

UNIVERSIDAD NACIONAL "HERMILIO VALDIZÁN"

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS

**SIGNOS CLÍNICOS Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN
PACIENTES POSITIVOS A EHRlichiosis CANINA EN
HUÁNUCO**

TESISTA:

TANIA LEONOR SIFUENTES TOCAS

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO**

**HUÁNUCO – PERÚ
2015**

DEDICATORIA

A Dios por su amor infinito y por darme la fortaleza en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis padres MARINA y DARÍO, por todo el cariño, fuerza, dedicación y por el apoyo incondicional.

A mis amigos por formar parte de algo que el tiempo nunca modificará, nuestra amistad.

AGRADECIMIENTO

El saber significa un gran esfuerzo, y el logro del éxito un triunfo, que en el transcurso de los años he querido alcanzar. Dicho éxito ha significado angustias, sacrificios y deseos de lograr la meta que me propuse llena de ilusiones, la cual veo culminada hoy. Pero también sé que no fue solo mi esfuerzo, este logro se lo debo y agradezco con gran amor y cariño a:

- Mis padres por todo el esfuerzo, dedicación y paciencia para hacerme una persona de bien y brindarme una carrera universitaria.
- El Dr. Richard Tasayco, por tenerme tanta paciencia, por compartir conocimientos, dedicación, asesorarme e incentivarme en el proceso de elaboración y culminación de mi tesis. Siempre le estaré muy agradecida, para usted mi cariño y respeto.
- La Universidad Nacional Hermilio Valdizán por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente, especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y a su excelente grupo de docentes por su vocación y esmero por brindarme sus conocimientos.
- Mis amigos, Gracias por estar siempre presente, escucharme y compartir momentos alegres y difíciles a lo largo de mi carrera.
- Todos y cada uno, que de una u otra manera, colaboraron para ayudarme a alcanzar esta meta tan esperada, mil gracias. Que Dios los bendiga siempre.

SIGNOS CLÍNICOS Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN PACIENTES

POSITIVOS A EHRLICHIOSIS CANINA EN HUÁNUCO

Tania Leonor, SIFUENTES TOCAS

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar signos clínicos, identificar las alteraciones hematológicas más frecuentes, y observar inclusiones intracitoplasmáticas en frotices sanguíneos de pacientes positivos a Ehrlichiosis canina (Kit del Test Rápido Anigen) en la ciudad de Huánuco. Los perros muestreados presentaron historial de infestación reciente del vector y no fueron tratados con antibióticos, por los menos en el último mes. De 50 caninos muestreados, 10 resultaron positivos a *Ehrlichia canis*, de los cuales el 100% presentó una o más alteraciones en el hemograma. La alteración más frecuente fue la anemia, un bajo porcentaje presentó tricitopenia, y ningún paciente presentó pancitopenia ; además se identificó leucopenia en varios pacientes, y no se observó mórulas intracitoplasmáticas en ninguno de los casos. Se concluye que el 50% de los perros estudiados, presentaron leucopenia, neutropenia y eosinopenia, evidenciando un pobre desempeño del sistema inmunológico, otro 50% de los caninos positivos a *Ehrlichia canis* presentaron anemia y leucopenia; asimismo, la trombocitopenia no fue el hallazgo hematológico más común en los perros positivos a *Ehrlichia canis*, y las petequias con equimosis fueron signos clínicos que se presentaron solo en el 40% de ellos. Todos los perros estudiados tuvieron al menos un signo clínico específico o inespecífico de la enfermedad.

Palabras claves: Anemia, pancitopenia, trombocitopenia.

CLINICAL SIGNS AND HAEMATOLOGICAL PARAMETERS IN POSITIVE PATIENTS TO EHRLICHIOSIS CANINE IN HUÁNUCO

Tania Leonor, SIFUENTES TOCAS

ABSTRACT

The objective of this study was evaluating clinical signs, identifying the haematological alterations more frequent, and observing intracytoplasmic inclusions in sanguine frotices of positive patients to Ehrlichiosis canine (Test Rapid Anigen's Kit) at Huánuco's city. The sampled dogs had a history of recent infestation of the vector and were not treated with antibiotics, for the less in the last month. Of 50 sampled canines, 10 proved to be positive to Ehrlichiosis canine, of which the 100 % presented one or more alterations in the hemogram. The most frequent alteration was anemia, a low percentage presented tricytopenia, and no patient presented pancytopenia; besides leukopenia in several patients was identified, and intracytoplasmic morulas in no one of the cases were not observed. It is concluded that 50% of the studied dogs, they presented leukopenia, neutropenia and eosinopenia, evidencing a poor performance of the immune system, another one 50 % of the positive canines to *Ehrlichia canis* presented anemia and leukopenia; in like manner, the thrombocytopenia was not the most common haematological finding in the positive dogs to *Ehrlichia canis*, and the petechias with ecchymosis were clinical signs that they showed only upon 40 % of them. All the studied dogs had at least one clinical specific or nonspecific sign. of the disease.

Keywords: anemia, pancytopenia, thrombocytopenia

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEORICO.....	3
III. MATERIALES Y METODOS.....	29
3.1 Lugar de investigación.....	29
3.2 Nivel Y Tipo De La Investigación.....	29
3.3 MATERIALES.....	30
Material Biológico.....	30
Material de Laboratorio.....	30
Materiales de Escritorio.....	30
Material de oficina.....	30
3.4. MÉTODOS.....	31
Identificación de la muestra.....	31
Diagnóstico de <i>Ehrlichia canis</i>	31
Evaluación Clínica.....	33
Recolección y procesamiento de muestras.....	33

Frotis periférico.....	34
3.5 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	35
3.6 TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE DATOS.....	35
IV. RESULTADOS	36
V. DISCUSION.....	42
VI. CONCLUSIONES.....	45
VII. RECOMENDACIONES	46
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	47
IX. ANEXOS.....	55

LISTA DE CUADROS

EN EL TEXTO

Número		Pág.
1	Valores Hematológicos de la serie roja en caninos positivos a <i>Ehrlichia canis</i> en Huánuco.....	36
2	Valores Hematológicos de la serie blanca en caninos positivos a <i>Ehrlichia canis</i> en Huánuco.....	37
3	Promedios y valores extremos de la serie roja en caninos positivos a <i>E.canis</i>	38
4	Promedios y valores extremos de la serie Blanca en caninos positivos a <i>E.canis</i>	38
5	Signos clínicos de Ehrlichiosis canina en 10 caninos de la ciudad de Huánuco.....	40

EN EL ANEXO

6	Valores hematológicos normales en caninos.....	56
---	--	----

LISTA DE FIGURAS

EN EL TEXTO

Pág.

Número

1	Método para la Realización de la prueba.....	32
2	Resultado Negativo.....	32
3	Resultado Positivo.....	33

EN EL ANEXO

Número

1	Fotografía Evaluación de signos clínicos.....	57
2	Fotografía Limpieza y Desinfección para tomar muestras sanguíneas....	57
3	Fotografía Toma de muestras sanguíneas.....	58
4	Fotografía Garrapatas en un canino.....	58
5	Fotografía Equimosis abdominal de un canino.....	59
6	Fotografía Ascitis y equimosis abdominal en un canino.....	59
7	Fotografía Tinción Wright.....	60
8	Fotografía Observación de láminas.....	60

I. INTRODUCCIÓN

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad producida por una Rickettsia; este microorganismo se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo, al igual que las garrapatas, su principal vector. *Ehrlichia canis* fue identificada por primera vez en 1935 en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard, llamada inicialmente *Rickettsia canis*, pero más tarde fue renombrado en 1945 como *Ehrlichia canis*, en honor al bacteriólogo alemán Paul Ehrlich.

La *E. canis*, es un microorganismo Gram negativo, que se comporta como un parásito obligado intracelular, siendo reconocida como una enfermedad infecciosa importante que ocasiona efectos negativos en la salud de los animales, que se caracterizan especialmente por decaimiento y cuadros hemáticos como anemia y trombocitopenia, es potencialmente fatal en los perros y otros miembros de la familia Canidae.

La Ehrlichiosis tiene importancia zoonótica, siendo los perros los reservorios para este agente, acercando así los vectores hacia el ambiente hogareño y han sido reportados múltiples casos alrededor del mundo. Se presentan como una enfermedad aguda similar a la gripe, caracterizada por fiebre, cefalea, malestar y a veces muerte en seres humanos que no son tratadas oportuna y adecuadamente.

En Huánuco se ha reportado un estudio sobre prevalencia de *Ehrlichia canis* en perros; sin embargo, no hay reportes sobre los parámetros hematológicos en los casos positivos a la infección.

El presente trabajo pretende aportar información que permita conocer los signos clínicos y parámetros hematológicos en perros positivos a Ehrlichiosis canina en Huánuco; proporcionando así una guía práctica para interpretar alteraciones hematológicas si en la historia clínica hay antecedentes de infestación por el vector. Asimismo, sirve para crear una base de datos útil, práctica y de fácil acceso que permita valorar a los pacientes en el ambiente de la región, ya que está bien documentado que los individuos presentan ajustes en los valores hematológicos dependiendo de cada zona, de su entorno, clima, humedad, altitud y de las interacciones que tenga cada uno con dicho medio; lo que permitiría brindar un servicio completo y de calidad a las mascotas y sus propietarios.

