

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Evaluación Hematológica de perros
diagnosticados a *Ehrlichosis canina* en la
ciudad de Jaén - Perú**

T E S I S

Para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por la Bachiller

RAQUEL ALBERCA PÉREZ

Asesor:

Mg. M.V. Marcelino Adolfo Irazábal Lector

CAJAMARCA – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Evaluación Hematológica de perros
diagnosticados a *Ehrlichosis canina* en la
ciudad de Jaén- Perú**

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por la Bachiller
RAQUEL ALBERCA PÉREZ

Asesor
Mg. M.V. Marcelino Adolfo Irazábal Léctor

Cajamarca – Perú
2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO



Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las **diez de la mañana del cuatro de diciembre del dos mil catorce**, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “**César Bazán Vásquez**” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada “**EVALUACIÓN HEMATOLÓGICA DE PERROS DIAGNOSTICADOS A Ehrlichiosis canina EN LA CIUDAD DE JAÉN-PERÚ**”, presentada por la Bachiller en Medicina Veterinaria: **Raquel Alberca Pérez**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó a la sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **QUINCE (15)**.

Siendo las **once horas con cinco minutos de la mañana** del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. TEÓFILO SEVERINO TORREL PAJARES
PRESIDENTE


M. Sc. M.V. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN
SECRETARIO


M. Cs. M.V. JORGE LUIS PORTAL TORRES
VOCAL

DEDICATORIA

A Dios; por iluminarme todos los días de mi vida y por darme la fortaleza, para enfrentar obstáculos y hacer realidad mis metas trazadas.

A mis padres: Felipe y María Armandina, quienes nunca dejaron de creer en mí, brindándome su ayuda incondicional e incentivándome para seguir adelante en mi camino.

A mis hermanos: Lenin, Liset y Felipe, por su comprensión y apoyo.

RAQUEL

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias Veterinarias, Alma Máter, que me dio la oportunidad de formarme en lo personal y profesional.

Al Mg. M.V. Marcelino Adolfo Irazábal Léctor, por su orientación tan valiosa como asesor y amigo, que permitió lograr alcanzar las metas trazadas en este proyecto.

Al M.V. Edwin Enrique Campos Castillo, por su apoyo, orientación y paciencia que me brido en el desarrollo de mi tesis y por creer en mi como profesional.

A todos mis profesores, amigos que me brindaron su apoyo y ánimo para seguir adelante y realizarme como profesional.

RAQUEL

RESUMEN

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad causada por diversos microorganismos rickettsiales, principalmente *Ehrlichia canis*. Está reportada alrededor del mundo como una enfermedad zoonótica y en el Perú, fue detectada en 1982. El presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Jaén y tuvo por finalidad determinar la relación existente entre el diagnóstico clínico y el de una prueba inmunocromatográfica; y encontrar las alteraciones que se presenten en el hemograma de caninos con Ehrlichiosis comprobada, para lo cual fueron sometidos al test E. canis Ab Test Kit BIONOTE Inc; 30 caninos con diagnóstico clínico a Ehrlichiosis fueron sometidos al test, encontrándose un 33.3% de error cuando el diagnóstico se efectúa solo mediante el examen clínico. Asimismo, de los 20 caninos positivos, 09 se encontraron en fase aguda y 11 en fase crónica, en los caninos en fase aguda se determinó la presentación de anemia macrocítica normocrómica, disminución de la hemoglobina y el hematocrito, acompañado de un leve aumento de los trombocitos, en los caninos pertenecientes al grupo en fase crónica se halló anemia macrocítica hipocrómica, trombocitopenia y leucopenia con disminución de los neutrófilos segmentados. Se compararon estadísticamente, mediante la prueba de T no apareada los valores hematológicos promedios y la fórmula diferencial promedio correspondiente a ambos grupos, encontrándose diferencia solo en lo relacionado a trombocitos, siendo el recuento mayor en la fase aguda con una probabilidad de $p < 0.01$.

Palabras clave: *Ehrlichia canis*, hematología y test inmunocromatográfico.

ABSTRACT

Canine Ehrlichiosis is a rickettsial disease caused by various microorganisms, mainly *Ehrlichia canis*. It is reported around the world as a zoonotic disease and Peru was detected in 1982. The present study was conducted in the city of Jaén and was aimed to determine the relationship between clinical diagnosis and an immunoassay; and find the alterations that occur in canine blood count with Ehrlichiosis proven, for which underwent the test E. canis Ab Test Kit bionote Inc; 30 dogs with clinical diagnosis Ehrlichiosis were subjected to the test, being 33.3% error when the diagnosis is made by clinical examination alone. Similarly, of the 20 positive dogs 09 were found in acute and 11 phase chronic phase in canine acute phase presenting macrocytic normochromic anemia, decreased hemoglobin and hematocrit was determined, accompanied by a slight increase thrombocytes in canines belonging to the group in chronic phase macrocytic hypochromic anemia, thrombocytopenia and leucopenia was found to decrease segmented neutrophils. They were compared statistically by unpaired t test haematological values averages and average differential formula for both groups difference was found only in relation to thrombocytes, the highest count in the acute phase with a probability of $p < 0.01$.

Keywords: *Ehrlichia canis*, hematology and immunochromatographic test.

ÍNDICE

Pág.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO

INTRODUCCIÓN..... 1

1.1 Objetivos..... 3

2.1 Hipótesis..... 4

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO..... 5

2.1 Etiología..... 5

2.2 Patogénesis..... 6

2.3 Cuadro clínico..... 10

2.4 Diagnóstico..... 12

2.5 Alteraciones hematológicas..... 16

2.6 Valores Hematológicos Referenciales..... 20

2.7 Diagnóstico diferencial..... 21

2.8 Tratamiento..... 22

CAPÍTULO III.....

MATERIALES Y MÉTODOS..... 25

3.1 Ubicación..... 25

3.2	Materiales.....	26
	3.2.1 Material biológico.....	26
	3.2.2 Material de consultorio.....	26
3.3	Metodología.....	27
	3.3.1 Selección de caninos.....	27
	3.3.2 Toma de muestra de sangre.....	27
	3.3.3 Determinación de los positivos a ehrlichosis según fase de la enfermedad.....	27
3.4	Estadística.....	29
 CAPÍTULO IV		
	RESULTADOS.....	30
 CAPÍTULO V		
	DISCUSIÓN.....	36
 CAPÍTULO VI		
	CONCLUSIONES.....	39
 CAPÍTULO VII		
	REFERENCIAS.....	40
	ANEXO.....	57
	Anexo 01. De la prueba.....	57
	Anexo 02. Desarrollo de la técnica del hemograma.....	60
	Anexo 03. Valores hematológicos promedios encontrados en 20 caninos positivos a Ehrlichosis, en fase aguda y crónica, con la prueba de T no apareada.....	68
	Anexo 04. Hemograma De Los Caninos Que Participaron En El Trabajo.....	75
	Anexo 05. Figuras que registran el proceso de la prueba E. canis Ab Test Kit.....	85

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad inmuno depresiva de los caninos domésticos y silvestres, tiene una distribución mundial. Es también llamada "enfermedad del perro rastreador", "pancitopenia canina tropical", "fiebre canina hemorrágica", y "tifus canina" (Frisby, 1997).

Esta enfermedad es producida por una rickettsia, la *Ehrlichia canis*, microorganismo gram negativo, pleomórfico, que infecta a los monocitos circulantes dentro de su citoplasma en agregados denominados 'mórulas'. *E. canis* es transmitida por la garrapata marrón del perro, el *Rhipicephalus sanguineus*, la cual ocurre en forma transestadial, pero no transovárica (Waner y Harrus, 2000).

La infección dentro del animal se disemina vía sanguínea o linfática dentro de las células mononucleares infectadas, llegando a otros sistemas orgánicos (Tesouro y Sainz, 1993).

La mayoría de casos se presenta en áreas endémicas durante los meses de primavera y verano, cuando la población de garrapatas es más activa. Como la transmisión de la ehrlichiosis es mecánica y no biológica, las transfusiones de sangre infectada pueden ocasionar altas tasas de infección (Waner y Harrus, 2000).

La garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, tiene una alta prevalencia en el Perú (Liberato, 1998); sin embargo, no existen reportes sobre la presencia de la *E. canis* en la ciudad de Jaén diagnosticados por inmunocromatografía, lo que motiva el presente trabajo de investigación, a fin de determinar su correlación con el diagnóstico clínico y con su comportamiento en el hemograma para los casos positivos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación existente entre el diagnóstico clínico y el de una prueba inmunocromatográfica y las alteraciones que se presenten en el hemograma, en caninos con Ehrlichiosis comprobada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Confirmar mediante prueba inmunocromatográfica, la sensibilidad del diagnóstico clínico a Ehrlichiosis canina.
2. Determinar al hemograma las alteraciones que se presenten en caninos positivos a Ehrlichiosis tanto en fase aguda como en crónica.

HIPÓTESIS

Los caninos con diagnóstico confirmado de Ehrlichiosis presentan alteraciones en la serie roja, blanca y plaquetas reportadas en un hemograma completo.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ETIOLOGÍA

Los microorganismos del género *Ehrlichia* son considerados como parásitos intracelulares obligados los cuales producen ehrlichiosis monocítica canina. Esta pequeña bacteria gram negativa cocoide pleomórfica se presenta en forma intracitoplásmica en grupos de organismos llamados mórulas (Dumler *et al.*, 2001). Se han identificado tres miembros del grupo; *E. canis*, *E. chaffensis* y *E. ruminantium* las cuales infectan a los monocitos de los perros.

E. canis

E. canis fue identificado por primera vez en 1935 (Donatein y Lestoquard, 1937).

En 1991, se descubrió una nueva especie del género *Ehrlichia*, *E. chaffensis*, la cual ocasiona la ehrlichiosis monocito trópica humana. *E. canis* tiene una distribución mundial; así, puede ser encontrada en Asia, África, Europa y América. El reino unido y Oceanía parecen no presentar la infección por *E. canis* (Jittapalapong y Jansawan, 1993; Martin *et al.*, 2000).

Se considera que el zorro, el perro y el chacal, además del perro doméstico, son huéspedes reservorio. El vector artrópodo de *E. canis* es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Esta garrapata de un

huésped prefiere alimentarse de perros en las tres etapas del ciclo vital, se tiene también evidencia también de transmisión de la infección por *Dermacentor variabilis*, la garrapata americana del perro (Jonson *et al.*, 1998).

La transmisión es transestadial, como no ocurre propagación transovárica, el vector garrapata, no puede ser reservorio verdadero. Las garrapatas adquieren *E. canis* bajo la forma de larvas o ninfas al alimentarse de perros infectados con rickettsias. Las garrapatas transmiten la infección a caninos susceptibles durante por lo menos 155 días después de la infección (Groves *et al.*, 1975).

2.2. PATOGÉNESIS

Como en otras infecciones una variedad de factores, incluido el tamaño del inóculo de *E. canis*, pueden influir en el curso y el resultado de la infección. La gravedad de la enfermedad es mayor con ciertas cepas del organismo. Un análisis de inmuno transferencia de respuesta de Ig G a *E. canis* ha mostrado que puede existir diversidad antigénica entre organismos de *E. canis* de distintas partes del mundo y ha sugerido que este hecho puede afectar la gravedad de la enfermedad (Neer, 1995).

La enfermedad concomitante con otros parásitos transmitidos por garrapatas u otros patógenos puede afectar también la gravedad y las manifestaciones de la enfermedad. Es posible que los animales inmuno deficientes desarrollen manifestaciones más graves y es más probable que muestren gran cantidad de mórulas circulantes. No existe predilección de edad ni sexo en la ehrlichosis canina, sin embargo, parece que los Pastores alemanes son más susceptibles que otras razas. La enfermedad en esta raza es más grave y presenta un pronóstico menos favorable que en otras (Nyindo *et al.*, 1991).

Puede haber propagación iatrogénica con transfusiones de sangre de donantes infectados.

Durante el periodo de incubación, el cual es de 8 a 20 días, los organismos se multiplican en los macrófagos y el sistema fagocítico mononuclear, mediante fisión binaria y se propagan por todo el organismo. El curso de la ehrlichiosis se ha dividido en tres fases, aguda, subclínica y crónica sobre la base de los signos clínicos y anomalías clinicopatológicas después de la inoculación experimental.

- **Fase Aguda**

Dura entre 2 a 4 semanas, durante la cual se puede observar signos como fiebre, descarga oculonasal, anorexia y depresión; petequias, equimosis, linfadenomegalia y esplenomegalia (Frisby, 1997).

Las anomalías típicas de laboratorio en esta fase incluyen trombocitopenia, leucopenia y anemias leves. En esta fase se multiplican los microorganismos en células mononucleares (macrófagos y linfocitos) por fisión binaria y se diseminan a la totalidad del cuerpo (Neer, 2000; Ettinger, 1992).

