



Universidad de Panamá
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela de Medicina Veterinaria

Presencia de anticuerpos circulantes en perros (*Canis Lupus familiaris*) con sospecha de Ehrlichia canis atendidos en una clínica veterinaria, Chilibre, Provincia de Panamá

Elaborado por:

Marín, Jennifer 8-961-1614

Asesor interno:

Dr. Julio Ramos

PANAMÁ, 2024

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CIRCULANTES EN PERROS (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*) CON SOSPECHA DE EHRlichia CANIS ATENDIDOS EN UNA CLÍNICA VETERINARIA, CHILIBRE, PROVINCIA DE PANAMÁ

TRABAJO DE GRADUACIÓN SOMETIDO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE DOCTORA EN MEDICINA VETERINARIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

PERMISO PARA SU PUBLICACION, REPRODUCCION TOTAL O PARCIAL DEBE SER OBTENIDA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

APROBADO

PROF. DR. JULIO RAMOS

ASESOR

PANAMÁ
REPUBLICA DE PANAMÁ
2024

Agradecimientos

Han sido cinco largos años recorriendo este camino que ha tenido predilección por ser una montaña rusa de emociones. He conocido tantas personas maravillosas, que han sido de ayuda para formar la persona que soy hoy, finalmente cerrando esta hermosa etapa universitaria.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Rodrigo Vega Gaubeca, por permitirme entrar en su clínica, durante el último año y transmitirme todo el conocimiento práctico que ha adquirido en todos estos años, siendo médico veterinario. Además, por haberme guiado en la elaboración sistemática de esta tesis, brindándome su asesoría y los implementos requeridos para realizarla.

Mil gracias a mi asesor interno, el Dr. Julio Ramos, por sus correcciones y atención ante cualquier inquietud surgida durante el proceso de redacción de esta tesis, por darme consejos que seguramente serán aplicados después de esta experiencia.

Gracias a las Sharonas por soportarme y ser mis compinches todo este tiempo, porque a pesar de nuestras diferencias, supimos ser profesionales y manejar con todo lo que ser un estudiante involucra. No imagino tener otro grupo de trabajo y aunque nuestros caminos se bifurcan siempre las tendré como una etapa catastrófica pero bonita en mi corazón.

Dedicado a:

A Dios, porque ha visto mi sacrificio y mis ganas de ser diferente, por darme la fuerza y la valentía de superar todos los obstáculos presentados durante toda la carrera, pero, más allá de todo esto, por brindarme sabiduría y salud para enfrentar la vida.

A mi mamá, por ser esa mujer ejemplo de perseverancia, que no se deja vencer por la adversidad, sino que se levanta y enfrenta con actitud a las circunstancias. A tí, que sacrificaste tu vida para que la mía fuera diferente, siempre abriéndome tus brazos para llorar, tu oído para escuchar y tu actitud para hacerme reír de lo más simple. Este es un logro de las dos, porque sin ti, nada de esto sería posible.

A ti Jennifer, porque te mantuviste enfocada en tu objetivo y no permitiste que las circunstancias doblegaran tu valentía, no te rendiste y seguiste adelante; porque fuiste justa y tolerante con todas las personas, aunque no se lo merecieran. Porque has valorado el esfuerzo de tu madre y decepcionarla nunca ha sido una opción.

Resumen

La Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) es una enfermedad producida por bacterias del género *Ehrlichia canis* y transmitida por garrapatas. Esta enfermedad fue descrita por primera vez en Argelia en 1935 y actualmente está distribuida alrededor de todo el mundo, particularmente en áreas tropicales y subtropicales.

En el trabajo de investigación se determinó la prevalencia de anticuerpos de *Ehrlichia Canis* determinado por el ensayo inmunocromatográfico en *Canis Lupus Familiaris* en la Clínica Veterinaria Chilibre. Se obtuvieron 40 muestras sanguíneas que fueron recolectadas de los perros en estudio, las cuales se analizaron a través de la prueba de ensayo inmunocromatográfico para determinar la prevalencia de anticuerpos de *Ehrlichia Canis*. Los resultados fueron que, de 40 animales muestreados, 38 resultaron positivos a los anticuerpos de *Ehrlichia Canis*. En conclusión, podemos decir que la prevalencia de anticuerpos de *ehrlichia canis* en perros atendidos en la Clínica Veterinaria Chilibre con sospecha de padecer ehrlichiosis resultó ser alta, en la que se obtuvo un 95% de positividad.

El tipo de estudio que se utilizó fue no probabilístico a conveniencia descriptivo de corte transversal.

Índice de contenido

Título.....	i
Página de aprobación.....	ii
Dedicatoria	iv
Resumen.....	v
1. Introducción.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Antecedentes.....	2
1.3. Justificación	4
1.4. Objetivos.....	5
1.5. Hipótesis.....	5
1.6. Alcances y limitaciones del estudio	6
2. Revisión de literatura	6
2.1. Historia de enfermedades por garrapatas en Panamá	6
2.2. Generalidades del perro (canis lupus familiaris)	7
2.3. Garrapata del género: R. sanguineus	7
2.4. Ehrlichiosis monocítica canina (EMC).....	9
3. Materiales y métodos	12
3.1. Tipo de estudio.....	12
3.2. Ubicación.....	12
3.3. Criterios de inclusión.....	12
3.4. Criterios de exclusión	13
3.5. Población.....	13
3.6. Materiales.....	13
3.7. Toma y procesamiento de muestra.....	14
3.8. Parámetros por evaluar	15
4. Resultados.....	15
5. Discusión	23
6. Conclusiones.....	27
7. Recomendaciones.....	28
8. Bibliografía de consulta.....	29
9. Anexos de Estudio	32

Índice de Tablas

Tabla 1: Resumen de las variables en estudio de los perros atendidos en la clínica veterinaria Chilibre.....	15
Tabla 2: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis determinado por el ensayo inmunocromatográfico en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre.....	17
Tabla 3: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según el sexo.	17
Tabla 4: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según edad.	18
Tabla 5: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según la presencia de garrapatas.	19
Tabla 6: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según raza/mestizo.	20
Tabla 7: Variaciones de parámetros hematológicos obtenidos mediante hemoleucograma en la Clínica Veterinaria Chilibre.....	21

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis determinado por el ensayo inmunocromatográfico en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre.....	17
Gráfico 2: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según el sexo.	18
Gráfico 3: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según edad.	19
Gráfico 4: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria chilibre según la presencia de garrapatas.	20
Gráfico 5: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según raza/mestizo.	21
Gráfico 6: Variaciones de parámetros hematológicos obtenidos mediante hemoleucograma en la Clínica Veterinaria Chilibre.	22

Índice de Anexos

Ilustración 1: Cuadro de recolección de datos.....	¡Error! Marcador no definido.
Consentimiento Informado.....	42
Ilustración 2: Carta de Autorización de Estudio.....	32
Ilustración 3: Resultado Negativo al Test.....	32
Ilustración 4: Resultado Positivo al Test.....	32
Ilustración 5: Preparación de la muestra con todos los materiales.....	33
Ilustración 6: Extracción de sangre del tubo de EDT con el gotero.....	33
Ilustración 7: Colocación de gotas en la ventana.....	34
Ilustración 8: Se agrega el diluyente en la ventana.....	35
Ilustración 9: Ubicación de la Clínica.....	36

1. Introducción

En la actualidad, las enfermedades transmitidas por garrapatas en Panamá han aumentado su relevancia, esto se debe a que varias son reconocidas como potenciales zoonosis y sus agentes son patógenos emergentes, tanto para humanos como para animales; además, gracias a los métodos de identificación que se han ido desarrollado, se ha vuelto más fácil y rápido realizar diagnósticos correctos.