II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes

En Venezuela, realizaron un estudio con muestras de sangre tomadas a 50 caninos infestados con garrapatas, así como a 33 personas que mantenían contacto con estos perros y 20 que no tenían contacto con los mismos. Como resultado, se observó que el 32% de los animales en estudio presentaban parasitemia en plaquetas, monocitos y linfocitos, así como también el 45% de las personas en contacto con ellos, mientras que en el grupo de personas sin contacto no se hallaron evidencias de parasitemia. (Tami *et al.*, 1994)

Por otro lado, en una investigación realizada en Tailandia por Suksawat *et al.* (2001) en 49 perros que presentaban fiebre, anemia o trombocitopenia, identificaron que el 3% de ellos, resulto con elevados títulos de anticuerpos a *E. canis*.

En un estudio realizado en Brasil por Dagnone *et al.* (2003), se seleccionaron 129 perros para determinar la frecuencia de Ehrlichiosis canina asociada con anemia, trombocitopenia y presencia de garrapatas; del total, 68 animales tuvieron fases evolutivas de *R. sanguineus*, 61 padecían trombocitopenia; el 21 % de los animales anémicos, tuvo Ehrlichiosis.

Así mismo, un estudio realizado en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán (México); se observó que el 64% de los perros muestreados presentaron títulos

positivos a la enfermedad, y que el 100% de los perros positivos presentó una o más alteraciones en el hemograma (Romero, 2011).

2.1.1 Ehrlichiosis en el Perú

En el Perú se han reportado solamente dos agentes infecciosos, pertenecientes a la familia Anaplasmataceae: *Ehrlichia canis* y *Anaplama marginale*, causantes de la Ehrlichiosis monocítica canina y Anaplasmosis bovina respectivamente (Vinasco *et al.*, 2007).

Las investigaciones para el reconocimiento de la Ehrlichiosis canina en nuestro país, comenzó en el año 2003, mediante la realización de estudios de seroprevalencia en caninos de Lima metropolitana, alcanzándose cifras 16.5 % (Adriazen *et al.*, 2003) y en Sullana- Piura hasta de 76 % (San Miguel, 2006).

Así también, se han logrado determinar el grado de concordancia de pruebas hematológicas y serológicas, justamente las pruebas más usadas en el diagnóstico laboratorial de Ehrlichiosis en caninos (Hoyos, 2005).

Recientemente se ha identificado molecular y serológicamente a *Ehrlichia canis* en el Perú. En dicho estudio se llegó a determinar que la *Ehrlichia canis* identificada en nuestro país es 99.9 % genéticamente similar a dos subespecies de *Ehrlichia canis* identificada en Venezuela (Vinasco *et al.*, 2007).

En nuestro país, existen cuatro reportes de Ehrlichiosis humana .En el 2008, en Lima metropolitana, se detectó mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) que el 20.1%; y el 26.1% de pacientes resultaron seropositivos a *Ehrlichia Chaffeensis* y *Ehrlichia canis*, respectivamente, mientras que el 13.3% resultaron positivas a ambas bacterias. Al año siguiente, se realizó un estudio similar, reportando 21.1 % y 23.3% de pacientes resultaron seropositivos a *Ehrlichia Chaffeensis* y *Ehrlichia canis*, respectivamente, utilizando la misma prueba (**Barrios 2010**). Así mismo, se detectó un 11.1% de muestras sanguíneas con corpúsculos de inclusión basófilos en linfocitos, de las cuales 5 resultaron positivas a *E. chaffeensis* y *E. canis*; mientras que 8.9 % de las muestras sanguíneas resultaron positivas a PCR para *E. canis* (**Moro et al., 2009**).

2.2 Ehrlichia canis

Ehrlichia canis, al igual que el resto de las especies de Ehrlichias, es una bacteria gramnegativa, que se comporta como un parásito intracelular obligado. Las células diana de *E. canis* son las células del sistema mononuclear fagocitario (SMF) y más concretamente los monocitos y algunos tipos de linfocitos circulantes. Así mismo, puede afectar múltiples especies de la familia *canidae*, entre ellas el zorro, el coyote y el chacal, las cuales actúan como reservorios naturales (**Neer, 1995**).

2.2.1 Historia

Ehrlichia canis fue identificada por primera vez en el año 1935, en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard, tras observar que algunos perros alojados en sus instalaciones e infestados por garrapatas desarrollaban ocasionalmente un proceso febril agudo que cursaba con anemia. En las extensiones sanguíneas de los perros afectados, observaron unos pequeños microorganismos en el interior de los monocitos, creyendo en un principio que se trataba de alguna especie de *Rickettsia*. Inicialmente el microorganismo recibió el nombre de *Rickettsia canis* (Donatien y Lestoquard, 1935). Moshkovskii sustituyó en 1945 ese nombre por el actual de *Ehrlichia canis*, como reconocimiento a Paul Ehrlich, gran biólogo alemán (Moshkovski, 1945).

La Ehrlichiosis canina llamó mucho la atención cuando cientos de perros militares estadounidenses, y dentro de ellos, muchos pastores alemanes, murieron de la enfermedad durante la guerra de Vietnam. *E. canis* llamó aún más la atención a fines de la década de 1980, cuando se sospechó de forma errónea que la rickettsia había infectado a seres humanos. Sin embargo en 1991, se encontró que una especie nueva del género *Ehrlichia*, *E. chaffensis*, provocaba Ehrlichiosis monocítica humana.

Recientemente ha sido confirmado como zoonosis, aunque no hay evidencia de transmisión directa de los perros al hombre. Se han comunicado

46 casos de infección con Ehrlichiosis *canina* en el hombre hasta la fecha (Marín *et al.*, 1998).

2.2.2 Distribución

E. canis presenta una distribución mundial (Asia, África, Europa y América). Existen referencias de la presencia de la Ehrlichiosis en casi todo el mundo. Durante la década de los 40, se describieron casos de Ehrlichiosis canina en distintos países del centro y sur de África y en la India. (Ewing, 1969).

2.2.3. Etiología de la Ehrlichiosis

Es causada por Rickettsias, nombre genérico de un grupo de diminutos microorganismos, que presentan caracteres intermedios entre bacterias más pequeñas y los virus. Tienen ciertas características comunes con las bacterias gram negativas, pero su fracaso en crecer en un medio de cultivo y su multiplicación intracelular demuestra que sus necesidades metabólicas se asemejan a los virus filtrables; sin embargo, crecen en el tubo digestivo de las garrapatas. (West, 1992)

Son organismos en forma de: bastoncillos, pleomorficos, elipsoidales, cocoides, diplococoides y ovalados. Están rodeados por una doble membrana, aparecen en forma de colonias compactas que recuerdan una mórula. Se

localiza dentro de una membrana en el citoplasma y se reproducen por fisión binaria. (Greene, 1993).

2.2.4 Clasificación taxonómica

Phylum : Proteobacteria
Orden : *Rickettsiales*
Familia : Anaplasmataceae
Género : *Ehrlichia*
Especie : *E. canis*. (Dumler et al., 2001).

2.2.5 Transmisión

La garrapata parda del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), es el vector y reservorio que puede transmitir la enfermedad hasta cinco meses después de haber adquirido la *Rickettsia* durante su alimentación (Dorland et al.1989).

El microorganismo se transmite a través de la mordida de las garrapatas, las cuales ingieren el microorganismo de un huésped infectado, es decir transmisión transtádica y no transovárica. (Marín et al., 1998) La Ehrlichiosis canina, así como otras enfermedades producidas por *Rickettsias*, pueden ser transmitida en forma yatrógena por transfusiones de sangre contaminada con leucocitos o plaquetas infectados. (Birchard et al., 1996).

2.2.6 Taxonomía y características del *Rhipicephalus sanguineus*

Phylum	: Arthropoda
Clase	: Arácnida
Subclase	: Acari
Orden	: Parasitiformes
Suborden	: Ixodida
Familia	: Ixodidae
Género	: Rhipicephalus
Especie	: <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Anderson and Magnarelli 2008).

Rhipicephalus sanguineus, tiene cabeza en forma de vaso y la cuarta articulación coxal es del mismo tamaño que las otras. Carecen normalmente de ornamentación, presenta ojos y festones, el hipostoma y los palpos son cortos y la parte dorsal de la base del capítulo es de forma hexagonal. La coxal presenta dos espinas fuertes, los machos tienen por lo general escudos adanales y accesorios y frecuentemente aparece una prolongación caudal cuando están repletos de comida. El surco anal se halla detrás del ano. Los espiráculos tienen forma de coma y son cortos en la hembra y largos en el macho. Los machos alcanzan una longitud de hasta 3,5 mm, las hembras que no han chupado sangre hasta 3 mm y las repletas de sangre hasta 12mm (Soulsby, 1992).

