con solución salina (Ferrez *et al.*, 2006).

Cultivo: Los métodos de cultivo son el gold estándar para el diagnóstico de *Bartonella* spp., se colecta sangre, líquido espinal o efusiones que se pueden cultivar en agar que contenga un 5% de sangre desfibrinada de conejo u oveja a 35° C en una cámara a alta humedad con 5% de concentración de CO<sub>2</sub>, el tiempo de incubación es prolongado y se pueden observar las colonias a partir del día 10 hasta el 56 post-inoculación.

Bartonella alfa proteobacterias medio de crecimiento (BAPGH): es un medio de cultivo a partir de células de insecto, cuando se combina con PCR mejora el diagnóstico.

Serología: Los anticuerpos aparecen de 2 a 3 semanas después, no se suele usar como técnica diagnóstica ya que tiene una baja sensibilidad, pero puede ser útil para predecir bacteremia. La técnica de preferencia es la IFI, se considera una muestra positiva con títulos de anticuerpos mayores a 1/64 y mayor a 1/800 es muy predictivo de endocarditis en humanos.

Inmunohistoquímica: Puede visualizarse en el tejido tomado por biopsia (ganglionar generalmente), usando el método Whartin-Starry, la ventaja es la observación directa del microorganismo.

PCR: Se puede realizar con fluido cerebroespinal, sangre, hisopado oral, linfonódulo u otro tejido dependiendo del caso, y otorga un 100% de especificidad. Si el PCR es positivo a *Bartonella* sp, la especie puede determinarse usando primers específicos. Existen diferentes secuencias para amplificar el género *Bartonella* y para diferenciar las especies, tal como PCR de la región intergénica entre el ADNr 16S-23S o PCR del gen gltA (Álvarez *et al.*, 2018).

#### 2.3.8. Prevención, control y tratamiento

La prevención y control es el mismo que en el caso de *A. phagocytophilum* y *E. chaffeensis*, explicado en el punto 2.1.8.

No hay una vacuna disponible, en el contexto de Una Salud (One Health), los autores apoyan el desarrollo de una futura vacuna contra *B. henselae* y *B. vinsonii berkhoffi* debido a su importancia zoonótica.

No se ha estandarizado un protocolo para el tratamiento de bartonelosis en perros, se recomienda el uso de antibióticos como la amoxicilina, doxiciclina, enrofloxacin y azitromicina, esta última es efectiva pero no se recomienda de primera línea ya que desarrolla resistencia rápidamente; se recomienda que el tratamiento sea prolongado, de 4 a 6 semanas, para lograr una adecuada resolución de la enfermedad. Además, se puede hacer un uso de tratamiento de soporte según cual sea la presentación clínica de la enfermedad (Álvarez *et al.*, 2018).

### 2.3.10. Antecedentes

#### 2.3.10.1. En el Perú

De distintas localidades a lo largo del Perú, de un total de 103 garrapatas colectadas de perros, caballos, burros y serpientes, se evaluó la presencia de *Bartonella* sp., encontrándose en 4 ejemplares, *B. rochalimae* se encontró en una hembra de *Rhipicephalus sanguineus* tomada de un perro, *B. quintana* se encontró en una ninfa de *Dermacentor nitens* tomada de un burro (Billeter *et al.*, 2011).

De 5 localidades: Marizagua, Cajaruro, Jamalca, Lonya Grande y El Milagro, se colectaron un total de 1758 ectoparásitos entre pulgas, piojos y garrapatas, los cuales fueron tomados de gatos, perros, cuyes, zorros y cabello, cuerpo y ropa de humanos; las especies que se encontraron fueron 1399 *Ctenocephalides felis*, 235 *Pulex irritans* 34 *Ctenocephalides canis*, 5 *Rhipicphalus sanguineus* y 1 *Boophilus* spp.; mediante PCR, *B. clarridgeiae* fue detectada en el 5.3% de *Ctenocephalides felis*, 50% de *Ctenocephalides canis* y 12.5% de *Pulex irritans*, además, *B. rochalimae* fue detectado en el 1.3% de *Ctenocephalides felis* y 20% de *Pediculus humanus* (Cáceres *et al.*, 2013).

De 3 regiones: Ancash, Cajamarca y Lima, se colectó 238 pulgas provenientes de 11 gatos y de 31 perros; de las 146 pulgas colectadas de perros, 61.6% fueron *Pulex* spp., en ellas mediante PCR se encontró 16.4% de positivos para *B. rochalimae* utilizando el gen



gltA y 32% mediante la region ITS; las otras especies de pulgas que se encontraron en perros fueron 30.1% de *Ctenocephalides felis* y 8.2% de *Echidnophaga gallinacea*, sin embargo no se encontraron positivos en ellas (Rizzo *et al.*, 2015).

Si bien los estudios para determinar la frecuencia de *Bartonella* y sus especies se realizan principalmente en los ectoparásitos vectores, también se ha estudiado la presencia del agente en los perros.

De distintos hogares rurales del Perú, se colectó 391 pulgas de cuyes, 194 pulgas de ropa o cama de personas y 83 muestras de sangre de cuyes; mediante PCR se encontró ADN de *Bartonella* en el 20.7%, 2.6% y 19.3% respectivamente; *B. rochalimae* fue la especie más prevalente en pulgas siendo el 89.5% y fue la única especie detectada en las muestras de sangre de cuyes, otras especies que se encontraron fue un 3.5% de *B. henselae*, 2.3% de *B. clarridgeiae* y 4.7% de una especie de *Bartonella* no reconocida (Rizzo *et al.*, 2019).

De un total de 219 perros domésticos se colectó muestras de sangre, 122 fueron de un primer grupo de las localidades de Ondores, Canchayllo, Pachacayo y San Juan de Pachacayo, y 97 fueron de un segundo grupo de las localidades de San Juan de Miraflores, Paíta, Huaraz y Caraz; de 205 muestras evaluadas mediante PCR, se encontró un 7.3% de positivos a *B. rochalimae* y 2.6% de positivos a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*; además, de 108 muestras evaluadas mediante IFI, se encontró un 6.2% de seropositivos a *B. rochalimae* y 40% de seropositivos a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (Diniz *et al.*, 2013).

En el Mantaro, Junín, se colectaron muestras de sangre de 304 perros y se analizaron mediante PCR encontrándose una prevalencia de 2.6% de *Bartonella* sp., mediante la evaluación utilizando el marcador molecular ITS se halló que todas las muestras fueron de la especie *B. rochalimae*, resaltando variables como el tamaño del perro o el tamaño del pelaje, mas no se encontró diferencia significativa (Soto, 2023).

#### 2.3.10.2. En Latinoamérica

En México, en Veracruz y Boca del Río, se tomó muestras de 155 perros que llegaron a consulta con antecedente de ectoparásitos y signos compatibles con *Bartonella* sp. y *Mycoplasma* sp. y se encontró 60 animales positivos, el 6.7% positivo para *Mycoplasma*

*haemocanis* y el 33% para *Bartonella* sp. (Gamboa, 2021); en otro municipio, Tulancingo, de 31 perros se encontró una seropositividad para *Bartonella* sp. de 46.9%, dentro del cual el 35.5% fue para *B. henselae*, 45% para *B. clarridgeiae* y 32.2% para *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, adicionalmente, el 9.7% fue positivo mediante PCR para *Bartonella* sp., además, de 26 de estos perros se colectó 86 pulgas, las cuales se agruparon en 40 pools para evaluar la presencia ADN de *Bartonella* sp. encontrándose un 12.5% de positivos (Tabar *et al.*, 2000).

En Brasil, en Petrolina y Lago Grande, se encontró, mediante IFI, una seroprevalencia de 24.8% de 109 perros y 15% de 40 gatos; además, mediante PCR, en ectoparásitos tomados de gatos, se encontró *B. clarridgeiae* y *B. henselae* en *Ctenocephalides felis*, y en ectoparásitos tomados de perros, se encontró *Bartonella rochalimae* en *Pulex irritans* y *Cerdocyon thous*, y *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* en *Pulex irritans* (Campos *et al.*, 2017); en Bocatu, del Hospital Veterinario de la Universidad Estatal de Sao Paulo, de 198 perros con signos clínicos compatibles con enfermedades transmitidas por garrapatas, la seropositividad para *B. henselae* y *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* fue de 2% y 1.5% respectivamente, mediante PCR se encontró una sola muestra positiva correspondiendo la secuencia con *B. henselae* (Diniz *et al.*, 2007). En otro estudio, de 455 perros domésticos de Colombia, Brasil y Vietnam, se encontró una seroprevalencia de 10.1%, 7.6% y 5.1% respectivamente, además, se encontró que, de 4 seropositivos, 2 de Colombia fueron positivos también mediante PCR, encontrándose *B. rochalimae* y *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* (Benner *et al.*, 2007).

En Costa Rica, de la región de Perez Zeledon, se colectó 30 muestras de gatos y 103 muestras de perros, y se evaluó mediante PCR, obteniendo positivos para *Bartonella* spp., un 43.3% y 43.7% respectivamente (Solis, 2017); otro estudio menciona que de 93 pools de pulgas colectadas de perros y gatos, el 4.2% de pools de *Ctenocephalides felis* y el 22.7% de pools de *Pulex simulans* fueron positivos a *Bartonella* sp. mediante PCR, resaltando que de las pulgas colectadas de perros, las secuencias correspondían a *B. vinsoni* subsp. *berkhoffii*, *B. rochalimae* y una especie no conocida de *Bartonella* sp. (Rojas *et al.*, 2015).

En Chile, del área rural de Valdivia, se colectó 139 muestras de perros, encontrándose mediante PCR una prevalencia de 4.3% para *Bartonella* spp., mediante el análisis filogenético se encontró que correspondían a *B. henselae* y *B. vinsonii* subsp. *berkhoffi* (Muller *et al.*, 2018); en otro estudio, de perros de Linares y Puerto Montt infestados de pulgas y garrapatas, se colectó muestras de 66 y 16 perros respectivamente, y se evaluó la seropositividad a *B. henselae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffi* y *B. clarridgeiae*, en Linares el 72.7% fue seropositivo a al menos una de las especies y en Puerto Montt el 56.2% fue seropositivo a las 3 especies evaluadas (Weinbor *et al.*, 2019).

#### 2.3.10.3. En el mundo

En España, en el Centro Politécnico Veterinario Raspeig en Alicante, se reportó el caso de una hembra Pomerania de 3 años con síncope y apatía, la cual fue negativo a leishmaniosis y ehrlichiosis, luego de realizarse la eutanasia, se encontró mediante PCR *Bartonella* sp. en tejido esplénico (Tabar *et al.*, 2009); en Granada, la seropositividad que se encontró fue de 8.2% para *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffi* en perros con endocarditis, se amplió mediante PCR *Bartonella* sp., además de otras especies infecciosas, según los antecedentes para dicho estudio se sospecha que la enfermedad pudo haber sido transmitida mediante *Rhipicephalus sanguineus* (Yabsley *et al.*, 2008); en otro estudio, de diferentes zonas del país, de 30 perros, mediante PCR, la prevalencia fue de 26.6%, se amplió *B. vinsonii* subsp. *berkhoffi*, *B. rochalimae* y *B. kholerae* (Rouna *et al.*, 2018).

En Italia, se colectaron 60 muestras de sangre de perros y garrapatas de 14 de ellos, y en Grecia, se colectaron muestras sanguíneas y médula ósea de 50 perros; mediante PCR se encontró ADN de *Bartonella* sp. en 2 perros de Grecia y 7 de Italia, 1 perro de Grecia tenía *B. rochalimae*, 6 perros de Italia y 1 de Grecia tenían una especie no conocida de *Bartonella* sp. y 1 de esos perros tenía una coinfección con *B. vinsonii* subsp. *berkhoffi* genotipo III, 1 perro de Italia tenía *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffi* genotipo II, y también se encontró *Bartonella* sp. en 3 pools de garrapatas, 2 en glándulas salivales y 1 en intestino (Diniz *et al.*, 2009). La secuencia no reconocida en Italia y Grecia, también se amplió en perros de Vietnam que fueron seropositivos a *Bartonella* sp. (Brenner *et al.*, 2017).

En la Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos, de 663 perros, 61 perros fueron positivos a bartonelosis mediante PCR, encontrándose que 30 correspondían a *B.*

*henselae*, 17 a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, 7 a *B. rochalimae*, 2 a *B. volans* y 2 a *B. bovis*, además, hubo 9 casos de coinfección y de las muestras positivas, mediante el cultivo BAPGM se encontró 31 positivos (Pérez *et al.*, 2011); en otro estudio, se reportó el caso 8 perros los cuales se confirmaron positivos a *B. rochalimae* mediante PCR, 3 de ellos tenían convulsiones o cojera y 4 de ellos tenían anormalidades hematológicas (Ernst *et al.*, 2020).

De 12 perros evaluados en la Universidad Carolina del Norte y de la Universidad de Florida, diagnosticados con arritmia, endocarditis o miocarditis, se encontró 11 perros seropositivos a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, de los cuales 3 fueron positivos mediante PCR, adicionalmente, 7 en perros se encontró coinfección con *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* o *Babesia gibosnii* (Breitschwerdt *et al.*, 1999).

De 26 perros del Servicio Militar de Estados Unidos, se tomó muestras de 18 perros con endocarditis, 5 con miocarditis, 3 con endocardiosis y 28 perros sanos, encontrando positivo a *Bartonella* sp, mediante PCR, a 13, 3, 3 y 1 perros respectivamente; siendo la prevalencia global de 73.3%, de las cuales 8 corresponden a *B. henselae*, 6 a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, 2 a *B. washoensis* y 1 a *B. elizabethae* (Davis *et al.*, 2000).

De un refugio en Florida, de 80 perros, mediante PCR, se encontró una prevalencia de 17.5%, de los cuales se encontró *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* y *B. rochalimae*, hallando 1 caso de coinfección; adicionalmente se evaluó en pulgas tomadas de esta muestra de perros, siendo 11.3% la prevalencia, las especies que se encontraron fueron *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. rochalimae* y *B. clarridgeiae*, los géneros de pulgas que se encontraron fueron *Ctenocephalides felis* y *Pulex* spp. (Yore *et al.*, 2014).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución y periodo de duración

Las muestras fueron recolectadas entre los meses de febrero y agosto del 2023 de la Clínica de Animales Menores, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y posteriormente procesadas en el Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ambos ubicados en Lima, Perú.

#### 3.2. Tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra se utilizó la prueba estadística para determinar una proporción. Para lo cual, se usó prevalencias de los patógenos mencionados previamente, reportadas en estudios anteriores, estas prevalencias fueron: 10.9% de *A. phagocytophilum* en Brasil (Silveira *et al.*, 2017), 16.7% de *Bartonella rochalimae* en Lima, Perú (Diniz *et al.*, 2013) y 16.66% de *E. chaffeensis* en propietarios de perros en Lima (Lam, 2010). Asimismo, se consideró un nivel de significancia del 95% y una precisión del 5%.