Entre las enfermedades transmitida por garrapatas que más se ha hecho conocida esta la ehrlichiosis monocítica canina (EMC), esta es una enfermedad multisistémica causada por la bacteria intracelular Ehrlichia canis, misma que, en ocasiones llega a ser fatal y afecta a miembros de la familia Canidae, la cual incluye a los perros, lobos, coyotes y zorros, es transmitida por la garrapata marrón del perro Rhipicephalus sanguineus. (Straube 2010, Faria et al. 2011, Waner y Harrus 2013, Ferrolho et al. 2016). Esta enfermedad no tiene predilección por la edad o el sexo, pone en peligro los sistemas orgánicos del huésped de manera diferente y con distintos grados de severidad. (Munhoz et al. 2012, Da Silva et al. 2013)

Por lo tanto, el objetivo principal de esta investigación fue demostrar y evaluar la presencia de la Ehrlichiosis canina en el área de Chilibre, Panamá, por medio del estudio y análisis de una población determinada que ha sido tratada en una clínica particular, y se han utilizado factores para la clasificación de resultados.

1.1. Planteamiento del problema

Panamá, al ser un país con clima tropical, propicia el ambiente ideal para que las garrapatas, las cuales son el vector de *E. canis*, se desarrollen correctamente, lo que hace que se asocie la mayoría de los casos a este problema. Esto, sumado a la falta de conocimiento sobre el control de estos parásitos externos, la falta de recursos económicos y al status endémico de esta patología en el país, suponen las bases por la cual esta es tan común en la práctica día a día. Además, en estas áreas remotas, donde no se cuenta con un rápido acceso a clínicas veterinarias, existe poca o nula información sobre esta enfermedad, por lo que no contamos con un registro de las cifras exactas, de manera que permita exponer la situación real de la enfermedad en el territorio.

Tomando en cuenta lo anterior expuesto, nos surge la pregunta: **¿Es alta la presencia de anticuerpos de *E.canis* en pacientes caninos del área de Chilibre?**

1.2. Antecedentes

En un estudio sobre la distribución de garrapatas (Ixodida) de *Canis Lupus Familiaris L.* (Carnivora: Canidae) de siete pueblos de la provincia de Chiriquí, Panamá (Ferrell, 2014), explican que *R. sanguineus* es extremadamente importante como portador de enfermedades para perros, y han sugerido que algunas razas son más resistentes al parasitismo que otras. Además, mencionaron que, a pesar de que existen datos científicos que explican las enfermedades transmitidas por garrapatas, su distribución y las implicaciones que afectan al humano, el público en general no tiene idea del papel que juegan las garrapatas en la transmisión de estas enfermedades. Por otro lado, los

resultados demostraron que la garrapata más prominente en el territorio chiricano fue la *R. sanguineus*; adicional, también se reportó que, los perros que vivían en las ciudades más cálidas y urbanizadas tenían los niveles más altos de perros parasitados.

En otro estudio sobre la distribución de ectoparásitos de *Canis lupus familiaris* L. (Carnivora: Canidae) de Panamá (Bermúdez & Miranda, 2011), se examinaron 57 ciudades de las 9 provincias de Panamá (Panamá Oeste pertenecía a la Provincia de Panamá), incluyendo las comarcas Ngöbe Bugle y Guna Yala, y en sus resultados todas las provincias presentaron una gran distribución del vector de la *Ehrlichia canis*, la *R. sanguineus*. Por lo contrario, la comarca Ngöbe Bugle no presentó presencia del vector, mientras que Guna Yala sí. Los autores recalcaron que, las ciudades en las que hubo mayor distribución fueron las ubicadas en áreas rurales y urbanas de tierras bajas.

En una investigación sobre *Ehrlichia canis* en perros domiciliados aparentemente sanos y en garrapatas de cuatro municipios del occidente de Cuba (Navarrete, 2018), señalan que los métodos serológicos son capaces de detectar bajos niveles de anticuerpos de *E. canis* en la fase subclínica y crónica de la enfermedad, y esto ocurre a partir de los 15 días de haberse infectado el animal y persisten por varios meses hasta años después del tratamiento y su eliminación, permaneciendo sensible a la infección.

En un estudio sobre los hallazgos clínicos en perros (*Canis familiaris*) infectados con *Ehrlichia canis* (Shiroma & Becerra, 2019, pp. 25-26), reportaron con mayor frecuencia signos inespecíficos como decaimiento, pérdida de peso, pérdida de apetito (96,7%) y

anorexia (90,0%). Sin embargo, hubo una baja frecuencia de perros con ataxia y epistaxis (16,70%), incoordinación motora (20%) y petequias (23,3%). Además, reportaron que el 87.70% de los canes que presentaron hemoglobina baja (<12 g/dl), fue positivo a Ehrlichia canis y, el 23,3% restante, presentaba valores normales.

No se encontraron investigaciones específicas sobre la presencia de la E. canis en Chilibre, ni en el territorio panameño.

1.3. Justificación

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad endémica en el territorio panameño (Bermúdez et al., 2023), por lo que se presenta constantemente en la práctica clínica. Esta, a pesar de ser potencialmente mortal, tiene una signología clínica inespecífica, por lo que, solo con los exámenes físicos, es imposible de confirmar un diagnóstico. Además, Panamá está situado en una zona intertropical, por lo que sus climas son de tipo tropical (Biblioteca Nacional de Panamá, 2019), lo que lo vuelve un caldo perfecto para la proliferación de los vectores de la Ehrlichia canis. Por otro lado, es importante mencionar que, hay poca gestión local sobre el conocimiento de la ecología, distribución, control y eliminación de esta enfermedad y sus vectores (Bermúdez, 2019), especialmente en áreas alejadas de la ciudad, como lo es Chilibre; lo que se convierte en un problema sanitario importante y, debido a todo esto, se hace necesaria la investigación y la determinación de su presencia en estas áreas del país.

1.4. **Objetivos**

1.4.1. **General**

Determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra E.canis en perros sospechosos atendidos en una clínica veterinaria de Chilibre, Provincia de Panamá.