2.2.7 Ciclo evolutivo del *Rhipicephalus sanguineus*

Son garrapatas de tres hospedadores, es decir, las larvas (tres pares de patas), la ninfa (cuatro pares de patas) y los de estadio adulto parasita su correspondiente hospedador. En la Naturaleza, la duración del ciclo depende de la temperatura, humedad relativa del aire y del oportuno hallazgo del hospedador. Todos los estadios de las garrapatas suben desde las plantas sobre los animales de sangre caliente. Los adultos son parásitos de los carnívoros salvajes y domésticos, especialmente las liebres y los erizos. Las etapas inmaduras se alimentan de los mamíferos pequeños como los roedores. En todo el mundo los perros son virtualmente los únicos huéspedes de las etapas adultas. La hembra baja del huésped definitivo y ovopone, provocando que los estadios inmaduros (larvas y ninfas) se encuentren en casa y al no encontrar otro huésped se suben al perro nuevamente. Las garrapatas aparecen masivamente sobre todo en primavera y en otoño. Esto forma el hecho de que las garrapatas necesitan hasta tres años para completar su evolución en zonas templadas con invierno suave. Por consiguiente después del reposo invernal, los diferentes estadios evolutivos (larvas, ninfas y adultos) de varias generaciones de garrapatas, atacan simultáneamente a los hospedadores; tras mudar en el suelo, vuelve a buscar al final de verano / otoño nuevos hospedadores, por lo que se puede producir una infestación masiva (West, 1992).

2.2.8 Patogénesis de la Ehrlichiosis canina

Una gran variedad de factores, incluso 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 inmunotransferencia de respuesta de IgG 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). Después de una fase de incubación sobrevienen tres etapas de la enfermedad en las infecciones experimentales y naturales (Greene, 1993).

La fase aguda de la Ehrlichiosis es variable en duración, (2 a 4 semanas) y en intensidad (leve a grave). La replicación del microorganismo ocurre dentro de células mononucleares infectadas; entonces el microbio se disemina a órganos que contienen fagocitos como los macrófagos mononucleares. Estos órganos son principalmente los del sistema fagocítico mononuclear (SFM) de los nódulos linfáticos, bazo, hígado y médula ósea, dando como resultado hiperplasia linforreticular de esta línea celular y organomegalia (linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia). La trombocitopenia (por destrucción periférica de plaquetas), con anemia o sin ella, y la leucopenia (o leucocitos bajos), es común durante esta fase. Las células enfermas en apariencia, atacan la microvasculatura o migran a las

superficies subendoteliales de los órganos blandos y se producen vasculitis o inflamación (Greene, 1993).

En el pico febril se registra leucemia intensa (4000 a 5000 leucocitos / μ l) debido sobre todo a la disminución primero de linfocitos y luego de neutrófilos; la disminución de la vida de las plaquetas (no merma su producción), causa trombocitopenia. La destrucción plaquetaria o la utilización origina vasculitis y respuesta inflamatoria, o respuesta inmunológicas o de coagulación del huésped, que causa trombocitopenia. La disfunción plaquetaria ocurre en forma directa por la infección o interferencia por hiperglobulinas (Greene, 1993).

El alto porcentaje de plaquetas parasitadas ocurre durante el episodio de parasitemia inicial. A los pocos días se observa plaquetas infectadas, disminuye de repente el número de plaquetas (en general 20000 células o menos / μ l.) y no se vuelven a ver los parásitos (Guzmán et al., 1999).

El número de leucocitos varía durante la fase aguda, sin embargo, el aumento del secuestro por mecanismo inmunológico o inflamatorio que utilizan leucocitos circulantes puede disminuir el número. También llega a verse menos producción de células rojas como resultado de la respuesta inflamatoria (Greene, 1993).

La fase subclínica de la Ehrlichiosis se caracteriza por persistencia del microorganismo y el aumento de la respuesta de anticuerpos después de la recuperación aparente de la fase aguda; aunque esta respuesta sea incapaz de

eliminar al microorganismo intracelular, la infección progresa a la fase crónica. Los cambios hematológicos durante este estadio de la enfermedad, son similares a la fase aguda, aun sin signos clínicos (**Marín et al., 1998**).

La fase crónica, ocurre cuando el sistema inmunitario del huésped es ineficaz y el microorganismo no puede ser eliminado. La gravedad de la enfermedad se relaciona con la cepa de Ehrlichiosis, la raza y la edad del animal. La producción alterada de elementos sanguíneos por la médula ósea es la principal característica de esta fase. En áreas no endémicas, la Ehrlichiosis canina por lo general es crónica (**Greene, 1993**).

2.2.9 Cuadro clínico

La sintomatología asociada a la Ehrlichiosis canina es muy inespecífica, habiéndose llegado a identificar más de 50 signos clínicos diferentes asociados a esta patología (**Sainz, 1996**).

Se distinguen tres fases en esta enfermedad tanto a nivel del cuadro clínico como de la patogenia, si bien clínicamente no siempre es sencillo conocer la fase de la enfermedad. Este hecho se debe a que, aunque para cada una de estas fases se describe un cuadro clínico con predominio de una sintomatología concreta, una gran variedad de signos clínicos pueden aparecer tanto en la fase aguda como en la crónica. La fase subclínica es probablemente la más sencilla de identificar puesto que se caracteriza por la

ausencia de sintomatología, apareciendo únicamente alteraciones biopatológicas (Woody y Hoskins, 1991).

2.2.9.1 Fase Aguda

Los signos clínicos de esta fase empiezan de la primera a la tercera semana pos infección y en lo habitual son benignos e inaparentes. En la mayoría de los casos son pasajeros, con frecuencia desaparecen en dos a cuatro semanas. Los hallazgos más frecuentes han sido: depresión y letargia, anorexia, pérdida de peso, pirexia, marcha rígida y resistencia a andar son signos que duran de dos a cuatro semanas (Greene *et al.*, 1993). También presentan, linfadenopatía generalizada, disnea o intolerancia al ejercicio debido a la neumonitis. La disnea y cianosis es el resultado de hemorragia o de la presencia de cambios inflamatorios en los pulmones. En la fase aguda, los signos clínicos y los datos del examen físico son principalmente resultado de la hiperplasia diseminada del sistema fagocítico mononuclear (SFM) y de anormalidades hematológicas como: esplenomegalia, hepatomegalia, signos neurológicos, causados por meningoencefalitis, petequias y equimosis por trombocitopenia. Los títulos de anticuerpos pueden ser negativos durante esta fase, ya que se requieren tres semanas para que se desarrollen significativamente (Birchard *et al.*, 1996).

Aproximadamente en el 40% de los perros afectados en la fase aguda de la enfermedad se encuentran garrapatas. Los signos clínicos de la fase aguda resuelven sin tratamiento, sin embargo los perros pueden permanecer infectados y llegar a la fase subclínica de la enfermedad, lo cual dura de seis a nueve semanas y termina con el desarrollo de la fase crónica. No obstante, la fase subclínica puede persistir por periodos de meses o años (**Birchard *et al.*, 1996**).

2.2.9.2 Fase Subclínica

En la fase subclínica, los pacientes están asintomáticos. Pueden identificarse cambios hematológicos y bioquímicos leves (**Merck y col. 1993; Birchard *et al.*, 1996**).

2.2.9.3 Fase Crónica

En la fase crónica, los signos pueden ser leves o intensos, se desarrollan de 1 a 4 meses después de la inoculación del microorganismo y reflejan las anomalías hematológicas y la hiperplasia del sistema fagocítico mononuclear (SFM); se pueden observar cualquiera de los siguientes signos: pérdida severa de peso, pirexia y sangrado espontáneo. La hemorragia ocurre en menos del 50% de los perros con *Ehrlichiosis*. Presentan en el abdomen y en mucosas hemorragias petequiales y equimóticas; también hay sangrado

prolongado en los sitios de venopunción. Las hemorragias internas pueden producir debilidad, palidez de mucosas, epistaxis, melena, linfadenopatía generalizada, hepatoesplenomegalia, uveítis anterior o posterior, o ambos; signos neurológicos causados por meningoencefalomielitis y edema intermitente de los miembros (Birchard *et al.*, 1996).

Otras anormalidades incluyen anisocoria, disfunción cerebelosa y temblores. La anisocoria puede resultar de afección neurológica u ocular (Marín *et al.*, 1998). Los hallazgos clínicos pueden incluir esplenomegalia notable, glomerulonefritis, insuficiencia renal, neumonitis intersticial, ataxia cerebral, depresión, paresía e hiperestesia. También monocitopenia, bicitopenia o pancitopenia debido a la hipoplasia de la médula ósea; plasmocitosis de la médula ósea o esplénica, linfocitos granulares; hiperglobulinemia causado por gammapatía policlonal (o menos a menudo monoclonal), hipoalbuminemia y proteinuria. Algunos perros, especialmente los pastores alemanes, presentan una fase crónica que se inicia después de dos a cuatro semanas (Fenner, 1991).

2.2.10 Diagnóstico

En cualquier proceso patológico para llegar al diagnóstico es necesario previamente presuponer la compatibilidad del proceso con el diagnóstico.

Un mismo cuadro clínico puede ser compatible con varias enfermedades y una misma enfermedad puede tener presentaciones clínicas diversas; por ello, habitualmente se realiza una primera aproximación a los posibles diagnósticos diferenciales en base a las características clínicas del proceso y posteriormente se confirman o descartan estos diagnósticos con pruebas laboratoriales (Scott *et al.*, 2001).

2.2.10.1 Diagnóstico clínico

El cuadro clínico de la Ehrlichiosis canina es totalmente inespecífico: depresión, letargia, pérdida de peso, anorexia, fiebre, linfadenomegalia. Estos signos clínicos pueden aparecer en numerosas enfermedades y no siempre aparecen conjuntamente en el curso de la Ehrlichiosis canina. Por otro lado, el cuadro clínico de la Ehrlichiosis también varía en función del animal y de la fase de la enfermedad. La aparición de cuadros hemorrágicos como epistaxis, petequias en piel o mucosas, melena, hematuria, hipema o hemartrosis hacen más probable la inclusión de la Ehrlichiosis en un listado de diagnósticos diferenciales; sin embargo, esta sintomatología hemorrágica se presenta en menos de la mitad de los perros con Ehrlichiosis (Troy y Forrester, 1990).