El tamaño de muestra obtenido para *A. phagocytophilum*, *Bartonella rochalimae* y *E. chaffeensis* fueron 149, 214 y 213, respectivamente; por lo tanto, se colectaron un total de 214 muestras de sangre para abarcar al estudio de todos los patógenos.

$$n = \frac{Z_a^2 \times p \times q}{d^2}$$

Donde:

Z= nivel de confianza al 95% (1.96)

p= prevalencia esperada (10.9%, 16.7% y 16.66%)

q= 1 - p

d= precisión (0.05)

El criterio de inclusión corresponde a perros mayores de 2 meses que acudan al servicio de toma de muestra de la Clínica de Animales Menores entre los meses de febrero a agosto del 2023, el criterio de exclusión corresponde a perros menores de 2 meses o que cuyos propietarios no brindaron el consentimiento (Anexo 1).

El muestreo fue de forma aleatoria y sistemática, y para disminuir el sesgo el primer perro muestreado fue elegido al azar, luego se procedió a coleccionar la muestra cada tres perros.

### 3.3. Descripción del material experimental

- Materiales para extracción de ADN: Kit de extracción de ADN PureLink® Genomic DNA, pipeta y micropipeta, centrífuga, viales.
- Materiales para PCR: GoTaq® Green Master Mix, gradillas, pipeta y micropipeta, microcentrifuga, viales, agua destilada, cámara de desinfección ultravioleta, termociclador SimpliAmp (Applied Biosystems™), primers específicos.
- Materiales para electroforesis gel agarosa: Cámara electroforética horizontal OWL EasyCast B2 (Thermo científico), fuente de poder PowerPack™ (Bio-rad).
- Gel de Agarosa 1,5%, Soluciones Buffer (TBE), bromuro de etidio, tips, micropipeta, cámara fotográfica, transiluminador UV Cleaver Scientific ELT.

### 3.4. Metodología

#### 3.4.1. Toma de muestra

Una vez sujecionado correctamente el animal, se prepara el área a punzar realizando la desinfección con alcohol 70% y rasurando de ser necesario, posteriormente con apoyo de una liga hemostática o un ayudante, se realiza hemostasia y se punza en la vena cefálica o safena para colectar la sangre en un microtubo de 0.5 ml o un tubo de 5 ml con EDTA al cual se rotula la fecha y nombre de la mascota.

#### 3.4.2. Conservación

Una vez coleccionadas las muestras se mantienen en el homogeneizador y para conservarlas antes del procesamiento se almacenan a -20 °C.

#### 3.4.3. Extracción de ADN

El ADN fue extraído de la sangre entera de cada perro utilizando el kit comercial de PureLink® Genomic DNA siguiendo las instrucciones del fabricante:

Inicialmente, de cada muestra, se tomó 200 µl de sangre con EDTA y se añadió 20 µl de Proteinasa K, 20 µl de Rnase A y se homogenizó, luego se añadió 200 µl de “Buffer PureLink Genomic Lysis”, se homogenizó nuevamente y la mezcla se incubó a 55°C por 12 horas.

Una vez listo se añadió 200 µl de etanol al 96% y se homogenizó por 5 segundos, el contenido del vial se trasladó a la columna de centrifugado del kit y se centrifugó a 10,000 g por un minuto a temperatura ambiente, se descarta el filtrado en su tubo de colección y se traslada una nueva columna de centrifugado, donde se añade 500 µl de “Wash Buffer 1” proporcionado por el kit, y se centrifugó a 10,000 g por un minuto a temperatura ambiente, se descarta el filtrado en su tubo de colección y se traslada nuevamente a otra columna de centrifugado donde se añade el “Wash Buffer 2” proporcionado por el kit, se centrifuga a 21,000 g por 3 minutos a temperatura ambiente y se descarta el filtrado en su tubo de colección.

La columna de centrifugado se coloca en un microtubo estéril de 1.5 mL y se añade 200 µl de “Genomic Elution Buffer” proporcionado por el kit, se incuba a temperatura

ambiente por un minuto y se centrifuga a 21,000 g por un minuto, para finalmente obtener el ADN purificado, el cual, será mantenido a -20 °C hasta su procesamiento.

#### 3.4.4. Diagnóstico molecular por PCR

##### 3.4.4.1. *Anaplasma* sp.

Para determinar muestras positivas para *Anaplasma* sp., se realizó una PCR anidada dirigida al gen 16S ARN ribosomal (16S ARNr) (adaptado de Massung *et al.*, 1998). Los cebadores utilizados para la reacción inicial fueron:

<i>ge3a</i>	5' CACATGCAAGTCGAACGGATTATTC
<i>ge10r</i>	5' TCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC

Para cada mezcla se utilizó 4 µl de ADN, 12.5 µl de GoTaq® Green Master Mix 2X, 7.1 µl de agua destilada y 10 µM de cada cebador, generando una mezcla final de 25 µl.

Las condiciones dadas en el termociclador fueron una inicialización de 5 minutos a 94 °C, seguido de 40 ciclos constando cada uno de una desnaturalización de 30 segundos a 94 °C, alienación de 30 segundos a 55 °C y extensión de 1 minuto a 72 °C, terminando con una extensión final de 7 minutos a 72 °C. Los productos finales se mantuvieron a 4 °C para usarse como plantilla para una segunda amplificación (Figura 3).

Para la amplificación anidada se utilizaron los cebadores:

<i>ge9f</i>	5' AACGGATTATTCTTTATAGCTTGCT
<i>ge2</i>	5' GGCAGTATTAAAAGCAGCTCCAGG

Para cada mezcla de utilizó 2 µl del producto del PCR primario, 12.5 µl de GoTaq® Green Master Mix 2X, 9.1 µl de agua destilada y 10 µM de cada cebador, generando una mezcla final de 25 µl.



Las condiciones fueron las mismas que en la ampliación primaria, excepto que se usaron 36 ciclos, y los productos de reacción se mantuvieron a 4 °C hasta analizarse mediante electroforesis en gel agarosa.

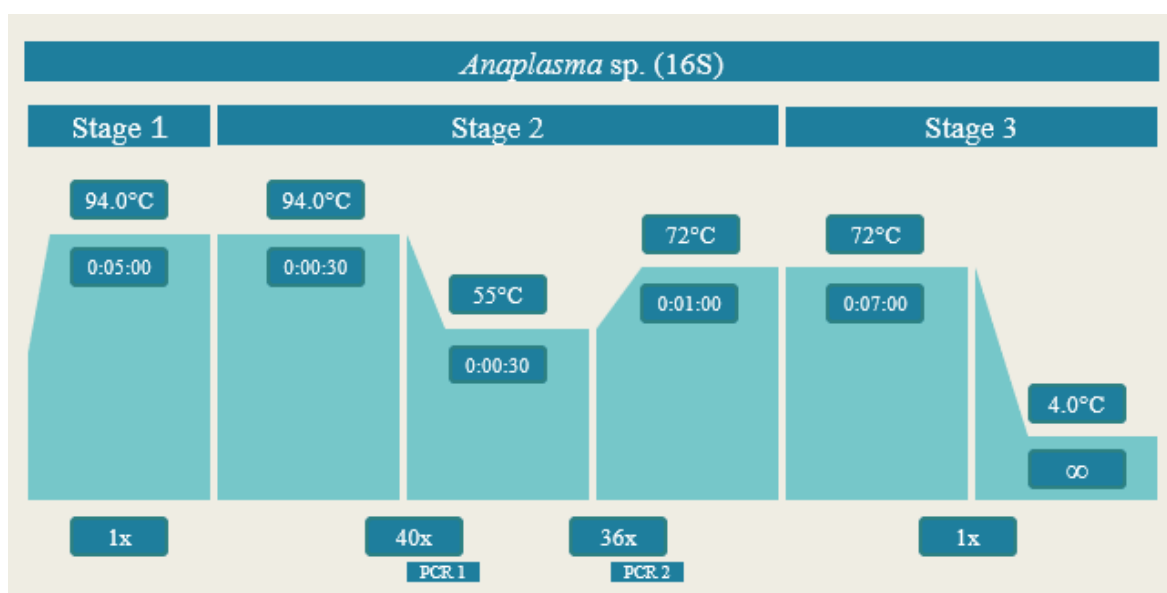


Figura 3. Ilustración del tiempo y condiciones para el PCR de *Anaplasma sp.*

El control de calidad incluyó como control positivo a la muestra de sangre de un perro procedente de Lima (ADN N° 567, perteneciente al banco de ADN del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, FMV-UNMSM) y como control negativo se usó agua destilada, los cuales se extrajeron y amplificaron por PCR en paralelo con todas las muestras.

#### 3.4.4.2. *Ehrlichia sp.*

Para determinar muestras positivas para *Ehrlichia sp.*, se realizó una PCR anidada amplificando fragmentos DSB (adaptado de Muñoz-Leal *et al.*, 2019). Los cebadores utilizados fueron para la reacción inicial fueron:

<i>DSB-330</i>	GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT
<i>DSB-728</i>	CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT

Para cada mezcla se utilizó 2 µl de ADN, 12.5 µl de GoTaq® Green Master Mix 2X, 9.1 µl de agua destilada y 10 µM de cada cebador, generando una mezcla final de 25 µl.

Las condiciones dadas en el termociclador fueron una inicialización de 5 minutos a 94 °C, seguido de 36 ciclos constando cada uno de una desnaturalización de 30 segundos a 94 °C, alienación de 30 segundos a 50 °C y extensión de 30 segundos a 72 °C, terminando con una extensión final de 5 minutos a 72 °C. Los productos finales se mantuvieron a 4 °C para usarse como plantilla para una segunda amplificación (Figura 4).

Para la amplificación anidada se utilizaron los cebadores:

<i>DSB-380</i>	ATTTTGTAGRGATTTTCCAATACTTGG
<i>DSB-728</i>	CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT

Para cada mezcla se utilizó 2 µl del producto del PCR primario, 12.5 µl de GoTaq® Green Master Mix 2X, 9.1 µl de agua destilada y 10 µM de cada cebador, generando una mezcla final de 25 µl.

Las condiciones fueron las mismas que en la ampliación primaria, y los productos de reacción se mantuvieron a 4 °C hasta analizarse mediante electroforesis en gel agarosa.

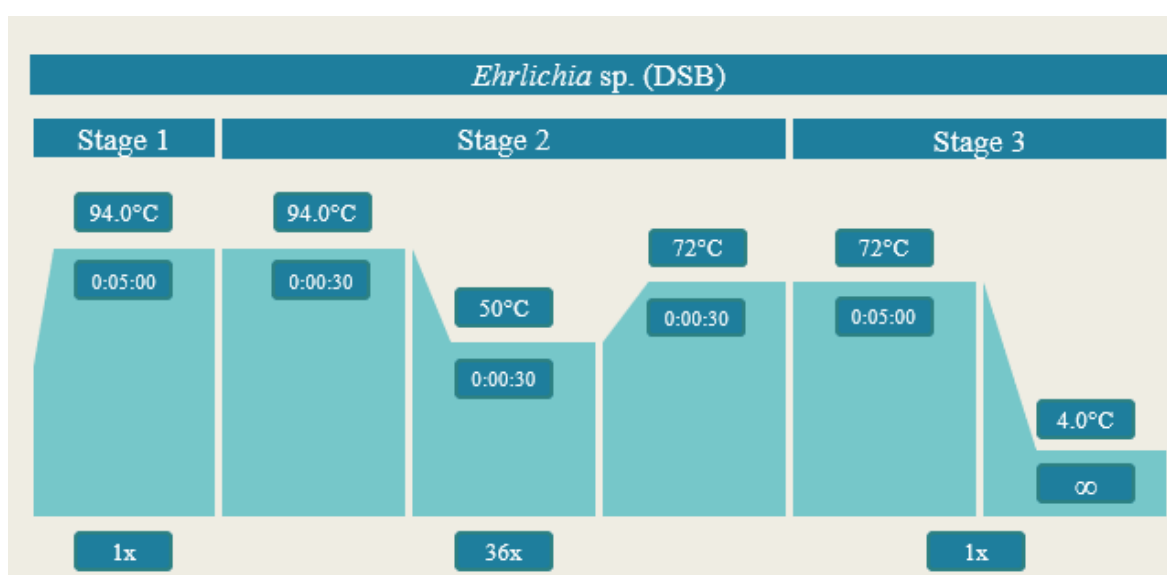


Figura 4. Ilustración del tiempo y condiciones para el PCR de *Ehrlichia sp.*

En control de calidad incluyó como control positivo a la muestra de sangre de un perro procedente de Tumbes (ADN N° 35, perteneciente al banco de ADN del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, FMV-UNMSM) y como control negativo se usó

agua destilada, los cuales se extrajeron y amplificaron por PCR en paralelo con todas las muestras.

#### 3.4.4.3. *Bartonella* sp.

Para determinar muestras positivas para *Bartonella* sp., se realizó una PCR simple dirigida a la región intergénica (ITS) del ARN ribosómico 16S-23S (adaptado de Diniz *et al.*, 2007). Los cebadores utilizados fueron:

<i>ITS 325s</i>	5' – C TTCAGATGATGATCCCAAGCCTTYTGGCG – 3'
<i>ITS 1100as</i>	5' – GAACCGACGACCCCCTGCTTGCAAAGCA – 3'

Para cada mezcla se utilizó 4 µl de ADN, 12.5 µl de GoTaq® Green Master Mix 2X, 7 µl de agua destilada y 10 µM de cada cebador, generando una mezcla final de 25 µl.

Las condiciones dadas en el termociclador fueron una inicialización de 3 minutos a 95 °C, seguido de 55 ciclos constando cada uno de una desnaturalización de 30 segundos a 95 °C, alienación de 30 segundos a 66 °C y extensión de 30 segundos a 72 °C, terminando con una extensión final de 7 minutos a 72 °C. Los productos finales se mantuvieron a 4 °C hasta analizarse mediante electroforesis en gel agarosa (Figura 5).

