



**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

**“EFECTO DEL SULFATO FERROSO, ÁCIDO FÓLICO Y
VITAMINA B12 COMO COADYUVANTE PARA EL
TRATAMIENTO DE CANINOS DIAGNOSTICADOS CON
EHRlichia canis EN LAMBAYEQUE, 2019”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO**

**MARICELA ALEXANDRA VALDIVIESO INOÑÁN
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LAMBAYEQUE – PERU

2019

**“EFECTO DEL SULFATO FERROSO, ÁCIDO FÓLICO Y
VITAMINA B12 COMO COADYUVANTE PARA EL
TRATAMIENTO DE CANINOS DIAGNOSTICADOS CON
EHRlichia canis EN LAMBAYEQUE”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO**

POR:

**BACH. MARICELA ALEXANDRA VALDIVIESO INOÑÁN
REVISADO Y APROBADO POR EL SIGUIENTE JURADO:**

**M.Sc. M.V LUMBER ELY GONZALES ZAMORA
PRESIDENTE**

**M.V. ZULLY GENOVEVA MONTENEGRO ESQUIVEL
SECRETARIO**

**M.Sc. M.V MAGALY DE LOURDES DÍAZ GARCÍA
VOCAL**

**M.Sc. M.V JOSÉ LUIS VILCHEZ MUÑOZ
PATROCINADOR**

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme guiado en la realización de este trabajo

A mi familia por siempre brindarme su apoyo incondicional que con amor y paciencia me animaron a seguir adelante .

A mi asesor de tesis el M.sc M.V Luis Vílchez Muñoz y a la M.sc M.V Magaly de Lourdes Díaz García por su gran apoyo , paciencia , orientación hacia la finalización de mi trabajo ,y por los conocimientos que me transmitieron .

DEDICATORIA

A Dios Uno y Trino por haberme permitido estar con vida y seguir en el desarrollo de mi tesis de grado. Que todo sea para mayor gloria de Él

A mis padres por su gran apoyo brindado, que día a día permitieron el seguir estudiando a pesar de dificultades o circunstancias que se hayan presenciado durante el camino. A ellos les dedico realmente mi tesis como muestra de amor y aprecio por su esfuerzo y por la confianza depositada en mi persona.

INDICE

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESÚMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. MARCO TEÓRICO.....	03
2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	03
2.2 BASE TEÓRICA.....	06
2.1.1. Generalidades referentes a la Ehrlichiosis Canina.....	06
2.1.1.1. Breve historia sobre la Ehrlichiosis Canina.....	06
2.1.1.2. Definición de la Ehrlichiosis Canina.....	07
2.1.1.3. Generalidades del agente etiológico.....	07
2.1.1.4. Las Garrapatas, vectores de la Ehrlichiosis.....	08
2.1.1.5. Patogénesis de la enfermedad.....	08
2.1.1.6. Fases de la Ehrlichiosis Canina.....	09
a. Fase Aguda.....	09
b. Fase Subclínica.....	09
c. Fase Crónica.....	10
2.1.1.7. Manifestaciones clínicas.....	10
2.1.1.8. Alteraciones Hematológicas.....	11
2.1.1.9. Diagnóstico de la Ehrlichiosis canina.....	12
a. Diagnóstico clínico.....	12
b. Diagnóstico diferencial.....	12
c. Diagnóstico laboratorio.....	12
2.1.2. Aspectos esenciales de los fármacos como el Sulfato Ferroso, el Ácido Fólico y Vitamina B ₁₂ en caninos.....	13
2.1.2.1. Definición del Sulfato Ferroso.....	13
2.1.2.2. Dimensión farmacodinamia y farmacocinética del Sulfato Ferroso.....	14
a. Dimensión farmacodinamia del Hierro.....	14
b. Dimensión farmacocinética del Hierro.....	15
2.1.2.3. Definición del Folato y Ácido Fólico.....	16
a. Origen y bioquímica.....	16
b. Dimensión farmacodinamia del Ácido Fólico.....	16
c. Dimensión farmacocinética del Ácido Fólico.....	17
2.1.2.4. La Vitamina B ₁₂ o Cianocobalamina.....	18
a. Propiedades de la Vitamina B ₁₂	19
b. Dimensión farmacodinamia de la Vitamina B ₁₂	19
c. Dimensión farmacocinética de la Vitamina B ₁₂	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. UBICACIÓN Y DURACIÓN EXPERIMENTAL.....	22
3.2. MATERIALES.....	22
3.2.1. Material biológico.....	22
3.2.2. Material de oficina.....	22
3.2.3. Material farmacológico.....	22

3.2.4. Material de obtención de muestras.....	22
3.2.5. Equipo.....	23
3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	23
3.3.1 Obtención de la muestra	23
3.3.2. Análisis de muestra.....	24
3.3.3. Variables.....	26
3.4. MUESTRA.....	27
3.4.1. Tamaño de muestra	27
3.4.2. Diseño experimental y análisis estadístico.....	28
IV. RESULTADOS.....	29
4.1. ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN RECuento ERITROCITARIO (RBC).....	29
4.2. ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN LA VARIABLE HEMATOCRITO (HCT).	31
4.3. ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN HEMOGLOBINA (HB).....	33
4.4. ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN PLAQUETAS (PLT).....	35
V. DISCUSIÓN.....	39
VI. CONCLUSIONES.....	42
VII. RECOMENDACIONES.....	43
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	44
IX. ANEXOS.....	48