1.4.2. **Específico**

- Calcular la prevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis a través del ensayo inmunocromatográfico.
- Detectar anticuerpos de Ehrlichia canis mediante ensayo inmunocromatográfico

1.5. **Hipótesis**

1.5.1. **Alternativa**

El ensayo inmunocromatográfico determinó una alta prevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis, en perros (Canis lupus familiaris) en una clínica veterinaria de Chilibre, Chilibre.

1.5.2. **Nula**

El Ensayo inmunocromatográfico no determinó una alta prevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis, en perros (Canis lupus familiaris) en una clínica veterinaria de Chilibre, Chilibre.

1.6. Alcances y limitaciones del estudio

1.6.1. Alcances

En este estudio se tomó en cuenta la presencia de anticuerpos para *E. canis* mediante el análisis de distintos factores como lo son signos clínicos, resultados de examen de sangre y resultados del test rápido para *E. canis*. Esto, no necesariamente indicó la presencia del parásito de forma reciente, por lo tanto, su enfoque se basó solo en determinar la cantidad de animales sospechosos que pueden padecer la enfermedad.

1.6.2. Limitaciones

Negación por parte del dueño para realizar las pruebas por dificultad económica, disponibilidad de días para recolección de muestras, errores en el proceso de ejecución de pruebas, carencia de insumos.

2. Revisión de literatura

2.1. Historia de enfermedades por garrapatas en Panamá

Las enfermedades transmitidas por garrapatas empezaron a ser estudiadas y reportadas, desde el año 1909, por investigadores norteamericanos, durante la construcción del Canal Interoceánico. Se estima que estas enfermedades fueron introducidas al país en los años 70, por perros militares provenientes de los EE.UU. (Obaldía, 1992, pp. 15-17). Bermúdez (2012) menciona que, “en estudios realizados en áreas conocidas por tener garrapatas infectadas, descubrieron que estas enfermedades circulan en Panamá, en contacto cercano con animales domésticos, de zoológico y de vida salvaje.” (Ferrell, 2014)

2.2. Generalidades del perro (*canis lupus familiaris*)

Los perros son mamíferos domésticos que pertenecen al grupo de los carnívoros y omnívoros, pertenecen a la familia Canidae, género Canis, especie lupus, subespecie del lobo (*Canis lupus*) *familiaris*. Se reconocen aproximadamente 800 razas de perros. Como la mayoría de los mamíferos depredadores, el perro tiene músculos potentes y un sistema cardiovascular que permite alcanzar altas velocidades y una gran resistencia. Posee un oído y olfato muy desarrollados, siendo este último su principal órgano sensorial. Sus dientes son para cazar, aguantar y desgarrar las presas. Su tamaño, fuerza, resistencia, forma y pelaje dependen de la raza. No existe un dimorfismo sexual marcado, sin embargo, los machos tienden a ser más grandes y musculosos que las hembras. El perro doméstico ha convivido con los humanos cerca de 14 mil años, como perros de compañía, de guardia, de trabajo, de caza, galgos de carrera, perros guía, perros pastores o perros boyeros. Son animales sociables con una jerarquía de dominancia bien establecida. Su promedio de vida es de 15 años. (Fundación Charles Darwin, 2023)

2.3. Garrapata del género: *R. sanguineus*

Esta especie de garrapata es de color amarillo, rojizo o marrón; su principal característica es el estigma en forma de coma, observado principalmente en el macho y menos pronunciado en la hembra. Presentan ojos y festones, su tamaño puede variar en las hembras hinchadas, pues estas llegan a la longitud de 12 mm. Los palpos son cortos y la base del capitulum es dorsalmente hexagonal, las coxas del primer par de patas tienen dos espinas y las patas traseras pueden volverse un poco más grandes que las del par delantero. El surco anal rodea la mitad posterior del ano y se extiende hasta el surco

medio. Las garrapatas macho tienen placas adanales y escudos accesorios. las larvas de seis las patas son pequeñas y de color marrón claro, mientras que las ninfas de ocho patas son marrón rojizo. (Mendes et al., 2019)

2.3.1. Ciclo biológico

Labruna (2004) y Quiroz (2005) explican que “El ciclo comienza cuando los huevos eclosionan y, en un periodo de 6 días a varias semanas después, se convierten en larvas de seis patas. Luego, a bordo de su hospedador, estas larvas se alimentan de sangre durante 3 a 10 días y, posteriormente, caen al suelo donde experimentan la muda larval; este proceso tiene una duración de 5 a 15 días, donde posteriormente pasan a su siguiente estado móvil de ninfa. Las ninfas, se arriman a su hospedador y se alimentan de 3 a 11 días, después de este periodo de tiempo dejan a su hospedador para volver al proceso de muda. En condiciones favorables, a los 63 días, se convierten en machos y hembras adultas, listas para parasitar a su tercer hospedador, donde se alimentan y reproducen. La hembra, luego de estar abastecida, con suficiente sangre y fecundada, se deja caer al suelo donde pone de 1.000 a 3.000 huevos en un periodo de tres meses, reiniciando el ciclo. (Álvarez, 2017, p. 14)

2.3.2. La garrapata en el perro

La infestación de garrapatas en perros es frecuente, estos parásitos se fijan con sus mandíbulas en la piel del animal, alimentándose de la sangre que succionan y, actúan como vectores de transmisión de enfermedades; por ejemplo, la Ehrlichia canis, que causan una enfermedad potencialmente mortal en el animal afectado.

2.4. Ehrlichiosis monocítica canina (EMC)

2.4.1. Agente etiológico

La Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) es una enfermedad producida por bacterias del género *Ehrlichia canis* y transmitida por garrapatas. Esta enfermedad fue descrita por primera vez en Argelia en 1935 y actualmente está distribuida alrededor de todo el mundo, particularmente en áreas tropicales y subtropicales. (Leiva, 2006)

2.4.2. Patogénesis

E. canis invade y se multiplica en linfocitos y monocitos/macrófagos de mamíferos hospedadores (Straube 2010, Ferrolho et al. 2016). Esta bacteria al igual que los demás miembros de la familia Anaplasmataceae presenta tres estadios diferentes: cuerpos elementales (unidad bacteriana), cuerpos iniciales y mórulas.