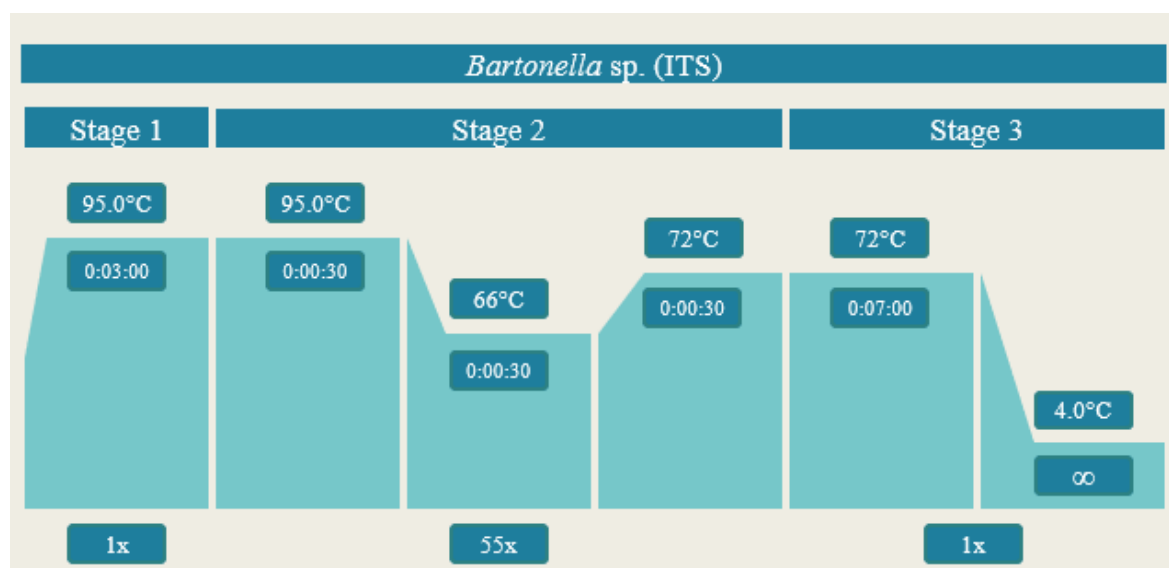


Figura 5. Ilustración del tiempo y condiciones para el PCR de *Bartonella* sp.

En control de calidad incluyó como control positivo a la muestra de sangre de un perro procedente de El Mantaro (ADN N° 302, perteneciente al banco de ADN del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, FMV-UNMSM) y como control negativo se usó agua destilada, los cuales se extrajeron y amplificaron por PCR en paralelo con todas las muestras.

#### 3.4.5. Electroforesis en gel agarosa

Se vertió en un matraz 2.2 gramos de agar gel con 130 ml de buffer TAE (Tris, acetato y EDTA) y 4 µl de colorante “SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen)”, esta solución se fundió en el microondas para homogenizarse. Se dejó enfriar hasta 50°C aproximadamente, se le añadió el bromuro de etidio y se mezcló uniformemente para luego verter la solución en la cámara electroforética horizontal y una vez listo se formaron los pocillos con una peineta (Lam, 2010).

En el primer pocillo se situó al marcador de peso molecular conocido de 100 pb (Invitrogen™), en el segundo al control positivo y al resto los productos de PCR (8 µl de cada uno).

Luego se programó la fuente a 110 voltios y se esperó 1 hora aproximadamente para que lo aplicado migre hacia el polo positivo, una vez listo se retiró el gel de la cámara y se trasladó a un transiluminador UV para observar las bandas y se fotografió para tener registro.

#### 3.4.6. Secuenciamiento

Las muestras que resultaron positivas se secuenciaron en la compañía MacroGen Ltd en Corea del Sur. Una vez obtenida la secuenciación de nucleótidos, se realizó la limpieza de secuencias de cada muestra mediante el programa ChromasPro (<https://technelysium.com.au/wp/chromaspro/>), para posteriormente compararse con secuencias de la base de datos pertenecientes al GenBank a través del BlastN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### 3.5. Análisis de datos

Se determinó la frecuencia e intervalos de confianza al 95% de *Anaplasma phagocitophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Bartonella* sp. mediante tablas de frecuencia. Adicionalmente, se utilizó la Prueba de Chi Cuadrado o la Prueba Exacta de Fisher, según corresponda, para determinar la existencia de asociación estadística entre las variables a evaluar con la presencia de una o más de las enfermedades en mencionadas en los perros muestreados. Estas variables fueron: sexo (hembra y macho), edad (0-5 meses, 6-11 meses, 1-2 años, 3-4 años, 5-7 años, 8-10 años, mayor de 10 años), raza (pura o mestizo), presencia de ectoparásitos (presencia o ausencia de pulgas y presencia o ausencia de garrapatas) y distrito de procedencia (cono norte, cono este, zona centro, cono sur), esta última variable se estandarizó en 4 grupos debido a la alta cantidad de distritos, la distribución de a qué cono pertenece cada distrito se realizó en base a la información brindada por el Instituto de Estadística e Informática (INEI) (Anexo 3). Se tomó el valor de  $p \leq 0.05$  como estadísticamente significativo y para el análisis estadístico se usó el programa STATA 17.

### 3.6. Consideraciones éticas

El estudio tuvo la aprobación del comité de ética y bienestar animal (CEBA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con número de registro CEBA-2019-011 (Anexo 2).

#### IV. RESULTADOS

Del total de perros muestreados en la Clínica de Animales Menores de la FMV-UNMSM (n=214), 109 (50.9%) eran machos. Se clasificaron también de acuerdo a su edad, 48 (22.4%) perros tenían de 8 a 10 años y respecto a la raza, 101 (47.2%) eran mestizos. Así mismo, durante la toma de muestra se observó que 59 (27.6%) tenían presencia de garrapatas y 56 (26.2%), presencia de pulgas. De igual manera se tomó registro de la procedencia, siendo que 104 (48.6%) provenían del cono este (Cuadro 7). De todos los animales estudiados, 18 (8.4%, IC<sub>95%</sub> 4.7 – 12.1) estuvieron infectados con al menos un hemopatógeno (*Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. o *Bartonella* sp.). Sin embargo, ninguna mascota presentó coinfección de patógenos.

Cuadro 7. Características de los perros muestreados en la Clínica de Animales Menores de la FMV-UNMSM (n=214).

Características	N (%)
Sexo	
Hembra	105 (49.1)
Macho	109 (50.9)
Edad	
0-5 meses	16 (7.5)
6-11 meses	9 (4.2)
1-2 años	35 (16.4)
3-4 años	27 (12.6)
5-7 años	41 (19.1)
8-10 años	48 (22.4)
>10 años	38 (17.8)
Raza	
Pura	113 (52.8)
Mestizo	101 (47.2)
Garrapata	
Si	59 (27.6)
No	155 (72.4)
Pulgas	
Si	56 (26.2)
No	158 (73.8)
Localidad	
Cono Norte	10 (4.7)
Cono Este	104 (48.6)
Cono Centro	72 (33.6)
Cono Sur	28 (13.1)

Respecto a *Anaplasma* sp., se encontraron 6 (2.8%, IC<sub>95%</sub> 0.6 – 5.1) muestras positivas mediante PCR anidada dirigida al gen 16S ARNr. El secuenciamiento de las muestras PCR-positivas demostraron que todas correspondían a *Anaplasma platys* y ninguna de ella correspondía a *Anaplasma phagocytophilum*. De las muestras positivas a *Anaplasma* sp. 3 eran hembras, 2 tenían entre 3-4 años, 4 eran mestizos, 3 tenían garrapatas y 1 pulgas, y 3 provenían del cono este. A pesar de ello, el análisis estadístico no evidencia asociación entre los perros infectados con *Anaplasma platys* y las variables estudiadas (Cuadro 8) (Figura 6 y 7).

Cuadro 8. Variables asociadas a la presencia de *Anaplasma* sp.

Variable	<i>Anaplasma</i> sp.		p
	Si (n=6) n (%)	No (n=208) n (%)	
Sexo			1.000*
Hembra	3 (2.8)	102 (97.2)	
Macho	3 (2.7)	106 (97.3)	
Edad			0.256*
0-5 meses	0	16 (100.0)	
6-11 meses	1 (11.1)	8 (88.9)	
1-2 años	1 (2.9)	34 (97.1)	
3-4 años	2 (7.4)	25 (92.6)	
5-7 años	1 (2.4)	40 (97.6)	
8-10 años	0	48 (100.0)	
>10 años	1 (2.6)	37 (97.4)	
Raza			0.425*
Pura	2 (1.8)	111 (98.2)	
Mestizo	4 (4.0)	97 (96.0)	
Garrapata			0.350*
Si	3 (5.1)	56 (94.9)	
No	3 (1.9)	152 (98.1)	
Pulgas			1.000*
Si	1 (1.8)	55 (98.2)	
No	5 (3.2)	153 (96.8)	
Localidad			0.059*
Cono Norte	1 (10.0)	9 (90.0)	
Cono Este	3 (2.9)	101 (97.1)	
Cono Centro	0	72 (100.0)	
Cono Sur	2 (7.1)	26 (92.9)	

\*Prueba Exacta de Fisher



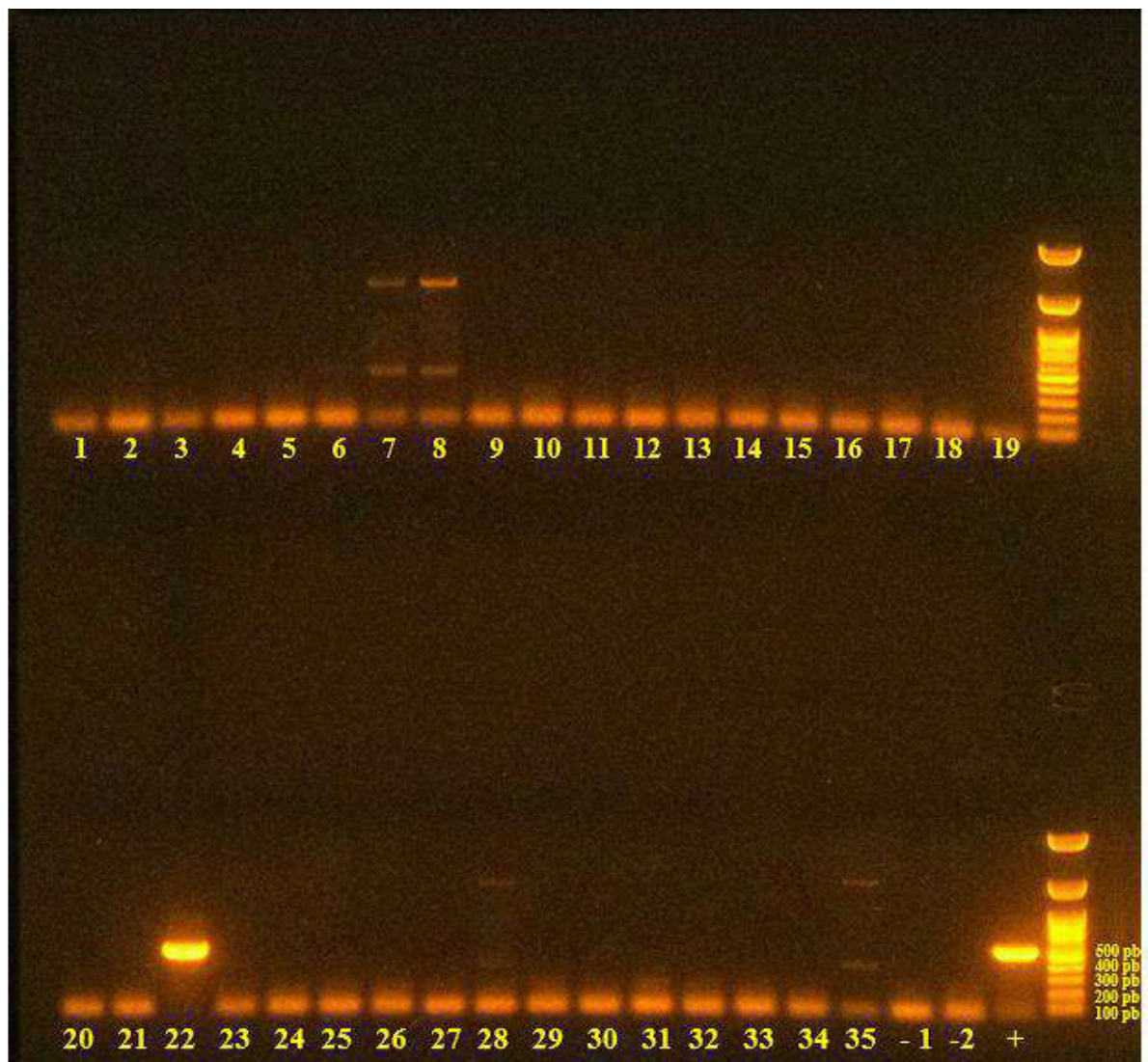


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de las muestras de los perros muestreados en la Clínica de Animales Menores FMV-UNMSM. Se observa que la muestra 22 resultó positiva para *Anaplasma* sp., (-) y (+) fueron el control negativo y el control positivo, respectivamente.

## Anaplasma platys clone CuD119 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [MK506833.1](#) Length: 1431 Number of Matches: 1

Range 1: 64 to 580 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ [Prev](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
955 bits(517)	0.0	517/517(100%)	0/517(0%)	Plus/Plus
Query 2	TAGCTTGCTATGATAAAAAATTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCTAG	61		
Sbjct 64	TAGCTTGCTATGATAAAAAATTAGTGGCAGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCTAG	123		
Query 62	TAGTATGGGATAGCCACTAGAAATGGTGGGTAATACTGTATAATCCCTGCGGGGGAAAGA	121		
Sbjct 124	TAGTATGGGATAGCCACTAGAAATGGTGGGTAATACTGTATAATCCCTGCGGGGGAAAGA	183		
Query 122	TTTATCGCTATTAGATGAGCCTATGTTAGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCCTACCA	181		
Sbjct 184	TTTATCGCTATTAGATGAGCCTATGTTAGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCCTACCA	243		
Query 182	AGGCGGTGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGATACGGT	241		
Sbjct 244	AGGCGGTGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGATACGGT	303		
Query 242	CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCA	301		
Sbjct 304	CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCA	363		
Query 302	GCTATGCCGCGTGAGTGAGGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAACTCTTTTCAAGTGGGGAAGATA	361		
Sbjct 364	GCTATGCCGCGTGAGTGAGGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAACTCTTTTCAAGTGGGGAAGATA	423		
Query 362	ATGACGGTACCCACAGAAGAAGTCCCGGCAAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG	421		
Sbjct 424	ATGACGGTACCCACAGAAGAAGTCCCGGCAAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGG	483		
Query 422	AGGGGGCAAGCGTTGTTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCATGTAGGCGGTTTCGGTAAGT	481		
Sbjct 484	AGGGGGCAAGCGTTGTTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCATGTAGGCGGTTTCGGTAAGT	543		
Query 482	TAAAGGTGAAATGCCAGGGCTTAACCCTGGAGCTGCT	518		
Sbjct 544	TAAAGGTGAAATGCCAGGGCTTAACCCTGGAGCTGCT	580		

Figura 7. Comparación de la secuencia positiva a *Anaplasma* sp. mediante el programa BLAST, mostrando una identifica de 100% con la secuencia de *Anaplasma platys* registrada en el GenBank (N° de acceso MK506833).