INDICE DE CUADROS

	Página
CUADRO 1: Valores de recuento eritrocitario de los canes del grupo testigo y grupo experimental antes y después del tratamiento.....	28
CUADRO 2: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticada con ehrlichiosis canina sobre la variable recuento eritrocitario ($10^6/\text{ul}$).....	29
CUADRO 3: Valores de los hematocritos de los canes del grupo testigo y grupo experimental antes y después del tratamiento.....	30
CUADRO 4: Efecto del ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticado con ehrlichiosis canina sobre la variable hematocrito.....	31
CUADRO 5: Valores de hemoglobina de los canes del grupo testigo y grupo experimental antes y después del tratamiento.....	32
CUADRO 6: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable hemoglobina (g/dl).....	33
CUADRO 7: Valores plaquetarios de los canes del grupo testigo y grupo experimental antes y después del tratamiento.....	34
CUADRO 8: Análisis porcentual de casos que presentaron alteraciones plaquetarias antes de empezado el tratamiento.....	35
CUADRO 9: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B ₁₂ como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable Plaquetas ($10^3/\text{ul}$).....	36

INDICE DE GRÁFICOS

Página

Gráfico 1: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticada con ehrlichiosis canina sobre la variable recuento eritrocitario.....	29
Gráfico 2: Efecto del ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticado con ehrlichiosis sobre la variable hematocrito.....	31
Gráfico 3: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable hemoglobina (g/dl).....	33
Gráfico 4: Análisis porcentual de casos que presentaron alteraciones plaquetarias antes de empezado el tratamiento.....	35
Gráfico 5: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable Plaquetas ($10^3/\text{ul}$).....	36

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Equipo Analizador hematológico.....	23
Figura 2: Obtención de muestra sanguínea.....	24
Figura 3: Realización del Test de prueba Anigen Rapid E. canis Ac.....	25
Figura 4: Interpretación del resultado de la prueba Anigen Rapid E. canis Ac.....	26

RESUMEN

La presente investigación se realizó con la finalidad de evaluar el efecto del sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B12 como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticadas con *Ehrlichia canis* en Lambayeque. Esta investigación pertenece al enfoque aplicativo, de tipo correlacional y diseño experimental. Se emplearon 26 canes a los cuales se extrajo sangre entera (EDTA+sangre) de la vena cefálica. Se dividió en dos grupos: 13 canes para el grupo testigo y 13 para el grupo experimental. Posteriormente se procedió a la realización de hemograma, luego al kit de prueba Anigen Rapid E. canis Ac de letras “T” y “C” como línea de prueba y línea control. Para el tratado estadístico se empleó la prueba T de Student (SPSS 25). Se concluye que: el sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B₁₂ como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* producen aumento altamente significativo en el recuento eritrocitario ($p=0,007$); así mismo dichos coadyuvantes producen aumento altamente significativo en el hematocrito ($p=0,009$); además producen aumento significativo en la hemoglobina ($p=0.017$), no producen aumento significativo de plaquetas ($p=0.062$), pero se determina que tiene significancia al 94%.

PALABRAS CLAVES: Sulfato Ferroso, Ácido Fólico, Vitamina B₁₂, *Ehrlichia Canis*, Recuento Eritrocitario, Hematocrito, Hemoglobina y Plaquetas.

ABSTRACT

This research was carried out with the purpose of evaluating the effect of ferrous sulfate, folic acid and vitamin B12 as an adjuvant for the treatment of canines diagnosed with Ehrlichia canis in Lambayeque. This research belongs to the application approach, and experimental design. 26 dogs were used to which whole blood (EDTA + blood) was extracted from the cephalic vein. It was divided into two groups: 13 dogs for the control group and 13 for the experimental group. Subsequently, hemogram was performed, then the Anigen Rapid E. canis Ac test kit of letters "T" and "C" as the test line and control line. The Student's T test (SPSS 25) was used for the statistical treaty. It is concluded that: ferrous sulfate, folic acid and vitamin B12 as an adjuvant for the treatment of canines diagnosed with Ehrlichia canis produce a highly significant increase in erythrocyte count ($p = 0.007$); likewise said adjuvants produce highly significant increase in hematocrit ($p = 0.009$); they also produce a significant increase in hemoglobin ($p = 0.017$), do not produce a significant increase in platelets ($p = 0.062$), but it is determined to have 94% significance.

KEY WORDS: Ferrous sulfate, Folic acid, B12 vitamin, Ehrlichia Canis, Erythrocyte count, Hematocrit, Hemoglobin and Platelets.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha impulsado más el valor de las mascotas en la vida familiar, invitando a su respectiva atención y cuidado. Más aún, esto se ha ido intensificando debido a la presencia de enfermedades causantes de cuadros clínicos agudos o crónicos (ocasionadas por bacterias, virus, etcétera).