La replicación inicialmente se da en leucocitos mononucleares circulantes, los que luego, colonizan los órganos conformados por células de tipo mononuclear, tales como el bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos donde provocan una hiperplasia con infiltración de células plasmáticas (Neer, 2000).

Se ha demostrado la presencia de Anticuerpos Antiplaquetarios (AAP) en el suero de los animales infectados con *Ehrlichia canis*, apoyando la idea de la destrucción plaquetaria por parte del sistema inmune en esta fase (Harrus *et al.*, 1996; Waner *et al.*, 1995).

La inducción para la producción de los AAP es ejercida por los antígenos Ehrlichiales, que parecen ser antigénicamente similares a las moléculas plaquetarias, esto explica porque el sistema inmune está involucrado en la destrucción celular. En esta etapa aún no se desarrolla daño medular, por el contrario ante el volumen plaquetario disminuido se presenta una trombopoyesis activa (Waner *et al.*, 1995).

La función de las plaquetas (medida mediante respuestas de agregación) se observa disminuida y, aunada a la cifra baja, contribuye a la hemorragia (Neer, 2000).

La mayoría de los caninos se recupera de la enfermedad aguda con tratamiento adecuado. Es posible que los caninos no tratados o mal tratados, ingresen a la fase subclínica.

La trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común y consistente en la EMC aguda. Un aumento concurrente y significativo del volumen medio de plaquetas es también usualmente visto, reflejando una trombopoyesis activa. En la fase aguda de la enfermedad es común la leucopenia y la anemia moderada (usualmente normocítica, normocrómica, no regenerativa) (Waner y Harrus, 2000).

- **Fase subclínica**

Durante esta fase, el canino se normaliza y la pirexia se resuelve. Desde el punto de vista clínico, los animales se ven saludables; sin embargo es posible que los recuentos de plaquetas permanezcan en niveles inferiores a los rangos de referencia (Waner *et al.*, 1996).

La persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema inmune. Los títulos de anticuerpos se elevan grandemente en esta fase y los animales inmunocompetentes por lo

general eliminan al microorganismo en esta etapa. Los signos clínicos están ausentes pero persisten los cambios hematológicos, principalmente la trombocitopenia (Ettinger, 1992; Sainz *et al.*, 2000).

Esto indica que los cambios patológicos continúan, solo que no son observados clínicamente (Harrus *et al.*, 1998).

Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmune humoral importante que a menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno (Sainz *et al.*, 2000).

Los perros que se encuentren dentro de la fase subclínica pueden ser portadores persistentes (Harrus *et al.*, 1998).

Infecciones experimentales indican que es probable que el bazo aloje organismos de *E. canis* durante la fase subclínica de la enfermedad. Caninos a los que se les realizó esplenectomía y fueron infectados de forma experimental con *E. canis* mostraron enfermedad clínica leve en comparación con los no esplenectomizados (Harrus *et al.*, 1998).

- **Fase crónica**

En su forma grave, se desarrolla de 1– 4 meses luego de la mordida de la garrapata y puede ser, ya sea leve o severa (Frisby, 1997).

Los signos clínicos más comunes en la enfermedad crónica son debilidad, depresión, anorexia, pérdida crónica de peso, palidez de mucosas, fiebre y edema periférico especialmente en miembros posteriores y escroto (Waner y Harrus, 2000).

De todos los signos hemorrágicos observados en la fase crónica (petequias, equimosis, hematuria, melena, hemorragias oculares) la epistaxis es el más frecuente (Sainz *et al.*, 2000).

También puede haber infecciones secundarias, neumonías intersticial, falla renal, artritis y signos neurológicos (Waner y Harrus, 2000).

Esta fase se caracteriza por reducción en la producción de elementos sanguíneos por parte de la médula ósea, ocasionando pancitopenia. La hipoplasia medular conlleva al estado pancitopénico que se presenta en las etapas crónicas graves. Por lo tanto, existe una tendencia hemorrágica marcada en esta fase debido principalmente a la trombocitopenia persistente y trombocitólisis marcada (Ettinger, 1992).

Cada vez mayor cantidad de evidencia confirma la suposición de que los mecanismos hiperinmunes están involucrados en la patogénesis de la ehrlichiosis. Estos incluyen infiltración generalizada de células plasmáticas de la médula ósea y el parénquima de los órganos, aparición de hipergammaglobulinemia policlonal que no se correlaciona con títulos específicos de anticuerpos a *E. canis* (Grindem *et al.*, 1999; Harrus *et al.*, 2001).

Ocurre trombocitopenia, la anormalidad hematológica más común de perros infectados por *E. canis*; en todas las fases de la enfermedad (Gaunt *et al.*, 1996; Harrus *et al.*, 1999).

La disminución de la producción de plaquetas, ocurre como resultado de una médula ósea hipoplásica este hecho contribuye a las hemorragias que se observan (Harrus *et al.*, 1999).

2.3. CUADRO CLÍNICO

La ehrlichiosis canina es un trastorno multisistémico; en la actualidad, se sabe que lo provoca una variedad de especies de ehrlichia.

- **Signos multisistémicos**

Comúnmente se observa depresión, letargia, leve pérdida de peso y anorexia, con o sin tendencias hemorrágicas. Si se presenta hemorragia, ésta ocurre por petequias dérmicas o equimosis, o ambas. Es frecuente la epistaxis, al examen clínico se puede encontrar linfadenomegalia y esplenomegalia en un 20 y 25 % de los paciente, respectivamente (Woody y Hoskins, 1991).

- **Signos Oculares**

Es posible que los caninos muestren cambios en el color o la apariencia de los ojos o desarrollen ceguera. Los hallazgos más comunes son uveítis anterior y enfermedad retinal, como corioretinitis, papiledema, hemorragia retinal, infiltrados perivasculares retinales y desprendimiento de retina bulloso, y pueden dar como resultado ceguera aguda (Gould *et al.*, 2000).

- **Signos neuromusculares**

Los signos neurológicos pueden ocurrir tanto en la enfermedad aguda como crónica. Estos incluyen signos meningoencefalitis, como por ejemplo: lomo arqueado, dolor severo de cuello y lomo paraparesia o tetraparesia, ataxia, déficit en la función de los nervios craneales, y convulsiones. Los signos neurológicos pueden ser debido a hemorragias, infiltración celular extensa y compresión perivascular de las meninges (Waner y Harrus, 2000).

Se han observado convulsiones, estupor, ataxia con disfunción vestibular periférica o central aguda, temblores e hiperestesia generalizada o localizada. Se han encontrado mórulas en células de líquido cefalorraquídeo (LCR) en algunos casos (Maretzki *et al.*, 1994).

- **Poliartritis**

Es posible que los perros con ehrlichiosis desarrollen cojera con andar endurecido en forma secundaria a poliartropatía. Puede producirse enfermedad de las articulaciones por hemartrosis o deposición de complejo inmune con artritis como resultado y efusión neutrofílica en la articulación. Se ha asociado la mayoría de los casos de poliartrosis con infección por cepas granulocitotrópicas (Cowell *et al.*, 1988; Stockham *et al.*, 1992).

2.4. DIAGNÓSTICO

En general, el diagnóstico de la ehrlichiosis se basa en una combinación de signos clínicos, anomalías hematológicas, trombocitopenias y hallazgos serológicos. En la actualidad, se utilizan en mayor medida las técnicas de PCR e inmunotransferencia.

- **Hallazgos de laboratorio clínico**

Los cambios hematológicos están mejor documentados en infecciones por *E. canis* e incluyen trombocitopenia (82%), anemia (82%), la que, en general, es no regenerativa, y leucopenia (32% de la cual el 20% presentaba neutropenia) (Troy *et al.*, 1990; von Stedingk *et al.*, 1997).

En general, la pancitopenia es el resultado de la hipoplasia de las células precursoras de la médula ósea, ocurre en la fase crónica grave (18% de los casos) y, con mayor frecuencia, en los perros Pastores alemanes (Woody y Hoskins, 1991).

Se ha informado trombocitopenia en forma consistente en todas las etapas de la infección por *E. canis*; como muchas veces es una prueba de chequeo de ehrlichiosis, es posible que esta proporción sea exagerada (Bulla *et al.*, 2004).

Dentro de la serie blanca pueden encontrarse diferentes alteraciones, como neutropenia, linfocitosis o linfopenia y monocitosis, aunque estos hallazgos pueden ser muy variables (Mylonakis *et al.*, 2004).

Las anomalías químicas de suero más frecuentes han incluido hiperproteinemia (33%), hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%), y actividades elevadas de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (43 y 31 % respectivamente) (Neer, 1995).

La hiperproteinemia es el resultado de niveles elevados de globulina, pero no existe ninguna correlación directa entre los niveles de globulinas séricas y anticuerpos séricos a *E. canis*.

- **Citología**

Puede realizarse un diagnóstico definitivo de enfermedad por ehrlichia mediante una demostración de presencia de mórulas en los leucocitos en frotis de sangre o aspirados de tejidos como el bazo, el pulmón o el ganglio linfático. Resulta difícil y lleva tiempo encontrar mórulas, pero esto puede optimizarse mediante la realización de frotis de la capa leucocítica o examen de frotis delgados de sangre realizados a partir del lecho capilar periférico del margen de la oreja. Pueden visualizarse mórulas dentro de los monocitos presentes en frotis de sangre periférica o líquido sinovial (o ambos) o, en pocas ocasiones, en LCR. Los estudios citológicos de sangre periférica, capa leucocítica, aspirados de ganglio linfático, aspirados de médula ósea y cultivo a corto plazo de especímenes de sangre mostraron mayor sensibilidad en la detección de organismos en capa leucocítica y aspirados de ganglio linfático (Murphy *et al.*, 1998).

- **Pruebas serológicas**

Un diagnóstico de ehrlichiosis se basa en general en resultados positivos de pruebas indirectas. Esta prueba detecta anticuerpos

séricos incluso 7 días después de la infección inicial, a pesar de que es posible que algunos de los perros se tornen seropositivos hasta 28 días después de que comienza la infección. Por lo tanto, es posible que un perro esté infectado en forma aguda y no presente título demostrable de anticuerpos séricos. Cuando los resultados de título de anticuerpo a *E. canis* son negativos, se recomienda un examen de seguimiento de 2 a 3 semanas o pruebas séricas en busca de otros agentes. Los niveles de anticuerpos séricos en perros no tratados llegan a su punto máximo a los 80 días posteriores a la infección. Durante los primeros 7 días después de la infección, el título está formado por IgA e IgM y para los 20 días, la mayor parte es IgG. La mayoría de los laboratorios miden este anticuerpo. La metodología y los informes difieren entre los laboratorios; por lo tanto, no se llegó a un consenso sobre el nivel absoluto de reactividad. En general, se considera que un título de IgG de 1:80 o mayor es evidencia de infección o exposición o ambos, aunque es posible que este hallazgo varíe según los métodos de cada laboratorio (Hoskins *et al.*, 1988).

Después del tratamiento en la mayoría de los perros, el título declina de manera progresiva y se torna negativo en general de 6 a 9 meses. Es posible que algunos se tornen asintomáticos luego del tratamiento, pero siguen reteniendo títulos muy altos a *E. canis* durante años (Bartsch *et al.*, 1996; Perez *et al.*, 1996).

En teoría el tratamiento indiscriminado de todos los animales seropositivos puede conducir a resistencia futura de estos organismos a las tetraciclinas; sin embargo, hasta el momento no se ha informado de este tipo de resistencia (Greene, 2008).

- **Detección del ácido nucléico**

Se ha demostrado que la PCR es un método sensible para detectar infección aguda experimental por *E. canis* en caninos. Con frecuencia

dentro de los 4 a 10 días pos inoculación y antes de que ocurra seroconversión. No resulta clara la sensibilidad de la PCR de sangre en el canino infectado en forma natural. Las dificultades en la extracción del organismo, los problemas inherentes a la técnica y la selección inapropiada de la muestra provocan resultados falsos negativos. La razón principal de que ocurran resultados falsos negativos es la amplificación no específica o la contaminación de las muestras durante su manejo o durante la realización de las pruebas. Las técnicas y los reactivos de laboratorio actuales no están estandarizados (Engvall *et al.*, 1996; Mc Bride *et al.*, 2001).

- **Hallazgos patológicos**

Las hallazgos patológicos de perros infectados por *E. canis* incluyen hemorragias, petequiales y equimóticas en la superficie de las mucosas y serosas de la mayoría de los órganos incluso de la cavidad nasal, el pulmón, el riñón, la vejiga urinaria, el tracto gastrointestinal (GI) y el tejido subcutáneo. Se presenta linfadenomegalia, esplenomegalia y hepatomegalia generalizadas con mayor frecuencia durante la fase aguda (De Castro *et al.*, 2004; Greene *et al.*, 1984).