Greene (2008), Nelson y Couto (2010) explican que, “Durante la fase aguda, *E. canis* ingresa al torrente sanguíneo y linfático, donde se localiza en los macrófagos del sistema retículo endotelial del bazo, hígado y linfonódulos, y se replica por fisión binaria. Desde allí, las células mononucleares infectadas diseminan las rickettsias hacia otros órganos del cuerpo. Esta fase puede durar entre 2 a 4 semanas. Los perros tratados incorrectamente o no tratados pueden desarrollar posteriormente una fase subclínica, y a pesar de que estos animales aparenten estar saludables desde el punto de vista clínico, es posible que los recuentos de plaquetas permanezcan en niveles inferiores a los rangos de referencia. Estos pacientes se transforman en portadores por un período que puede llegar hasta los 3 años. Durante el curso de la infección ocurre una variación de los antígenos proteicos principales de la membrana externa de *E. canis*, que conducen

a la generación de variaciones de epítopes inmunogénicos. Esto permite que los microorganismos evadan los mecanismos de defensa del huésped y den como resultado infecciones persistentes. Es posible que los perros inmunocompetentes eliminen *E. canis*. De otro modo, es probable que continúen como portadores o ingresen en la fase crónica de la enfermedad. La fase crónica, en su forma grave, se caracteriza por reducción de la producción de elementos sanguíneos de la médula ósea, lo cual redundaría en pancitopenia. Puede que los pacientes que se encuentran en esta fase mueran eventualmente de infecciones secundarias, hemorragias, o ambas.” (Zubeldia et al., 2018)

2.4.3. Hallazgos clínicos de cada fase de la enfermedad

2.4.3.1. Fase aguda

Zapata (2016) señala que, “Los hallazgos clínicos que se presentan en esta fase son: hipertermia, depresión, anorexia, pérdida de peso, disnea, secreción oculonasal, linfadenomegalia, esplenomegalia, petequias, equimosis y edema de extremidades. (Zubeldia et al., 2018, p. 2)

2.4.3.2. Fase subclínica

Zapata (2016) señala que, “esta fase no presenta signología específica. Puede durar desde unas semanas hasta incluso años. En cuanto a los datos de laboratorio se podría detectar un aumento de globulinas y trombocitopenia leve. (Zubeldia et al., 2018, p. 2)

2.4.3.3. Fase crónica

Zapata (2016) señala que, “en esta fase se presentan una variedad de signos clínicos generales, dentro de los cuales podemos destacar hipertermia, apatía, anorexia,

adenomegalia, debilidad y ataxia. El cuadro puede agravarse con infecciones bacterianas secundarias. Entre los signos presentes podemos encontrar: signos hemorrágicos (equimosis, hematuria, hematoquecia, epistaxis, hemorragia conjuntival, hemorragia gingival), signos neuromusculares (meningitis por inflamación o hemorragias), signos oculares (uveítis y enfermedades retinianas). (Zubeldia et al., 2018, p. 2)

2.4.4. Diagnóstico

Para el diagnóstico de EMC, se pueden utilizar métodos que combinen la evaluación de los signos clínicos, resultados de laboratorios, recuento de plaquetas y distintas pruebas diagnósticas, como: citología, pruebas serológicas, test rápidos de diagnósticos y PCR.

2.4.4.1. TEST RÁPIDO: Ensayo inmunocromatográfico

Las pruebas rápidas o Inmunocromatográfica son métodos fáciles y prácticos para la detección de antígenos por medio de un mecanismo no especializado (OIE, 2008) que determina la presencia o ausencia de una enfermedad a partir de una muestra determinada (Cabrera et al, 2013).

Son herramientas útiles para la detección de enfermedades infecciosas que pueden orientar el diagnóstico y en un momento dado iniciar el proceso de toma de decisiones para el control de la enfermedad detectada, debido a su rapidez y fácil interpretación (Akinwale et al. 2015).

La Inmunocromatográfica se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un

complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. De lo contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítipo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas.

La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, independientemente si la muestra es positiva o negativa (Paz, Gaitán 2011).

3. Materiales y métodos

3.1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio no probabilístico a conveniencia descriptivo de corte transversal.

3.2. Ubicación

La investigación se realizó en la clínica veterinaria de Chilibre, Carretera Transístmica, Chilibre, Panamá Norte, Ciudad de Panamá, Panamá.

3.3. Criterios de inclusión

- Muestras de sangre de perros de todas las edades, de cualquier raza y sexo

- Presencia o no de garrapatas
- Signos clínicos específicos (epistaxis, petequias, equimosis, hematuria) o inespecíficos (depresión, fiebre, anorexia, pérdida de peso, letargo) de la enfermedad.
- Que al BHC presenten disminución como mínimo en uno de estos 3 valores: HCT, HB y PLQ
- Que presenten plaquetas bajas o cerca del límite
- Que al realizar el test rápido salgan negativos o positivos

3.4. Criterios de exclusión

- Pacientes que no cumplan con los criterios anteriormente mencionados

3.5. Población

La población en estudio fue constituida por todos los perros que lleguen a la clínica con sospecha de E.canis en el área de Chilibre, durante el periodo de investigación.

3.6. Materiales

- Perros
- Tubos de EDTA de 3 ml
- Test kit de prueba anigen rapid E.canis ab de bionote
- Guantes de examen clínico
- Jeringas y agujas descartables de 3 ml y 1 mL con calibre 23 y 20 respectivamente
- Alcohol y algodón
- Bozal

3.7. Toma y procesamiento de muestra

Se tomaron muestras sanguíneas de la vena cefálica/yugular del animal, con la técnica de sujeción conocida respectivamente. La cantidad mínima de sangre extraída será de 1 ml, la cual fue colocada posteriormente en un tubo de EDTA.

Se realizó el hemograma y se analizaron los resultados, solo se eligieron los pacientes que se presentaron afectados los valores anteriormente mencionados.

Posteriormente, se usó el kit comercial de E.canis ab. El mismo cuenta con materiales como: dispositivo para prueba rápida, tubo con anticoagulante, tubo de ensayo con diluyente y tubo capilar desechable.

El procedimiento para realizar constó de los siguientes pasos: Se colocó la sangre extraída en el tubo EDTA, se tapó el tubo y se invirtió 5 veces, se colocaron 10 ul de sangre en la ventana del dispositivo con el gotero, se agregó 2 gotas de diluyente en la ventana del dispositivo y por último esperar 20 min para interpretación de resultados. Se utilizó la fórmula de prevalencia para determinar la cantidad de animales positivos entre la población (Hernández, 2015). Los resultados fueron analizados de manera descriptiva y presentados mediante gráficas y tablas.

Fórmula de prevalencia:

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

C=número de individuos afectados existentes o casos

N=número de individuos de una población

3.8. Parámetros por evaluar

Variable Dependiente: Presencia de anticuerpos de Ehrlichia canis

Variabes independientes:

- Edad
- Sexo
- Raza
- Presencia de garrapatas

4. Resultados

El presente trabajo de investigación se realizó en la Clínica Veterinaria Chilibre, área que se caracteriza por un clima tropical. Se muestrearon 40 caninos, los cuales pertenecían a tutores que necesitaban atención veterinaria para sus mascotas, de todas las razas, ambientes, alimentación, edad, sexo, con signos específicos e inespecíficos de la enfermedad. Además de que a todos se les realizó hemo leucograma y test rápido de E.canis.

Tabla 1: Resumen de las variables en estudio de los perros atendidos en la clínica veterinaria Chilibre.