Las garrapatas y pulgas son lo más común en perros; estos a su vez son “vectores de enfermedades que son debilitantes para su huésped o que constituyen una amenaza para la vida de los animales y de los humanos, que pueden provocar en el animal parasitado incluso la muerte. (1)

Una de las enfermedades transmitidas por las garrapatas es la Ehrlichiosis canina. Esta enfermedad, es endémica en los países tropicales y subtropicales en donde la seroprevalencia puede llegar a ser hasta del 33%. Éstas necesitan de un mamífero como reservorio, y de un artrópodo como vector para ser transmitidas. (2)

A nivel nacional, notamos la presencia de esta enfermedad, gracias a estudios realizados, donde se manifiesta que: La prevalencia distritos de Chorrillos y San Juan de Miraflores (19.3 y 15.0%, respectivamente). (3)

A nivel regional, se realizaron estudios con relación al perfil hematológico en perros en el distrito de Chiclayo encontrando un promedio de 34.66 % de hematocrito y de hemoglobina un 11.5 % de 96 casos positivos (4).

Por consiguiente se realizaron estudios sobre la determinación de ehrlichiosis canina mediante diagnóstico clínico y hematológico en la ciudad de Chiclayo encontrándose de 65 animales trombocitopenicos 50 resultaron positivos estos hace un 76,92 %, la anemia resulto ser significativa estadísticamente teniendo una positividad de 87.75 %. , siendo las alteraciones hematológicas (trombocitopenia, leucopenia y/o anemia) más frecuentes en los casos de ehrlichiosis canina (5)

Frente a esta problemática se busca realizar un tratamiento, adicionando fármacos que puedan ayudar a que los valores hematológicos aumenten y mejoren, debido la anemia provocada.

El presente estudio de investigación, nos permite determinar el efecto del sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B12 como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* en Lambayeque, para ello recolectamos muestras de Caninos machos y hembras diagnosticados con Ehrlichiosis canina a través del test.

II MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

En un estudio realizado sobre la evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de Elisa en el diagnóstico clínico-laboratorial de ehrlichiosis canina, las 4 variables que resultaron ser significantes estadísticamente fueron la presencia de trombocitopenia, leucopenia, y anemia a nivel hematológico, la leucopenia resulto ser significantes en los casos evaluados. El 93.75% \pm 11.86 % de los casos que presentaron trombocitopenia y anemia simultáneamente, resultaron ser positivos a la enfermedad, la anemia también resulto ser significante estadísticamente, ya que de los 67 animales anémicos de la investigación, 55 resultaron positivos (82.09% \pm 9.18 %) y del total de animales con epistaxis y las alteraciones equimóticas, se encontró que el 100% y el 92.30% \pm 14.49 % respectivamente fueron positivos a la enfermedad. (6)

La Evaluación hematológica de perros diagnosticados a *Ehrlichiosis canina* en la ciudad de Jaén-Perú, determino la relación existente entre el diagnóstico clínico y el de una prueba inmunocromatográfica para encontrar las alteraciones que se presentan en el hemograma de caninos con *Ehrlichiosis* comprobada. De 30 perros con diagnóstico clínico a Ehrlichiosis, 20 caninos resultaron positivos, 09 se encontraron en fase aguda y 11 en fase crónica, en los caninos en fase aguda presentaron anemia macrocítica normocromica, disminución de la hemoglobina y el hematocrito, acompañado de un leve aumento de los trombocitos, en los caninos en fase crónica se halló anemia macrocítica hipocrómica, trombocitopenia y leucopenia con disminución de los neutrófilos segmentados. Se compararon estadísticamente, encontrándose diferencia solo en lo relacionado a trombocitos, siendo el recuento mayor en la fase aguda con una probabilidad de $p < 0.01$. (7).

Se determinó el efecto yogurt fortificado con vitamina A, Ácido fólico, hierro y zinc en una dieta deficitaria en vitamina A, ácido fólico y hierro, con respecto a la concentración de la hemoglobina en los animales experimentales, con anemia inducida, Se utilizaron 15 ratas albinas raza Holtzman. Esta investigación concluye en que la dieta purificada deficitaria (1.5% de vitamina A y ácido fólico, 1.2% de sulfato férrico,

de la formulación de la dieta purificada estándar), fue efectiva con un 80% de animales anémicos ($Hb < 11g/dL$) basada en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio: $10.13g/dL$). Y que la dieta purificada estándar (control) empleada en el Bioterio de la UNALM, fue efectiva sobre la anemia (Hb promedio $9.9g/dL$), sustentado por el incremento en la concentración de la hemoglobina (Hb promedio: $14.7g/dL$). (8)

En una investigación acerca de Características personales y clínicas de niños que reciben tratamiento de sulfato ferroso-Centro de Salud San Salvador, Cusco 2016, esta se concluyó, según las características clínicas, que el 52,8 % de los niños se encuentra con anemia leve, 45,8% tienen anemia moderada y 1,4% presentan anemia severa. Con respecto al control de tratamiento el 80,6% de los niños con anemia fueron controlados a los 12 meses, sobre los efectos colaterales al tratamiento 44,4% de los niños presentaron estreñimiento, de igual forma sólo en 43,1% de las historias clínicas se encuentra registrado como medida complementaria. (9)