La detección de garrapatas en la exploración o el conocimiento de una infestación previa en un animal enfermo, o incluso sano, es

suficiente para sugerir una probable infección por Ehrlichia, en especial, en áreas con una alta tasa de prevalencia.

Así pues, el cuadro clínico puede sugerir la presencia de Ehrlichiosis, si bien no existen signos patognomónicos de la enfermedad. En cualquier caso, el análisis de la sintomatología clínica es fundamental para; poner en marcha las pruebas encaminadas al diagnóstico de esta enfermedad (**Troy y Forrester, 1990**).

2.2.10.2 Diagnóstico laboratorial

Examen microscópico del agente etiológico

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).

Examen hematológico

La trombocitopenia y la anemia no regenerativa son los hallazgos hematológicos más constantes en los casos agudos y crónicos (Ettinger, 1992).

La trombocitopenia puede aparecer a los 15 – 20 días post infección y puede perdurar durante todas las fases de la enfermedad (Codner y Farris-Smith, 1986). El diagnóstico de laboratorio mediante la detección de la *E. canis* en los frotis de leucocitos periféricos no es eficiente en la práctica clínica a causa de la presencia variable del organismo en la sangre periférica (Ettinger, 1992).

Bioquímica sanguínea

Hiperproteinemia con hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia son las alteraciones bioquímicas predominantes en perros infectados por *E. canis*. La hiperproteinemia es debida a una hiperglobulinemia producida por un estímulo antigénico crónico (Troy *et al.*, 1980). El aumento de globulinas no está relacionado con la cantidad de anticuerpos producidos frente a *E. canis*, como con la duración de la enfermedad y la producción de

autoanticuerpos (**Reardon y Pierce, 1981**). Mediante electroforesis sérica se suele observar hiperglobulinemia policlonal, aunque existen casos en donde se presentan gammopatias monoclonales (**Neer, 1995**).

La hipoalbuminemia tiene diversas causas, durante la primera fase de la enfermedad puede deberse al agotamiento de la albúmina en el proceso inflamatorio y el catabolismo proteico asociado a la enfermedad (**Woody y Hoskins, 1991**) y a la pérdida periférica de albúmina a fluidos edematosos por el incremento de la permeabilidad vascular o pérdida de sangre.

La hipoalbuminemia también podría deberse como mecanismo compensatorio de la hiperglobulinemia, para así contrarrestar un incremento de la presión oncótica y prevenir el aumento de la viscosidad de la sangre. Durante la fase crónica la causa de la hipoalbuminemia podría ser la glomerulopatía y la vasculitis (**Woody y Hoskins, 1991**). Se ha observado una relación inversamente proporcional entre la cantidad de proteína perdida en orina y la concentración sérica de albúmina (**Codner y Maslin, 1992**).

Análisis de orina

Las alteraciones en la orina mayormente detectadas en infecciones experimentales durante la fase aguda de la enfermedad son la proteinuria y la hematuria (**Codner y Maslin, 1992**).

Experimentalmente se observa una pérdida máxima de proteínas urinarias, que consiste en especial de albúmina, dos y media a tres y media semanas después de la inoculación y se resuelve alrededor de las seis semanas después de la infección (Neer, 1995). La proteinuria y hematuria desaparecen durante la fase subclínica y vuelve a aparecer durante la fase crónica, esta vez relacionada con la existencia de lesiones glomerulares inmunomediadas (Troy *et al.*, 1980).

Diagnóstico serológico

Los títulos elevados de anticuerpos se pueden observar tras la exposición al agente durante la fase aguda, subclínica y crónica de la infección; e incluso después de un tratamiento efectivo. En fases iniciales de la infección aguda y en animales moribundos se pueden encontrar títulos negativos; en los primeros por no haber dado tiempo a la producción de una respuesta humoral, y en los segundos por agotamiento de la producción de anticuerpos (Cohn, 2003). En el suero se detectan anticuerpos antiehrlichia del tipo inmunoglobulina G desde los 7 días post-infección (Neer, 1995), durante los siete primeros días posteriores a la inoculación (PI), los títulos de anticuerpos consisten en Ig A e Ig M y alrededor del día 20 la mayor parte de anticuerpos corresponde a Ig G y en animales no tratados las

concentraciones de anticuerpos llegan a alcanzar valores máximos a los 80 días de la infección (Neer, 1995).

Son dos las técnicas serológicas más empleadas para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina: La inmunofluorescencia indirecta y las técnicas de enzimoimmunoensayo. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es la técnica más empleada tanto en medicina veterinaria como en medicina humana y presenta una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de *E. canis* (Ristic y Holland, 1993)

En relación con su especificidad, se ha comprobado la ausencia de reacciones cruzadas con un gran número de agentes: *Leptospira canicola*, *Brucella canis*, herpesvirus canino, virus de la parainfluenza, *Borrelia burgdorferi* y diversas Rickettsias como *R. tsutsugamushi*, *R. canada*, *R. burnetti*, *R. mooseri*, *R. akari* (Magnarelli y Anderson, 1993); Pero se ha señalado que los anticuerpos de *E.ewingii* reaccionan en forma cruzada a *E.canis* y *E.chaffensis* y el uso de uno de estos antígenos detecta infección con algunos de los tres, mientras que los sueros con *E.canis* pueden reaccionar en forma cruzada con antígenos de *E. phagocytophila*. (Waner et al., 2000)

Recientemente se han comercializado pruebas serológicas de muestreo que emplean la tecnología ELISA, para su empleo rápido en

la propia clínica veterinaria, con un valor cualitativo y no cuantitativo. Se ha observado una buena correlación entre los resultados de estas técnicas de ELISA y la inmunofluorescencia indirecta con una sensibilidad igual o superior al 71% y una especificidad que puede llegar al 100%.

Estas pruebas rápidas pretenden, ante todo, tener un valor orientativo, siendo la especificidad y sensibilidad superior en el caso de la IFI (Waner *et al.*, 2000).

Diagnóstico molecular

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica molecular basada en las propiedades bioquímicas del ADN, asociadas a la composición y secuencia de nucleótidos. La PCR emplea segmentos cortos y simples de nucleótidos, llamados cebadores, cuyas secuencias son complementarias de las secuencias del ADN del organismo que se investiga. La amplificación de los cebadores permite la identificación del ADN bacteriano.

Los cebadores y otros reactivos necesarios para que se produzca la reacción en cadena de la Polimerasa se añaden a un volumen de solución que contiene ADN representativo de la muestra de estudio, incluido ADN del hospedador y del microorganismo que se busca. La

muestra puede ser cualquier tejido del hospedador que pueda portar al agente investigado (Sellon, 2003).

Los cebadores empleados para la detección de agentes Ehrlichiales pueden ser genéricos o especie-específicos. Los laboratorios de diagnóstico suelen emplear cebadores genéricos y, cuando el resultado es positivo, emplean cebadores especie-específicos (Cohn, 2003).

Si bien en principio, el diagnóstico molecular parece ser el más específico y fiable en cuanto a la detección de organismos, tiene también sus limitaciones. Así la extremada sensibilidad de estas pruebas, puede conducir con facilidad a resultados falsos positivos por contaminación. Por otro lado, tras la muerte del microorganismo investigado, sus ácidos nucleicos pueden permanecer en el hospedador, sin que el período de permanencia de los mismos se conozca en la actualidad (Sellon, 2003).

Aunque es menos probable, se pueden observar falsos negativos debido a la presencia en la muestra de inhibidores de la PCR, como la heparina. También la elección de la muestra puede condicionar los resultados. Las Ehrlichias y fundamentalmente *Ehrlichia canis* podrían permanecer secuestradas en células de tejidos del sistema mononuclear fagocitario (bazo, médula ósea); generalmente las muestras empleadas en el diagnóstico rutinario proceden de sangre del

paciente, por lo que se podría obtener resultados negativos en sangre y existir *Ehrlichia canis* secuestrada en otros tejidos (**Harrus et al., 2001**)

Al comparar la PCR con otras técnicas diagnósticas, se observa que su sensibilidad para la detección de *E. canis* tanto en sangre como en otros tejidos, parece ser similar o ligeramente inferior a la de otras técnicas de uso habitual como la IFI o el ELISA, por lo que las pruebas de diagnóstico molecular no deben suplir a las pruebas serológicas en el diagnóstico de la Ehrlichiosis y deben considerarse pruebas complementarias a las tradicionalmente empleadas (**Sellon, 2003**).

2.2.10.3 Diagnóstico diferencial

Debido a la gran variedad de signos clínicos con los que cursa la Ehrlichiosis, el diagnóstico diferencial debe incluir numerosas patologías. (**Sainz, 1996**). Se debe diferenciar de otras enfermedades transmitidas por garrapatas como la babesiosis o la hepatozoonosis.

Otra patología con sintomatología y alteraciones en la analítica sanguínea similares, es el lupus eritematoso sistémico. En Ehrlichiosis, a pesar de la gran cantidad de autoanticuerpos producidos no se han encontrado anticuerpos antinucleares, característicos del lupus eritematoso sistémico (**Harrus et al., 2001**).