Características		N	%
Sexo	Hembras	25	62.5%
	Machos	15	37.5%
	Total	40	100%
Edad	3-5 meses	6	15%
	6-9 meses	6	15%
	1-3 años	18	45%

Total	4-8 años	7	17.5%
	10-13 años	3	7.5%
		40	100%
Raza / mestizo	Raza	19	47.5%
Total	Mestizo	21	52.5%
		40	100%
Presencia de garrapatas	Positivo	19	47.5%
Total	Negativo	21	52.5%
		40	100%

Los resultados del estudio indican que en cuanto al sexo el 62.5% (25/40) de los canes son hembras, el 37.5% (15/40) son machos, determinando una población mayoritaria de hembras. En cuanto a la edad el 7.5% (3/40) son perros de 10 a 13 años, el 15% (6/40) son de 3 a 5 meses, el 15% (6/40) son de 6 a 9 meses, el 17.5 % (7/40) son de 4-8 años y el 45% (18/40) está entre los 1 a 3 años, estableciendo que la mayoría de la población son canes adultos. En cuanto a si es de raza o mestizo se obtuvo un 47.5% (19/40) correspondiente a caninos de raza y un 52.5% (21/40) a caninos mestizos. Y por último según la presencia de garrapatas se obtuvo un 47.5% (19/40) positivo y un 52.5% (21/40) negativo.

Tabla 2: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis determinado por el ensayo inmunocromatográfico en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre.

Resultado	N	Seroprevalencia (%)
Negativo	2	5%
Positivo	38	95%
Total	40	100%

En la tabla 2, se observa los resultados de seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis, de un total de 40 animales muestreados, 38 resultaron positivos con una seroprevalencia de 95% y 2 animales resultaron negativos lo cual representa el 5%.



Gráfico 1: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis determinado por el ensayo inmunocromatográfico en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre.

Tabla 3: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según el sexo.

RESULTADO			
	Positivo	Negativo	Total

Sexo	N	%	N	%	N	%
Hembra	24	60%	1	2.5%	25	100%
Macho	14	35%	1	2.5%	15	100%
Total	38	95%	2	5%	40	100%

Los resultados en la tabla 3 indican que la seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis positivos en hembras fue de 60% y en machos alcanzó un porcentaje de 35%.

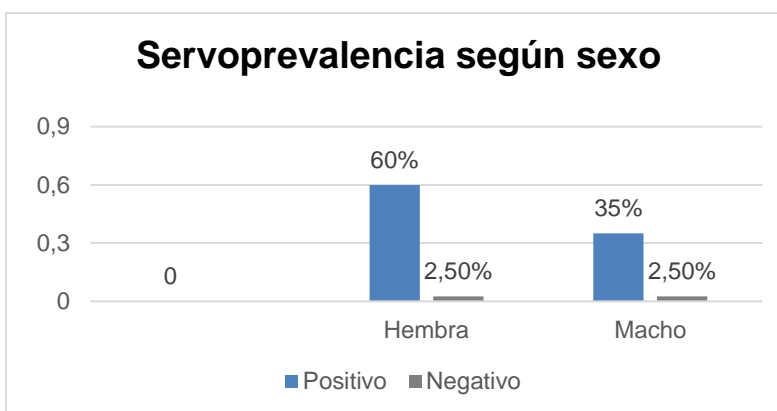


Gráfico 2: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según el sexo.

Tabla 4: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según edad.

RESULTADO						
Edad	Positivo		Negativo		Total	
	N	%	N	%	N	%
3-5 meses	5	12.5%	1	2.5%	6	100%
6-9 meses	5	12.5%	1	2.5%	6	100%
1-3 años	18	45%	0	0	18	100%
4-8 años	7	17.5%	0	0	7	100%

10-13 años	3	7.5%	0	0	3	100%
total	38	95%	2	5%	40	100%

Los resultados en la tabla 4 indican que la seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis positivo fue más alta en perros con una edad entre los 1 a 3 años presentando una tasa de 45%; seguida de los perros de 4-8 años con 17.5%, continuando con los perros de 3 a 5 meses con 15%, seguido de los perros de 6 a 9 meses con 15% y finalmente su menor presencia se da en los perros entre 10 a 13 años con 7.5%.

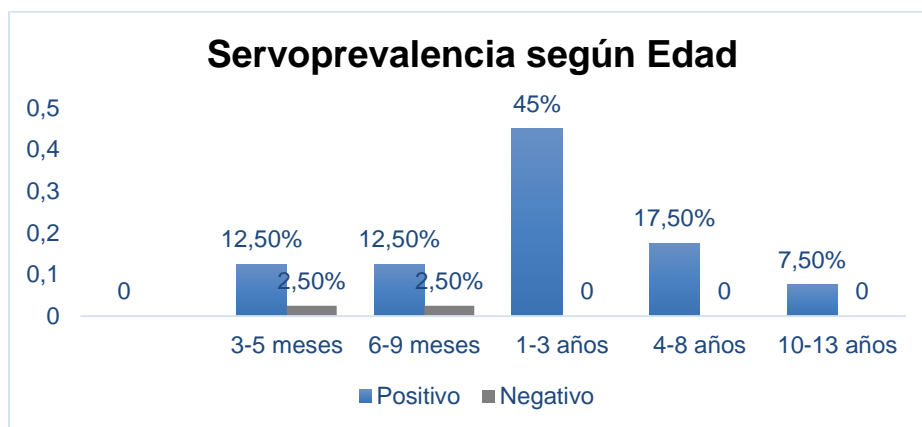


Gráfico 3: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según edad.

Tabla 5: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según la presencia de garrapatas.

RESULTADO						
Presencia de garrapatas	Positivo		Negativo		Total	
	N	%	N	%	N	%
Presencia	18	45%	1	2.5%	19	100%
Ausencia	20	50%	1	2.5%	21	100%

Total	38	95%	2	5%	40	100%
-------	----	-----	---	----	----	------

El estudio indica que la seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia canis positiva fue más alta en los perros que tenían ausencia de garrapatas siendo el 50%, mientras que en los perros que presentaron garrapatas fue de 45%.

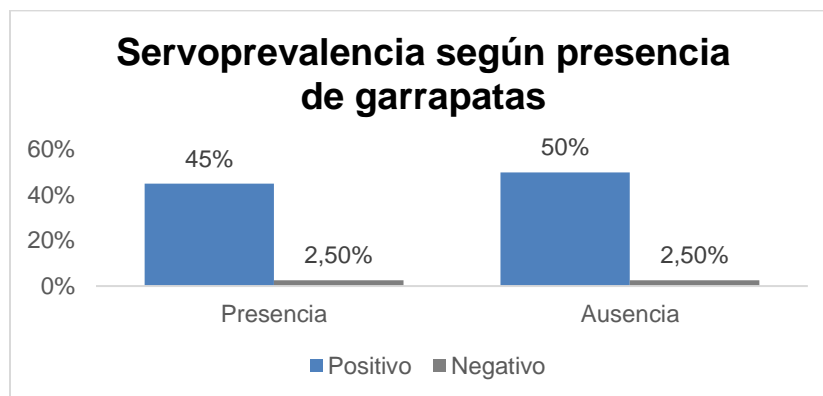


Gráfico 4: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria chilibre según la presencia de garrapatas.