Se realizó un trabajo del diagnóstico de la ehrlichiosis canina basado en los hallazgos clínico-hematológicos de los caninos , se determinó una relación entre los resultados del examen hematológico y la observación directa de la mórula de *Ehrlichia canis* mediante el frotis sanguíneo , asimismo todos los pacientes que presentaron epistaxis , petequias y equimosis fueron en un 100 % positivos a la enfermedad el 90.91 % de los casos pancitopenico, fueron animales positivos a ehrlichiosis canina , la trombocitopenia resulto ser significativa con un 94,87 % , la anemia se determinó en un 74,5 % (38 casos). (10)

Se evaluó la relación entre el hemograma y la observación microscópica de la mórula de *Ehrlichia canis* mediante frotis sanguíneo, de 66 casos sospechosos, 50 canes dieron positivos (75.76%), en cuanto a la sintomatología esplenomegalia, mucosas pálidas y petequias fueron un 98.11 %, 95.23% y 90.47 % positivos respectivamente. De 65 animales trombocitopenicos 50 resultaron positivos estos hace un 76,92 %, la anemia resulto ser significativa estadísticamente teniendo una positividad de 87.75 %. La significancia estadística que se encontró en la investigación con respecto al vector (garrapata) dio el valor de 80.32 % de positividad con *rhhipicephalus sanguineus*. (5)

Se realizó un estudio acerca Perfil hematológico en perros con Ehrlichiosis canina en el distrito de Chiclayo, durante el periodo noviembre del 2014 – febrero del 2015, de todos los casos sospechosos a Ehrlichiosis canina se consideraron 96 casos positivos a Ehrlichia canis mediante la prueba de ELISA a los que se realizó el hemograma completo. Esta investigación llegó a la conclusión de que en los valores leucocitarios el 49% de los perros con Ehrlichia canis presentaron desviación a la izquierda y el 30% presentaron neutrofilia. En los linfocitos el 28% de perros con Ehrlichia canis presentaron linfocitosis. Para los trombocitos el 84% de los perros con Ehrlichia canis presentaron trombocitopenia. (4)

2.2 BASE TEORICA

2.2.1 GENERALIDADES REFERENTES A LA ERLICHIOSIS CANINA.

- **BREVE HISTORIA SOBRE LA ERLICHIOSIS CANINA.**

La presencia de las mascotas en la vida del hombre ha alegrado mucho su subsistencia, sin embargo la existencia de todo ser vivo exige la presencia de otros seres vivos que necesitan vivir en base a la existencia de otros seres vivos mayores a ellos, estos pueden ser bacterias, parásitos, etc. Es el caso de los perros, su presencia en este mundo les lleva un acompañamiento muchas veces funesta para ellos, con enfermedades que imposibilitan o neutralizan su ejercicio normal, producido por la presencia de estos parásitos, bacterias, virus, etc.

La Ehrlichia canina ha sido identificada en 1935 por primera vez en el Instituto Pasteur de Argelia debido a Donatien y Lestoquard, después de observarse que algunos perros alojados en sus instalaciones e infectados por garrapatas desarrollaban ocasionalmente un proceso febril agudo que cursaba con anemia. Se dieron cuenta que en las extensiones sanguíneas de los perros infectados existían unos pequeños microorganismos en el interior de los monocitos, llevándoles a creer que podría tratarse de alguna especie de rickettsia, demostrando que no se trataba de Rickettsia conorii, la cual afectaba al hombre, sino aquella que afectaba también a perros. (11)

En 1945 cuando se cambia el nombre de microorganismo a Ehrlichia canis en honor a Paul Ehrlich. Luego, “fue reconocido en 1957 en Aruba, en la región de las Antillas Holandesas, asociada con Babesia canis y descrito en Oklahoma, EE.UU”. (12)

Esta enfermedad se encuentra insertada en el género Ehrlichia. Así, parece ser que no sólo existen la Rickettsia canis, sino también Rickettsia bovis, sin embargo, según estudios se manifestaron “parece ser que E. phagocytophila fue descrita por Tyzzer en 1938 como Cytoecetes microciti; sin embargo no existe material original ni cultivos que verifiquen su identidad”. (11) Por ende, Keefe, citado por Olaya (12) “mencionan que el estrés

por calor aumenta la probabilidad de la aparición de enfermedades como la anaplasmosis y la ehrlichiosis”.

- **DEFINICIÓN DE LA EHRLICHIOSIS CANINA**

Se define a la Ehrlichiosis canina como aquella: “enfermedad producida por un microorganismo de la familia de las rickettsias llamado Ehrlichia. La enfermedad se transmite mediante la picadura de una garrapata y los síntomas que pueden aparecer en un perro enfermo son muy variables”. (11)

- **GENERALIDADES DEL AGENTE ETIOLÓGICO**

La morfología de estos microorganismos presentan formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias Gram negativas con ausencia de flagelos, las formas cocoides se presentan aisladas, en pares, con un diámetro de 0.3 a 0.5 μm y una longitud de 0.8 a 2.0 μm . (13)

Los microorganismos Rickettsiales pertenecen al Reino Proteobacteria, clasificados como alfa-Proteobacteria, Gram negativas, grupo que incluye un gran número de agentes oligotrofos (capaces de crecer en niveles bajos de nutrientes). Las bacterias del género Ehrlichia pertenecen al orden Rickettsiales y familia Anaplasmataceae. El orden Rickettsiales también comprende a la familia Rickettsiaceae y una diferencia biológica entre ambas familias consiste en que las bacterias de la familia Anaplasmataceae (de la cual pertenece el género Ehrlichia) se multiplican dentro de vacuolas rodeadas de membranas mientras que los miembros de la familia Rickettsiaceae lo hacen libres en el citoplasma de la célula huésped. (13)

Estos organismos intracelulares obligados, utilizan oxígeno, y tienen enzimas metabólicas, es por ello que son susceptibles a algunos medicamentos antibacterianos (14).