Es posible que todos los ganglios linfáticos estén agrandados y muestren una decoloración amarronada. Un hallazgo adicional en casos crónicos es emaciación con pérdida de condición corporal general. La médula ósea es hipercelular y muestra un color rojo en la fase aguda, aunque con la enfermedad crónica se torna hipoplásica y muestra un color pálido por decoloración grasa. Uno de los hallazgos histopatológicos más característicos es un infiltrado de célula plasmática perivascular en gran cantidad de órganos incluidos los pulmones, el cerebro, las meninges, los riñones, los ganglios linfáticos, la médula ósea, el bazo ya veces la piel o mucosa. Parece

que el grado de infiltrados de célula plasmática y linfoide aumenta en los caninos afectados de forma crónica (Lockhart *et al.*, 1997).

Resulta difícil detectar de forma histológica los organismos de ehrlichia en tejidos fijados en formalina o solución de Bouin. Con poca frecuencia se observan mórulas en células fagocíticas mononucleares en tejidos coloreados con hematoxilina y eosina (Greene *et al.*, 1984).

Es posible que la dificultad para encontrar organismos en forma histológica explique la razón por la cual no se diagnostica con frecuencia la enfermedad en la necropsia.

En el SNC se observa una meningoencefalitis no supurativa multifocal que involucra el tronco encefálico, el cerebro medio y la corteza cerebral. La mayoría de las lesiones se ubican en dirección ventral en el tronco encefálico y alrededor de la materia blanca y gris periventricular (Trapp *et al.*, 2002).

En la necropsia se presentan lesiones meníngeas microscópicas en casi todos los perros aunque algunos muestran signos clínicos de meningitis.

Se ha informado que los signos clínicos involucran casi toda la estructura del ojo, estos incluyen conjuntivitis, petequias o equimosis en la conjuntiva o iris, edema corneal, uveítis e hipema. También es posible que ocurra hemorragia subretinal y desprendimiento retiniano (Pancholi *et al.*, 1995).

2.5. ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS

La trombocitopenia es casi un factor constante en la infección por Ehrlichia, apareciendo a los 15-20 días post-infección y pudiendo

persistir durante todas las fases de la enfermedad (Troy *et al.*, 1980; Greene *et al.*, 1985; Kuehn y Gaunt, 1985; Codner y Farris-Smith, 1986; Breitschwerdt *et al.*, 1987; Davoust *et al.*, 1991; Harrus *et al.*, 1997).

Sin embargo, se han descrito casos de ehrlichiosis sin trombocitopenias (Woody y Hoskins, 1991; Frank y Breitschwerdt, 1999).

La patogenia de la trombocitopenia es compleja y multifactorial, participando mecanismos inmunológicos y no inmunológicos que producen una disminución de la producción y un aumento de la destrucción de plaquetas (Weisiger *et al.*, 1975; Harrus *et al.*, 1996; Grindem *et al.*, 1999).

Durante la fase aguda de Ehrlichiosis canina, los perros suelen presentar trombocitopenia, leucopenia, fiebre, depresión y anorexia (Neer y Harrus, 2006).

La fase crónica de la Ehrlichiosis canina se caracteriza por el deterioro de la producción medular de los elementos sanguíneos generando pancitopenia (Torres y De la Fuente, 2006).

Las alteraciones hematológicas (trombo-citopenia, leucopenia y anemia) son frecuentes en los casos de Ehrlichiosis canina (Ettinger, 1992).

Hematológicamente, en la fase aguda se observa trombocitopenia, anemia y leucopenia en intensidades leves o moderadas (Botelho de Castro *et al.*, 2004), pudiendo encontrarse leucocitosis con monocitosis y/o linfocitosis. En la Ehrlichiosis canina suele encontrarse

leucopenia (32% de los casos) seguido por leucocitosis (Ettinger, 1992), con monocitosis y/o linfocitosis (Parnell, 2004; Greene, 1997).

En la Ehrlichiosis canina, generalmente la anemia es no regenerativa, encontrándose la misma en el 82% de los casos (Neer y Harrus, 2006; Sainz *et al.*, 2000).

Se encuentra neutropenia en casos de enfermedades inflamatorias y enfermedades infecciosas (Couto, 2011).

Se presenta eosinopenia en casos de estrés, intoxicación y administración de corticoides, no siendo muy significativo (Couto, 2011).

El diagnóstico de anemia se establece a través de una interpretación conjunta de historia clínica, del examen físico del paciente y de los hallazgos provenientes del hemograma (McKenzie, 2000).

Con base en el índice eritrocítico citado por Barger (2002), las anemias se clasifican por el Volumen Corpuscular Medio (CMV) en microcíticas, normocíticas y macrocíticas, y por la Concentración Media de Hemoglobina (CMHC) en hipocrómicas, normocrómica e hiperocrómicas. Por su parte, las anemias no regenerativas ocurren por falta de una respuesta eritropoyética eficaz de la médula ósea. (Barger, 2002)

Las alteraciones hematológicas en infecciones por *Ehrlichia canis* incluyen anemias que suelen ser no regenerativas (Matthewman, *et al.*, 1993; Bichard *et al.*, 1998; Goldman *et al.*, 1998).

La anemia normocítica normocrómica es la que con mayor frecuencia puede estar presente en enfermedades rickettsiales, como es el caso

de la ehrlichiosis canina, tal como lo señalan (Goldman 1998, Barger 2002 y Suto *et al.*, 2001).

En la comunidad del Municipio de León – Nicaragua de un total de 27 muestras sanguíneas de caninos positivos a Ehrlichiosis se encontró un 70% de los animales con valores bajos de hematocrito, un 77,7% tenía los niveles de hemoglobina por debajo del parámetro fisiológico y el 85% de los casos presentó un conteo eritrocitario por debajo de lo normal (Rivas *et al.*, 2010).

Se llevó a cabo un estudio en 77 caninos que llegaron a la Clínica de Animales Menores de la UNMSM y se obtuvo que el $90.5 \pm 7.3\%$, el $88.9 \pm 9.2\%$ y el $82.1 \pm 9.2\%$ de los casos con trombocitopenia, leucopenia y anemia, respectivamente, evidenciaron anticuerpos contra *E. canis* determinado por una prueba de ELISA (Hoyos *et al.*, 2007).

Se reporta un estudio de seroprevalencia de ehrlichiosis y variables hematológicas en dos protectoras de Valencia-España, el 69,37% de los perros fueron positivos a *Ehrlichia canis* y como alteraciones hematológicas tan sólo se observó trombocitopenia en un 36% de los casos y presencia de linfocitosis (Lorente, 2006).

2.6. VALORES HEMATOLÓGICOS REFERENCIALES

- **Serie Roja**

Tabla 01. Valores hematológicos de referencia ($X \pm 1,96$ DE) para 120n caninos de la ciudad de Cajamarca – 2012.

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS	UNID	X \pm -DE	VALORES DE REFERENCIA
Eritrocitos	10^6 /ul	6,8 \pm 0.9	5,0 - 8,9
Hematocrito	%	49,1 \pm 4,5	40 - 58
Hemoglobina	g/dl	19 \pm 2,3	14,5 - 23,5
VCM	Fl	72,8 \pm 6,7	59,7 - 85,9
CHCM	g/dl	38,7 \pm 6,7	31,1 - 46,3
HCM	Pg	28,1 \pm 3,4	21,4 - 34,8

Plaquetas

Promedio 165 $X \pm 1,8$ DE

Rango 130.- 200 $X 10^3$ / ul

- **Serie Blanca**

Tabla 02. Valores hematológicos de referencia (X \pm -1,96 DE) para la serie blanca en 120 caninos de la ciudad de Cajamarca-2012.

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS	UNID	X \pm -DE	VALORES DE REFERENCIA
Leucocitos	10 ⁶ /ul	8,8 \pm 1,2	6,4 - 11,2
Neutrófilos	%	66,7 \pm 2,4	62 - 71
Segmentados	10 ⁶ /ul	5,9 \pm 0,8	4,3 - 7,5
Neutrófilos	%	1,7 \pm 1	0 - 4
Abastionados	10 ⁶ /ul	0,1 \pm 0,1	0 - 0,3
Eosinófilos	%	2,7 \pm 1,1	1 - 5
	10 ⁶ /ul	0,2 \pm 0,1	0,0 - 0,4
Monócitos	%	1,4 \pm 0,9	0 - 3
	10 ⁶ /ul	0,1 \pm 0,1	0 - 0,3
Linfocitos	%	27,6 \pm 2,2	23 - 32
	10 ⁶ /ul	2,4 \pm 0,4	1,6 - 3,2
Basófilos	%	0 \pm 0	0 - 0
	10 ⁶ /ul	0 \pm 0	0,00 - 0,00

Sánchez, B., 2012. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Valores Hematológicos de referencia en caninos mestizos (*canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca – 2012.

2.7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

- **ANAPLASMOSIS**

La anaplasmosis se adquiere a través de la mordedura por garrapatas de pequeños mamíferos, también se ha asociado a la extracción manual de garrapatas de caninos. En estos últimos, produce fiebre, mialgias, manifestaciones neurológicas, oculares, edema, hemorragias y signos respiratorios entre otros (Gasser *et al.*, 2001).

Los síntomas pueden ser similares a los de ehrlichosis canina (Greene y Breitschvert, 2000).

- **PIROPLASMOSIS**

La piroplasmosis canina (*Babesia canis*) transcurre con anemia, apatía, letargo, mucosa icterica, fiebre, anorexia, diarrea con sangre, de acuerdo a lo manifestado por Birchard y Sherding (1998), los síntomas que se producen en perros parasitados son la anemia, la apatía, intermitentemente fiebre, pérdida de apetito, sangrado, hemorragia e ictericia, hemólisis aguda, hemoglobinuria, esplenomegalia, linfadenopatía, e intolerancia al ejercicio. Los perros positivos a Ehrlichia canis muestran una anemia aguda. Los signos incluyen pérdida de apetito, depresión, tos, fiebre, vómitos, diarrea, moretones, dificultad para respirar, sangrado, similar a lo encontrado a Piroplasmosis canina (Morais, 2004).

2.8. TRATAMIENTO

- **Farmacoterapia específica**

Los agentes antirickettsias y los cuidados de apoyo forman el tratamiento para la ehrlichiosis canina. Los fármacos eficaces han incluido tetraciclinas, cloranfenicol, diprionato de imidocarb y amicarbalida. En general cuanto antes se comience el tratamiento durante el proceso de enfermedad, más favorable serán el pronóstico y el resultado, porque resulta difícil tratar a los perros en fase crónica grave (Murphy *et al.*, 1998).

Es posible que en estos perros sea difícil resolver los cambios inflamatorios multisistémicos y la mielosupresión. En el pasado se consideraba que los mejores fármacos iniciales eran la tetraciclina y oxitetraciclina, y aun funcionan correctamente, aunque en la actualidad se utilizan con mayor frecuencia la doxiciclina y la

minociclina. Estas últimas son tetraciclinas semisintéticas y solubles en lípidos que se absorben con facilidad para provocar concentraciones altas en sangre, tejido e intracelulares. Como es posible que las ehrlichias persistan en forma intracelular, es importante la penetración del fármaco en la célula para eliminar la infección. Por lo tanto, pueden administrarse tetraciclinas solubles en lípidos por un periodo más corto y a dosis más bajas que las tetraciclinas sin dejar de ser eficaces. El periodo de tratamiento sugerido con doxiciclina es de 7 a 10 días, aunque un estudio encontró que la doxiciclina (10mg/kg por día) durante 7 días no resultó eficaz para eliminar la infección por *E. canis* inducida en forma experimental a partir de 3 a 5 perros (Mc Bride *et al.*, 2001).

La doxiciclina restaura la capacidad fagocítica del huésped; es probable que lo haga mediante la inhibición de la síntesis de una proteína bacteriana que retrasa la fusión (Weiser *et al.*, 1991).

El imidocarb, es un fármaco antiprotozoo, ha resultado exitoso para tratar infecciones resistentes a *E. canis* (Matthewman *et al.*, 1993).

Este fármaco persiste en los tejidos hasta 1 mes inclusive después de una dosis. Cuando se administró imidocarb como inyección IM única, el 83.9% de los perros con ehrlichiosis se recuperó. Además del tratamiento antimicrobiano, quizás se justifique la fluidoterapia de apoyo para la deshidratación o las transfusiones sanguíneas si el perro se encuentra gravemente anémico (Aroch *et al.*, 2001).

El tratamiento a corto plazo (2 a 7 días) con dosis inmunosupresoras de glucocorticoides (2mg/kg de prednisona) puede resultar beneficioso durante la etapa temprana del periodo de tratamiento, cuando se presenta trombocitopenia grave o que constituye un riesgo para la vida. Un mecanismo mediado por respuesta inmune es

responsable, en parte de la trombocitopenia y la disminución de la función plaquetaria. Es posible que los glucocorticoides resulten útiles en el tratamiento de otras condiciones mediadas por respuesta inmune asociadas con ehrlichiosis, como poliartritis, vasculitis y meningitis. En un estudio con meningitis secundaria a ehrlichiosis granulocitotrópica, se necesitaron glucocorticoides además de doxiciclina antes de lograr la resolución clínica de los signos (Greene, 2008).