Por último, el curso crónico de la Ehrlichiosis canina hace posible la concurrencia con cualquier otro proceso patológico, lo que puede despistar en gran medida a la hora de efectuar un diagnóstico. En este sentido la Ehrlichiosis canina puede presentarse asociada a un gran número de patologías esporádicas, infecciosas y/o parasitarias (Ascaso, 2001).

2.2.11 Pronóstico

El pronóstico de la Ehrlichiosis canina es excelente con el tratamiento apropiado, a menos que la médula ósea se encuentre muy hipoplásica. La respuesta clínica en las formas crónicas puede tardar de 3 a 4 semanas. La forma crónica de la enfermedad parece ser más grave en perros Pastor Alemán y Doberman pinsher (Birchard et al., 1996; Guzmán et al., 1999).

2.2.12 Tratamiento

El tratamiento de elección es la doxiciclina a dosis de 5 mg/Kg cada 12 h. o como una sola dosis de 10 mg/Kg cada 24 h. durante periodos de 28 a 30 días (Archila, 2007).

El dipropionato de imidocarb, es el otro gran antirickettsial. Tiene muy buena tolerancia y es una buena alternativa, para cuando se produzcan recidivas o poca respuesta con las tetraciclinas. Se emplea a dosis de 5 mg/kg por vía subcutánea, en inyección única o bien con dos inyecciones

separadas entre ambas, quince días. Recientemente se ha descrito un nuevo protocolo similar al anterior, pero con una separación entre las dos inyecciones de doce semanas (**Ascaso, 2001**).

Se recomienda administrar atropina, antes del Imidocarb, a dosis de 0,025mg/Kg a fin de evitar o minimizar los efectos indeseables del imidocarb, como son la excesiva salivación, diarrea, disnea, exudado nasal seroso (**Archila, 2007**).

En casos graves de anemia, además del tratamiento antimicrobiano se aconseja transfusión sanguínea, (plasma rico en plaquetas), y si hay deshidratación aplicación de fluidoterapia. Cuando hay trombocitopenia grave que hace peligrar la vida del animal, se pueden utilizar los corticoides (prednisona) a corto plazo (2 a 7 días) recordar disminuir la dosis por efecto adrenal. También son útiles cuando hay poliartritis y meningitis (**Archila, 2007**).

Es preciso practicarse controles hematológicos, así como pruebas de detección del parásito, (IFA o PCR), después de finalizar el tratamiento, ya que éste no es fácil eliminar en la mayoría de los casos y ha de volverse a instaurar de nuevo el tratamiento e incluso es posible que el parásito persista de por vida en el animal (**Archila, 2007**).

2.3. Definición de términos básicos

- **Anemia:** es una enfermedad hemática que es debida a una alteración de la composición sanguínea y determinada por una disminución de la masa eritrocitaria que condiciona una concentración baja de hemoglobina.
- **Anisocoria:** Es un signo médico que se define como una asimetría del tamaño de las pupilas, debido a un diferente estado de dilatación de dicha estructura, sea por una miosis (contracción pupilar) o una midriasis (dilatación pupilar) anormal y unilateral.
- **Ataxia:** es un tipo de trastorno del movimiento caracterizado por alteraciones del equilibrio y la coordinación.
- **Equimosis:** es una coloración causada por el sangrado superficial dentro de la piel o de las membranas mucosas como la boca, debido a la ruptura de vasos sanguíneos como consecuencia de haber sufrido algún golpe contuso, el tipo más leve de traumatismo.
- **Hemartrosis:** Derrame de sangre en una cavidad articular. Las situaciones más frecuentes son los traumatismos y las anomalías de la coagulación, ya sean adquiridas o congénitas.
- **Pancitopenia:** Es una enfermedad en la que hay una reducción en el número de glóbulos rojos, glóbulos blancos, así como, de plaquetas en la sangre.
- **Trombocitopenia:** disminución de la cantidad de plaquetas en la sangre.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 LUGAR DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se realizó durante los meses de Octubre a Diciembre del 2014 en la ciudad de Huánuco, que tiene las siguientes características geográficas y climatológicas.

Altitud : 1912 m.s.n.m

Latitud sur : 9° 58' 12"

Latitud este : 76° 15' 8"

Latitud oeste : 75° 15' 8"

Precipitación : 150 a 200 mm

Temperatura : 18 -24 ° C

3.2 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación es Exploratoria-descriptiva, transversal, y aplicada.

Se denomina exploratoria porque es un tema poco conocido o estudiado, es la primera investigación acerca de parámetros hematológicos en caninos positivos a Ehrlichia en la ciudad de Huánuco. Descriptivo porque se describen los parámetros hematológicos en muestras sanguíneas de perros positivos según el test de Ehrlichia. Transversal ya que se toma una sola muestra de cada canino, durante todo el proyecto. Es aplicado porque es un estudio de base, cuyos resultados

servirán para realizar otros estudios más profundos y detallados sobre la enfermedad, además que servirá para su aplicación en clínica.

3.3 MATERIALES

Los materiales que se utilizaron en el desarrollo del presente trabajo fueron los siguientes:

Material Biológico

Para el estudio se muestrearon 50 perros infestados por garrapatas, de los cuales se utilizaron 10 caninos positivos a *Ehrlichia canis*, sin tener en cuenta la fase clínica (aguda y/o crónica) en curso, raza, sexo y edad.

Material de Laboratorio

1 Microscopio compuesto, 50 Kit de prueba Anigen Rapid *E. canis* Ab, 10 Tubos Vacutainer (EDTA) ,100 láminas portaobjetos, 100 Guantes descartables, Alcohol, Algodón, Guardapolvo, Agujas hipodérmicas, Colorante Wright, Aceite de inmersión, Metanol.

Material de escritorio

Formato de apuntes, cuadernos, fichas de identificación, hojas bond, lápiz, lapicero, corrector.

Material de oficina

Computadora y Cámara fotográfica.

3.4 MÉTODOS

Identificación de la muestra

Se realizó la visita a los propietarios de caninos en zonas endémicas de *Rhipicephalus sanguineus* en la ciudad de Huánuco; luego se identificó a los 50 caninos infestados con garrapatas al momento de la revisión, además estos no deberían haber sido tratados recientemente (durante el último mes) con antibióticos. Si cumplía con el requisito se procedía a tomar la muestra de sangre para la realización de la prueba diagnóstica mediante el Kit del Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab.

Diagnóstico de *Ehrlichia canis*

Se utilizó el Kit del Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab, que es una prueba rápida de diagnóstico de anticuerpos de *Ehrlichia canis*, y que consiste en un ensayo de inmunocromatografía en fase sólida para la detección de anticuerpos de *Ehrlichia canis*. Se realizó el siguiente procedimiento: Se retira el Kit de prueba de la bolsa de aluminio y colocarlo en una superficie plana y seca. Luego:

- (1) Añadir 10 µl de sangre entera en el orificio de muestra marcada "s", en el dispositivo de prueba con un tubo capilar.
- (2) Añadir 2 gotas de la botella que contiene el diluyente de ensayo.
- (3) Para los resultados de prueba se observa la banda purpura en la ventana de resultados del dispositivo, interprete los resultados de prueba a los 20 minutos. No interpretar después de 30 minutos (**Laboratorios bionote, 2011**).

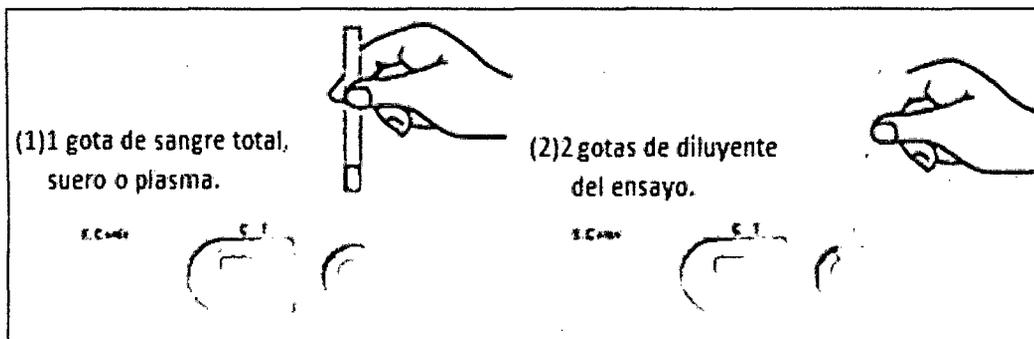


FIGURA N° 1. Realización de la prueba

Fuente: Catálogo de productos para pequeñas especies BIONOTE, pág. 11.

- **Interpretación de la prueba**

Una banda de color aparecerá en la sección izquierda de la ventana de resultados para mostrar que la prueba está funcionando adecuadamente. Esta banda es la banda control. La sección derecha de la ventana de resultados indica el resultado de la prueba. Si aparece otra banda de color en la sección derecha de la banda de resultados, esta es la banda de prueba (**Laboratorios BIONOTE, 2011**).

1. Resultado negativo: La presencia de solamente una banda (“C”) dentro de la ventana indica un resultado negativo.



FIGURA N° 02. Resultado Negativo

Fuente: Catálogo de productos para pequeñas especies BIONOTE, pág. 11.

2. Resultado positivo: La presencia de dos bandas de color (“T”y”C”) dentro de la ventana de resultados, sin importar cual banda aparece primero el resultado es positivo.



FIGURA N° 03.Resultado Positivo.