- **LAS GARRAPATAS, VECTORES DE LA EHRlichiosis**

El transmisor de la Ehrlichiosis canica es “la garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, la infección dentro del animal se disemina vía sanguínea o linfática dentro de las células mononucleares infectadas, llegando a otros sistemas orgánicos”. (15)

El perro se puede infectar por las secreciones salivales de la garrapata portadora de la enfermedad produciendo una contaminación del área. Otro modo de contagio, que es por transfusiones sanguíneas de donadores infectados. (11)

Por ende, cabe aclarar que todas las rickettsias se encuentran intrínsecamente asociadas a los artrópodos, es más, existe la seguridad que haya evolucionado junto con ellos, sustancialmente con los hematófagos obligados. Es lógico pensar que las rickettsias en las garrapatas son capaces de infectar la gran mayoría de los órganos. (15)

- **PATOgéNESIS DE LA ENFERMEDAD**

La infección del perro ocurre cuando las garrapatas infectadas ingieren sangre y sus secreciones salivales contaminan el sitio donde se alimenta. Los microorganismos presentes en la saliva del artrópodo entran al torrente sanguíneo del huésped y se multiplica en las células sanguíneas hasta formar las mórulas, replicándose así en vacuolas rodeadas de membranas de la célula hospedadora aisladas y protegidas del sistema inmune. Después de la desintegración de la mórula se liberan nuevos cuerpos elementales que invaden nuevas células sanguíneas. La infección dentro del animal se disemina vía sanguínea o por vía linfática dentro de las células mononucleares infectadas, llegando a otros sistemas orgánicos como hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos donde se multiplican (13)

La *E. canis* ha desarrollado varios mecanismos que aseguran la evasión de la respuesta inmune del huésped. Estos mecanismos abarcan adaptaciones para la supervivencia en diferentes compartimientos celulares. Los procesos de

adhesión, internalización, proliferación, exocitosis y propagación intercelular de *Ehrlichia* spp. Con la participación de diferentes vías de señalización culminan con la adquisición de nutrientes, evasión lisosomal y la inhibición de la apoptosis de la célula huésped (16)

- **FASES DE LA EHRLICHIOSIS CANINA**

La sintomatología de este padecimiento es muy alterada y principalmente en fases originarias es indefinido. Se aclara que el tiempo de incubación de la enfermedad es de 8 a 20 días. Ordinariamente el contagio de *Ehrlichia canis* en perros suele darse en tres fases, aunque a veces es difícil diferenciarla, ya que no ocurren a menudo. (11)

- a. Fase Aguda.**

Después del periodo de incubación, se puede percibir la etapa aguda, cuya temporalidad es de 2 a 4 semanas. En esta fase hay una proliferación de los microorganismos en células mononucleares (los macrófagos y los linfocitos) por desintegración binaria esparciéndose por todo el cuerpo.

La réplica inicial se da en leucocitos mononucleares circulantes, los que luego, conquistan los órganos conformados por células de tipo mononuclear, como el bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos donde inducen una hiperplasia con infiltración de células plasmáticas. (11)

“La temperatura óptima para dicha incubación de los huevos, la transformación de larvas en ninfas y de éstas en adultas, es de 30°C”. (17)

Las hemorragias en la infección ocurren sobre todo debido a la disminución en el recuento de plaquetas sumado a una inhibición en la agregación plaquetaria debido al desarrollo de anticuerpos contra las glicoproteínas propias de las plaquetas (11)

b. Fase Subclínica.

Esta etapa se caracteriza por la permanencia del microorganismo y el acrecentamiento en los títulos de anticuerpos. Tiene una duración promedio de 6 a 9 semanas logrando persistir por varios años. Esta permanencia del antígeno en las células infectadas funciona como provocación para el sistema inmune. Además, los títulos de anticuerpos se enaltecen superlativamente en esta fase y los animales inmunocompetentes por lo general eliminan al microorganismo en esta etapa. Los pacientes que no excluyen la infección progresan hasta la fase crónica. Es más, la hiperglobulinemia e hipoalbuminemia son alteraciones bioquímicas más frecuentes en esta etapa. (6)

c. Fase Crónica.

En esta etapa el perro enferma de nuevo, ya que la “Ehrlichia infecta los glóbulos blancos, las plaquetas o las células que forman la pared de los vasos sanguíneos, y puede llegar a hígado, bazo, ganglios linfáticos, pulmón, riñones o incluso meninges.(16)

Hoyos (6) afirma que en esta etapa “la forma grave se caracteriza por deterioro de la producción medular de elementos sanguíneos que da por resultado pancitopenia”.