- **Inmunocromatografía**

La inmunocromatografía 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 a 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 epítomo 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 (muestra positiva). 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, con muestras positivas y negativas retenidos (Lee *et al.*, 2007 y Weitzel *et al.*, 2007).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en la Clínica Veterinaria "La Casa del Veterinario" y en el laboratorio "Diagnostica Lab. E.I.R.L." de la ciudad de Jaén cuyas características geográficas y meteorológicas son:

ALTITUD	: 618 msnm.
LATITUD SUR	: 05° 40' 35.8"
LONGITUD OESTE	: 78° 46' 27.1"
PRECIPITACIÓN PLUVIAL	: 699.56mm (promedio anual)
HUMEDAD RELATIVA	: 83%(promedio anual)
TEMPERATURA	: MAX. 32° C MIN. 14° C

Fuente(*): Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología SENAEMI, Estación Jaén – Gore . 2014.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material biológico

- 30 caninos diagnosticados clínicamente positivos a Ehrlichiosis.
- **Kit de ensayo.**
 1. Dispositivos de diagnóstico, envasados individualmente en bolsas de aluminio : 10 unidades
 2. Gotero con tampón de cromatografía en volumen suficiente para la realización de las pruebas (diluyente) : 2 ml
 3. Pipetas plásticas para dispensar la muestra en el dispositivo: 10 unidades

3.2.2. Material De Consultorio

- Mandil o chaqueta.
- Estetoscopio.
- Guantes quirúrgicos.
- Agujas hipodérmicas.
- Jeringas hipodérmicas.
- Mesa de examen clínico.
- Fichas de datos.
- Algodón.
- Alcohol.
- Tubos con anticoagulante.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Selección de caninos

Se seleccionaron 30 caninos, diagnosticados clínicamente a Ehrlichosis sin considerar sexo, edad ni raza según lo descrito bajo material biológico. Los animales procedieron de la Clínica Veterinaria "La Casa Del Veterinario" y de las demás Clínicas Veterinarias de la ciudad de Jaén.

Los caninos seleccionados fueron sometidos a la prueba comercial **E. canis Ab Test Kit BIONOTE Inc.**, la cual se fundamenta en el principio de la inmunocromatografía. A los caninos que salieron positivos a la prueba mencionada se les realizó un hemograma.

3.3.2. Toma de Muestra de Sangre

Se procedió a tomar aproximadamente 10 cc de sangre de cada canino en experimentación, para lo cual se desinfectó con algodón y alcohol la zona en donde se encuentra la vena cefálica y se procedió a su punción. La sangre fue colectada en tubos de vidrio conteniendo anticoagulante y se llevó al lugar en donde se efectuó la prueba.

3.3.3. Determinación de los positivos a ehrlichosis según fase de la enfermedad

La determinación de la fase en que se encuentren los animales positivos a Ehrlichosis se efectuó según el cuadro clínico que presento:

- **Fase Aguda**

Fiebre, descarga oculonasal, anorexia y depresión; petequias, equimosis, linfadenomegalia y esplenomegalia. (Frisby, 1997).

- **Fase crónica**

Debilidad, depresión, anorexia, pérdida crónica de peso, palidez de mucosas, fiebre y edema periférico especialmente en miembros posteriores y escroto (Warner y Harrus, 2000).

De todos los signos hemorrágicos observados en la fase crónica (petequias, equimosis, hematuria, melena, hemorragias oculares) la epistaxis es el más frecuente (Sainz *et al*;200).

También puede presentarse infecciones secundarias, como neumonías intersticial, falla renal, artritis y signos neurológicos (Warner y Harrus, 2000).

- **De la Prueba**

- **DESARROLLO DE LA TÉCNICA DEL HEMOGRAMA**

- 1. Recuento de Glóbulos Rojos**

- Recuento En Cámara Cuenta Glóbulos O Neubauer.

- 2. Recuento de Glóbulos blancos**

- Método De Tinción De Wright.

- 3. Recuento de plaquetas**

- Método directo con la cámara de Neubauer.

- 4. Recuento Diferencial**

- Relativo
- Absoluto
- VCM

- HCM
- CMCM

3.4. ESTADÍSTICA

Se hará uso de la estadística descriptiva y de la Prueba de T no apareada.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 03. Resultados obtenidos en 30 caninos diagnosticados clínicamente como Ehrlichiosis y sometidos a una prueba inmunocromatográfica.

Resultados	Número	Porcentaje
POSITIVOS	20	66.7
NEGATIVOS	10	33.3
TOTAL	30	100

Tabla 04. Valores hematológicos promedios encontrados en 9 caninos positivos a Ehrlichiosis en la fase aguda comparados con los valores referenciales.

Variables hematológicas	Promedios obtenidos	Valores referenciales¹	Observaciones
Glóbulos rojos (N° GRx10 ⁶ /mm ³)	3,01	5.0 – 8.6	Disminuido
Glóbulos blancos (N° GBx10 ³ /mm ³)	9.95	6.4 – 11.2	Normal
Hemoglobina (g/dl)	8.74	14.5 – 23.5	Disminuido
Hematocrito (%)	27.9	40.0 – 58.0	Disminuido
VCM (fl)	91.95	59.7 – 85.9	Aumentado
HCM (pg)	29.02	21.4 – 34.8	Normal
CHCM (g/dl)	31.33	31.1 – 46.3	Normal
Plaquetas (cientos miles/mm ³)	216675	130000 - 200000	Aumentado

En el Tabla 04, se observa los resultados de valores hematológicos de perros con Ehrlichiosis en fase aguda, que nos permiten identificar la presencia de anemia de tipo macrocítica normocrómica e incremento leve de plaquetas (trombocitosis).

¹Tomado de Beatriz Milagros Sánchez Rodríguez. Tesis. (2012).

Tabla 05. Fórmula leucocitaria absoluta promedio en 9 caninos positivos a Ehrlichiosis en la fase aguda con valores referenciales.

Variables Hematológicas	Promedios Obtenidos	Valores Referenciales¹	Observaciones
Abastionados (x 10 ³ /mm ³)	0,3	0,0 – 0,3	Normal
Segmentados (x 10 ³ /mm ³)	6,9	4,3 – 7,5	Normal
Eosinófilos (x 10 ³ /mm ³)	0,0	0,0- 0,4	Normal
Basófilos (x 10 ³ /mm ³)	0,00	0,00 – 0,00	Normal
Linfocitos (x 10 ³ /mm ³)	2,7	1,6 – 3,2	Normal
Monocitos (x 10 ³ /mm ³)	0,0	0,0 – 0,3	Normal

En el Tabla 05, No se apreció ningún cambio en la fórmula leucocitaria absoluta.

Tabla 06. Valores hematológicos promedios encontrados en 11 caninos positivos a Ehrlichiosis en la fase crónica comparados con los valores referenciales.

Variables Hematológicas	Promedios Obtenidos	Valores Referenciales¹	Observaciones
Glóbulos rojos (N° GRx10 ⁶ /mm ³)	3,5	5,0 – 8,6	Disminuido
Glóbulos blancos (N°GBx10 ³ /mm ³)	5,20	6,4 – 11,2	Disminuido
Hemoglobina (g/dl)	10,12	14,5 – 23,5	Disminuido
Hematocrito (%)	31,91	40,0 – 58,0	Disminuido
VCM (fl)	86,03	59,7 – 85,9	Aumentado
HCM (pg)	28,11	21,4 – 34,8	Normal
CHCM (g/dl)	30,78	31,1 – 46,3	Disminuido
Plaquetas (cientos miles/mm ³)	75090.9091	130 000 – 200 000	Disminuido

En el Tabla 06, se observa los resultados de valores hematológicos de perros con Ehrlichiosis en fase crónica, que nos permiten identificar la presencia de anemia de tipo macrocítica hipocrómica, leucopenia y trombocitopenia.

Tabla 07. Fórmula leucocitaria absoluta promedio en 11 caninos positivos a Ehrlichiosis en la fase crónica con valores referenciales.

Variables Hematológicas	Promedios Obtenidos	Valores Referenciales¹	Observaciones
Abastoados (x 10 ³ /mm ³)	0,2	0,0 – 0,3	Normal
Segmentados (x 10 ³ /mm ³)	3,0	4,3 – 7,5	Disminuido
Eosinófilos (x 10 ³ /mm ³)	0,0	0,0- 0,4	Normal
Basófilos (x 10 ³ /mm ³)	0,00	0,00 – 0,00	Normal
Linfocitos (x 10 ³ /mm ³)	2,2	1,6 – 3,2	Normal
Monocitos (x 10 ³ /mm ³)	0,0	0,0 – 0,3	Normal

En el Tabla 07, La lectura de la fórmula leucocitaria absoluta de perros con Ehrlichiosis en fase crónica muestra neutropenia.

Tabla 08. Valores hematológicos promedios encontrados en 20 caninos en fase aguda y crónica en Ehrlichiosis canina.

Variables Hematológicas	Promedios Obtenidos En Fase Aguda	Promedios Obtenidos En Fase Crónica	Significancia
Glóbulos rojos (N° GRx10 ⁶ /mm ³)	3,01±0,77	3,5±0,83	P>0,05
Glóbulos blancos (N°GBx10 ³ /mm ³)	9,955±1,4	5,200±2,4	P<0,01
Hemoglobina (g/dl)	8,74±2,18	10,12±2,6	P>0,05
Hematocrito (%)	27,9±7,19	31,91±8,59	P>0,05
VCM (fl)	91,95±5,09	86,03±21,4	P>0,05
HCM (pg)	29,022±2,17	28,119±5,03	P>0,05
CHCM (g/dl)	31,33±1,32	30,78±3,72	P>0,05
Plaquetas (cientos miles/ mm ³)	216675±29661	75090.9091±19565	P<0,01

En el Tabla 08, La lectura hematológica con respecto a los G. Rojos-Hemoglobina-Hematocrito-VCM-HCM-CHCM con valor P>0.05 se observa que no hay diferencia significativa al 95% de confiabilidad. Teniendo si diferencia en el rango de Plaquetas y G. Blancos en que el valor P<0.01 si existe diferencia significativa al 99%.

Tabla 09. Fórmula absoluta promedio en 20 caninos positivos a Ehrlichiosis en la fase aguda y crónica.

Variables hematológicas	Promedios Fase Aguda	Promedios Fase Crónica	Significancia
N. Abastoados	245.1 ± 343.9	202.0 ± 147.2	P>0,05
N. Segmentados	6802.9 ± 1025.9	3075.3 ± 1133.5	P<0.01
Eosinófilos	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	P>0.05
Basófilos	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	P>0.05
Linfocitos	2794.7 ± 1675.3	2400.2 ± 1824.8	P>0.05
Monocitos	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	P>0.05

En el Tabla 09, la fórmula absoluta con respecto a N. Abastoados, Eosinofilos, Basofilos, Linfocito y Monocitos con valor P>0.05 concluimos que no hay diferencia significativa al 95% de confiabilidad. Teniendo si diferencia en el rango de N. Segmentados en que el valor P<0.01 existiendo diferencia significativa al 99%.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En el Tabla 03, se muestran los resultados obtenidos después de someter a una prueba inmunocromatográfica a 30 caninos diagnosticados por examen clínico como infectados con *Ehrlichia canis*. Se observa que 20 caninos fueron positivos a la prueba y 10 fueron negativos, lo que determinó un 33.3 % de error diagnóstico por examen clínico. El resultado encontrado, nos estaría indicando que no todos los pacientes con signos clínicos compatibles con Ehrlichiosis, se hallan verdaderamente padeciendo de la enfermedad y que para la zona deberá tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial a la Anaplasmosis canina (Gasser *et al.*, 2001) y a la Piroplasmosis canina (Morais *et al.*, 2004), ya que en estas dos enfermedades se presentan signos clínicos similares como lo afirman Greene y Breitschvert (2000) para el caso de Anaplasmosis y Birchard y Sherding (1998) para Piroplasmosis.

En el Tabla 04, se detallan los resultados hematológicos promedios encontrados en 09 caninos positivos a Ehrlichiosis en fase aguda comparados con valores promedios referenciales, observándose que los glóbulos rojos se encuentran disminuidos, al igual que la hemoglobina y el hematocrito, que normalmente ocurren en los casos de anemia (Pierce, 1981), y que se presenta en la Ehrlichiosis canina, como lo refiere (Troy *et al.*, 1990 y von Stedingk *et al.*, (1997)), lo cual se debe a que en estos casos ocurre una hipoplasia de las células precursoras de la médula ósea. (Woody, 1985).