En cuanto a *Ehrlichia* sp., se encontraron 11 (5.14%, IC<sub>95%</sub> 2.2 – 8.1) muestras positivas mediante PCR anidada dirigida a fragmentos del gen DSB. El secuenciamento de las muestras PCR-positivas demostraron que todas correspondían a *Ehrlichia canis* y ninguna de ella correspondía a *Ehrlichia chaffeensis*. De las muestras positivas a *Ehrlichia canis* 6 eran hembras, 4 tenían entre 5-7 años, 7 eran mestizos, 4 tenían garrapatas y 3 pulgas, y 5 provenían del cono este. Estas variables no mostraron asociación con los animales infectados con *E. canis* al realizar el análisis estadístico (Cuadro 9) (Figura 8 y 9).

Cuadro 9. Variables asociadas a la presencia de *Ehrlichia* sp.

Variable	<i>Ehrlichia</i> sp.		p
	Si (n=11) n (%)	No (n=203) n (%)	
Sexo			0.709*
Hembra	6 (5.7)	99 (94.3)	
Macho	5 (4.6)	104 (95.4)	
Edad			0.185†
0-5 meses	2 (12.5)	14 (87.5)	
6-11 meses	0	9 (100.0)	
1-2 años	1 (2.9)	34 (97.1)	
3-4 años	2 (7.4)	25 (92.6)	
5-7 años	4 (9.8)	37 (90.2)	
8-10 años	0	48 (100.0)	
>10 años	2 (5.3)	36 (94.7)	
Raza			0.262*
Pura	4 (3.5)	109 (96.5)	
Mestizo	7 (6.9)	94 (93.1)	
Garrapata			0.500†
Si	4 (6.8)	55 (93.2)	
No	7 (4.5)	148 (95.5)	
Pulgas			1.000†
Si	3 (5.4)	53 (94.6)	
No	8 (5.1)	150 (94.9)	
Localidad			0.364†
Cono Norte	1 (10.0)	9 (90.0)	
Cono Este	5 (4.8)	99 (95.2)	
Cono Centro	5 (6.9)	67 (93.1)	
Cono Sur	0	28 (100.0)	

\*Prueba de Chi Cuadrado, †Prueba Exacta de Fisher

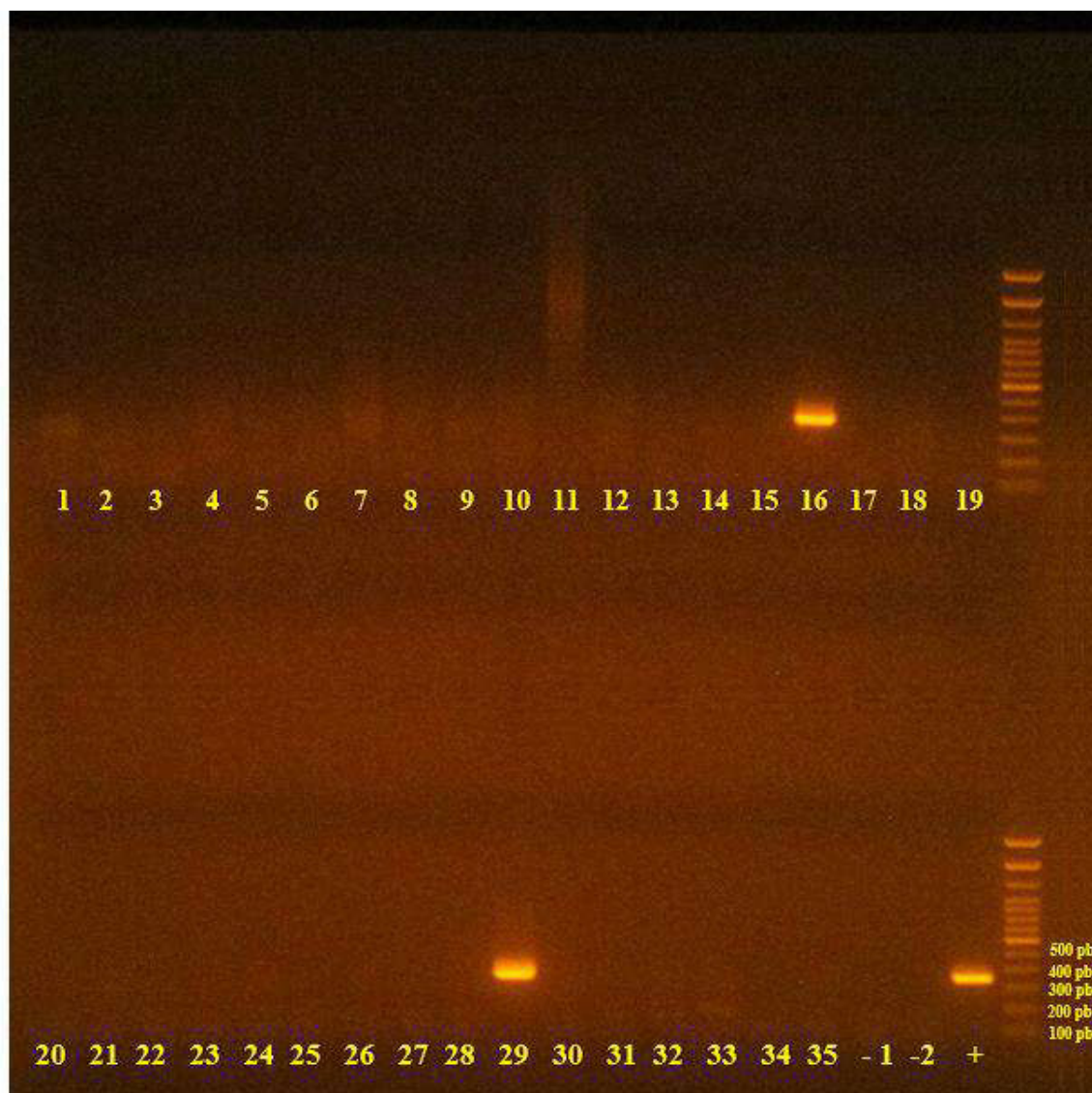


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de las muestras de los perros muestreados en la Clínica de Animales Menores FMV-UNMSM. Las muestras 16 y 29 fueron positivas para *Ehrlichia* sp., mientras que (-) y (+) fueron el control negativo y el control positivo, respectivamente.

## Ehrlichia canis strain Rafaela disulfide oxidoreductase (dsb) gene, partial cds

Sequence ID: [MN617030.1](#) Length: 360 Number of Matches: 1

Range 1: 27 to 356 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ F

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
610 bits(330)	7e-170	330/330(100%)	0/330(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCAATACTTGGTGAGTCTTCACTCAAAGTTGCCCAAGCAGCACTAGCTGTACATATGAT	60		
Sbjct 27	TCCAATACTTGGTGAGTCTTCACTCAAAGTTGCCCAAGCAGCACTAGCTGTACATATGAT	86		
Query 61	TAATCCAAATAAGTACATAGACTTCTATTATGCAGCACTACATTACAAGCAACAGTTTAA	120		
Sbjct 87	TAATCCAAATAAGTACATAGACTTCTATTATGCAGCACTACATTACAAGCAACAGTTTAA	146		
Query 121	TGATGAGTCAATATTAAGTATCATAAAATCAATAGGTATAACTGAAGAAGACTTCAAAGT	180		
Sbjct 147	TGATGAGTCAATATTAAGTATCATAAAATCAATAGGTATAACTGAAGAAGACTTCAAAGT	206		
Query 181	ATCATTAGCAAAAAATGCTGATGCTATAGACAAAATGATACAATCTACCAGAGAACTAGC	240		
Sbjct 207	ATCATTAGCAAAAAATGCTGATGCTATAGACAAAATGATACAATCTACCAGAGAACTAGC	266		
Query 241	ACAGAACATTAATATAAGGGGCACTCCTGCTATCATAGTAGGGGATACATTTATCGGTGG	300		
Sbjct 267	ACAGAACATTAATATAAGGGGCACTCCTGCTATCATAGTAGGGGATACATTTATCGGTGG	326		
Query 301	TGCAGCTGATATATCAACTTTAAGAAGTAA	330		
Sbjct 327	TGCAGCTGATATATCAACTTTAAGAAGTAA	356		

Figura 9. Comparación de la secuencia positiva a *Ehrlichia* sp. mediante el programa BLAST, mostrando una identifica de 100% con la secuencia de *Ehrlichia canis* registrada en el GenBank (N° de acceso MN617030).



En cuanto a *Bartonella* sp., se encontró 1 (0.46%, IC<sub>95%</sub> 0 – 1.37) muestra positiva mediante PCR simple dirigida a la región intergénica (ITS) del ARNr 16S-23S, correspondiente a la especie *Bartonella rochalimae* mediante el secuenciamiento, esta muestra fue de una hembra de raza chiribaya, mayor de 10 años, proveniente del cono este que tenía presencia de garrapatas y pulgas (Cuadro 10) (Figura 10 y 11).

Cuadro 10. Variables asociadas a la presencia de *Bartonella* sp.

Variable	<i>Bartonella</i> sp.		p
	Si (n=1) n (%)	No (n=213) n (%)	
Sexo			0.491*
Hembra	1 (1.0)	104 (99.0)	
Macho	0	109 (100.0)	
Edad			0.584*
0-5 meses	0	16 (100.0)	
6-11 meses	0	9 (100.0)	
1-2 años	0	35 (100.0)	
3-4 años	0	27 (100.0)	
5-7 años	0	41 (100.0)	
8-10 años	0	48 (100.0)	
>10 años	1 (2.6)	37 (97.4)	
Raza			1.000*
Pura	1 (0.9)	112 (99.1)	
Mestizo	0	101 (100.0)	
Garrapata			0.276*
Si	1 (1.7)	58 (98.3)	
No	0	155 (100.0)	
Pulgas			0.262*
Si	1 (1.8)	55 (98.2)	
No	0	158 (100.0)	
Localidad			1.000*
Cono Norte	0	10 (100.0)	
Cono Este	1 (1.0)	103 (99.0)	
Zona Centro	0	72 (100.0)	
Cono Sur	0	28 (100.0)	

\*Prueba Exacta de Fisher

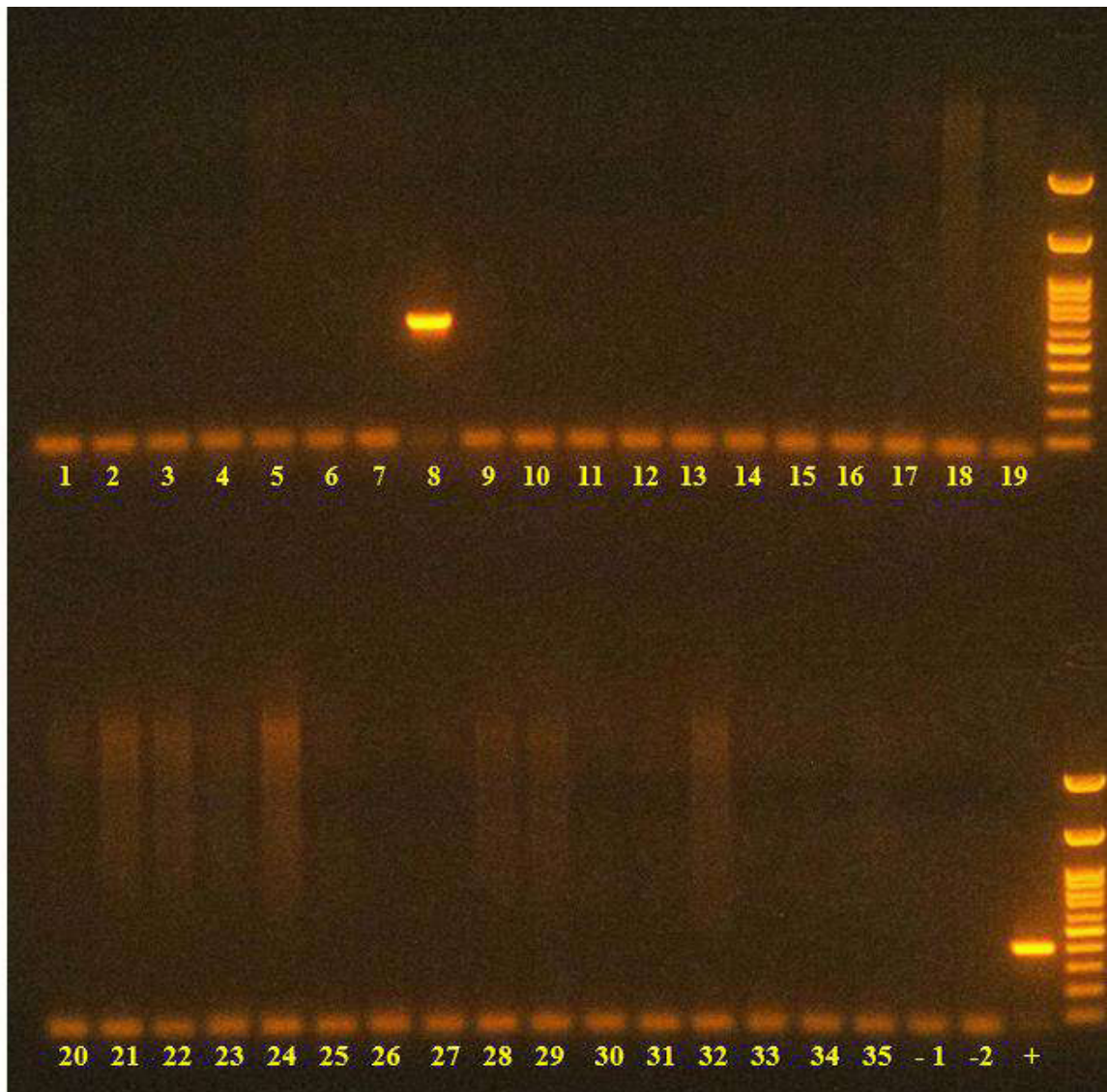


Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de las muestras de los perros muestreados la Clínica de Animales Menores FMV-UNMSM. Se observa que la muestra 8 resultó positiva para *Bartonella* sp., (-) y (+) fueron el control negativo y el control positivo, respectivamente.