Tabla 6: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según raza/mestizo.

Resultado						
Raza/mestizo	Positivo		Negativo		Resultado	
	N	%	N	%	N	%
Raza	18	45%	1	2.5%	19	100%
Mestizo	20	50%	1	2.5%	21	100%
Total	38	95%	2	5%	40	100%

En la tabla 6 se indica que la seroprevalencia de E.canis positivo fue más alta en perros mestizos con un 50%, mientras que para los perros de raza fue de 45%.

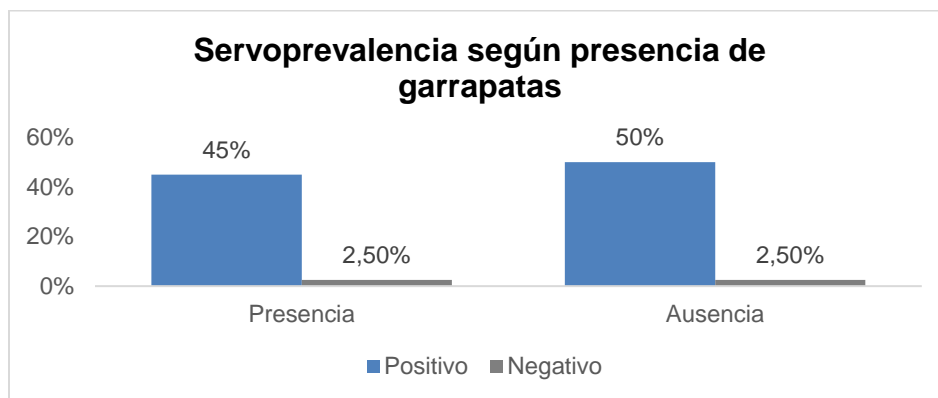


Gráfico 5: Seroprevalencia de anticuerpos de Ehrlichia Canis en Canis Lupus Familiaris en la Clínica Veterinaria Chilibre según raza/mestizo.

Tabla 7: Variaciones de parámetros hematológicos obtenidos mediante hemoleucograma en la Clínica Veterinaria Chilibre.

RESULTADO				
Parámetro hematológico	Disminuido	Normal	Cerca del límite	Total
Hemoglobina	36	4	0	40
Hematocrito	31	9	0	40
Plaquetas	37	0	3	40

El estudio indica que el 90% de los pacientes presentaban hemoglobina disminuida, lo que indica que se encuentra en un cuadro de anemia; el 77.5% presentaban hematocrito disminuido, lo que indica que los pacientes presentan deshidratación por el tiempo de progresión de la enfermedad; el 92.5% presentaban plaquetas por debajo de rango. Por otro lado, el 1.6% presentaban la hemoglobina dentro del rango normal, el 3.6% tenían el hematocrito dentro del rango normal y solo el 1.2% presentaban las plaquetas disminuidas lo que indica un compromiso inmunológico.

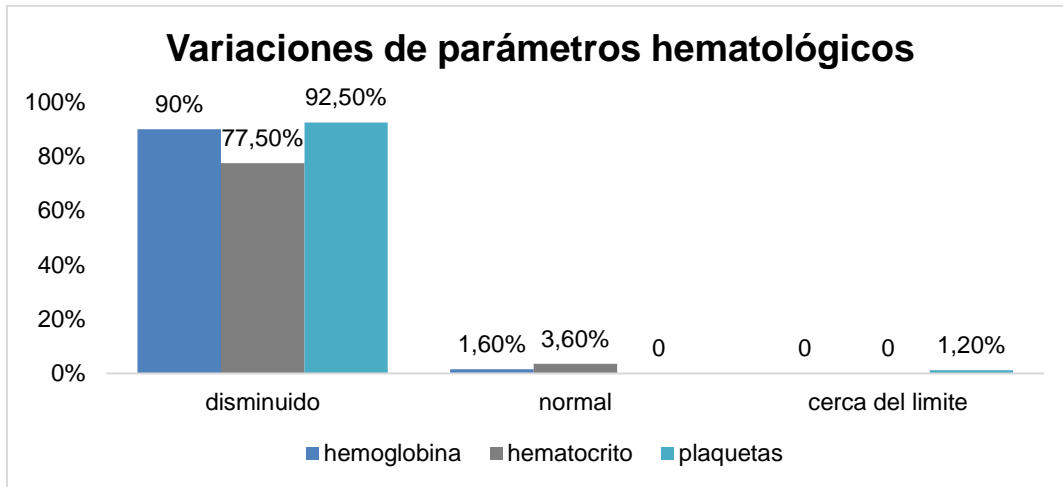


Gráfico 6: Variaciones de parámetros hematológicos obtenidos mediante hemoleucograma en la Clínica Veterinaria Chilibre. Para las plaquetas se considera como “cerca del límite” un resultado menor a $159 \times 10^9/L$ en el examen de sangre, considerando que el mínimo de este parámetro es $150 \times 10^9/L$.

5. Discusión

Los estudios requeridos para la realización de esta investigación se basaron en la consideración de pacientes sospechosos de Ehrlichia Canis dentro del área Panamá Norte, Chilibre, por lo tanto, los resultados encontrados en el presente trabajo de investigación indican una seroprevalencia positiva de 95%; siendo 38 los perros que resultaron positivos de una muestra total de 40 canes. Mientras que 2 perros resultaron negativos, lo que corresponde a una seroprevalencia negativa del 5%. Se acepta la hipótesis planteada, puesto que el ensayo inmunocromatográfico determinó que los caninos con seroprevalencia positiva de anticuerpos de Ehrlichia canis es mayor al 90%.

Esta alta seroprevalencia se debe a la presencia permanente de la garrapata en el lugar de estudio, lo que hace que la presentación de la enfermedad sea alta. La población canina en el área de Chilibre presenta una serie de problemas sanitarios, no hay un control adecuado de los parásitos, tanto externos como internos, que son los causantes de diferentes enfermedades mortales para los caninos; así mismo, podemos decir que la mayoría de los dueños desconocen la enfermedad llamada Ehrlichiosis canina, que se presenta de forma subclínica provocando que la identificación de la misma sea complicada y avance de forma silenciosa hasta causar la muerte en los pacientes.