En el mismo cuadro se aprecia que existe en promedio un leve aumento de los trombocitos y la anemia es tipo macrocítica y normocrómica, un aumento concurrente y significativo del volumen medio de plaquetas es también usualmente visto, reflejando una trombopoyesis activa. Sin embargo la trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común y consistente en la Ehrlichiosis canina aguda. En la fase aguda de la enfermedad es común la leucopenia y la anemia moderada (usualmente normocítica, normocrómica, no regenerativa) como lo manifiesta Wäner y Harrus(2000).

De igual manera en el Tabla 04, se observa que los glóbulos blancos se encuentran dentro de los rangos de normalidad y en el Tabla 05 aparece la fórmula leucocitaria absoluta en promedio, encontrándose igualmente que se hallan dentro de los valores normales en relación a la referencia, todos los autores coinciden en señalar que en la fase aguda de la enfermedad ocurre leucopenia (Ettinger, 1992; Neer y Harrus, 2006; Hoyos, *et al.*, 2007); quizás la explicación que se podría dar en este caso es que los caninos afectados que concurren a la Veterinaria y que fueron atendidos con tratamiento específico, se encontraban en fase de recuperación.

En el Tabla 06, se presentan los valores hematológicos promedios encontrados en 11 caninos positivos a Ehrlichiosis en fase crónica, al respecto es de destacar que, los perros que no pueden montar una respuesta inmune efectiva se enfermarán crónicamente (Bockino *et al.*, 2003), en el cuadro en referencia se destaca la presencia de anemia de tipo macrocítica hipocrómica, leucopenia y trombocitopenia. La disminución de glóbulos rojos, blancos y de plaquetas en esta etapa se explica por cuanto en la fase crónica de Ehrlichiosis canina ocurre pancitopenia debido a la presentación de una hipoplasia medular (Ettinger, 1992; Gaunt *et al.*, 1996; Harrus *et al.*, 1999; Torres y De la Fuente 2006).

En base a lo referido por McKenzie (2000) y Barger (2002), atendiendo al VCM y CHCM se puede considerar que se presentó, en el presente caso,

una anemia macrocítica hipocrómica. Las anemias macrocíticas son de naturaleza megaloblásticas pertenecientes a un grupo regenerativo causada por síntesis defectuosa de ADN nuclear que se presenta con eritrocitos de gran tamaño y con aumento del VCM y el HCM, como lo refiere Reinoso *et al.*, (2008). Es de resaltar que la anemia normocítica normocrómica es la que con mayor frecuencia se presenta en Ehrlichiosis canina como lo afirman (Goldman *et al.*, 1998, Barger, 2002 y Suto *et al.*, 2001), pero en el presente caso no se confirmó.

En el Tabla 07, se presentan la fórmula leucocitaria absoluta promedio de 11 caninos positivos a Ehrlichiosis en fase crónica comparado con valores referenciales, encontrándose una neutropenia, como lo indica Mylonakis *et al.*, (2004) el cual menciona que dentro de la serie blanca pueden encontrarse neutropenia.

En las Tablas 08 y 09, se encuentra detallado las diferencia estadísticas entre los dos grupos, en lo referente a los valores hematológicos promedios y la fórmula diferencial promedio correspondiente a 9 caninos en fase aguda y 11 en fase crónica de caninos positivos a Ehrlichiosis, encontrándose diferencia en los Glóbulos Blancos, Plaquetas y Neutrófilos Segmentados, siendo el recuento mayor en la fase aguda con una probabilidad de $P < 0.01$.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Después de realizado el presente trabajo de investigación, se llega a las siguientes conclusiones:

1. Se encontró una sensibilidad 66.7 % (20/30) cuando se realiza el diagnóstico de Ehrlichiosis canina solo por examen clínico.
2. En los caninos positivos a Ehrlichiosis en fase aguda se halló anemia de tipo macrocítica normocrómica y un leve incremento de los trombocitos.
3. En los caninos con Ehrlichiosis en fase crónica se determinó anemia macrocítica hipocrómica, trombocitopenia y leucopenia.

CAPÍTULO VII

REFERENCIAS

1. **Aroch I, Harrus S. 2001.** The use of hematopoietic growth factors: recombinant human granulocyte colony stimulating factor and recombinant human erythropoietin in severe pancytopenia due to canine monocytic ehrlichiosis. 06p. Vol 56. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:rPu37sXkwywJ:www.lsrvma.or/ImageToArticle/Files/Vol %2056%202%20THE%20520USE%20OF%20RECOMBINANT.doc+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:rPu37sXkwywJ:www.lsrvma.or/ImageToArticle/Files/Vol%2056%202%20THE%20520USE%20OF%20RECOMBINANT.doc+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe)
2. **Bartsch RC, Greene RT. 1996.** Post - therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. p 271-275. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8819054>
3. **Barger AM. 2002.** Análisis de un Hemograma Completo. Collage of Veterinary Medicine-North Carolina State University. Veterinary Medicine. pp. 716-725. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: [http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/132/1/GumersindaHernandez Ferruz.pdf](http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/132/1/GumersindaHernandezFe rruz.pdf)
4. **Birchard S, Sherding R. 1998.** Causas infecciosas de hemólise Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais. Cap. 20, 2° Edición 1998; 1608p.

5. **Botelho de Castro M, Machado RZ, Tomaz de Aquino LPC, Alessi AC, Costa MT. 2004.** Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis clinic pathological and immunopathological findings. *Veterinary parasitology*. vol 119. P 73-86. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: http://ac.els-cdn.com/S0304401703004357/1-s2.0-S0304401703004357-main.pdf?_tid=38825578-5e2e-11e4-ba82-000000000000aab0f26&acdnat=1414451513_059d08d80ed803c164f92781154f915a
6. **Breitschwerdt EB, Woody BJ, Zerbe CA, De Buyscher EV, Barta O. 1987.** Monoclonal gammopathy associated with naturally occurring canine ehrlichiosis. Vol 1. P 2-9. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.19391676.1987.tb01980.x/abstract>
7. **Bichard SJ. 1996.** Manual Clínico de Pequeñas Especies. Vol. 1. Edit. Mc. Graw-Hill Interamericana. México, D.F. pp. 146-148. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Disponible: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/132/1/GumersindaHernandezFerruz.pdf>
8. **Bulla C, Takahira RK, Araujo JP. 2004.** The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Vet Res* 35:141-146. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15099511>
9. **Couto G, Cowell RL, Tyler RD, Clinkenbeard KD. 1988.** Ehrlichiosis and polyarthritis in three dogs. *J Am Vet Med Assoc*. vol 192. P 1093-1095. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available : <http://europepmc.org/abstract/MED/3372339>

10. **Codner EC, Smith LL. 1986.** Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* Vol 1986. p 47-50. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available :
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3733499>
11. **Couto, G. 2011.** Interpretación del Hemograma. *Dog Planet.* [Internet], [10 Septiembre 2014]. Disponible en : [http://clinicadogplanet.blogspot.com / 2011/02/interpretacion-de-hemogramas-en-caninos.html](http://clinicadogplanet.blogspot.com/2011/02/interpretacion-de-hemogramas-en-caninos.html)
12. **Cowell RL, Tyler RD, Clinkenbeard KD. 1988.** Ehrlichiosis and polyarthritis in three dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192:1093-1095. [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:fU6UrrjhYyMJ:ww.scielo.org.pe/scielo.php%3Fpid%3DS1609-91172013000100009%26script%3Dsciarttext+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
13. **Davoust B, Parzy D, Ott, D., and Hasselot, N. Ehrlichiose canine chronique: intérêt de la numération plaquettaire. RevMédVét. 1991; 142:287-292.** [Internet], [10 Septiembre 2014]. Available: <http://translate.google.com.pe/translate?hl=es&sl=fr&u=http://www.revmedvet.com/2000/RMV151429436.pdf&prev=search>
14. **De Castro MB, Machado RZ, Cury LP, Alessi AC, Tinucci M. 2004.** Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary Parasitology* 119 (2004) 73–86. [Internet], [11 Septiembre 2014]. Available:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401703004357#>

15. **Donatein A, Lestoquard F. 1937.** State of the present knowledge concerning rickettsiosis of animals. Arch Inst Pasteur Alger 15:142-187. [Internet], [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM1081246/>
16. **Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray CS, Rikihisa Y, Rurangirwa RF. 2001.** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* and *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*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2001), 51, 2145-2165. [Internet]; [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11760958>
17. **Engvall EO, Pettersson B, Persson M, Artursson K, Johansson KE. 1996.** A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic Ehrlichia species in dogs, horses, and cattle. Journal Of Clinical Microbiology. 1996, P. 2170–2174. [Internet], [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC229211/>
18. **Ettlinger SJ. 1992.** Tratado de medicina interna. Enfermedades del perro y del gato. México DF: Inter-Médica. P 297-299. [Internet], [26 Septiembre 2014]. Disponible. http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:QUQiGstiyHwJ:www.scielo.org.pe/scielo.php%3Fpid%3DS1609-9117_2_007000200007%26script%3Dsci_arttext+%&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe

19. **Frank JR, Breitschwerdt EB. 1999.** A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. Vol. 13(3): 194-201. [Internet], [11 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10357108>
20. **Frisby, H. 1997.** Ehrlichiosis. [Internet], [11 Septiembre 2014]. Disponible en: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:SV7yvLe1MCUJ:www.cielo.org.pe/scielo.php%3Fpid%3DS1609-91172003000100008%26script%3Dsci_arttext+%&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe
21. **Gasser A, Birkenheuer A, Breitschwerdt E. 2001.** Canine Rocky Mountain Spotted Fever. A retrospective study of 30 cases. J. Amer. Animal Hospital. Assoc. 2001. 37: 41-8. [Internet], [11 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2681129/>
22. **Gaunt SD, Cortsvet RE, Brennan RE. 1996.** Platelet-associated IgG and antibodies to platelet proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. Vet Pathol. 33:557. [Internet], [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.Vetzoo.umich.mx/phocadownload/Tesis/2011/Diciembre/cambios%20hematologicos%20en%20pacientes%20positivos%20a%20ehrlichiosis%20canina%20en%20la%20ciudad%20de%20lazarro%20cardenas%20michoacan.pdf>
23. **Gould DJ, Murphy K, Rudoef H. 2000.** Canine monocytic ehrlichiosis presenting as acute blindness 36 months after importation into the UK. Vol. 41: 263-265. [Internet], [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10879405>

24. **Goldman E, Breitschwerdt E, Grindem C, Hegarty B, Walls J, Dumler J. 1998.** Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. [Internet], [27 septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Granulocytic+ehrlichiosis+in+dogs+from+North+Carolina+and+Virginia>
25. **Greene CE, Burgdorfer W, Cavagnolo R, Philip RN, Peacock MG. 1985.** Rocky Mountain spotted fever in dogs and its differentiation from canine ehrlichiosis. [Internet], [27 septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3972706>
26. **Greene CE, Harvey JW. 1984.** Canine ehrlichiosis: Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat. W B Saunders, Philadelphia, PA. pp 545-561. [Internet], [27 septiembre 2014]. Available: <http://books.google.com.pe/books?id=zBmhvawKZ10C&pg=PA3073&lpg=PA3073&dq=Greene+CE,+Harvey+JW.+1984.+Canine+ehrlichiosis:+Clinical+microbiology+and+infectious+diseases+of+the+dog+and+cat.+W+B+Saunders,+Philadelphia,+PA.+pp+545-561.&source=bl&ots=LeortTdxWv&sig=eMgcEZjVZP6Z5sXCz0BGjFf-30o>
27. **Greene RT. 1997.** Ehrlichiosis canina: Implicaciones clínicas de factores humorales, p. 317-320. En Kirk (ed.), *Terapéutica Veterinaria de Pequeños animales*. 12va ed. McGraw-Hill Interamericana. México. [Internet], [27 septiembre 2014]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172007000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es

28. **Greene CE, Breitschvert E. 2000.** Fiebre manchada de las montañas rocosas, fiebre Q y tifo. Greene. Enfermedades Infecciosas en perros y gatos. 2º edición. Philadelphia. Mc Graw-Hill Interamericana 2000; p 170-8. [Internet], [27 septiembre 2014]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000300002&lng=en&nrm=iso&ignore=.html
29. **Greene C. 2008.** "Enfermedades infecciosas, perros y gatos", Tercera Edición 2008 Volumen 1. Cap: 28 "Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por Wolbachia" pp.227-259. [Internet], [05 Septiembre 2014]. Disponible: <https://prezi.com/pommp4jkfr1u/ehrlichia-canina/>
30. **Grindem CB, Breitschwerdt EB, Perkins PC, Cullins LD, Thomas TJ, Hegarty BC. 1999.** Platelet associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis. Vol. 35(1):56-61. [Internet], [05 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9934930>
31. **Groves MG, Dennis GL, Amyx HL, Huxsoll DL. 1975.** Transmission of Ehrlichia canis to dogs by ticks (Rhipicephalus sanguineus). Vol.36:937-940. [Internet], [06 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1147359>
32. **Harrus S, Day MJ, Waner T, Bark H. 2001.** Presence of immune-complexes, and absence of antinuclear antibodies, in sera of dogs naturally and experimentally infected with Ehrlichia canis. Vet Microbiol 83:343-349. [Internet], [07 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11600268>