# **Bartonella rochalimae ATCC BAA-1498 Contig12, whole genome shotgun sequence**

Sequence ID: [FN645466.1](#) Length: 124873 Number of Matches: 3

Range 1: 11604 to 12159 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ [Next Match](#) ▲ [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1027 bits(556)	0.0	556/556(100%)	0/556(0%)	Plus/Plus
Query 1	TGCAAAGCAGGTGCTCTCCAGCTGAGCTACGGCCCTAAAACAGCTAAAACCCCTCAC	60		
Sbjct 11604	TGCAAAGCAGGTGCTCTCCAGCTGAGCTACGGCCCTAAAACAGCTAAAACCCCTCAC	11663		
Query 61	ATCTTGCTCTTTTAAAAACGCTATATTCTAAAAACAGAGGCTTTTAAAAACAAACAGAG	120		
Sbjct 11664	ATCTTGCTCTTTTAAAAACGCTATATTCTAAAAACAGAGGCTTTTAAAAACAAACAGAG	11723		
Query 121	ACACAATATTGGCCTGCTCTTTCCCTGTTTTGTCCCTTATTGAAAAGGAGAGACAATAC	180		
Sbjct 11724	ACACAATATTGGCCTGCTCTTTCCCTGTTTTGTCCCTTATTGAAAAGGAGAGACAATAC	11783		
Query 181	TTTCTCACGAAGGGTCCAAATTTCTCATGAAGAGTTTATTGCTCTAGAAAGCTTTAAGTT	240		
Sbjct 11784	TTTCTCACGAAGGGTCCAAATTTCTCATGAAGAGTTTATTGCTCTAGAAAGCTTTAAGTT	11843		
Query 241	TCTATGGAGGTTCTAAACACTTTTAGAAAAAATTGATTGAGGCAATAAATTCTTTTAAGG	300		
Sbjct 11844	TCTATGGAGGTTCTAAACACTTTTAGAAAAAATTGATTGAGGCAATAAATTCTTTTAAGG	11903		
Query 301	AATTATCCAAAAAGGGATTACGATCAGTCTCACTGAGCGCCTTCTCAGCTTATCAGAGCA	360		
Sbjct 11904	AATTATCCAAAAAGGGATTACGATCAGTCTCACTGAGCGCCTTCTCAGCTTATCAGAGCA	11963		
Query 361	AAGTGCAGCATAGCGGAACCTGGTGGGCTGGGAGGACTTGAACCTCCGACCTCACGCTTA	420		
Sbjct 11964	AAGTGCAGCATAGCGGAACCTGGTGGGCTGGGAGGACTTGAACCTCCGACCTCACGCTTA	12023		
Query 421	TCAAGCGCGCGCTCTAACCAGCTGAGCTACAAGCCCTACGAGGAAAACTGAAAACTTCA	480		
Sbjct 12024	TCAAGCGCGCGCTCTAACCAGCTGAGCTACAAGCCCTACGAGGAAAACTGAAAACTTCA	12083		
Query 481	ATCGCATAATCTGATCAAAGAAAGAATATCTTCCATCCCCCTTAGAGGCTTGTATAACA	540		
Sbjct 12084	ATCGCATAATCTGATCAAAGAAAGAATATCTTCCATCCCCCTTAGAGGCTTGTATAACA	12143		
Query 541	GATCGCCAGAAGGCTT	556		
Sbjct 12144	GATCGCCAGAAGGCTT	12159		

Figura 11. Comparación de la secuencia positiva a *Bartonella* sp. mediante el programa BLAST, mostrando una identifica de 100% con la secuencia de *Bartonella rochalimae* registrada en el GenBank (N° de acceso FN645466).



## V. DISCUSIÓN

Los resultados indican una frecuencia de 2.8% de *Anaplasma* sp., 5.14% de *Ehrlichia* sp. y 0.46% de *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores FMV-UNMSM (n=214) mediante PCR. No se logró identificar casos de *Anaplasma phagocytophilum* ni de *Ehrlichia chaffeensis*, en su lugar, se encontró *Anaplasma platys* y *Ehrlichia canis*, así como un caso de *Bartonella rochalimae*.

La frecuencia de *Anaplasma* sp. es similar a lo reportado en Piura (Naranjo, 2018), que indica una prevalencia de 4.2%. Sin embargo, dicho estudio fue realizado mediante la prueba serológica SNAP 4DX en pacientes sospechosos de la enfermedad. Otro estudio con resultado similar fue el reportado en Sinaloa, México, en donde mediante la prueba rápida SNAP 4DX se encontró 1.3% (2/153) de prevalencia para *Anaplasma* sp., y mediante el análisis molecular se confirmaron 4 muestras positivas a *Anaplasma* sp. y 3 de ellas como *A. phagocytophilum* (Coronado, 2014). Si bien las temperaturas en estos lugares son más cálidas, es relevante mencionar que, al año del presente estudio, 2023, debido al cambio climático y fenómeno del niño, la temperatura durante el año en Lima se mantuvo cálida incluso en los meses de invierno, lo cual favorece el ciclo biológico de los ectoparásitos transmisores.

Otros estudios sobre anaplasmosis canina en Perú demostraron prevalencias superiores comparado con el presente estudio, por ejemplo, se halló hasta un 22.7% en Lambayeque (Álvarez *et al.*, 2020), 37.9% en Tumbes (Julca, 2020) y 43.01% en San Martín (López, 2022), lo que nos indicaría que la prevalencia de este patógeno es mayor en las

regiones del norte del Perú. Sin embargo, cabe resaltar que estos estudios fueron serológicos realizados para encontrar anticuerpos y no el agente en sí, por lo que, nos indicaría que hay una mayor exposición al agente mas no necesariamente que estos perros puedan tener el patógeno en sangre y transmitir la enfermedad.

Con respecto a *A. phagocytophilum* propiamente, en Chiclayo, mediante una prueba hematológica, se encontró una prevalencia de 9% en caballos (Masgo *et al.*, 2019), a diferencia de otro estudio en perros en Lambayeque, donde con la misma metodología, donde se halló *A. platys* en un 2.3% (Álvarez *et al.*, 2020), este resultado se asemeja más a lo obtenido en el presente estudio. Esta diferencia puede deberse a que en la zona norte del país se ha encontrado garrapatas del género *Ixodes* que se asocian con la transmisión de *A. phagocytophilum* y también *Rhipicephalus sanguineus* que transmiten *A. platys* (Glenny *et al.*, 2004), por lo que en dicha zona del país se puede encontrar ambos agentes, mientras que, en otras regiones, como en Lima, se ha reportado únicamente *Rhipicephalus sanguineus* (Jiménez, 2021), por lo que es más probable encontrar *A. platys*.

Por otro lado, estudios en países vecinos como Brasil, han encontrado *A. phagocytophilum* en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Santos *et al.*, 2013), por lo que aún cabe la posibilidad de encontrar *A. phagocytophilum* en regiones donde solo se haya reportado esta especie de garrapata. Esto mismo puede explicar que en estudios mediante PCR, como en Belo Horizonte Brasil, se haya encontrado 10.9% de *A. phagocytophilum* en perros (Silveira *et al.*, 2017). Por otro lado, en Campeche, México, se encontró 27% de *A. phagocytophilum*, aunque en este caso puede relacionarse además que hacia Norteamérica la diversidad de especies de garrapatas *Ixodes* es más amplia y, por tanto, podría haber mayor probabilidad de infección en perros (Rojero *et al.*, 2013).

Acorde a la mayoría de estudios, no se encontró diferencias significativas en las variables evaluadas, de manera similar a un estudio en Chiclayo (Delgado y Montoya, 2018). Sin embargo, contrasta con otro estudio donde sí se halló asociación respecto al sexo y presencia de ectoparásitos, donde los machos y la presencia de garrapatas resultó ser un factor de riesgo (Flores *et al.*, 2020), con respecto a la ubicación geográfica, en Lima se ha reportado *Anaplasma* sp. en el distrito de Comas (Porrás, 2023), sin embargo en dicho

estudio el muestreo se ubicó específicamente a Lima Norte, de igual forma que el resto de las variables, en el presente estudio no se encontró diferencia significativa entre los distritos evaluados.

Referente a *Ehrlichia* sp., el porcentaje de animales positivos fue de 5.14%, la cual es menor a la frecuencia serológica encontrado en Lima Norte (59.4%) (Cusicanqui, 2018) y al encontrado mediante PCR en Lima Norte (43.3%) (Vicente, 2017). En ambos casos, y en la mayoría de estudios para detectar *Ehrlichia* sp., se toma como muestra a perros sospechosos o posiblemente expuestos a la enfermedad, mientras que, en el presente estudio, no hubo tal criterio de exclusión. En otro estudio, se encontró una seroprevalencia de 55.1% en perros de San Juan de Miraflores (Torres, 2023) el cual, de manera similar a este estudio, tampoco tuvo dichos criterios de exclusión. No obstante, estos utilizaron una prueba serológica en el diagnóstico, lo cual refuerza que hay una alta exposición, mas no necesariamente presencia del agente en la sangre. Cabe resaltar que los estudios realizados en Lima se centraron principalmente en distritos de la zona norte, la cual tiene una alta tasa de perros callejeros, que pueden influir en la propagación de las enfermedades transmitidas por ectoparásitos, mientras que en esta investigación se tomó perros de todos los distritos.

En cuanto a *E. chaffeensis* propiamente, en Perú, se ha reportado principalmente en humanos, en Ancash, por ejemplo, se registró un 9.2% de seropositivos (Anaya *et al.*, 2009), mientras que, en Lima, se encontraron prevalencias mayores, como un estudio reporta 31.6% de seropositivos (Gómez *et al.*, 2017), cabe mencionar que este estudio tuvo la particularidad de ser realizados en dueños de perros con antecedentes de ehrlichiosis canina. Otro estudio, también en propietarios con perros con diagnóstico de ehrlichiosis, evidencio una prevalencia de 16.66% mediante análisis molecular (Lam, 2010). Asimismo, otro estudio realizado en personas que realizan actividad veterinaria, halló una seroprevalencia de 23.33% para *E. canis* y 20% para *E. chaffeensis* (Paulino, 2011). A pesar de ello, en un estudio que utilizo la técnica molecular de PCR y realizado en perros de la zona de Lima Norte, se encontró que el 6% de perros positivos a *Ehrlichia* no correspondían a *E. canis* (Vicente, 2017), por lo que es posible que el agente halla sido *E. ewingii* o *E. chaffeensis*. Sin embargo, es más probable que sea *E. ewingii* ya que, de manera similar a *E. canis*, su vector transmisor principal es *Rhipicephalus sanguineus*, la cual es la especie de garrapata

más reportada en Lima, en cambio, las garrapatas del género *Amblyomma*, quien es el principal transmisor de *E. chaffeensis* no se ha reportado en Lima, únicamente en Piura y Amazonas (Glenny *et al.*, 2004; Jiménez, 2021).

Estudios en Sudamérica como en Venezuela, se encontró un 33% de coinfección de *E. canis* y *E. chaffeensis* (Gutiérrez *et al.*, 2009), esto puede deberse a la diversidad de garrapatas en dicho país. La presencia de especies de *Amblyomma* en perros domésticos también ha sido evidenciado en Argentina (Tomassone *et al.*, 2008). A pesar de ello, en un estudio se ha encontrado ADN de *E. chaffeensis* en *Rhipicephalus sanguineus* (Tamez, 2015). Queda mucho por investigar debido a que gracias a estos reportes podemos considerar *R. sanguineus* podría estar actuando como trasmisor de *E. chaffeensis*.

Respecto a las variables evaluadas, de manera similar a otros estudios, si bien hay mayores casos en perros con garrapatas, no se ha encontrado una diferencia estadísticamente significativa, lo mismo respecto al género, edad y raza, sin embargo, hay otros estudios que contrastan ello. Por ejemplo, en Huánuco (Huerto y Damaso, 2015), se encontró que *E. canis* estuvo asociada a la mayor presencia de garrapatas y a perros en edad adulta. Adicionalmente, los casos en Estados Unidos han sido reportado en perros de raza Pitbull, Shih-tzu (Yu *et al.*, 2008) y Beagle (Nair *et al.*, 2016), de todas formas, en Perú es más común la tenencia de mascotas mestizas a diferencia de Estados Unidos o Europa, por lo que no se encontró mayor diferencia en dicho aspecto.

En lo que respecta a *Bartonella* sp., la frecuencia en perros fue de 0.46%, un resultado inferior a lo encontrado en El Mantaro (Soto, 2023) que fue de 2.3%, y un 10% de prevalencia global de 8 localidades a lo largo del país (Diniz *et al.*, 2023). Posiblemente, debido a que estos estudios fueron realizados en zonas rurales del Perú, donde las condiciones de crianza favorecen la transmisión de enfermedades transmitidas por vectores, y este haya sido el factor principal para obtener frecuencias mayores comparadas con el presente estudio. Por otro lado, también se ha reportado la presencia de *Bartonella* sp., en otras especies de animales domésticos, como cuyes (Rizzo *et al.*, 2019). Sin embargo, en Perú, los estudios sobre *Bartonella* se han centrado principalmente en los ectoparásitos vectores, como piojos, pulgas y garrapatas, en los cuales se ha encontrado diferentes especies

de *Bartonella*, ya sea en ectoparasitos de perros, gatos o humanos, o incluso otras especies como cuyes o burros (Billeter *et al.*, 2011; Cáceres *et al.*, 2013), lo cual refuerza que puede haber una relación entre el contagio de la enfermedad al humano por contacto con algún animal parasitado por pulgas.

En otros países cercanos, las seroprevalencias encontradas de *Bartonella* sp. en perros fueron de 24.8% en Brasil (Campos *et al.*, 2017) y 10.1% en Colombia (Brenner *et al.*, 2017); y, mediante PCR, en Chile se reportó 4.3% de prevalencia (Müller *et al.*, 2018), yendo más hacia el norte, en Costa Rica y México, las prevalencias encontradas mediante PCR, fueron de 43.7% (Solis, 2017) y 9.7% (Tobar *et al.*, 2000). Estos resultados más altos pueden deberse a la biodiversidad más amplia de especies de *Bartonella* o los criterios de exclusión tomados, ya que, de manera similar a *Anaplasma* y *Ehrlichia*, se suele tomar en cuenta animales sospechosos de poseer la enfermedad.

En esta investigación la especie encontrada fue *B. rochalimae*, a diferencia de *Ehrlichia* y *Anaplasma*, no se tomó en consideración la búsqueda de una especie en particular, debido a que *Bartonella* tiene un espectro más amplio de especies zoonóticas (Chomel y Kasten, 2010). El segmento ADN de la bacteria encontrada es genéticamente idéntico a otro reportado anteriormente (Engel *et al.*, 2011), el cual mostro una identidad de 100% en la secuencia de nucleótidos (número de acceso en GenBank: FN645466).