Estos resultados se denominan superiores a los obtenidos en el estudio de investigación de seroprevalencia positiva de anticuerpos de Ehrlichia canis en el Caserío de “Pechical – Tumbes” del año 2018, donde se obtuvo una presencia positiva de 67.3%, en 35 perros y una ausencia del 32.7% en el restante de 17 perros, que sumados conformaban una muestra de 52 canes (Bach. Mvz. Pinedo Flores, R. K. (2018); también nuestros resultados son mayores a los obtenidos en el estudio realizado en Medellín, Colombia, en los años 2012-2014, donde se

consideraron las mismas variables consideradas en nuestro estudio y se obtuvo un porcentaje del 24.8% referente a la prevalencia global de la infección. No obstante, también podemos visualizar una similitud de nuestros resultados con los obtenidos por en Villavicencio-Colombia, en el año 2003, donde por medio de prueba ELISA se obtuvieron resultados de seroprevalencia de un 92.9%, y estas similitudes pueden atribuirse tanto a la falta de aseo en los canes, como a la incorrecta desparasitación. Los resultados obtenidos pueden considerarse también, con los obtenidos en la investigación realizada en el distrito de Castilla – Piura, en Cesamica, (Zapata, I. 2014), donde se estudió a 81 canes procedentes de la calle, por medio de la prueba ELISA indirecta y se obtuvo un porcentaje del 40.74%; en Chimbote 2014, se consideraron para estudio a caninos domésticos por medio de la prueba inmunocromatográfica comercial E. Canis Ab resultando como porcentaje de seroprevalencia un 23,3% (Jara, M. 2014); Otro estudio de comparación puede mencionarse el realizado en Lima, considerando perros domésticos y utilizando el kit comercial de ELISA “IDEXX” Snap Combo Canino, donde se pudo obtener un porcentaje de seroprevalencia de 16,5% (Valarezo, O. 2013).

Como parte de las medidas a tomar en cuenta para mejorar la calidad de vida de la población canina del área de Chilibre, es crear conciencia en los tutores de realizar pruebas básicas de rutina como un examen de sangre para tener un perfil del estado general del paciente debido a que la enfermedad tiene como predilección disminuir las plaquetas antes de causar signos visibles, sumado a esto disminuir factores de riesgo asociados a la infección como realizar desparasitaciones internas y externas con productos comerciales cada cierto tiempo según indique el inserto de los mismos.

Otra opción importante para evitar la morbilidad es la fumigación del ambiente donde viven los perros eliminando larvas y huevos que más adelante pueden presentar un peligro para la proliferación de enfermedades.

Con respecto al sexo de los animales muestreados, la seroprevalencia es mayor en las hembras donde se obtuvo un 62.5% y en machos un 37.5%; en este caso no existe diferencia significativa. El sexo no es un factor de riesgo para la infección, sin embargo, el hecho de que se presente más en hembras que en machos puede deberse a la susceptibilidad a la disminución de la inmunidad durante el periodo de celo o cuadros de stress haciendo que la enfermedad se presente de forma clínica.

Como podemos observar, según la edad de los animales, los resultados en nuestra investigación presentan una seroprevalencia alta en animales de 1 a 3 años con una tasa de 45%, seguidamente de animales de 4 a 8 años con un 17.5%, animales entre 3-5 meses con un 15%, animales de 6 a 9 meses con un 15% y finalmente animales de 10 a 13 años con un 7.5%.

En cuanto a la presencia de garrapatas se tiene una seroprevalencia positiva de 47.5% y una negativa de 52.5% lo que indica que el hecho de no tener garrapatas visibles al momento de la consulta no descarta la posibilidad de padecer la enfermedad ya que como se describió anteriormente, el paciente puede ser un portador asintomático.

Por otro lado, hablando de la variable raza/ mestizo se obtuvo un 47.5% perteneciente a perros de raza y un 52.5% correspondiente a mestizos, lo que quiere decir que puede afectar tanto a perros de raza como mestizos, sin embargo, los perros mestizos son más susceptibles en esta área a sufrir de la enfermedad debido a la baja vigilancia por parte de los dueños con respecto al estado de salud de la mascota.

Por último, evaluando las variaciones en el hemoleucograma se obtuvo que el 90% de los pacientes presentaban hemoglobina disminuida, el 77.5% presentaban hematocrito disminuido y

el 92.5% presentaban plaquetas por debajo de rango. Por el contrario, el 1.6% presentaban la hemoglobina dentro del rango normal, el 3.6% tenían el hematocrito dentro del rango normal y solo el 1.2% presentaban las plaquetas cerca del límite. Esto indica que todos presentaban trombocitopenia o estaban cerca de empezar a padecerla, parámetro que ha sido descrito anteriormente como alteración hematológica característica de la patología. Acompañada de este parámetro, es posible disminuir al mismo tiempo la hemoglobina y el hematocrito debido a la fisiopatología de la enfermedad propiamente dicha.

6. Conclusiones

Se estableció que si existe presencia de anticuerpos de Ehrlichia canis a través del análisis de ensayo inmunocromatográfico en los caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Chilibre.

Se determinó una seroprevalencia de 95% de positividad en perros sospechosos, esto indica que existe un alto porcentaje de anticuerpos de Ehrlichia canis en los caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Chilibre. De esta manera se cumple con el objetivo del trabajo y superándose al mismo tiempo con más del 80% de los resultados esperados.

Por último, se demostró que durante el periodo de investigación los perros con resultados positivos pertenecían al grupo etario de entre 1 a 3 años, que afectó más a hembras que a machos, se presentó más en perros mestizos que de raza y que todos arrojaron resultados alterados al realizarle hemoleucograma.

7. Recomendaciones

- Organizar ferias de desparasitaciones externas e internas con el fin de disminuir las infestaciones de garrapatas en los canes del área de Chilibre.
- Evitar el contacto de perros sanos con perros que tengan garrapatas ya que pueden padecer de enfermedades infectocontagiosas y promover la presentación de la enfermedad
- Realizar campañas de concientización a los tutores de llevar a sus mascotas a control médico por lo menos cada 6 meses para saber sobre su estado de salud general, además de transmitirles el conocimiento sobre la ehrlichiosis canina, enfermedad que supone un riesgo para la integridad de las mascotas al provocar la muerte si no se toman las medidas necesarias para evitar la misma.
- Hacer fumigaciones del ambiente donde conviven los perros, con el fin de eliminar huevos y larvas de las garrapatas, de esta forma reduciremos los medios de contagio de Ehrlichia canis.