33. **Harrus S, Ofri R, Aizenberg I. 1998.** Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by *Ehrlichia canis* infection. *Vet Parasitol* 78:155-160. [Internet], [08 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9735920>
34. **Harrus S, Waner T, Bark H, Jongejan F, Cornelissen. 1999.** Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 37:2745-2749. [Internet], [08 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC85367/>
35. **Harrus S, Aroch I, Lavy, E. 1997.** and Bark, H. Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. *Vet Rec.* 1997; 141(10):247-250. [internet], [08 september 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9308149>
36. **Harrus S, Waner T, Weiss D J, Keysary A, Bark H. 1996.** And Bark, H. Kinetics of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996b; 51(1-2):13-20. [internet], [08 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8797272>
37. **Hoskins JD, Breitschwerdt EB, Gaunt SD, French T W, Burgdorfer W. 1988.** Antibodies to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia platys*, and spotted fever group rickettsiae in Louisiana dogs. *J Vet Intern Med* 2:55-59. [internet]; [10 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3146636>

38. **Hoyos SL, Li EO, Alvarado SA, Suárez AF, Díaz CD. 2007.** Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* ISSN 1609-9117 *versión impresa*. [Internet], [06 Septiembre]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172007000200007&script=sci.arttext>
39. **Jittapalapong S, Jansawan W. 1993.** Preliminary survey on blood parasites of cats in Bangkok District Area. *Kasetsart J Nat Sci* 27:330-335. [internet], [10 Septiembre 2014]. Available: <http://www.parasite sandvectors.com/content/pdf/1756-3305-6-128.pdf>
40. **Jonson EM, Ewing SA, Barker RW, Fox J C, Crow D X, Kocan K M. 1998.** Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: *Ehrlichieae*) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* 74:277-288. [Internet], [11 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9561712>
41. **Kuehn NF, Gaunt SD. 1985.** Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *Journal of the Americana Veterinary Medical Association*. Volumen 4. P 355-358. [Internet], [6 Septiembre 2014]. Available : <http://europepmc.org/abstract/MED/3972694>
42. **Lee SY, Hong JH, Lee SW, Lee M. 2007.** Comparisons of latex agglutination, immunochromatography and enzyme immunoassay methods for the detection of rotavirus antigen. *The Korean Society for Laboratory Medicine*. Volumen 6. p 437-441. [Internet], [06 Septiembre 2014]. Available: <http://sy.napse.koreamed.org/search.php?Where=aview&id=10.3343/kjlm.2007.27.6.437&code=0039KJLM&vmode=FULL>

43. **Liberato, W. 1998.** Prevalencia de ectoparásitos en *Canis familiaris* en los distritos de San Juan de Miraflores, Villa María del Triunfo y Villa el Salvador. Tesis de Bachillerato. Fac. Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 31 p.
44. **Lockhart JM, Davidson WR, Stallknecht DE. 1997.** Isolation of *Ehrlichia chaffeensis* from wild white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) confirms their role as natural reservoir hosts. *J Clin Microbiol.* Volumen 35. P 1681-1686. [Internet], [06 Septiembre 2014]. Available: <http://jcm.asm.org/content/35/7/1681>
45. **Lorente, M. 2006.** Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la Ehrlichiosis canina, evolución tras administración de dipropionato de imidocarb. Tesis doctoral. Tesis de la Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. [Internet], [06 Septiembre 2014]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/7165/>
46. **Maretzki CH, Fisher DJ, Greene CE. 1994.** Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* Volumen 205. p 1554-1556. [Internet], [06 Septiembre 2014]. Available: <http://www.Ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7730122>
47. **Martin ME, Bunnell JE, Dumler JS. 2000.** Pathology, immunohistology, and cytokine responses in early phases of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model. *J Infect Dis* 181.p 374-378. [Internet], [16 Septiembre 2014]. Available: <http://jid.oxfordjournals.org/content/181/1/374.short>
48. **Matthewman LA, Kelly PJ, Bobade PA, 1993.** Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *Vet Rec* 133. P 344-346. [Internet], [15 Septiembre 2014]. Available: <http://veterinaryrecord.bmj.com/content/133/14/344.abstract>

49. **McBride JW, Corstvet RE, Breitschwerdt EB. 2001.** Immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* infection with recombinant proteins. *J Clin Microbiol* 39. p315-322. [Internet], [15 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11136790>
50. **McKenzie SB. 2000.** Hematología Clínica. Edit. El Manual Moderno. México, D.F. pp. 114-121; 660. [Internet], [15 Septiembre 2014]. Available: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/132/1/GumersindaHernandezFerruz.pdf>
51. **Moraes H, Almosny N, Labarthe N. 2004.** Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados com *Ehrlichia* spp. *Clinica Veterinária*, Ano IX, n.48, p. 28-30, janeiro/ fevereiro, 2004. [Internet], [15 Septiembre 2014]. Available: <http://qualittas.com.br/uploads/documentos/ErlichoseCanina-MilenaCarmineVieiraIves.pdf>
52. **Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC. 1998.** A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Vet Parasitol* 79:325-339. [Internet]; [12 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9831955>
53. **Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Billinis CD, Leontides LS, & Kontos VS. 2004.** "Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases", *J Am Anim Hosp Assoc*. vol. 40, no. 3, pp. 174-84.
54. **Neer TM. 1995.** Unpublished data. Louisiana State University, Baton Rouge, LA. pp. 112–116.

55. **Neer TM, Harrus S. 2006.** Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis (E. canis, E. chaffeensis, E. ruminantium, N. sennetsu, and N. risticii infections) C.E. Greene (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat, Saunders Elsevier, St. Louis (2006), pp. 203–216. View Record in Scopus. [Internet]; [12 Septiembre 2014]. Available: http://translate.googleusercontent.com/translate_c?depth=1&hl=es&prev=search&rurl=translate.google.com.pe&sl=en&u=http://aac.asm.org/content/51/9/3394.full&usq=ALkJrhimvjAeF6sxmPmi3vfK4sIQgNtyvQ
56. **Neer TM. 2000.** Ehrlichiosis Monocítica y Granulocítica Canina. En Greene, C.(ed) Enfermedades infecciosas en perros. McGraw-Hill Interamericana . México. p153-163
57. **Nyindo M, Kakoma I, Hansen R. 1991.** Antigenic analysis of four species of the genus *Ehrlichia* by use of the protein immunoblot. Am J Vet Res 52:1225- 1230. [internet],[27 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1928904>
58. **Pancholi P, Kolbert CP, Mitchell PD, Reed KD, Dumler JS, Bakken JS, Persing DH. 1995.** Ixodesdammini as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. J Infect Dis 172:1007-1012. [internet],[27 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7561173>
59. **Parnell N. 2004.** Ehrlichiosis canina, En RV. Morgan. Ed 3. Clínica de pequeños animales. Elsevier. España. p1122-1124. [internet]. [27 Septiembre 2014]. Disponible en: <http://geosaludcom/mascotas/ehrlichiosis-canina.html>

60. **Perez M, Rikihisa Y, Wen B. 1996.** *Ehrlichia canis* - like agent from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization. J Clin Microbiol 34:2133-2139.[internet], [27 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC229204/>
61. **Rivas LV, Morales AD, Saenz M, Bonilla JL. 2010.** Hallazgo de Ehrlichiosis canina causada por *E. canis* en una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 2010 Volumen 11 Número 03. [internet], [27 Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63613123002>
62. **Sainz A, Amusatogui I, Rodríguez F, Tesouro M.A. 2000.** Las ehrlichiosis en el perro presente y futuro. Profesión veterinaria 12(47):22-8. [internet], [27 Septiembre 2014]. Disponible en: http://www.rhv.cl/index.php?option=comdocman&task=doc_download&gid=55&I
63. **Sánchez B. 2012.** Valores Hematológicos de referencia en caninos mestizos (*canis lupus familiaris*) de la ciudad de Cajamarca – 2012. p39 – 40.
64. **Suto Y, Suto A, Inokuma H, Obayashi H, Hayashi T. 2001.** First confirmed canine case of *Ehrlichia canis* infection in Japan. [internet], [27 Septiembre 2014]. Available in: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11467609>

65. **Stockham SL, Schmidt DA, Curtis KS, Schauf BG, Tyler JW, Simpson ST. 1992.** Evaluation of granulocytic ehrlichiosis in dogs of Missouri, including serologic status to *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, and *Borrelia burgdorferi*. *Am J Vet Res* 53:63-68, [internet],[27 Septiembre 2014]. available in: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1539918>
66. **Tesouro MA, Sainz. 1993.** Ehrlichiosis canina. *Veterinaria Información. Revisión del Consejo General de Colegios Veterinarios de España.* N° 132. p 114-119. [internet],[27 Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172003000100008&script=sciarttext>
67. **Torres AM, De la Fuente J. 2006.** Rattles associated with ectoparasites of wild mammals in the department of Quindío, Colombia. *Int. J. Appl Res Vet. Med.* 4(3). 187-190. [internet], [27 Septiembre 2014]. Available: <http://www.jarvm.com/articles/Vol4Iss3/delaFuente.pdf>
68. **Trapp SM, Dagnone AS, Vidotto O. 2002.** Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population in South Brazil. *J Vet Intern Med* 16:365. [internet],[27 Septiembre 2014]. Available : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16647817>
69. **Troy GC, Forrester SD. 1990.** Canine ehrlichiosis, pp 404-418. In Greene CE (ed), *Infectious diseases of the dog and cat*, ed 1. WB Saunders, Philadelphia, PA. [internet]. [27 Septiembre 2014]. Available : http://www.fmvz.unesp.br/takahira/PDFs/Vet_Micmylonakis_et_al_2003.pdf

70. **Troy GC, Vulganot JC, and Turnwalt GH. 1980.** Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 16:181-187. [internet],[27 Septiembre 2014]. Available : http://cyberthesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1548/1/paulino_ra.pdf
71. **Von Stedingk L, Gürtelschmid M, Hanson H, Gustafson R, Dotevall L, Engvall E, Granström M. 1997.** The human granulocytic ehrlichiosis (HGE) agent in Swedish ticks. [internet]. [27 Septiembre 2014]. Disponible en: [available in: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+human+granulocytic+ehrlichiosis+\(HE\)+agent+in+Swedish+ticks](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+human+granulocytic+ehrlichiosis+(HE)+agent+in+Swedish+ticks)
72. **Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, Keysary A. 1995.** Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. [internet], [27 Septiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Characterization+of+the+subclinical+phase+of+canine+ehrlichiosis+in+experimentally+infected+beagle+dogs>
73. **Waner T , Harrus S , Corteza H , Bogin E , Avidar Y , Keysary A. 1996.** Caracterización de la fase subclínica de la ehrlichiosis canina en perros beagle infectados experimentalmente. [internet], [27 Septiembre 2014]. available: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Subclinical+canine+ehrlichiosis+\(Ehrlichia+canis\)+in+experimentally+infected+beagle+dogs.Abstract+%23+175](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Subclinical+canine+ehrlichiosis+(Ehrlichia+canis)+in+experimentally+infected+beagle+dogs.Abstract+%23+175)

74. **Waner T. y S. Harrus. 2000.** Ehrlichiosis monocítica canina. Recent Advances in Canine Infectious Diseases, L. Carmichael (Ed.) Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. [internet]. [10 Noviembre 2014]. Available: http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/waner_es/ivis.pdf
75. **Weisiger R, Ristic M, Huxsoll D. 1975.** Kinetics of an antibody response to Ehrlichia canis assayed by the indirect fluorescent antibody method. [internet]. [27 Septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kinetics+of+antibody+response+to+Ehrlichia+canis+assayed+by+indirect+fluorescent+antibody+method>
76. **Weiser MG, Thrall MA, Fulton R. 1991.** Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc 27:84-88.
77. **Weitzel T, Reither K, Mockenhaupt F, Stark K, Ignatius R, Saad E, Seidu-Korkor A, Bienzle U, Schreier E. 2007.** Field evaluation of a rota- and adenovirus immunochromatographic assay using stool samples from children with acute diarrhea in Ghana. [internet], [27 Septiembre 2014]. available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Field+evaluation+of+a+rota-+and+adenovirus+immunochromatographic+assay+using+stool+samples+from+children+with+acute+diarrhea+in+Ghana>

78. **Woody B, Hoskins J. 1991.** Ehrlichial diseases of dogs. [internet], [27 setiembre 2014]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ehrlichial+diseases+of+dogs.+Vet+Clin+North+Am.+Small+AnimPract>.