Fuente: Catálogo de productos para pequeñas especies BIONOTE, pág. 11.

Evaluación Clínica

Se realizó una inspección clínica general a los caninos positivos, registrando los datos clínicos en una ficha para tener un control de los mismos.

Recolección y procesamiento de muestras

- **Muestras sanguíneas**

Previo sujeción del animal se procedió a la limpieza y desinfección del área correspondiente al antebrazo, se colectaron aproximadamente entre 2 y 3 ml de sangre de la vena cefálica, en tubos vacutainer con EDTA, se identificaron de manera progresiva con el número de caso clínico respectivo; para cada una de las muestras tomadas, se realizó dos frotis sanguíneos.

Una vez obtenidas las muestras, se trasladaron al Laboratorio de análisis clínico del Hospital Carlos Showing Ferrari para determinar los parámetros hematológicos de rutina (Hemoglobina, hematocrito, recuento de glóbulos blancos y recuento de plaquetas).

- **Determinación de los Índices Eritrocitarios**

De los datos obtenidos en el hemograma sanguíneo

1. **Volumen corpuscular medio (fl)**

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hto} \times 10}{\text{N}^\circ \text{ eritrocitos}}$$

2. **Hemoglobina corpuscular media (pg)**

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb} \times 10}{\text{N}^\circ \text{ eritrocitos}}$$

3. **Concentración hemoglobina corpuscular media (g/dl)**

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{Hto}}$$

Frotis periférico

Para la observación de mórulas en frotis sanguíneo, se hizo previa antisepsia, una punción con aguja hipodérmica en la cara interna del pabellón auricular del canino. Los frotis fueron identificados con el mismo número del tubo vacutainer, para su tinción con colorante Wright; este procedimiento se ejecutó en el Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la UNHEVAL.

- **Tinción Wright**

-Colocar el frotis en la fuente de tinción.

-Agregar colorante de Wright hasta tapar el frotis por 4 minutos.

-Verter agua destilada sobre el frotis teñido rápidamente, evitando así que el colorante se precipite.

- Lavar a chorro de agua ligera por 30 segundos.
- Secar y observar al microscopio compuesto con el objetivo de inmersión.
- La lámina teñida sirve para observar células sanguíneas

3.5 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El trabajo de investigación utilizó como instrumento las Fichas de Registros.

3.6 TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE DATOS

En el análisis estadístico de tipo descriptivo, los resultados obtenidos se expresaron en términos porcentuales en cuadros y gráficos.

IV. RESULTADOS

En este estudio se evaluaron los parámetros hematológicos en los caninos de distintas localidades de la ciudad de Huánuco. Estos parámetros se muestran en el cuadro 1 y 2.

CUADRO 1. Valores Hematológicos de la serie roja en caninos positivos a *E. canis* en Huánuco.

ANIMAL	SEXO	EDAD	HEM (mm ³)	HB (g/100)	HTO (%)	PLA (mm ³)	ÍNDICE ERITROCITARIO		
							VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (g/dl)
1	H	7 meses	2.31	7.1	21	154	90.9	30.7	33.8
2	H	4 años	3.10	10	31	240	100.0	32.3	32.3
3	H	4 meses	2.04	6.7	21	100	102.9	32.8	31.9
4	M	1 años	3.31	10.6	33	180	99.7	32.0	32.1
5	M	1.5 años	3.95	12.5	39	210	98.7	31.6	32.1
6	H	7 meses	3.31	10.6	33	190	99.7	32.0	32.1
7	M	3.5 años	3.53	11.2	35	170	99.2	31.7	32.0
8	H	3 años	2.78	9.03	28	190	100.7	32.5	32.3
9	M	3 años	3.95	12.5	39	230	98.7	31.6	32.1
10	M	4 años	3.63	11.6	36	230	99.2	31.0	32.2

Hem: Hematíes Hb: Hemoglobina Hto: Hematocrito; Pla: Plaquetas; VCM: Volumen corpuscular medio; HCM: Hemoglobina corpuscular media; CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 2. Valores hematológicos de la serie blanca en caninos positivos a

***E. canis* en Huánuco.**

ANIMAL	SEXO	EDAD	LEU. (10 ³ /mm ³)	ABAST. (%)	SEG. (%)	EOS. (%)	LIN. (%)	MON. (%)
1	H	7 meses	5,500	1	72	0	25	2
2	H	4 años	7,400	0	67	8	26	0
3	H	4 meses	5,000	4	78	0	18	0
4	M	1 años	6100	1	57	2	40	0
5	M	1.5 años	10,200	1	67	0	32	0
6	H	7 meses	7,100	0	60	0	40	0
7	M	3.5 años	10,100	0	52	4	44	0
8	H	3 años	9,500	1	79	0	20	0
9	M	3 años	6,200	0	60	9	28	3
10	M	4 años	6,200	0	40	8	51	1

Leu: Leucocitos; Abast: Abastionados; Seg: Segmentados; Eos: Eosinofilos; Lin: Leucocitos; Mon: Monocitos

Fuente: Elaboración Propia

Los caninos positivos a la infección presentaron valores promedio de Hematías 3.19, Hemoglobina 10.18, Hematocrito 31.6, VCM 98.99, HCM 31.94, CHCM 32.28. **(Cuadro 3).**

CUADRO 3. Promedios y valores extremos de la serie roja en caninos positivos a *E.canis* en Huánuco.

DETERMINACIONES	PROMEDIO	VALORES EXTREMOS
Hematíes (mm ³)	3.19	2.04-3.95
Hemoglobina(g/100)	10.18	6.7-12.5
Hematocrito (%)	31.6	21-39
VCM (fl)	98.9	90.0-102.9
HCM (pg)	31.9	30.7-32.8
CHCM (g/dl)	32.2	31.9-33.8
Plaquetas (mm ³)	189.4	100-240

Fuente: Elaboración propia.

Los valores promedio de Leucocitos: 7,330, Segmentados: 1, Abastoados: 1, Eosinófilos: 3, Basófilos: Este tipo de células blancas no se encontró en ninguno de los animales evaluados, Linfocitos: 32, Monocitos: 1. (Cuadro 4)

CUADRO 4. Promedios y valores extremos de la serie Blanca en caninos positivos a *E.canis* en Huánuco.

DETERMINACIONES	PROMEDIO	VALORES EXTREMOS
Leucocitos (mm ³)	7330	5000-10000
Abastoados (%)	1	0-4
Segmentados (%)	63	40-79
Eosinofilos (%)	3	0-8
Basófilos (%)	0	0
Linfocitos (%)	32	18-51
Monocitos (%)	1	0-3

Fuente: Elaboración propia.

El 100% de los perros positivos presentó alguna alteración hematológica en el recuento de leucocitos, hematíes, hemoglobina, hematocrito y plaquetas; por lo que se observó que este 100% de los perros positivos a *E.canis* presentaron una o más alteraciones hematológicas.

Ninguno de los 10 perros positivos a *E.canis* presentó pancitopenia, solo uno (10%) presentó tricitopenia consistente en trombocitopenia, anemia y linfopenia.

Se observó que el 100% de los perros presentaron anemia, el 10% trombocitopenia, teniendo en cuenta que el 90% restante tenían valores inferiores al promedio normal de plaquetas; 20% leucopenia, con un 80% restante que tienen valores inferiores al promedio normal; 90% neutropenia, 10% presentó linfopenia y 50% eosinopenia.

También se pudo observar que el 40% presentó leucopenia en combinación con anemia, el 10% presentó leucopenia con trombocitopenia, y ningún perro presentó pancitopenia como ya se había mencionado.

El diagnóstico de anemia se estableció a través de una interpretación conjunta de la historia clínica, del examen físico del paciente y de los hallazgos provenientes del hemograma. Con base en los índices eritrocitarios de referencia para la especie (VCM: 65-75; HCM: 22-25; CHCM: 34-37), la anemia se identificó por el Volumen corpuscular medio (VCM) en macrocítica, y por la Concentración Media de Hemoglobina (CMCH) en Hipocrómica, en el 100 %.(Anexo 1)

En el cuadro 5, se puede observar los signos clínicos; que fueron 16 de los 22 que se reportan en la bibliografía. En ella se menciona que los más comunes en las distintas

etapas de la infección, son: mucosas pálidas, pérdida de peso, petequias, equimosis, congestión ocular y fiebre.

En nuestro estudio se determinó que el signo más común en los perros estudiados, fueron los correspondientes a lesiones en la piel (100 %), mucosas pálidas (80%), seguido por la fiebre, linfadenomegalia y pérdida de peso (60%), decaimiento (50%),y luego petequias, equimosis, pérdida del apetito y letargia (40%).

CUADRO 5. Signos clínicos en caninos positivos a *E.canis* en Huánuco.

	SIGNOS	N	%
Específicos	Decaimiento	5	50
	Pérdida del apetito	4	40
	Depresión	3	30
	Linfadenomegalia	6	60
	Mucosas Pálidas	8	80
	Letargia	4	40
	Fiebre	6	60
	Pérdida de peso	6	60
	Petequias	4	40
	Equimosis	4	40
Inespecíficos	Lesiones de la piel	10	100
	vomito	2	20
	Deshidratación	3	30
	Congestión ocular	3	30
	Secreción ocular	3	30
	secreción nasal	1	10

Fuente: Elaboración propia.

Asimismo, los síntomas de diarrea, tos, ataxia y convulsiones, no se presentaron en ninguno de los perros estudiados.