8. Bibliografía de consulta

- Álvarez, R. (2017, Abril 4). REVISIÓN SOBRE LA BIOLOGÍA DE *Rhipicephalus sanguineus* (ARTHROPODA, CHELICERATA)(LATREILLE, 1806). *Sustainability, Agri, Food and Environmental Research*, 5(1), 11-16. <https://safer.uct.cl/index.php/SAFER/article/view/123>
- Bermúdez, S. (2019, March 17). *Caracterización del primer caso de infección humana por Ehrlichia canis en Panamá*. ResearchGate. Retrieved May 27, 2023, from https://www.researchgate.net/publication/331824674_Caracterizacion_del_primer_caso_de_infeccion_humana_por_Ehrlichia_canis_en_Panama
- Bermúdez, S., & Miranda, R. (2011, Enero). Distribución de ectoparásitos de *Canis lupus familiaris* L. (Carnivora: Canidae) de Panamá. *Revista MVZ Córdoba*, 16(1), 2274-2282. <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v16n1/v16n1a02.pdf>
- Bermúdez, S. E., Morales, J., Córdoba, A., & Daza, C. (2023, Enero 06). *View of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Ixodida: Ixodidae) attached to the ear canal and tympanic membrane of two children from Panama*. Unheval. Retrieved May 27, 2023, from <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/mic/article/view/1568/1528>
- Biblioteca Nacional de Panamá. (2019). *Panamá y sus Contrastes Naturales*. BINAL. Retrieved May 27, 2023, from <https://www.binal.ac.pa/binal/nosotros/82-ofrecemos/94-panama-y-sus-contrastes-naturales.html>
- Ferrell, M. (2014, October 15). *Distribution of Ticks (Ixodida) of Canis lupus familiaris L. (Carnivora: Canidae) from Seven Towns in Chiriquí Province, Pana*. SIT Digital Collections. Retrieved May 29, 2023, from https://digitalcollections.sit.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2887&context=isp_collection

Fundación Charles Darwin. (2023). *Canis lupus familiaris Linnaeus, 1758*. Charles Darwin Foundation. Retrieved May 29, 2023, from <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=5205>

Leiva, M. (2006, Julio). *Más datos para diagnosticar la Ehrlichiosis Monocítica Canina*. UAB. Retrieved May 29, 2023, from <https://www.uab.cat/web/detalle-noticia/mas-datos-para-diagnosticar-la-ehrlichiosis-monocitica-canina-1345680342040.html?articleId=1096481463905>

Mendes, T. d. M., Ferreira Balbino, J. N., Torres, N. C., & de Farias, L. A. (2019, Junio 29). Rhipicephalus (Boophilus) microplus e Rhipicephalus sanguíneus: uma revisão sobre as perspectivas, distribuição e resistência. *PUBVET*, 13(6), 1-9. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n6a347.1-9>

Navarrete, M. G. (2018). *Ehrlichia canis en perros domiciliados aparentemente sanos y en garrapatas de cuatro municipios del occidente de Cuba*. Universidad Agraria de la Habana. Retrieved May 29, 2023, from <http://r1.ufrrj.br/adivaldofonseca/wp-content/uploads/2019/05/Navarrete-MG-2018-Erlichia-canis-in-perros-Cuba-UNAH.pdf>

Obaldía, N. (1992). Historia de las Enfermedades Animales Transmitidas por Garrapatas en Panamá. *Notas Veterinarias*, 2(1), 15-17. https://www.researchgate.net/profile/Nicanor-Obaldia-liv/publication/261722966_History_of_tickborne_diseases_of_animals_in_Panama_Historia_de_las_enfermedades_animales_transmitidas_por_garrapatas_en_Panama/links/55b9410608ae092e965b30bb/History-of-tickborn

Shiroma, P., & Becerra, D. (2019, Junio 5). HALLAZGOS CLÍNICOS EN PERROS (CANIS FAMILIARIS) INFECTADOS CON EHRLICHIA CANIS. *Ciencia y Desarrollo. Universidad Alas Peruanas*, 22(3), 23-27. <http://dx.doi.org/10.21503/cyd.v22i3.1789>

Zubeldia, B. M., Marotto, S., Martínez, S., & Gutierréz, V. M. (2018, Julio). “*Erlchiosis Monocítica Canina, ¿Es una enfermedad subdiagnosticada?*” RIDAA. Retrieved Mayo 29, 2023, from <https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/ab017461-d302-4de7-ad90-13fbb8142cce/content>

Paz MA, Gaitán FI. Manual de procedimientos de laboratorio inmunología. Universidad Mariano Galvez 2011. Disponible en: <https://microinmuno.files.wordpress.com/2012/07/manual-de-inmunologia.pdf>

Cabrera GD, Flores AL, Vargas VA. Utilidad de la prueba rápida de influenza durante la epidemia de influenza A (H1N1) en una unidad de medicina familiar. México, 2009. *Rev. de Enf. Inf. en Pediat.* 2013; 26 (103): 249-255.

Sakurai A, Takayama K, Nomura N, Yamamoto N, Sakoda Y, Kobayashi Y, Kida H, Shibasaki F. Multi-colored immunochromatography using nanobeads for rapid and sensitive typing of seasonal influenza viruses. *Journal of Virological Methods.* 2014; 209: 62-68.

Hernández, G. (2015, 2 febrero). Incidencia y prevalencia. Slideshare.net. Recuperado 10 de junio de 2023, de <https://es.slideshare.net/gloriahg02/incidencia-y-prevalencia>

9. Anexos

Imágenes Referenciales



Ilustración 1: Resultado Negativo al Test

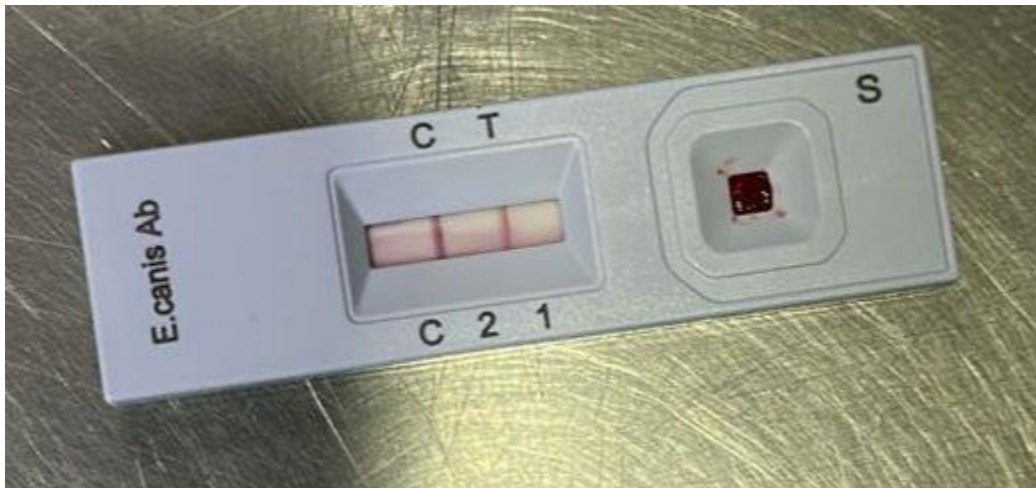


Ilustración 2: Resultado Positivo al Test



Ilustración 3: Preparación de la muestra con todos los materiales



Ilustración 4: Extracción de sangre del tubo de EDT con el gotero



Ilustración 5: Colocación de gotas en la ventana



Ilustración 6: Se agrega el diluyente en la ventana



Ilustración 7: Ubicación de la Clínica