• MANIFESTACIONES CLINICAS

En la Fase aguda Se manifiesta que esta etapa de la enfermedad es levísima, y que la presencia de garrapatas debería observarse en esta semana. El perro se muestra apático, poco apetito e inflamación de los ganglios linfáticos. Puede haber fiebre y rara vez, se produce la muerte del perro. (18)

En la fase sub clínica todo parece normal, como si no existiera en el perro enfermedad alguna, es decir, no hay presencia de síntomas. Es más, el perro podría superar la enfermedad o pasar al estado crónico. Esta fase es también llamada silenciosa. (18)

En la fase crónica los síntomas frecuentes de esta enfermedad en los perros se puede observar al notar fiebre, inapetencia, pérdida de peso, dificultad respiratoria, problemas oculares, problemas nerviosos, sangrado nasal y cojeras. También se puede desarrollar una glomerulopatía produciendo una insuficiencia renal la cual no suele responder al tratamiento, en estos casos la sintomatología asociada es la clásica de una insuficiencia renal crónica con síntomas como poliuria, polidipsia, anorexia, vómitos o úlceras orales. (18)

- **ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS**

Uno de las alteraciones más relevantes es la trombocitopenia, es casi un factor constante, apareciendo a los 15 – 20 días post infección y pudiendo persistir durante todas las fases de la enfermedad. (18)

La patogenia de la trombocitopenia es casi compleja y multifactorial, participando en mecanismos inmunológicos y un aumento de la destrucción de las plaquetas, estos mecanismo intervienen en la trombocitopenia con la producción de anticuerpos plaquetarios. (19)

En el perro estos anticuerpos se encuentran en unos niveles elevados a partir del séptimo día post infección y luego comienzan a disminuir hacia el día 29 desapareciendo en el día 75. La disminución de plaquetas en la fase aguda de la infección puede ser debido a una destrucción plaquetaria inducida por la presencia de estos anticuerpos. Se han sugerido diversos mecanismos por lo que los anticuerpos plaquetarios participan en la disminución plaquetaria, favoreciendo el secuestro de plaquetas recubiertas de anticuerpos por el bazo y otros tejidos linfoides, así mismo también favorecen la destrucción plaquetaria prematura por fijación de complemento o fagocitosis.(16)

Otro de las alteraciones clínicas es la anemia esta es debida a la destrucción acelerada de eritrocitos por mecanismo inmunológicos, normalmente la anemia es regenerativa, durante la fase sub clínica el recuento de eritrocitos generalmente se normaliza. (21)

En la fase crónica, la anemia tiende a ser no regenerativa debido a la destrucción constante de eritrocitos, la perdida crónica de sangre y la existencia de hipoplasia o aplasia medular. (22)

La leucopenia, también se puede encontrar en estos casos aunque es variable, y esto es debido al secuestro de leucocitos motivado por procesos inmunológicos e inflamatorios. (23)

• **DIAGNOSTICO DE LA EHRlichiosis CANINA**

El diagnóstico de la ehrlichiosis canina se basa en una combinación de datos clínicos epidemiológicos, anormalidades hematológicas, detección directa de la bacteria y hallazgos serológicos.

a. Diagnóstico clínico

Cuadro clínico inespecífico, abarcando diversos síntomas que pueden ser confundibles con otras enfermedades entre ellos tenemos: depresión, fiebre, letargia, pérdida de peso. En algunos casos según la fase en que se presente existe epistaxis, hemorragias. (13)

b. Diagnóstico diferencial

Se puede confundir con Anaplasmosis la cual también presenta variedad de síntoma de similitud entre ellos hemorragias, pérdida de peso, fiebre, escalofríos, dolores musculares así como también se puede confundir con leishmaniosis la cual presenta linfadenopatía, uveítis, hiperproteinemia con hiperglobulinemia, artritis etc. (13)

c. Diagnostico Laboratorial

- Un Hemograma puede contribuir a la sospecha de la enfermedad. Las anomalías hematológicas, dentro de las anormalidades más importantes compatibles con ehrlichiosis canina se encuentran la trombocitopenia; que es la alteración hematológica más constante en ambos estadios, agudo y crónico. Sin embargo, tras la infección, los recuentos de plaquetas se encuentran a menudo en la zona baja del intervalo de referencia del laboratorio (14)
- La visualización microscópica, inclusiones intracelulares (mórula) compatibles con E. Canis en el interior de monocitos y/o linfocitos, se consiguen en el citoplasma de monocitos y linfocitos. Desafortunadamente, la búsqueda de las inclusiones en monocitos y linfocitos es dificultosa y consume tiempo. La búsqueda de las inclusiones se hace con aceite de inmersión con objetivo de 1000X en 1000 campos. El tiempo empleado por este método se calcula entre 50 a 60 minutos. (13)
- Inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos de Ehrlichia canis en suero, plasma o sangre total canina. (24)

2.2.2. ASPECTOS ESENCIALES DE LOS FÁRMACOS COMO EL SULFATO FERROSO, EL ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 EN CANINOS

Es importante encuadrar esta parte en el rubro de las drogas antianémicas. Se manifiesta que estas drogas tienen que ver con el sistema hematopoyético, el cual es el “conjunto de órganos y tejidos formadores de células sanguíneas, el cual comprende la médula ósea (tejido mieloide), los ganglios linfáticos y el bazo (tejido linfoide)”. Estas drogas “favorecen la eritropoyesis, aportando los elementos necesarios para ella, que están en déficit en las anemias”. (13)

- **DEFINICIÓN DEL SULFATO FERROSO**

El hierro es un metal pesado distribuido tanto en el reino mineral como en el vegetal y animal; existe en el organismo formando parte de la hemoglobina, de la mioglobina, de enzimas y depósitos de hierro.