A la observación de los frotices de sangre de los perros estudiados, no se identificó mórulas intracitoplasmáticas en los monocitos, en ninguna de las láminas.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se confirma la presencia del agente etiológico de la Ehrlichiosis en Huánuco, lo cual corrobora que *Ehrlichia canis* se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, como lo refirieron **Martin et al. (2000)** y **Núñez, (2003)**.

Durante los muestreos se comprobó mediante la anamnesis y el examen físico, que el total de perros muestreados presentaban al menos un signo clínico específico de la enfermedad. Esto se asocia en gran medida a infecciones agudas, y también a que el 100% presentó alteraciones hematológicas en el recuento de alguna de sus líneas celulares; aunque en un estudio reportado por **Hoskins et al. (1988)** se detectaron títulos persistentes a Ehrlichiosis en perreras saludables con una prevalencia del 20.3%.

Warner et al.(1996), refirieron que en los perros no tratados es posible que ingresen a la fase subclínica por lo que no se observa signología y los perros se normalizan clínicamente, pero también comentaron que es posible que los niveles de plaquetas permanezcan en niveles inferiores a los rangos de referencia; en este estudio se observó que solo el 10% de los perros positivos a la prueba de Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab, presentaron trombocitopenia.

Harrus et al. (1998), comentaron que los perros que se encuentran en la fase subclínica pueden ser portadores persistentes en potencia durante años, como lo

demonstraron en su estudio de seguimiento a 3 años, lo que los asocia a pacientes con infección persistente del agente sin signología aparente.

Se puede considerar que las pruebas con el Kit del Test Rápido Anigen para *E. canis* Ab, presentan una sensibilidad del 97.6 % y una especificidad del 99 %; de tal manera que en los animales positivos a anticuerpos contra *E. canis*, las alteraciones hematológicas se asocian con la persistencia de la Ehrlichia misma en las células del hospedero, como lo reportó **Bartsch et al. (1996)**. Aunque mencionaron su dificultad para comprobar su persistencia en el organismo.

Se pudo observar que las alteraciones hematológicas más presentadas fueron anemia y neutropenia, como lo describe **Warner et al. (1999)**, además en el presente estudio se encontró que los perros positivos a anticuerpos contra *E. canis* presentaron leucopenia, linfopenia y eosinopenia; lo cual no se asocia a la persistencia de *E. canis* en los perros (**Willard y Tvedten, 2004**), pero se puede asociar a deficiencias en el sistema inmunológico en los perros de las zonas estudiadas. Así mismo, en este estudio se describe que el 50% de los perros positivos presentaron leucopenia en conjunto con anemia.

Mckenzie(2000); menciona que la principal anemia identificada fue la normocítica normocrómica que se presenta como resultado de hemorragias, hemólisis o de infecciones bacterianas, rickettsiales, virales y/o parasitarias, neoplasias malignas, deficiencia de hierro o vitamina B¹². En nuestro estudio, según los valores referenciales (**Day et al., 2012**) se determinó que el tipo de anemia era macrocítica hipocrómica; sin embargo, teniendo en cuenta los valores normales del Volumen

Corpuscular Medio(VCM) obtenidos en perros mestizos de Huánuco(Paulino 2004),nuestros resultados indican que el tipo de anemia sería normocítica hipocrómica.

Murphy *et al.* (1998), mencionaron la posibilidad de realizar el diagnóstico definitivo de la *Ehrlichia canis* por medio de frotis de sangre con la identificación de mórulas en leucocitos, mencionaron que es más sencillo realizar la identificación de frotis de sangre del lecho capilar del pabellón auricular; aunque en nuestro trabajo luego de realizados los frotis de sangre según lo indicado, no se pudieron identificar estos hallazgos en los frotis de perros positivos a anticuerpos contra *E.canis*.

VI. CONCLUSIONES

El 100% de los perros positivos a *E. canis* en el estudio, presentaron anemia caracterizada por una disminución de los eritrocitos, hemoglobina y hematocrito.

Por lo menos el 50% de los perros estudiados, presentaron anemia, leucopenia, neutropenia y eosinopenia, evidenciando un pobre desempeño del sistema inmunológico.

En ninguno de los perros se pudo identificar mórulas intracitoplasmáticas en los monocitos de los frotis observados. La identificación de mórula de *Ehrlichia canis* en frotis sanguíneo es un diagnóstico definitivo que no requiere confirmación por prueba serológica; sin embargo la no observación del parásito en el frotis no descarta la presencia de la enfermedad.

Los caninos estudiados presentaron algunos signos característicos de la Ehrlichiosis y el antecedente, o contacto con garrapatas tienen una estrecha relación con la presencia de la enfermedad.

La trombocitopenia no fue el hallazgo hematológico más común en los perros positivos a *Ehrlichia canis*, y las petequias con equimosis fueron signos clínicos que se presentaron en el 40% de ellos.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda como medida preventiva, un control hematológico, parasitológico y serológico semestral de todos los perros de las zonas con presencia de garrapatas, con o sin signología, ya que algunos de los animales infectados son asintomáticos y pueden ser reservorio de rickettsias y un serio problema para la salud.
- Se deben realizar estudios para determinar si la enfermedad se encuentra presente en poblaciones humanas, especialmente en los dueños de mascotas infectadas, médicos veterinarios y personal adjunto en la zona, debido a que están más expuestos a contraer la enfermedad, y así poder determinar el potencial zoonótico de la misma, en la ciudad de Huánuco.
- Realizar futuros estudios que permitan determinar las especies de ehrlichias presentes en la población canina.
- Para prevenir esta enfermedad se recomienda el control estricto de garrapatas, mediante el uso de garrapaticidas sobre el perro, como en el ambiente donde habita.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Adrianzen, J.; Chávez, A.; Casas, E. C.** 2003. Seroprevalencia de la Dirofilariosis y Ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. Rev. Investig. Vet. Peru, Vol.14, no.1, p.43-48.ISSN 1609-9117.
- **Anderson JF, Magnarelli LA.** 2008. Biology of ticks. Infect Dis Clin North Am. 22:195–215.
- **Archila MS.**2007 Ehrlichiosis. Enfermedades Parasitarias.(on line)Disponible en : <http://www.monografias.com/trabajos43/erlichiosis/erlichiosis.shtml> 29/03/14.
- **Ascaso F.** Ehrlichiosis. Canis et Felis. 2001; Jun;(51):7-57.
- **Barrios A.** 2010. Evidencia hematológica y serológica de Ehrlichia spp. en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de Ehrlichiosis en lima metropolitana. Tesis de médico veterinario. Facultad De Medicina Veterinaria.Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima 122 p.
- **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. J Vet Intern Med 10:271-274.
- **Birchard, S. J Y Col.** 1996 Manual clínico de Pequeñas Especies. Interamericana México D. F pp. 146 – 149.

- **Codner, E.C. and Maslin, W.** 1992. Investigation of renal protein loss in dogs with acute experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *Am. J. Vet. Res.* 53(3):264-269.
- **Cohn L.A.** 2003. Ehrlichiosis and related infections. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract.* 33:863-884.
- **Dagnone, A.S.; De Morais, H.S.; Vidotto, M.C; Jojima, F.S and Vidotto, O.**2003 Ehrlichiosis in anemia trombocytopenis or-tick infected dogs from a hospital population in south Brazil .*Vet .Parasitol.*117 (4).PP. 285-290.
- **Day, M. Mackin, A. Littlewood, J.**2012.*Manual de Hematología y transfusión en pequeños animales.* PP.437
- **Dorland,** 1989.*Diccionario Médico de bolsillo Dorland Interamericana México* D.F. pp.268 y 755.
- **Donatien, A; Lestoquard, F.** 1935. Existence en Algerie d'une rickettsia du chien. *Bulletin de la Societe de Pathologies Exotique,* 28:418-419.
- **Dumler J.S; Barbet A.F.; Bekker C.P.J.; Dash G.A.; Palmer G.H.; Ray S.C.; Rikihisa Y., and Rurangirwa F.R.** 2001 Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as a subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.*51:2145-2165.

- **Ettlinger, S.** 1992. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del perro y el gato. México DF: Intel-Médica. 297-299.
- **Ewing, S.** 1969. Canine Ehrlichiosis. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine.* 13:331-353.
- **Fenner, R.W.** 1991 Medicina Veterinaria de perros y gatos Limusa S.A. México D.F. Vol.1 pp.158 y 162; Vol. 2 pp.442 y 450.
- **Greene, C. E** 1993 Enfermedades Infecciosas de Perros y Gatos Interamericana México D. F pp. 424 – 435.
- **Guzman, C. J; Molina, G. N Y Romero P. C** 1999.Diagnóstico y caracterización de Ehrlichiosis Canina a través del hemograma U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Santa Cruz de la Sierra - Bolivia pp. 1-16.
- **Harrus S, Waner T, Keysary A.** 1998D. Investigation of splenic function in canine monocytic Ehrlichiosis. *Vet Immunol Immunopathol* 62:15-27.
- **Harrus, S.; Day, M.J.; Waner, T., and Bark, H.** 2001. Presence of immune complexes, and absence of antinuclear antibodies in sera of dogs naturally and experimentally infected with *Ehrlichia canis.*; 83Kluwer Academic Publishers.:343-349.
- **Hoyos L.** 2005. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis canina. Tesis de médico veterinario. Facultad De Medicina Veterinaria.Univ. Nacional Mayor de San Marcos.Lima 104 p.