ANEXO

ANEXO 01. De la Prueba

- **Principio**

Se utilizará el kit de prueba E. canis Ab Test Kit, el cual se fundamenta en el principio de la inmunocromatografía y está diseñado para detectar anticuerpos de Ehrlichia canis en sangre, suero o plasma. Los resultados de la prueba aparecen en las líneas de control (C) y de prueba (T). Sensibilidad y especificidad es de 98 y 100% respectivamente.

- **Composición**

El dispositivo para realizar la prueba posee, la ventana de dispensación de muestra (S) para el cuentagotas, la línea de prueba (T) y la línea de control (C), los cuales se encuentran identificados en el dispositivo. En su interior, la tira se compone de la esponja de muestra, la esponja combinada, la membrana de nitrocelulosa (papel de prueba) y la esponja absorbente.

- **Procedimiento de la prueba**

a) Cuando la muestra y el kit de prueba se almacenan en frío (2 ~ 8°), se deberán dejar al medio ambiente durante 15 ~ 30 minutos antes de realizar el test.

b) Se deberá sacar el dispositivo del envoltorio y colocarlo sobre una superficie horizontal.

c) Se deberá utilizar una pipeta Pasteur, para tomar la muestra a ser analizada, se dispensará 1 gota (40 µl) en el dispositivo (S).

d) Cuando la muestra es completamente absorbida, se añadirá 2 gota (80 µL) del búffer, con un cuentagotas.

e) Los resultados de la prueba deberán ser leídos los 20 minutos de realizada la prueba. Se considerarán inválidos los resultados de la prueba pasados los 25 minutos.

- **Interpretación de los resultados**

Deberá aparecer una banda púrpura sobre la línea control sin importar el resultado de la prueba.

- **Línea de control (C):** La línea debe aparecer siempre sin importar la presencia de anticuerpos a Ehrlichia canis. Si no aparece esta línea, deberá considerarse la prueba como no válida. Y por tanto deberá ser repetida.
- **Línea de prueba (T):** La presencia de anticuerpos a Ehrlichia canis se determina por la presentación de la línea de prueba.
- **Negativo**

Solo aparece la línea control (C)



- **Positivo**

Aparecen ambas líneas control (C) y prueba (T)



- **Repetir la Prueba:**
 - a) Si no aparecen ninguna de las dos líneas, ni la de prueba, ni la de control.
 - b) Si sólo aparece la línea de prueba.

ANEXO 02. DESARROLLO DE LA TÉCNICA DEL HEMOGRAMA

1. Recuento de Glóbulos Rojos

- **Recuento En Cámara Cuenta Glóbulos O Neubauer**
 - Obtener sangre venosa y colocarla en un tubo con EDTA.
 - Mezclar perfectamente el tubo que contiene la sangre.
 - Aspirar con la pipeta de Thoma la sangre mezclada hasta la marca 0.5.
 - Limpiar cuidadosamente la parte externa de la pipeta con una gasa.
 - Aspirar líquido de Hayem hasta la marca 101.
 - Sellar los extremos de la pipeta con papel parafilm.
 - Agitar durante 3 min y mezclar perfectamente.
 - Colocar el cubre hematímetro sobre la cámara de Neubauer.
 - Desechar las primeras 3 a 4 gotas de la pipeta y llenar la cámara por capilaridad por uno de los bordes del cubre hematímetro.
 - Dejar reposar la cámara de 3 a 5 min. Y cuantificar los eritrocitos en el microscopio con el objetivo seco débil, en 80 cuadros pequeños de la cuadrícula central.
 - Multiplicar el número de eritrocitos por 10,000.

2. Recuento de Glóbulos blancos

- **Tinción De Wright**

El recuento diferencial es una parte importante de la valoración hematológica y consiste en reconocer las distintas variedades de glóbulos blancos y las posibles anomalías celulares en un frotis de sangre teñido con el colorante de Wright. Debido a que el colorante de Wright se trata de una solución de eosina y una mezcla de tiacinas que incluyen el azul de metileno, el citoplasma de las células se tiñen con el colorante ácido (eosina) ya que en él, se encuentran los componentes básicos de la célula, por otro lado, el núcleo de la célula se tiñe con los colorantes básicos (azul de metileno) ya que en él se encuentran los componentes ácidos de la célula.

- **Procedimiento**

a) Realice un frotis sanguíneo por el método transversal y se deja secar al aire sobre el puente de tinción.

b) Cubra la extensión con un exceso de colorante de Wright durante 2 minutos, esto tiene como finalidad evitar la evaporación del colorante y la formación de precipitados.

c) Transcurrido el tiempo, añada una cantidad igual de solución amortiguadora.

d) Soplar suavemente sobre la superficie de la mezcla con la finalidad de homogenizar.

e) Se deja reposar exactamente 4 minutos.

f) Sin tirar la mezcla, lave con agua destilada hasta que el agua que escurra no lleve colorante.

g) Secar al aire y añadir una gota de aceite de inmersión para observar en el microscopio a inmersión.

h) Para la fórmula diferencial debe de contarse 100 células y deberá hacerse la diferenciación entre monocitos, linfocitos, basófilos, eosinófilos, neutrófilos, y simultáneamente, ver el número de mielocitos, bandas, metamielocitos, y segmentados que existen entre neutrófilos, si hay otro tipo de células como por ejemplo blastos, deberán incluirse en el total.

3. Recuento de plaquetas

Es el número de trombocitos por unidad de volumen de sangre circulante. Existen varios métodos, entre ellos tenemos :

❖ Recuento directo de plaquetas en cámara Neubauer

5. Tomar la sangre hasta la marca 0.5 y llenar hasta la marca 101 con la solución diluyente ; agitar 3 – 5 minutos .
6. Dejar la cámara llena (Neubauer) 15 a 20 minutos en reposo , dentro de una cámara húmeda .
7. Contar todas las plaquetas del campo central (25 grupos de 16 cuadrados pequeños) y multiplicar por 2000.

Líquido de dilución :

Citrato sódico	: 3,8 g
Formalina neutral al 4%	: 2,0ml
Azúl cresil brillante	: 0,05g
Agua destilada	: 100,0ml

4. Recuento Diferencial

El recuento de cada especie leucocitaria se da de dos maneras.

- **Fórmula leucocitaria relativa:** Da idea del porcentaje de cada especie con respecto al total de leucocitos. Por ejemplo: aproximadamente el 60% de los leucocitos son neutrófilos.
- **Fórmula leucocitaria absoluta:** Da idea del recuento de cada especie por mm³ de sangre. La Fórmula absoluta reviste mayor importancia clínica que la relativa, otorgando una mejor herramienta diagnóstica.

➤ **Volumen Globular Medio**

Este parámetro nos indica el tamaño promedio de los eritrocitos en un paciente y se calcula de la siguiente manera.

$$\text{VGM} = \frac{\text{Hematocrito (Hto)}}{\# \text{ de eritrocitos en millones}} \times 10 = \mu\text{s}$$

La obtención de un VGM inferior a los valores de referencia, indicará la presencia de eritrocitos pequeños o microcíticos.

La obtención de un VGM que cae entre los valores de referencia, indicará que se tienen eritrocitos de tamaño normal o normocitos.

La obtención de un VGM mayor a los valores de referencia, indicará la presencia de eritrocitos grandes o macrocitos.

➤ **Concentración De Hemoglobina Globular Media**

Este índice eritrocitario da una idea de la coloración de los eritrocitos en base a su contenido de hemoglobina, ya que determina la concentración promedio de hemoglobina en todos lo eritrocitos. Su determinación se realiza de la siguiente manera:

$$\text{CHGM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/100 ml)}}{\text{VGA}} \times 100 = \text{g/dl}$$

La obtención de una concentración media de hemoglobina corpuscular (CHGM) menor a los valores de referencia indicará la presencia de eritrocitos con un bajo contenido de hemoglobina o hipocrómicos.

La obtención de un valor mayor o menor a los valores de referencia, indicará la presencia de eritrocitos hiperocrómicos. Sin embargo debe de usarse rara vez este término, ya que el único eritrocito hiperocrómico es el esferocito.

Un valor de CHGM que cae entre los valores de referencia indicará la presencia de eritrocitos con contenido normal de hemoglobina o normocrómicos.

Utilizando los índices eritrocitarios, tenemos a la anemia microcítica hipocrómica, normocítica normocrómica y las macrocíticas.

➤ **ANEMIA MICROCÍTICA HIPOCRÓMICA**

Es una de las más comunes en la actualidad, se caracteriza porque el volumen corpuscular medio (VGM) y la concentración media de hemoglobina (CHGM) son menores a los valores de referencia, por tanto en un frotis de sangre periférica el eritrocito es menor en tamaño, presenta un halo central de gran tamaño y el grado de poiquilocitosis (cambios de la forma) depende de la gravedad del paciente.

Las causas que dan origen a este padecimiento son:

- Deficiencia en la ingestión de hierro.
- Una pérdida excesiva de sangre.
- Mala absorción del hierro.
- Defectos de maduración citoplasmática.

➤ **ANEMIA NORMOCÍTICA NORMOCRÓMICA**

Esta se caracteriza porque el número de eritrocitos, la hemoglobina y el hematocrito disminuyen proporcionalmente, por lo tanto, el frotis de sangre periférica se observa normal ya que el VGM y CHGM se encuentran dentro de los valores de referencia.

Este tipo de anemia puede aparecer en las siguientes condiciones:

- Poco después de una hemorragia masiva.
- En el descenso de la producción de sangre, por ejemplo en las anemias aplásticas (por agentes químicos, uremia, radiaciones, causas desconocidas, tejido maligno en médula ósea).
- Anemias hemolíticas (ya que por lo general son normocíticas normocrómicas).
- En el aumento del volumen sanguíneo (principalmente en el embarazo).

➤ ANEMIAS MACROCÍTICAS

Las anemias macrocíticas se caracterizan porque el VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM) es mayor al de referencia, dando origen a eritrocitos grandes. Esta anemia se clasifica en dos grupos, las que se asocian con un tipo de megaloblasto de maduración de eritrocitos en la médula ósea y las que no lo hacen.

1).- En la anemia macrocítica megaloblástica existe una interrupción en la síntesis nuclear, que trae como consecuencia un defecto en la maduración del núcleo en el seguimiento de la megaloblastocis, la causa principal que origina esta anemia es la deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico que funcionan como coenzimas en la síntesis del ácido nucleico.

DEFICIENCIA DE ACIDO FOLICO

- 1) Ingestión dietética inadecuada.
- 3) Mala absorción en el intestino delgado.
- 4) Inhibición de medicamentos.

DEFICIENCIA DE VITAMINA B₁₂

- 1) Mala absorción.
- 2) Ingestión dietética inadecuada.

Esta anemia se caracteriza porque el frotis sanguíneo presenta la siguiente triada: macrocitos ovales, neutrófilos hipersegmentados (con más de cinco lóbulos) y los cuerpos de Howell-Jolly, la anisocitosis es moderada y la poiquilocitosis es más grave cuando la anemia es más intensa.

2) Anemias macrocíticas no megaloblásticas aún no se define la causa de su origen, pero es posible que se relacione con un incremento de los lípidos membranales. Esta anemia se caracteriza porque se presenta acompañando las siguientes enfermedades:

- Reticulocitosis.
- Enfermedad hepática.
- Insuficiencia respiratoria.

El frotis de sangre periférica presenta macrocitos no tan grandes como la anemia megalobástica, los cuales son redondos con membranas delgadas, no hay neutrófilos hipersegmentados, la cuenta de leucocitos y plaquetas son normales generalmente.

La poiquilocitosis es el término que se utiliza para descubrir una variación en la forma de los eritrocitos mientras que la anisocitosis denota una variación del tamaño celular, ambos se reportan como leve, moderada o acentuada.

Los cuerpos de Howell-Jolly, son gránulos constituidos por fragmentos nucleares (DNA), en forma redonda y de color púrpura oscuro o violeta que se presentan por lo general solo en los eritrocitos.

Anexo 03. Valores hematológicos promedios encontrados en 20 caninos positivos a Ehrlichiosis, en fase aguda y crónica, con la prueba de T no apareada.

Cuadro 01. Se trabajó con 30 perros diagnosticados clínicamente con Ehrlichiosis canina, los cuales fueron sometidos a la prueba inmunocromatográfica diseñada para detectar anticuerpos de *Ehrlichia canis* en sangre y cuya sensibilidad y especificidad es de 98 y 100% respectivamente.

Resultados	Número	Porcentaje
Positivos fase aguda	09	30.0
Positivos fase crónica	11	36.7
Negativos	10	33.3
TOTAL	30	100

Cuadro 02. Prueba de t Glóbulos Rojos entre fase crónica con la aguda.

	Crónico	Agudo
Media	3502100	3012737.5
Varianza	7.0246E+11	6.077E+11
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	6.5982E+11	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	1.40701234	
P(T<=t) una cola	0.08738719	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	0.17477438	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 03. Prueba de t Glóbulos Blancos entre fase crónica con la aguda.