Los compuestos de hierro comprenden dos clases: sales inorgánicas y compuestos orgánicos, forman dos tipos de compuestos, a saber los ferrosos y los férricos; esto están enmarcados en las sales inorgánicas del hierro, donde las sales ferrosas utilizadas son el sulfato ferroso, el común, hidratado; el sulfato ferroso desecado, parcialmente deshidratado y más rico en hierro que el anterior; el gluconato ferroso; el fumarato ferroso y el succinato ferroso. (26)

Por tanto, el sulfato de hierro es un compuesto químico iónico de fórmula (FeSO_4). También llamado sulfato ferroso, caparrosa verde, vitriolo de hierro, el sulfato de hierro se encuentra casi siempre en forma de sal heptahidratada ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), de color azul-verdoso.(27)

- **DIMENSIÓN FARMACODINAMIA Y FARMACOCINÉTICA DEL SULFATO FERROSO**

- a. **Dimensión farmacodinamia del hierro.**

Se realiza en el **enterocito** : El Fe entra al organismo a través de la dieta como Fe^{3+} y es absorbido fundamentalmente en el duodeno y yeyuno proximal. Este proceso ocurre en cuatro fases: en la luminal el Fe es solubilizado y convertido a Fe^{2+} por el citocromo B duodenal (DcytB).

Durante la fase mucosa, el Fe hemo es liberado por digestión enzimática de la hemoglobina y la mioglobina y entra al enterocito a través de la proteína transportadora de hemo (HCP); el Fe inorgánico se une al borde en cepillo y transportado dentro de la célula mucosa por el transportador de metales divalentes 1 (DMT1). En la fase celular, el hemo es degradado por la hemoxigenasa y el Fe es liberado. Una vez dentro de la célula, es almacenado en forma de ferritina celular, o transportado directamente a la

cara opuesta de la célula mucosa. En la última fase, el Fe^{2+} es liberado a la circulación portal a través de la ferroportina (Fpn), exportador celular basolateral, paso en que se requiere de la hefastina, una oxidasa multicobre homóloga a la ceruloplasmina (Cp), que oxida el Fe^{2+} a Fe^{3+} para ser unido y transportado por la apotransferrina. (24)

Recientemente se ha descrito que la absorción de hierro está íntimamente regulada por la hepcidina un péptido de síntesis hepática (23)

b. Dimensión farmacocinética del hierro.

Los compuestos de hierro se absorben en el estómago, duodeno y yeyuno, especialmente en el segundo, mientras que el íleon y el colon absorben poco. La absorción es rápida, y así, después de la ingestión de una dosis de un preparado de hierro, la concentración del metal en el plasma sanguíneo está aumentada ya a la media hora, llega al máximo a las 2 a 4 horas, para descender luego y alcanzar el nivel primitivo a las 12 a 18 horas. Las sales ferrosas se absorben mucho más fácilmente que las férricas, debido a que estas últimas precipitan con las proteínas y fosfatos en el intestino. (28)

Una vez absorbido el Fe se une directamente a la transferrina, lo cual lo transporta a la médula ósea, posteriormente se incorpora a la hemoglobina. (23)

Por vía subcutánea e intramuscular, los compuestos solubles y hierro se absorben bien, pero no se utilizan totalmente debido a que parte se excreta por el riñón, teniendo mayor absorción por vía oral. (24)

Dosis:

Perro: 100 – 300 mg /animal 24 h / 10-15 días por vía oral (27)

Efectos adversos

Tanto el sulfato ferroso como otras presentaciones de Fe están contraindicados en pacientes con hemosiderosis, hemocromatosis, debido a que irrita el tubo GI, está contraindicado en pacientes con antecedentes de úlceras. La ingestión de dosis 10 veces superiores a las señaladas causa

intoxicación aguda con signos neurológicos y de hepatotoxicosis aguda.
(27)

- **DEFINICIÓN DEL FOLATO Y ÁCIDO FÓLICO.**

Aquella “vitamina hidrosoluble, constituyente del grupo B y existe en la levadura, hígado, riñón y en las hojas de los vegetales, especialmente espinaca y lechuga, de donde el nombre de ácido fólico o folato”.

Es más, el artículo A Ciencia General-Definista (29), al tratar sobre la definición de ácido fólico, afirma que es “fundamental para la correcta formación y desarrollo de las células sanguíneas, además de poseer enzimas necesarias para la formación de glóbulos rojos y su presencia en el organismo mantiene la piel sana y previene la anemia”.

a. Origen y Bioquímica.

Se obtiene por síntesis y su estructura química está constituida por unión de aminoácido ácido L-glutámico con el ácido pterico a su vez formado por la unión del grupo pteridilo y el ácido paraaminobenzoico. La forma activa del ácido fólico es el tetrahidrofolato y su función más importante es la transferencia de unidades de carbono para la síntesis de bases púricas y pirimídicas y para la síntesis de ácido desoxirribonucleico (DNA) en todas las células. (29)

b. Dimensión farmacodinamia del ácido fólico.