- **Hoskins JD, Breitschwerdt EB, Gaunt SD. 1988.** Antibodies to Ehrlichia canis, Ehrlichia platys, and spotted fever group rickettsiae in Louisiana dogs. J Vet Intern Med 2:55-59
- **Keefe, T.; Holland, C.; Salyer, P.E., and Ristic, M. 1982** Distribution of Ehrlichia canis among military working dogs in the world and selected civilian dogs in the United States. JAVMA. 181:236-238.
- **Laboratorios Bionote. 2011.** Kit canino para la detección temprana de anticuerpos de Ehrlichia canis. (on line)Disponible en [http://www.bionote.co.kr/File/Upload/2011/04/01/2011-04-01\(2\).pdf](http://www.bionote.co.kr/File/Upload/2011/04/01/2011-04-01(2).pdf). Visitado el 05/04/14.
- **Magnarelli, L. A. and Anderson, J. F. 1993.** Serologic evidence of canine and equine Ehrlichiosis in north-eastern United States. J Clin Microbiol. 31(11):2857-2860.
- **Marin, H, J; Montaña H. J. A. Y Domínguez, O. J. A. 1998** Diplomado a Distancia en Medicina Cirugía y Zootécnica33 de Perros y Gatos Módulo Enfermedades Infecciosas Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.pp. 298 – 304.
- **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 181:374-378.
- **Mckenzie, S. B. 2000.**Hematología Clínica.Edit.El Manual Moderno. México, D.F.pp.114-121; 660.

- **Merck Y Col.** 1993. El manual Merck de diagnóstico y tratamiento Harcourt S.A. Madrid. España 10ma Edición pp. 1238- 1239.
- **Moro, P.; Shah, J.; LI, O.; Gilman, R. H.; Harris, N., and Moro, M.** 2009. Short Report: Serologic Evidence of Human Ehrlichiosis in Peru. Am. J. Trop. Med. Hyg., 80(2), pp.242–244.
- **Moshkovski, S. D.** 1945. Cytotropic inducers of infection and the classification of the *Rickettsiae* with *Clamyozoa*. Adv Mod Biol (Moscow). 19:1-44.
- **Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC, ET AL.** 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.
- **Neer TM.** 1995. Unpublished data. Louisiana State University, Baton Rouge, LA.
- **Núñez OL,** 2003. Estudio de la seroprevalencia de Ehrlichia canis en México. Revista AMMVEPE 2003; 14(3):83-85
- **Paulino P.**2004. Constantes hematológicas en perros mestizos (*Canis familiaris*) de la zona urbana de Huánuco. Tesis de médico veterinario. Facultad De Medicina Veterinaria y Zootecnia.Univ. Nacional Hermilio Valdizan. Huánuco 28p.
- **Reardon, M.J. and Pierce, K.R.** 1981 Acute experimental canine Ehrlichiosis. Vet. Pathol; 18:48-61. Reddy, G.
- **Ristic, M. and Holland, C.J.** 1993 Canine Ehrlichiosis. En: Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals. Woldehiwet, Ristic (Eds).Pergamon Press, Oxford, United Kingdom. 169-186.

- **Romero B.2011.** Cambios hematológicos en pacientes positivos a Ehrlichiosis canina en la ciudad de Lázaro Cárdenas Michoacán. Tesis de médico veterinario. Facultad De Medicina Veterinaria. Univ. Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. México 53 p.
- **San Miguel CS.** 2006. Prevalencia de Ehrlichia canis en caninos de la provincia de Sullana. Tesis de médico veterinario. Lima: Univ. Alas Peruanas.51 p.
- **Sainz, A.** 1996 Aspectos clínicos y epizootiológicos de la Ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid (Ed).
- **Sellon, R.K.**2003. Update on molecular techniques for diagnostic testing of infectious disease Vet Clin North Am Small Anim Pract. 33(4):677-693.
- **Scott, D.W.; Miller, W.H., and Griffin, G.E.** 2001 Small Animal Dermatology. Diagnostic Methods. 6th ed. W.B.Saunders Company; pp. 93-94.
- **Soulby, E.J.** 1992 Parasitología y enfermedades parasitarias en animales domésticos Interamericana México D.F. pp. 760 - 770.
- **Suksawat, J.; Xuejei, Y.; Hancock, S.I.; Hegaty, B.C.; Nilkumhang, P. and Breitshwerdt, E.B.** 2001. Serologic and molecular evidence of coinfection with multiple vector borne pathogens in dogs from Thailand. J. Vet. Inter. Med 15(5).PP.809-811.
- **Tami, I; García, F. Y Tami, M.** 1994. Ehrlichiosis en animales y humanos en Act. Cient. Venez., 3: 17-24.

- **Troy, G.C.; Vulganot, J.C., and Turnwalt, G.H.** 1980 Canine Ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. *J Am Anim Hosp Assoc.*; 16:181-187.
- **Troy, G.C. and Forrester, S.D.** 1990 *Ehrlichia canis*, *E. equi*, and *E. risticii* infections. En: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. C.E. Greene (Ed.). W.B. Saunders. Philadelphia. 404-414.1
- **Vinasco J, LI O, Alvarado A, Díaz D, Hoyos L, Tabacchi, Sirigireddy K, Ferguson. Moro MH.** 2007. Molecular evidence of a new estain of *Ehrlichia canis* from South America. *J, Clin Microbiol* .45:2716-2719.
- **Waner T, Harrus S, Bark H.** 1996. Subclinical canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) in experimentally infected beagle dogs. Abstract 175. *J Am Coll Vet Intern Med* 10:192.
- **Waner T, Baneth G, Strenger C.** 1999. Antibodies reactive with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia phagocytophila* genogroup antigens and the spotted fever group rickettsial antigens, in free-ranging jackals (*Canis aureus syriacus*) from Israel. *Vet Parasitol* 82:121-128.
- **Waner, T.; Leykin, I.; Shinitsky, M.; Sharabani, E.; Buch, H.; Keysary, A.; Bark, H.,and Harrus, S.** 2000. Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. *Vet Immunol Immunopathol*. 77:145-150.
- **West, G.** 1992 *Diccionario enciclopédico de Veterinaria Iatros Barcelona – España* pp. 374 - 375 y 762.

- **Willard M., Tvedten H. 2004** “Transtornos leucocitarios” Diagnóstico Clinicopatológico práctico en los pequeños animales. P.64-93
- **Woody, B.J and Hoskins, J.D. 1991** Ehrlichial diseases of dogs. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 21(1):75-98.

ANEXOS

ANEXO 1

CUADRO 6. Valores hematológicos normales en caninos.

HEMATOLOGIA		
DETERMINACION	UNIDADES	CANINO
Hematocrito(PCV)	%	35-55
Hemoglobina(Hb)	g/dL	12-18
Recuento de eritrocitos(RBC)	($\times 10^{12}/l$)	5,4-8
MCV	(fl)	65-75
MHC	(pg)	22-25
MCHC	(g/dl)	34-37
Plaquetas	($\times 10^9/l$)	150-400
Leucocitos(WBC)	($\times 10^9/l$)	6-18
Neutrófilos: Banda	($\times 10^9/l$)	0-0,3
Neutrófilos : Maduro	($\times 10^9/l$)	3-12
Linfocitos	($\times 10^9/l$)	0,8-3,8
Monocitos	($\times 10^9/l$)	0,1-1,8
Eosinófilos	($\times 10^9/l$)	0,1-1,9
Basófilos	($\times 10^9/l$)	0-0,2

Fuente: (Day *et al.*, 2012)

ANEXO 2

FOTOGRAFÍAS DE LA INVESTIGACIÓN



FIGURA 1. Evaluación de signos clínicos.



**FIGURA 2. Limpieza y desinfección para realizar la
Recolección de muestras sanguíneas.**



FIGURA 3. Toma de muestras sanguíneas.



FIGURA 4. Garrapatas en un canino.



FIGURA 5. Equimosis abdominal de un canino.



FIGURA 6. Ascitis y equimosis abdominal en un canino.



FIGURA 10. Tinción Wright



FIGURA 11. Observación de láminas.



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN - HUÁNUCO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Cayhuayna - Distrito de Pillco Marca, a los VEINTE Y DOS días del mes de MAYO del 2015, siendo las 11.A.M horas, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos se reunieron en el Auditorio de la Facultad, los Miembros integrantes del Jurado examinador para proceder a la Evaluación de Sustentación de la Tesis Titulada: "**SIGNOS CLÍNICOS Y PARÁMETROS HEMATOLOGICOS EN PACIENTES POSITIVOS A EHRlichiosis CANINA EN HUÁNUCO**", de la Bachiller **Tania Leonor, SIFUENTES TOCAS** para **OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**, estando integrado por los siguientes miembros:

- Mg. Juan Marco, Vásquez Ampuero **(PRESIDENTE)**
- Mg. Rosel Apaestequi Livaque **(SECRETARIO)**
- MV. Anselmo Canchez Gonzales **(VOCAL)**

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue APROBADO, con la nota de Dieciséis (16), con el calificativo de: Buena.

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 12:30 PM, en fe de la cual firmamos.


.....
Mg. Juan Marco, Vásquez Ampuero
PRESIDENTE


.....
Mg. Rosel Apaestequi Livaque
SECRETARIO


.....
MV. Anselmo Canchez Gonzales
VOCAL