*B. rochalimae* fue reportada por primera vez en Estados Unidos en 2007 en una persona que había realizado un viaje a Perú (Ereemeva *et al.*, 2007) y posteriormente en distintos ectoparásitos colectados a lo largo del país, principalmente en las especies de pulgas *Ctenocephalides felis*, que es también el ectoparásito más común en perros, y *Pulex* spp., que es la pulga más común en humanos (Billeter *et al.*, 2011; Cáceres *et al.*, 2013; Rizzo *et al.*, 2015; Rizzo *et al.*, 2019). También, se confirmó que dicha especie se encuentra en perros (Diniz *et al.*, 2013). No obstante, en estos estudios no solo se ha encontrado *B. rochalimae* si no también *B. quintana*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae* y *B. vinsonii* subsp *berkhoffii*, especies, que también se han reportado en países aledaños como Brasil (Diniz *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2017) y Chile (Weinbor *et al.*, 2019), por lo que, es posible que de haber tenido un mayor número de positivos, probablemente con un mayor número de muestra,

estas especies también se podrían haber encontrado. En contraste con países más alejados en los que si bien, si se encontraron especies similares a reportadas en Latinoamérica, como *B. rochalimae* y *B. vinsonii* subsp *berkhoffii* principalmente, también se reportó casos de *B. kholerae* en España (Rouna *et al.*, 2018), *B. volans* y *B. washoensis* en Estados Unidos (Davis *et al.*, 2000) tanto en ectoparásitos como en perros (Álvarez *et al.*, 2018). Esto quizás se deba a que, si bien *Ctenocephalides felis* y *Pulex* spp. se hallan distribuidas mundialmente existen otros vectores, como piojos y garrapatas que pueden favorecer a que haya una distribución geográfica diferente

En las variables estudiadas, de manera similar a otros estudios (Gamboa, 2021; Soto, 2023), no se encontró que haya diferencia estadísticamente significativa, en contraste a otro estudio que, si encontró relación en cuanto a la presentación de la enfermedad con la edad, siendo que la edad adulta indica ser un factor de riesgo (Diniz *et al.*, 2013), este estudio también incluyó un distrito de Lima, San Juan de Miraflores (cono sur), donde la prevalencia que se encontró fue de 16.7%, mientras que el positivo encontrado en el presente estudio corresponde al distrito de Ate (cono este). Esta diferencia podría ser debido al modo de crianza de los perros, ya que en las ciudades se suele tener un mayor control sobre la parasitosis en los perros domésticos, mientras que en dicho estudio las muestras fueron tomadas de perros en áreas rurales los cuales, por su mismo entorno, pueden tener una mayor probabilidad de estar parasitados

Cabe resaltar que, si bien la clínica veterinaria donde se realizó el presente estudio se encuentra ubicada en el distrito de San Borja, recibe regularmente pacientes de todos los distritos de Lima, por lo que dicha variable no se encuentra sesgada al área geográfica donde se ubica la clínica.

Adicionalmente, en este estudio no se encontró casos de coinfección entre los diferentes patógenos evaluados, a diferencia de otros estudios, por ejemplo, en Estados Unidos, se halló casos de coinfección en perros de *E. canis* con *B. vinsonii* subsp *berkhoffii* (Breitschwerdt *et al.*, 1999) o en México donde se halló coinfección entre *A. phagocytophilum* y *E. canis* (Rojero *et al.*, 2017). El no obtener coinfección fue meramente

circunstancial y de haber tenido un tamaño de muestra más alto es posible que se haya dado el caso, ya que estas enfermedades comparten los vectores transmisores.

## VI. CONCLUSIONES

- Se encontró la presencia de *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. y *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- La especie con mayor frecuencia encontrada fue *Ehrlichia* sp. con 11 positivos (5.14%, IC<sub>95%</sub> 2.2 – 8.1) seguido de *Anaplasma* sp. con 6 positivos (2.8%, IC<sub>95%</sub> 0.6 – 5.1) y finalmente *Bartonella* sp. con 1 positivo (0.46%, IC<sub>95%</sub> 0 – 1.37)
- Del total de perros estudiados (n=214), 18 (8.4%, IC<sub>95%</sub> 4.7 – 12.1) estuvieron infectados con al menos un hemopatógeno (*Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. o *Bartonella* sp.), ninguno presentó coinfección de patógenos.
- La especie de *Bartonella* encontrada corresponde a *B. rochalimae*, no se encontró la presencia de *Anaplasma phagocytophilum* ni *Ehrlichia chaffeensis* en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Las especies de *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp. en perros de la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos correspondieron a *A. platys* y *E. canis*, respectivamente.
- Ningún patógeno estuvo asociado estadísticamente las variables sexo, edad, raza, presencia de pulgas y garrapatas y distrito de procedencia.



## VII. LITERATURA CITADA

1. **Alekseev AN, Dubinina HV, Semenov AV, Bolshakov CV. 2001.** Evidence of ehrlichiosis agents found in ticks (Acari: *Ixodidae*) collected from migratory birds. *J Med Entomol* 38:471–474.
2. **Alleman R, Wamsley HL. 2008.** An update on anaplasmosis in dogs. [Internet], [25 setiembre 2023]. Disponible en: <https://www.dvm360.com/view/update-anaplasmosis-dogs>.
3. **Allison RW, Little SE. 2013.** Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 42:127–144.
4. **Álvarez A, Breitschwerdt E, Solano L. 2018.** *Bartonella* infections in cats and dogs including zoonotic aspects. *Parasites Vectors* 11: 21. doi: 10.1186/s13071-018-3152-6.
5. **Álvarez G, Li O, Cervantes M, Ramírez L, Masgo D, Vásquez A, Barrios L, Hoyos L. 2020.** Hallazgos hematológicos y detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp en perros con antecedentes de garrapatas en el distrito de Chiclayo (Lambayeque, Perú). *Rev Inv Vet Perú* 31: e19040. doi: 10.15381/rivep.v31i4.19040.
6. **Anaya E, Morón C, Jaramillo K, Mendoza L, Román R. 2009.** Evidencia serológica de ehrlichiosis humana en Ancash, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 26: 54-57.
7. **Anaya T, Palacios R, Mosquera P, Álvarez C, Peralta C, Gonzales R, Sakuray S. 2017.** Prevalencia de anticuerpos a *Rickettsias* y *Ehrlichias* en cuatro departamentos fronterizos del Perú. *Rev Per Med Exp Salud Pub.* 34(2): 268-72. doi: 10.17843/rpmesp.2017.342.1812.

8. **Anderson B, Dawson J, Jones D, Wilson K. 1991.** *Ehrlichia chaffeensis*, new specie associated with human Ehrlichiosis. J Clin Microb 29: 2838-2842.
9. **Arauco D, Falcón N, León D, Urbina B. 2014.** Indicadores demográficos y estimación de la población de perros con dueño en el distrito de San Martín de Porres. Rev Salud Tecno Vet Perú 2: 83-92.
10. **Bakken JS, Dumler S. 2008.** Human granulocytic anaplasmosis. Inf Dis Clin North Am 22: 433-448. doi: 10.1016/j.idc.2008.03.011.
11. **Barrios L, Li O, Suárez F, Manchego A, Hoyos L. 2013.** Evidencia hematológica y serológica de *Ehrlichia* spp en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de ehrlichiosis en Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú 24: 64-71.
12. **Barth C, Straubinger RK, Müller E, Sauter-Louis C, Hartmann K. 2014.** Comparison of different diagnostic tools for the detection of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs. Vet Clin Pathol 43:180-4. doi: 10.1111/vcp.12131.
13. **Beall M, Alleman R, Breitschwerdt E, Cohn L, Couto G, Dryden M, Guptill L, Iazbik C, Kania S, Lathan P, Little S, Roy A, Saylor K, Stillman B, Welles E, Wolfson E, Yabsley. 2012.** Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. Paras & Vectors 5: 11.
14. **Billeter A, Levy M, Chomel B, Breitschwerdt E. 2008.** Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. Med Vet Entomol 22: 1-15.
15. **Bonilla M. 2014.** Prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys* en sangre y garrapatas de perros que visitan parques públicos de Costa Rica. Tesis de Médico Veterinario. Costa Rica: Universidad Nacional de Costa Rica. 57 p.
16. **Bowman D. 2011.** Parasitología para veterinarios. 9na ed. Barcelona: Elsevier. 440 p.
17. **Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Hancock SI. 1998.** Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. J Clin Microbiol 369: 2645-2651.
18. **Breitschwerdt E, Atkins C, Brown T, Kordick D, Snyder P. 1999.** *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and related members of the alpha subdivision of the *Proteobacteria* in dogs with cardiac arrhythmias, endocarditis, or myocarditis. J Clin Microbiol 37: 3618-26. doi: 10.1128/JCM.37.11.3618-3626

19. **Brenner E, Chomel B, Singhasivanon O, Namekata D, Kasten R, Kass P, Cortés-Vecino J, Gennari S, Rajapakse R, Huong L, Dubey J. 2013.** *Bartonella* infection in urban and rural dogs from the tropics: Brazil, Colombia, Sri Lanka and Vietnam. *Epidem Infect* 141:54-61. doi: 10.1017/S0950268812000519.
20. **Cáceres AG, Padilla CP, Arias J, Huatuco G, Gonzales A. 2013.** Detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in fleas, ticks and lice collected in rural areas of Peru. *Rev Perú Biol* 20: 165 - 169.
21. **Calleja L. 2019.** Estudio epidemiológico de la infección por "*Anaplasma phagocytophilum*, *A. marginale*, *A. Centrale*, *Babesia bigemina*, *B. divergens* y *Theileria annulata*" en ganado vacuno en extensivo de la Comunidad de Madrid. Tesis doctoral. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 352 p.
22. **Calvache H. 2014.** Identificación de hemoparásitos mediante “SNAP Diagnostico 4DX Plus (IDEXX)” en caninos comprometidos entre dos meses a doce años de edad, en clínicas veterinarias urbanas de la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Quito: Universidad de Las Américas. 177p.
23. **Campos L, Salazar L, Dolz G. 2013.** Detección molecular del agente zoonótico *Anaplasma phagocytophilum* en muestras de sangre de caballos, sangre y garrapatas de perros de Costa Rica. En: IV Congreso Latinoamericano de Enfermedades Rickettsiales. San José: Rev Acta Med Costarricense 55:91.
24. **Campos M, Rodrigues A, Carvalho A, Mayana N, Meneses G, Moura D, Sampaio ER, Horta MC. 2017.** *Bartonella* species pathogenic for humans infect pets, free-ranging wild mammals and their ectoparasites in the Caatinga biome, Northeastern Brazil: a serological and molecular study. *J Infect Dis* 21: 290-296.
25. **Cao WC, Gao YM, Zhang PH, Zhang XT, Dai QH, Dumler JS, Fang LQ, Yang H. 2000.** Identification of *Ehrlichia chaffeensis* by nested PCR in ticks from southern China. *J Clin Microbiol*; 38:2778-2780.
26. **Carrade D, Foley J, Borjesson D, Sykes J. 2009.** Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. *J Vet Intern Med* 23: 1129-1141.
27. **CDC. 2017.** Centers for Disease Control and Prevention. [Internet], [30 octubre 2023]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/fleas/index.html>

28. **Chávez A. 2020.** Frecuencia de Ehrlichiosis en humanos y caninos en cinco zonas de la ciudad de Trujillo-Perú, Enero-Febrero 2020. Tesis de Biólogo-Microbiólogo. Trujillo: Univ Nac de Trujillo. 46 p.
29. **Chen SM, Dumler S, Bakken J. 1994.** Identification of a Granulocytotropic *Ehrlichia* Species as the Etiologic Agent of Human Disease. Jour Clin Microb 32: 589-595.
30. **Chikeka I, Matute AJ, Dumler JS, Woods CW, Mayorga O, Reller M. 2016.** Use of Peptide-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay followed by Immunofluorescence Assay To Document *Ehrlichia chaffeensis* as a Cause of Febrile Illness in Nicaragua. J Clin Microb 54: 1581-1585.
31. **Chomel B, Kasten R, Floyd-Hawkins K, Chi B, Yamamoto K, Roberts-Wilson J, Gurfield A, Abbott R, Pedersen N, Koehler J. 1996.** Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. J Clin Microbiol 34: 1952-1956.
32. **Chomel B., Kasten R, Henn J, Molia S. 2006.** *Bartonella* infection in domestic cats and wild felids. Annals of NY Acad Sci 1078: 410–415. doi: org/10.1196/annals.1374.080.
33. **Chomel B, Kasten R. 2010.** Bartonellosis, an increasingly recognized zoonosis. J Appl Microb 109: 743 - 750. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04679.x
34. **Comer JA, Nicholson WL, Paddock CD, Sumner JW, Childs JE. 2000.** Detection of antibodies reactive with *Ehrlichia chaffeensis* in the raccoon. J Wildl Dis 36:705–712.
35. **Coronado C. 2014.** Identificación de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestro en Ciencias Agropecuarias. Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. 40 p.
36. **Creig B, Asanovich KM, Armstrong PJ, Dumler JS. 1996.** Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic disease, in Minnesota and Wisconsin dogs. J Clin Microbiol 34: 44-48.
37. **Cuperus T. 2010.** Pathogenesis of *Anaplasma phagocytophilum* infections. Tesis de Maestro en Biología. Utrecht: Universidad de Utrecht. 33 p.
38. **Cusicanqui J. 2018.** Frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en pacientes caninos sospechosos a la enfermedad durante el periodo 2014-2016 en Lima Norte. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Cayetano Heredia. 29 p.