	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	5200	9955.55556
Varianza	5869090.91	2051358.02
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	4151111.11	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	5.45127841	
P(T<=t) una cola	1.229E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	2.458E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 04. Prueba de t de muestras independientes hemoglobina entre fase crónica y aguda.

	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	10.1241667	8.74
Varianza	6.81028106	4.756
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	5.88585458	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	1.33248677	
P(T<=t) una cola	0.09884205	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	0.19768411	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 05. Prueba de t de muestras independientes hematócrito entre fase crónica y aguda.

	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	31.9090909	27.9
Varianza	73.9008264	51.68
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	63.9014545	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	1.17130451	
P(T<=t) una cola	0.12762126	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	0.25524252	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 06. Prueba de t de muestras independientes de VCM entre fase crónica y aguda.

	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	86.0230833	91.95375
Varianza	457.09716	25.8919462
Observaciones	12	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	12	
Estadístico t	-0.92984318	
P(T<=t) una cola	0.18539018	
Valor crítico de t (una cola)	1.78228756	
P(T<=t) dos colas	0.37078035	
Valor crítico de t (dos colas)	2.17881283	

Cuadro 07. Prueba de t de muestras independientes de HCM entre fase crónica y aguda.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales		
	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	28.1191667	29.0222222
Varianza	25.2592447	4.73728395
Observaciones	12	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	16	
Estadístico t	-0.5623633	
P(T<=t) una cola	0.2908313	
Valor crítico de t (una cola)	1.74588368	
P(T<=t) dos colas	0.5816626	
Valor crítico de t (dos colas)	2.1199053	

Cuadro 08. Prueba de t de muestras independientes de CHCM entre fase crónica y aguda.

	<i>CHCMCRONICO</i>	<i>CHCMAGUDO</i>
Media	30.7818182	31.3316667
Varianza	13.8928512	1.74113889
Observaciones	12	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	14	
Estadístico t	-0.47644759	
P(T<=t) una cola	0.32055299	
Valor crítico de t (una cola)	1.76131014	
P(T<=t) dos colas	0.64110598	
Valor crítico de t (dos colas)	2.14478669	

Cuadro 09. Prueba de t de muestras independientes de las plaquetas entre fase crónica y aguda.

	<i>Crónico</i>	<i>Agudo</i>
Media	75090.9091	216675
Varianza	382809917	879778472
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	606445767	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	-13.4275802	
P(T<=t) una cola	9.102E-12	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	1.8204E-11	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 10. Prueba de t de muestras independientes de las abastomados entre fase crónica y aguda.

	<i>Abascronico</i>	<i>Absagudo</i>
Media	3.72727273	3
Varianza	4.74380165	18.8888889
Observaciones	12	10
Varianza agrupada	11.1090909	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	20	
Estadístico t	0.50960928	
P(T<=t) una cola	0.30795127	
Valor crítico de t (una cola)	1.72471824	
P(T<=t) dos colas	0.61590253	
Valor crítico de t (dos colas)	2.08596345	

Cuadro 11. Prueba de t de muestras independientes de los segmentados entre fase crónica y aguda.

	<i>Segcronico</i>	<i>segagudo</i>
Media	54.7272727	69.2222
Varianza	532.561983	104.17284
Observaciones	12	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	16	
Estadístico t	-1.95810452	
P(T<=t) una cola	0.03394487	
Valor crítico de t (una cola)	1.74588368	
P(T<=t) dos colas	0.06788974	
Valor crítico de t (dos colas)	2.1199053	

Cuadro 12. Prueba de t de muestras independientes de los linfocitos entre fase crónica y aguda.

	<i>lifcronico</i>	<i>linagudo</i>
Media	41.3636333	26.6666667
Varianza	589.504132	161.555556
Observaciones	12	10
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	17	
Estadístico t	1.81900814	
P(T<=t) una cola	0.04328497	
Valor crítico de t (una cola)	1.73960673	
P(T<=t) dos colas	0.08656993	
Valor crítico de t (dos colas)	2.10981558	

Anexo 04. HEMOGRAMA DE LOS CANINOS QUE PARTICIPARON EN EL TRABAJO

Muestra 01

Glóbulos Rojos	4 290 000	mm ³
Glóbulos Blancos	10 000	mm ³
Hemoglobina	12.1	g/dl
Hematocrito	39.1	%
Plaquetas	264 000	mm ³

* Formula Diferencial

Abastomados	01	%
Segmentados	69	%
Eosinófilos	04	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	26	%
Monocitos	00	%

* Constantes Corpusculares

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	92.1	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29.2	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31.0	g/dl

Muestra 02

Glóbulos Rojos	3 081 000	mm ³
Glóbulos Blancos	10. 000	mm ³
Hemoglobina	8.7	g/dl
Hematocrito	28	%
Plaquetas	180.000	mm ³

* Formula Diferencial

Abastomados	02	%
Segmentados	71	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	27	%
Monocitos	00	%

* Constantes Corpusculares

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	90.9	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.2	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31.0	g/dl

Muestra 03

Glóbulos Rojos	2 100 000	mm ³
Glóbulos Blancos	7 600	mm ³
Hemoglobina	6.5	g/dl
Hematocrito	19	%
Plaquetas	240 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	12	%
Segmentados	80	%
Eosinófilos	01	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	07	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	86	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29.5	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	34.2	g/dl

Muestra 04

Glóbulos Rojos	3 520 000	mm ³
Glóbulos Blancos	12 000	mm ³
Hemoglobina	10.0	g/dl
Hematocrito	32	%
Plaquetas	256 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	01	%
Segmentados	64	%
Eosinófilos	02	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	33	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	91.4	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.5	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	30.2	g/dl

Muestra 05

Glóbulos Rojos	1 640 000	mm ³
Glóbulos Blancos	11 400	mm ³
Hemoglobina	4.2	g/dl
Hematocrito	14	%
Plaquetas	210 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	01	%
Segmentados	46	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	53	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	85.3	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	25.6	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	30.0	g/dl

Muestra 06

Glóbulos Blancos	11 000	mm ³
Hemoglobina	8.5	g/dl
Hematocrito	28	%
Plaquetas	190 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	00	%
Segmentados	65	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	35	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	93.3	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.5	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	30.3	g/dl

Muestra 07

Glóbulos Rojos	3 740 000	mm ³
Glóbulos Blancos	10 000	mm ³
Hemoglobina	10.6	g/dl
Hematocrito	34	%
Plaquetas	220 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	00	%
Segmentados	72	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	28	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	90.9	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.3	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31.1	g/dl

Muestra 08

Glóbulos Rojos	2 280 000	mm ³
Glóbulos Blancos	2 200	mm ³
Hemoglobina	5.0	g/dl
Hematocrito	16	%
Plaquetas	40 000	mm ³

*** Formula Diferencial**

Abastomados	02	%
Segmentados	06	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	92	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	22	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	16	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31	g/dl

Muestra 09

Glóbulos Rojos	2 800 000	mm3
Glóbulos Blancos	3 800	mm3
Hemoglobina	10.1	g/dl
Hematocrito	31	%
Plaquetas	106 000	mm3

*** Formula Diferencial**

Abastomados	08	%
Segmentados	71	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	21	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	110	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	35	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	22	g/dl

Muestra 10

Glóbulos Rojos	3 282 000	mm3
Glóbulos Blancos	4 200	mm3
Hemoglobina	10.6	g/dl
Hematocrito	32	%
Plaquetas	60 000	mm3

*** Formula Diferencial**

Abastomados	03	%
Segmentados	85	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	12	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	96	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	32	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	33	g/dl

Muestra 11

Glóbulos Rojos	3 150 000	mm3
Glóbulos Blancos	2 200	mm3
Hemoglobina	9.3	g/dl
Hematocrito	28	%
Plaquetas	80 000	mm3

*** Formula Diferencial**

Abastomados	04	%
Segmentados	89	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	06	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	88.8	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29.5	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	33.2	g/dl

Muestra 12

Glóbulos Rojos	2 520 000	mm3
Glóbulos Blancos	7 600	mm3
Hemoglobina	8.6	g/dl
Hematocrito	26	%
Plaquetas	206 000	mm3

*** Formula Diferencial**

Abastomados	10	%
Segmentados	72	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	18	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	104	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	34.4	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	33	g/dl

Muestra 13

Glóbulos Rojos	2 870 000	mm3
Glóbulos Blancos	6 800	mm3
Hemoglobina	8.6	g/dl
Hematocrito	27	%
Plaquetas	50 000	mm3

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	03	%
Segmentados	50	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	47	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	94.07	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29.96	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31.85	g/dl

Muestra 14

Glóbulos Rojos	5 700 000	mm3
Glóbulos Blancos	6 000	mm3
Hemoglobina	16	g/dl
Hematocrito	54	%
Plaquetas	100 000	mm3

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	08	%
Segmentados	74	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	18	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	94.7	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.0	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	29.6	g/dl

Muestra 15

Glóbulos Rojos	3 940 000	mm ³
Glóbulos Blancos	7 000	mm ³
Hemoglobina	11.6	g/dl
Hematocrito	37	%
Plaquetas	90 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	03	%
Segmentados	57	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	40	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	93.90	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29.44	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	31.35	g/dl

Muestra 16

Glóbulos Rojos	3 700 000	mm ³
Glóbulos Blancos	4 000	mm ³
Hemoglobina	11.2	g/dl
Hematocrito	33	%
Plaquetas	70 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	03	%
Segmentados	38	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	59	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	89	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	30.2	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	33.9	g/dl

Muestra 17

Glóbulos Rojos	3 410 000	mm ³
Glóbulos Blancos	3 000	mm ³
Hemoglobina	10.2	g/dl
Hematocrito	31	%
Plaquetas	70 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	01	%
Segmentados	52	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	47	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	91	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	30	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	34	g/dl

Muestra 18

Glóbulos Rojos	3 800 000	mm ³
Glóbulos Blancos	10 000	mm ³
Hemoglobina	10.8	g/dl
Hematocrito	32	%
Plaquetas	90 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	04	%
Segmentados	42	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	54	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	84.2	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	28.4	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	33.7	g/dl

Muestra 19

Glóbulos Rojos	3 600 000	mm ³
Glóbulos Blancos	8 000	mm ³
Hemoglobina	7.5	g/dl
Hematocrito	30	%
Plaquetas	70 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	02	%
Segmentados	38	%
Eosinófilos	00	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	59	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	83.3	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	20.8	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	25	g/dl

Muestra 20

Glóbulos Rojos	3 300 000	mm ³
Glóbulos Blancos	10 000	mm ³
Hemoglobina	9.6	g/dl
Hematocrito	31	%
Plaquetas	180 000	mm ³

*** Fórmula Diferencial**

Abastomados	00	%
Segmentados	84	%
Eosinófilos	03	%
Basófilos	00	%
Linfocitos	13	%
Monocitos	00	%

*** Constantes Corpusculares**

Volumen Corpuscular Medio (VCM)	93,9	fl
Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)	29	pg
Concent. Hemog. Corpus. Media (CHCM)	30.9	g/dl

Anexo 05. Figuras que registran el proceso de la prueba E. canis Ab Test Kit.

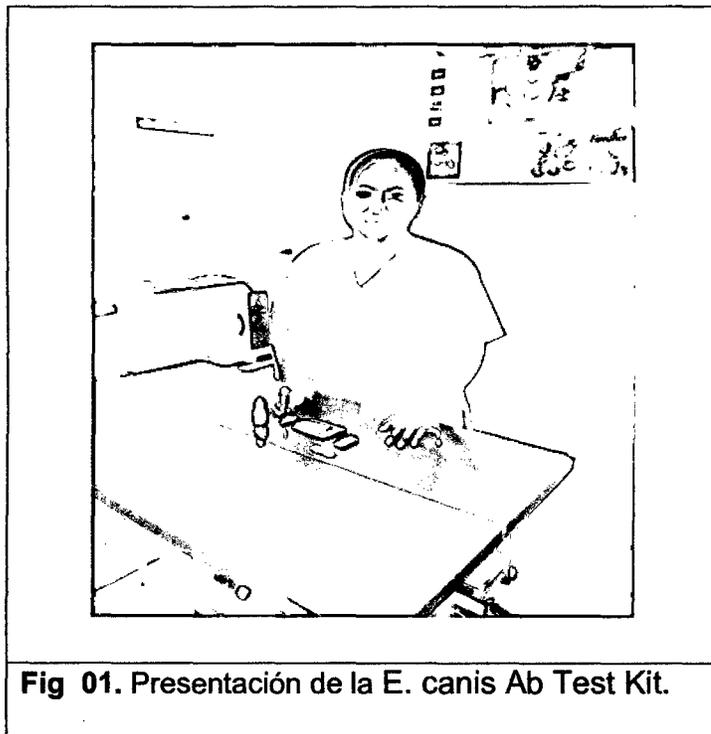




Fig 02. Aplicando sangre al Kit Diagnóstico.