39. **Davidson WR, Lockhart JM, Stallknecht DE, Howerth EW. 1999.** Susceptibility of red and gray foxes to infection by *Ehrlichia chaffeensis*. J Wildl Dis 35:696–702.
40. **Davis A, Jaffe D, Honadel T, Lapsley W, Wilber-Raymond J, Kasten R, Chomel B. 2020.** Prevalence of *Bartonella* sp. in United States military working dogs with infectious endocarditis: a retrospective case-control study. J Vet Cardiol. 27: 1-9. doi: 10.1016/j.jvc.2019.11.005.
41. **Dawson J, Ewing S. 1992.** Susceptibility of dogs to infection with *Ehrlichia chaffeensis*, causative agent of human ehrlichiosis. Am J Vet Res. 53:1322-7.
42. **Dawson JE, Biggie KL, Warner CK, Cookson K, Jenkins S, Levine JF, Olson JG. 1996.** Polymerase chain reaction evidence of *Ehrlichia chaffeensis*, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. Am J Vet Res 57:1175-1179.
43. **Dehio C. 2004.** Molecular and cellular basis of *Bartonella* pathogenesis. Annu Rev Microbiol 58: 365–90. doi: 10.1146/annurev.micro.58.030603.123700.
44. **Delgado N, Montoya AM. 2018.** Influencia de la edad y el sexo sobre la prevalencia de *Anaplasma* spp en caninos (*Canis familiaris*) atendidos en clínicas veterinarias en los distritos de José Leonardo Ortiz, La Victoria y Chiclayo, Julio - Diciembre 2017. Tesis de Médico Veterinario. Lambayeque: Univ Nac Pedro Ruiz Gallo. 81 p.
45. **Delgado N, Hernández JB. 2023.** Estrategia de *Ehrlichia chaffeensis* para Evitar el Mecanismo de Defensa Celular en Ehrlichiosis Monocítica Humana. Rev Cien Mul 7: 3956-3977. doi: 10.37811/cl\_rcm.v7i5.8005.
46. **Diniz P, Maggi R, Schwartz D, Cadenas M, Bradley J, Hegarty B, Breitschwerdt E. 2007.** Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*. Vet Res 38:697-710. doi: 10.1051/vetres:2007023.
47. **Diniz P, Billeter S, Otranto D, De Caprariis D, Petanides T, Mylonakis M, Koutinas A, Breitschwerdt E. 2009.** Molecular documentation of *Bartonella* infection in dogs in Greece and Italy. J Clin Microbiol 47:1565-7. doi: 10.1128/JCM.00082-09.
48. **Diniz PP, Morton BA, Tngrian M, Kachani M, Barro EA, Gavidia CM, Gilman RH, Ángulo NP, Brenner EC, Lerner R, Chomel BB. 2013.** Infection of domestic dogs in Peru by zoonotic *Bartonella* species: A cross-sectional prevalence study of

- 219 asymptomatic dogs. PLoS Negl Trop Dis 7: e2393. doi:10.1371/journal.pntd.0002393.
49. **Dugan VG, Little SE, Stallknecht DE, Beall AD. 2000.** Natural Infection of Domestic Goats with *Ehrlichia chaffeensis*. J Clin Microb 38: 448-449.
  50. **Dumic I, Jevtic D, Veselinovic M, Nordstrom C, Jovanovic M, Mogulla V, Veselinovic EM, Hudson A, Simeunovic G, Petcu E, Ramanan P. 2022.** Human Granulocytic Anaplasmosis—A Systematic Review of Published Cases. Microorganism 10: 1433. doi: 10.3390/microorganisms10071433.
  51. **Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. 2001.** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int J Syst Evol Microbiol 51: 2145-2165. doi: 10.1099/00207713-51-6-2145.
  52. **Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken JS. 2007.** Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. Infectious Diseases Society of America (Suppl 1) S45-51. doi: 10.1086/518146.
  53. **Engel F, Salzburger W, Liesch M, Chang CC, Maruyama S, Lanz C, Calteau, Lajus A, Médigue, Schuster, Dehio C. 2011.** Parallel Evolution of a Type IV Secretion System in Radiating Lineages of the Host-Restricted Bacterial Pathogen *Bartonella*. PLOS Genetics 7: e1001296. doi: 10.1371/journal.pgen.1001296.
  54. **Ernst E, Qurollo B, Olech C, Breitschwerdt E. 2020.** *Bartonella rochalimae*, a newly recognized pathogen in dogs. J Vet Intern Med 34: 1-7. doi: 10.1111/jvim.15793.
  55. **Ferres M, Abarca K, Prado P, Montecinos L, Navarrete M, Avial P. 2006.** Prevalencia de anticuerpos contra *Bartonella henselae* en niños, en adolescentes y en una población de riesgo ocupacional en Chile. Rev Med Chile 134: 863-867.
  56. **Flores AA, Pinilla JC, Rosas A. 2020.** Estudio de los factores de riesgo asociados a Ehrlichiosis y Anaplasmosis en caninos de Barrancabermeja, Santander. Fondo Editorial Biogénesis 8:152-167.

57. **Franco M, Adame J, Dzúl K. 2019.** Efectividad de los métodos diagnósticos para la detección de ehrlichiosis monocítica humana y canina. *Rev Chil Infectol* 36: 650-655.
58. **Gadea AG, Moreno MV. 2021.** Ehrlichiosis granulocítica canina y Anaplasmosis diagnosticados en el Laboratorio clínico División Veterinaria, Diciembre 2019 - Diciembre 2020. Tesis de Médico Veterinario. Managua: Universidad Nacional Agraria. 35 p.
59. **Gamboa J. 2021.** Diversidad genética de micoplasmas hemotrópicos y *Bartonella* sp. en perros de clínicas veterinarias de los municipios de Veracruz y Boca del Río. Tesis de Maestría en Ciencia Animal. Veracruz: Universidad Veracruzana. 48 p.
60. **Gómez B, Li O, Hoyos L, Manchego A, Suárez F. 2017.** Detección de Anticuerpos contra *Ehrlichia* spp en propietarios de caninos domésticos con ehrlichiosis. *Rev Inv Vet Perú* 28: 939-946 p. doi: 10.15381/rivep.v28i4.13930.
61. **Gonçalves I, Lima A, Horta M, Pereira N, Aguiar D. 2023.** Serological Evidence Supporting the Occurrence of *Ehrlichia chaffeensis* or a Closely Related Species in Brazilian Dogs. *Pathogens* 12: 1024. doi: doi.org/10.3390/pathogens12081024.
62. **Greene C. 2012.** Infectious diseases of the dog and cat. 4 ed. U.S: Elsevier. 1807 p.
63. **Gutiérrez CN, Martínez MC, Triana FJ. 2009.** Identificación microscópica y molecular de ehrlichias en perros del estado Aragua-Venezuela. *Salus online (Supl 1)*: 197 - 204.
64. **Gutiérrez CN, Pérez-Ybarra L, Irma FA. 2016.** Ehrlichiosis canina. *Rev Multidis Cons Invest Univ de Oriente* 28: 38 p.
65. **Harms A, Dehio C. 2012.** Intruders below the Radar: Molecular Pathogenesis of *Bartonella* spp. *Clin Microb Rev* 25: 43-69 p.
66. **Hernández B, Ortega M, Eiros JM, Orduña A. 2001.** *Medicina Integral* 38: 69-75.
67. **Hernández H, Marien S. 2013.** Entendiendo las ehrlichiosis humanas destacando un agente causal: *Anaplasma phagocytophilum*. *Rev Cien Bio* 4: 153-159.
68. **Hernández H. 2019.** Determinación de *Bartonella* spp., por hemocultivo e inmunofluorescencia de gatos (*Felis catus*) en refugios de perros y gatos en los departamentos de Guatemala y Sacatepéquez. Tesis de Médico Veterinario. Guatemala: Univ San Carlos Guatemala. 46 p.

69. **Hidrón A, Muñoz F, Vega J. 2014.** Primer caso de ehrlichiosis monocítica humana reportado en Colombia. J Infectio 18: 162-166. doi: 10.1016/j.infect.2014.04.001.
70. **Huerto E, Dámaso B. 2015.** Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública 35: 756-60.
71. **Jiménez J. 2021.** Aspectos fisiológicos, epidemiológicos y clasificación de las garrapatas (familia ixodidae) que afectan a animales de compañía. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ Cientif del Sur. 30 p.
72. **Julca L. 2020.** Prevalencia de enfermedades transmitidas por vectores en perros domésticos de zonas rurales del departamento de Tumbes. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 112 p.
73. **Kocan AA, Levesque GC, Whitworth LC, Murphy GL, Ewing SA, Barker RW. 2000.** Naturally occurring *Ehrlichia chaffeensis* infection in coyotes from Oklahoma. Emerg Infect Dis 6: 477–480.
74. **Kohn B, Galke D, Beelitz P, Pfister K. 2008.** Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. J Vet Intern Med 22: 1289-1295. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0180.x.
75. **Kramer VL, Randolph MP, Hui LT, Irwin WE, Gutierrez AG, Vugia D. J. 1999.** Detection of the agents of human ehrlichioses in ixodid ticks from California. Am J Trop Med Hyg 60: 62–65.
76. **Lam L. 2010.** Evaluación molecular de *Ehrlichia chaffeensis* en propietarios de caninos domésticos con Ehrlichiosis. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 71 p.
77. **Lannino F, Salucci S, Di Provvido A, Paolini A, Ruggieri E. 2018.** Bartonella infections in humans dogs and cats. Vet Ital 54: 63-72. doi: 10.12834/VetIt.398.1883.2.
78. **Lockhart JM, Davidson WR, Stallknecht DE, Dawson JE, Howerth EW. 1997.** Isolation of *Ehrlichia chaffeensis* from Wild White-Tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) Confirms Their Role as Natural Reservoir Hosts. J Clin Microb 35: 1681-1686.
79. **Lopardo HA, Pedrari S, Vay C. 2021.** Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: Bacterias de importancia clínica 1a ed.



- Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología. 9 -12 p.
80. **López A, Puicón V, Cubas R. 2022.** Prevalencia de *Anaplasma* spp. en caninos mediante la prueba rápida de ELISA (Snap 4dx plus test) en la provincia de San Martín. *Rev Vet Zootec Amaz* 2: e137. Doi: 10.51252/revza.v2i1.137.
  81. **Maeda K., Markowitz N, Hawley R, Ristic M. 1987.** Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia. *New Eng J Med* 316: 853-856.
  82. **Maggi, RG, Breitschwerdt EB. 2005.** Potential Limitations of the 16S-23S rRNA Intergenic Region for Molecular Detection of *Bartonella* Species. *J Clin Microb* 43:1171–1176.
  83. **Márquez F, Hidalgo A, Contreras F, Rodríguez J, Muniain M. 2005.** Las garrapatas (Acarina: *Ixodida*) como transmisores y reservorios de microorganismos patógenos en España. *Enf Inf Microbiol Clin* 23: 95-102. doi: 10.1157/13071613.
  84. **Martínez MC, Gutiérrez CN, Monger F, Ruiz J, Watts A, Mijares VM, Rojas MG, Triana-Alonso J. 2008.** *Ehrlichia chaffeensis* in child, Venezuela. *Emer Inf Dis* 14: 519-520 p.
  85. **Masgo D, Hoyos L, Li O, Gómez L, Ramírez L, Álvarez G, Cervantes M, Vásquez A. 2019.** Detección hematológica de *Anaplasma phagocytophilum* en caballos de la provincia de Chiclayo, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 30: 1670-1677. doi: 10.15381/rivep.v30i4.17166.
  86. **McCown M, Monterroso V, Cardona W. 2015.** Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia. *Rev CES Med Vet Zoo* 10: 224-231.
  87. **Merino O, Badillo V, Loredó J, Barrios H, Carvajal V. 2021.** Detección molecular de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* y alteraciones hematológicas de perros infectados. *Ab Vet* 11:1-16.
  88. **Misao T, Kobayashi Y. 1955.** Studies on infectious mononucleosis (glandular fever) Isolation of etiologic agent from blood, bone marrow and lymph node of patients with infectious mononucleosis using mice. *Kiushu J Med Sci* 6: 145-152.
  89. **Moro PL, Shah J, Li O, Gilman RH, Harris N, Moro MH. 2009.** Short Report: Serologic evidence of human ehrlichiosis in Peru. *Amer J Trop Med Hyg* 80: 242–244.

90. **Müller A, Soto F, Sepúlveda M, Bittencourt P, Benevenuto J, Ikeda P, Machado R, André M. 2018.** *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and *B. henselae* in dogs. *Epid Infect* 146: 1202-1204. doi: 10.1017/S0950268818001127.
91. **Muñoz-Leal S, Clemes Y, Lopes M, Acosta I, Serpa MA, Mayorga LF, Gennari S, González-Acuña D, Labruna M. 2019.** Novel *Ehrlichia* sp. detected in *Magellanic penguins* (*Spheniscus magellanicus*) and in the seabird tick *Ixodes uriae* from Magdalena Island, southern Chile. *Ticks and Tick-borne Diseases*. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.06.015.
92. **Nair ADS, Cheng C, Ganta CK, Sanderson MW, Alleman AR, Munderloh UG, Ganta RR. 2016.** Comparative experimental infection study in dogs with *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, *Anaplasma platys* and *A. phagocytophilum*. *PLoS One* 11: e0148239.
93. **Naranjo N. 2018.** Frecuencia de Ehrlichiosis y Anaplasmosis en canes con historial de garrapatas atendidos en una clínica veterinaria particular en la provincia de Piura, Perú durante el período primavera- verano 2017/2018. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 31 p.
94. **Ndip LM, Ndip RN, Ndivi VE, Awuh JA, Walker DH, McBride JW. 2007.** *Ehrlichia* species in *Rhipicephalus sanguineus* ticks in Cameroon. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7:221-227.
95. **Ndip L, Ndip R, Esemu S, Walker D, McBride J. 2010.** Predominance of *Ehrlichia chaffeensis* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from kennel-confined dogs in Limbe, Cameroon. *Exp Appl Acarol* 50:163-168. doi: 10.1007/s10493-009-9293-8.
96. **Oteo JA, Brouqui P. 2005.** Ehrlichiosis y anaplasmosis humana. *Enf Inf Microbiol Clin* 23: 375-80.
97. **Paddock C, Childs J. 2003.** *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev*; 16: 37-64. doi: 10.1128/CMR.16.1.37-64.2003.
98. **Paulino A. 2011.** Detección serológica de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* en humanos que realizan actividades veterinarias en Lima Metropolitana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 72 p.
99. **Pérez R, Fernández P, Encinas A. 2006.** Garrapatas y anaplasmosis granulocítica humana en Europa. *Rev Ibérica Parasitol* 66: 17-29.

100. **Pérez C, Maggi R, Diniz P, Breitschwerdt E. 2011.** Molecular and serological diagnosis of *Bartonella* infection in 61 dogs from the United States. J Vet Intern Med 25: 805-10. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0736. x.
101. **Porras D. 2022.** Frecuencia de Ehrlichiosis y Anaplasmosis canina en Urbanización El Pinar, Comas, Lima, Perú del 2018 al 2020. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Ricardo Palma. 69 p.
102. **Pretorius AM, Beati L, Birtles R. 2004.** Diversity of *bartonellae* associated with small mammals inhabiting Free State province, South Africa. Inter J Syst Evol Microb 54: 1959 - 1967. doi: 10.1099/ijs.0.03033-0.
103. **Rendón DC. 2016.** Indicadores demográficos y estimación de la población de canes y felinos domésticos en Asentamientos Humanos del distrito de Ventanilla, Callao-Perú, 2016. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 33 p.
104. **Rikihisa Y. 2010.** *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells. Nature Reviews 8: 328-339. doi:10.1038/nrmicro2318.
105. **Rikihisa Y. 2011.** Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. Clin Microbiol Rev 24: 469 – 489.
106. **Rikihisa Y. 2015.** Molecular Pathogenesis of *Ehrlichia chaffeensis* Infection. Annu Rev Microbiol 69: 283 - 304. doi: 10.1146/annurev-micro-091014-104411.
107. **Rizzo MF, Billeter SA, Osikowicz L, Luna-Caiipo DV, Cáceres AG, Kosoy M. 2015.** Fleas and flea-associated *Bartonella* species in dogs and cats from Peru. J Med Entomol Advance Access 52: 1374-7. doi: 10.1093/jme/tjv137.
108. **Rizzo M, Osikowicz L, Cáceres A, Luna-Caiipo V, Suarez-Puyen S, Bai Y, Kosoy M. 2019.** Identification of *Bartonella rochalimae* in Guinea Pigs (*Cavia porcellus*) and Fleas Collected from Rural Peruvian Households. Am J Trop Med Hyg 101:1276-1281. doi: 10.4269/ajtmh.19-0517.
109. **Rojas N, Troyo A, Castillo D, Gutiérrez R, Harrus S. 2015.** Detección molecular de especies de *Bartonella* en pulgas recolectadas de perros y gatos de Costa Rica. Enfermedades zoonóticas y transmitidas por vectores 15: 630-632. doi: 10.1089/vbz.2015.1799.

110. **Rojero E, Gordillo G, Weber M. 2017.** Infection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* spp. in Opossums and Dogs in Campeche, Mexico: The Role of Tick Infestation. *Front Ecol Evol* 5: 161. doi: 0.3389/fevo.2017.00161.
111. **Roland WE, Everett ED, Cyr TL, Hasan SZ, Dommaraju CB, McDonald GA. 1998.** *Ehrlichia chaffeensis* in Missouri ticks. *Am J Trop Med Hyg* 59: 641–643.
112. **Roura X, Santamarina G, Tabar M, Francino O, Altet L. 2018.** Polymerase chain reaction detection of *Bartonella* spp. in dogs from Spain with blood culture-negative infectious endocarditis. *J Vet Cardiol* 20: 267-275. doi: 10.1016/j.jvc.2018.04.006
113. **Rubio MA, Salas E, Gómez G. 2011.** Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma* sp en canes de la ciudad de Lima. *Rev Inv Vet Perú*, 22: 233-238.
114. **Santos H, Thomé S, Baldani C, Silva C, Peixoto M, Pires M, Vitari G, Costa R, Santos T, Angelo I, Santos L, Faccini J, Massard. 2013.** Molecular epidemiology of the emerging zoonosis agent *Anaplasma phagocytophilum* (Foggie, 1949) in dogs and ixodid ticks in Brazil. *Parasites & Vectors* 6: 348.
115. **Shibata S, Kawahara M, Rikihisa Y, Fujita H, Watanabe Y, Suto S, Ito T. 2000.** New *Ehrlichia* Species Closely Related to *Ehrlichia chaffeensis* Isolated from *Ixodes ovatus* Ticks in Japan. *J Clin Microb* 38: 1331-1338.
116. **Silveira J, Reis I, Estevam L, Pinto M, Zweygarth E, Passos L, Paz G. 2017.** Important frequency of *Anaplasma phagocytophilum* infection in a population of domiciled dogs in an urbanized area in south-eastern Brazil. *Pesquisa Vet Brasileira* 37: 958–962. doi:10.1590/s0100-736x2017000900010.
117. **Solis KA. 2017.** Molecular detection of *Bartonella* spp. in the blood of cats and dogs from different regions of Perez Zeledon. Tesis de Microbiología y Química Clínica. San Pedro: Universidad de Costa Rica.
118. **Soriano JF. 2014.** Estimación de la población de perros con dueño en el Distrito de Comas Lima- Perú. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 39 p.
119. **Sosa C, Cervantes M, Laguna R, Lopez L, Ojeda D, Oyervides M. 2021.** Serological and Molecular Evidence of Patients Infected with *Anaplasma phagocytophilum* in Mexico. 9: 8.

120. **Soto SM. 2023.** Prevalencia de Bartonella sp. en perros domésticos del distrito El Mantaro en Junín, Perú. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nac Mayor de San Marcos. 81 p.
121. **Tabar MD, Altet L, Vilafranca. 2009.** Gammapatía monoclonal (Ig A) asociada a Bartonella sp. en un perro. Rev Ofi AVEPA 29: 49.
122. **Tamez R. 2015.** Detección de *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* en garrapatas recolectadas de perros en Monterrey, Nuevo León, México. Tesis de Maestría en Ciencia Animal. Monterrey: Univ Autónoma de Nuevo León. 80 p.
123. **Theran JS, Dulcey LA, Saenz E, Jaimes EM, Gutiérrez EA, Ordoñez K, Gil DJ. 2022.** Ehrlichiosis y anaplasmosis, revisión de tema sobre una enfermedad atípica emergente en humanos. Ciencia Lat Rev Multidis 6: 2067-2083. doi: 10.37811/cl\_rcm.v6i3.2358.
124. **Tobar B, Lapsley W, Swain W, Jaffe D, Setien A, Galvez G, Obregon C, Olave J, Chomel B. 2020.** Bartonella in dogs and fleas from Tulancingo, Hidalgo, Mexico. Med Vet Entomol 34: 302-308. doi: 10.1111/mve.12438.
125. **Tomassone L, Nuñez P, Gurtler RE, Ceballos LA, Orozco MM, Kitron UD, Farber M. 2008.** Molecular Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in *Amblyomma parvum* Ticks, Argentina. J Eme Inf Dis 14: 1953-1954.
126. **Torres E. 2023.** Seroprevalencia de *Ehrlichia canis*, en perro doméstico, del sector Pamplona Alta del distrito de San Juan de Miraflores, Lima Perú. Tesis de Médico Veterinario. Univ Ricardo Palma. 79 p.
127. **Uilenberg G, Thiaucourt F, Jongejan F. 2004.** On molecular taxonomy: what is in a name?. Kluwer Acad Pub Exp App Acar 32: 301–312.
128. **Ulloa MD. 2018.** Incidencia de Anaplasmosis en caninos. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Cuenca: Univ Politécnica Salesiana. 80 p.
129. **Vicente A. 2017.** Detención de *Ehrlichia canis* mediante PCR en tiempo final en muestras de sangre canina sospechosas provenientes de la zona de Lima Norte. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ Per Cayetano Heredia. 24 p.
130. **Villaverde C. 2017.** Evidencia serológica de *Ehrlichia* spp en canes con cuadros de trombocitopenia en Iquitos. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ Per Cayetano Heredia. 20 p.

131. **Weinborn R, Zanelli M, López O, Pau N, Valdés F. 2018.** Anticuerpos anti-*Anaplasma* spp en población de riesgo ocupacional de un hospital veterinario. *Rev Inv Vet Perú* 29: 594-601.
132. **Weinborn R, Pau N, Tobar B, Jaffe D, Boulouis H, Sepúlveda P, Müller A, Chomel B. 2019.** *Bartonella* Infection in Stray Dogs from Central and Southern Chile (Linares and Puerto Montt). *Vector Borne Zoonotic Dis* 20: 187-192. doi: 10.1089/vbz.2019.2505.
133. **Woldehiwet Z. 2010.** The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasit* 167:108-122. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.09.013.
134. **Wolf LA, Marimuthu S, Summersgill JT. 2020.** Detection of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in whole blood specimens using a duplex real-time PCR assay on the ARIES instrument. *Ticks and Tick-borne Diseases* 11: 1877-959X. Doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101387.
135. **Wong SS, Teng JL, Poon RW, Choi GK, Chan KH, Yeung ML, Hui JJ, Yuen KY. 2011.** Comparative evaluation of a point-of-care immunochromatographic test SNAP 4Dx with molecular detection tests for vector-borne canine pathogens in Hong Kong. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11: 1269-1277. doi: 10.1089/vbz.2010.0265.
136. **Yabsley M, McKibben J, Macpherson C, Cattán P, Cherry N, Hegarty B, Breitschwerdt E, O'Connor T, Chandrashekar R, Paterson T, Perea M, Ball G, Friesen S, Goedde J, Henderson B, Sylvester W. 2008.** Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. *Vet Parasitol.* 151: 279-85. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.11.008.
137. **Yore K, DiGangi B, Brewer M, Balakrishnan N, Breitschwerdt E, Lappin M. 2013.** Flea species infesting dogs in Florida and *Bartonella* spp. prevalence rates. *Vet Parasitol* 199: 225-9. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.10.017.
138. **Yu DH, Li YH, Yoon JS, Lee JH, Lee MJ, Yu IJ, Chae JS, Park JH. 2008.** *Ehrlichia chaffeensis* infection in dogs in South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis* 8:355-358.
139. **Zhang X, Zhang J, Long SW, Ruble RP, Yu XJ. 2003.** Experimental *Ehrlichia chaffeensis* infection in beagles. *J Med Microb* 52: 1021-1026.

140. **Zurita A, Gutiérrez GS, Cutillas C. 2016.** Infection Rates of *Wolbachia* sp. and *Bartonella* sp. in Different Populations of Fleas. *Current Microb* 73: 704-713.
141. **Zurita A. 2018.** Taxonomía, filogenia y papel vectorial de especies del orden *Siphonaptera*. Tesis de Doctor en Farmacia. Sevilla: Universidad de Sevilla. 360 p.

## **VIII. ANEXOS**



## Anexo 1. Hoja de consentimiento informado para la participación del animal en la investigación.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO AL PROPIETARIO DE ANIMALES - USO DE ANIMALES PARA INVESTIGACION

#### HOJA DE INFORMACION

Como propietario, se le ha pedido que su mascota participe en un estudio de investigación. Se requiere su consentimiento informado antes de este uso.

---

#### Título del proyecto:

Frecuencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella sp.* en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Periodo de ejecución del proyecto: 01/02/23 a 31/12/23

#### Nombre del Investigador:

Alejandra Cornejo Herrera (alejandra.cornejo@unmsm.edu.pe; 949508400)

Luis A. Gomez-Puerta (lgomezp@unmsm.edu.pe; cel 996268777)

Institución: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria

#### Objetivo del estudio:

Determinar la frecuencia de *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Bartonella sp.* en muestras de sangre de perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la FMV-UNMSM

#### Muestra biológica requerida:

Sangre del animal

#### Participación voluntaria:

La participación de su animal es voluntaria, si no desea participar, no tiene que proporcionar ningún motivo para su decisión. Negarse a participar o retirarse no afectará de ninguna manera la atención a la que tienen derecho los participantes animales.

#### Implicaciones financieras:

No habrá ningún costo para usted por la participación de su animal en el estudio de investigación. No se le cobrará por ninguno de los procedimientos realizados únicamente para los fines del estudio. No recibirá ningún reembolso por la participación de su animal en el estudio de investigación.

#### Transferencia de conocimiento:

De encontrarse resultados positivos, estos serán enviados a usted para su conocimiento.

#### Privacidad:

La información recopilada por los investigadores se utilizará de acuerdo con los Principios de privacidad de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### Confidencialidad:

Se mantendrá la confidencialidad del propietario y del animal. No se realizará ninguna identificación de individuos al informar o publicar los datos que surjan de este estudio.

#### Preguntas:

1. Si tiene alguna pregunta o inquietud relacionada con los aspectos prácticos del estudio de investigación. Puede ponerse en contacto con el personal de investigación utilizando los datos de contacto proporcionados anteriormente.
2. Este estudio de investigación ha sido aprobado por el Comité de Ética Animal de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO - PARA LA PARTICIPACIÓN ANIMAL EN LA INVESTIGACIÓN

### IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL

Nombre del animal:.....

Raza:..... Edad:.....

Sexo: Macho..... Hembra.....

1. Yo..... certifico que tengo al menos 18 años de edad y soy el propietario del (de los) animal (es) mencionado (s) anteriormente y que el (los) animal (s) está (n) libre (s) de cualquier derecho de retención o reclamo de cualquier otra (s) persona (s).

2. Reconozco que he leído la hoja de información adjunta para el proyecto de investigación titulado: Frecuencia de *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Bartonella* sp. en perros atendidos en la Clínica de Animales Menores de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos

3. Entiendo que esta participación en la investigación implicará dejar que usen la muestra de sangre de mi (s) animal (es) por los investigadores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Asimismo, he tenido la oportunidad de hacer preguntas y discutir cualquier aspecto de la participación con el investigador.

4. Entiendo que la participación de mi (s) animal (es) es voluntaria, y puedo retirar mi (s) animal (es) por cualquier motivo y en cualquier momento. Mi consentimiento es dado libremente.

5. Soy consciente de que este proyecto cuenta con la aprobación actual del Comité de Ética Animal de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

6. Entiendo que todos los datos privados que pertenecen a mí y a mi(s) animal(es) serán tratados con estricta confidencialidad.

### CONSENTIMIENTO DEL PROPIETARIO / AGENTE AUTORIZADO

Firma del dueño .....

Fecha .....

Firma del investigador .....

**Anexo 2.** Constancia de autorización ética para el proyecto de investigación aprobado por el CEBA.



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
*Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA)*



Lima, 4 Diciembre de 2019

**Constancia de Autorización Ética**

Visto la importancia del proyecto y considerando que en el mismo, se han tomado en cuenta los aspectos de Ética y Bienestar Animal. El CEBA de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos expide la presente **Constancia de Autorización Ética** del proyecto titulado **"Prevalencia de enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos domésticos de diversas localidades del Perú"** cuyo número de registro corresponde a **CEBA-2019-011**

Atentamente,



MV.MSc Alberto Sánchez  
Presidente del Comité Ética y Bienestar Animal  
FMV, UNMSM

**Anexo 3.** Distribución de distritos pertenecientes a cada cono según INEI, adicionalmente resultados positivos según distrito.

Cono	Distrito	n positivos (%)		
		<i>Anaplasma</i> sp.	<i>Ehrlichia</i> sp.	<i>Bartonella</i> sp.
Cono norte	Ancón	1 (0.46)		
	Carabaylo			
	Comas			
	Independencia			
	Los Olivos			
	Puente Piedra			
	San Martín de Porres		1 (0.46)	
	Santa Rosa			
Cono este	Ate	2 (0.93)	4 (1.86)	1 (0.46)
	Santa Anita			
	Chaclacayo			
	Lurigancho			
	La Molina			
	Cieneguilla	1 (0.46)		
	San Luis			
	San Juan de Lurigancho		1 (0.46)	
Cono centro	Lima Cercado			
	Breña			
	Jesús María			
	Lince			
	Barranco			
	San Isidro		2 (0.93)	
	San Miguel		1 (0.46)	
	Magdalena del Mar			
	Pueblo Libre			
	San Borja		1 (0.46)	
	Miraflores			
	La Victoria		1 (0.46)	
	Rímac			
	Chorrillos			
Cono sur	Lurín			
	Pachacámac			
	Pucusana			
	Punta Hermosa			
	Punta Negra			
	San Bartolo			
	San Juan de Miraflores	1 (0.46)		
	Santiago de Surco	1 (0.46)		
	Santa María del Mar			
	Villa El Salvador			
	Villa María del Triunfo			