El ácido fólico en el organismo inactivo se produce por hidrogenación mediante la enzima dihidrofolatorreductasa dando origen así al ácido tetrahidrofólico, tetrahidrofolato o THF que luego se transforma en coenzimas activas como el 5-formiltetrahidrofolato, el 5-formiminotetrahidrofolato. (30)

El 5-metilTHF es el derivado que cede su grupo metilo en la síntesis de metionina a partir de homocisteína en una reacción catalizada por la

metionina sintasa, enzima que además requiere la presencia de vitamina B₁₂ como cofactor. El 5-metilTHF debe demetilarse en la reacción catalizada por la metionina sintasa para convertirse en THF y ser susceptible de poliglutamilación, por lo que esta reacción es también necesaria para la captación de los folatos circulantes. En resumen, los folatos participan en el metabolismo de ciertos aminoácidos, en la síntesis de S-adenosilmetionina y en la síntesis de purinas y pirimidinas. En cuanto a los aminoácidos, participan en el catabolismo de la histidina y la glicina, en la interconversión glicina-serina y en la síntesis de metionina. (30)

c. Dimensión farmacocinética del ácido fólico.

Absorción

Los folatos en la alimentación se encuentran en su mayor parte (90%) como poliglutamatos ligados a proteínas. En el intestino, son liberados de las proteínas alimentarias por acción de las proteasas digestivas. Posteriormente, los folilpoliglutamatos deben perder sus residuos glutámicos para poder ser absorbidos a nivel intestinal. La pteroilpoliglutamato hidrolasa presente en la membrana de «borde en cepillo» de las células intestinales es el enzima que cataliza la reacción. Los monoglutamatos así formados ingresan en la célula intestinal mediante un mecanismo de transporte activo, aunque a altas dosis el mecanismo de absorción de elección es la difusión pasiva. Los folatos que ingresan en la célula intestinal son transferidos al plasma sin sufrir apenas más transformaciones, a excepción de una pequeña parte que es reducido y metilado para dar lugar a 5-metilTHF. (30)

Distribución

El 5-metilTHF por la circulación general difunde a los tejidos y los demás derivados monoglutámicos son metabolizados principalmente a nivel del hígado. Además, el hígado también almacena folatos como poliglutamatos, principalmente como pentaglutamatos. Estas reservas (en torno a 5 ó 10 mg)

son suficientes para cubrir las necesidades durante aproximadamente 4 meses. (31)

Los folatos se distribuyen en el organismo a través de la circulación principalmente hacia tejidos de rápida división celular, como la médula ósea o la mucosa gastrointestinal, ya que necesitan el folato para la síntesis de ADN. El contenido total de folatos en el organismo se encuentra entre 5 y 10 mg, siendo los órganos más ricos en folatos el hígado (2,7-15,6 mg/g) y el cerebro. La tasa de folatos en líquido cefalorraquídeo es 3 ó 4 veces superior a la tasa plasmática. (31)

Eliminación

Los folatos son eliminados del organismo a través de las vías fecal y urinaria. En las heces aparecen folatos procedentes de la fracción alimentaria que no es absorbida (aproximadamente un 20%), de la secreción biliar y de la síntesis por las bacterias intestinales. Parte de los folatos secretados en la bilis son de nuevo reabsorbidos, estableciéndose un ciclo enterohepático importante. (30)

A través de la orina se eliminan los folatos metabolizados como pteridinas y ácido benzoilglutámico. A nivel renal, también se produce una importante reabsorción tubular de los folatos filtrados. El rango de folatos eliminados por vía urinaria oscila entre 1 y 10 µg/día en forma de metabolitos. (33)

Dosis :

Perros : 0.5-1.0 mg / animal (27)

- **LA VITAMINA B12 O CIANOCOBALAMINA**

Se define a las vitaminas como aquellos “micronutrientes orgánicos, sin valor energético, necesarias para el hombre en muy pequeñas cantidades y que deben ser aportadas por la dieta, por la alimentación, para mantener la salud”. (32)

La falta de B₁₂ puede conducir a problemas de salud tales como anemia y enfermedad gastrointestinal con el tiempo. Sin embargo, para los perros que no están recibiendo suficiente B₁₂, un suplemento puede ser necesario para mejorar su salud. Es por eso que se afirma contundentemente que la vitamina B₁₂ desempeña un papel importante en el cuerpo de los perros. El problema para poder ubicar la sintomatología de los perros frente a la carencia de esta vitamina es cuando el perro se vuelve letárgico, con la posibilidad de no querer salir a pasear ni mucho menos jugar, e incluso el no querer comer, sin importarle el tipo de comida que le puedan colocar. (34)

a. Propiedades de la Vitamina B₁₂

También se le conoce como factor proteínico animal, factor 10 y fisina; todos esos nombres se refieren a la actividad biológica relacionada con cianocobalamina, hidroxicobalamina y nitrocobalamina, sin embargo se prefiere el término de vitamina B₁₂, es inodora e insípida y su máxima estabilidad es a un pH de 4.5-5. (29)

b. Dimensión farmacodinamia de la vitamina B₁₂.

La hidroxicobalamina y la cianocobalamina son formas no fisiológicas de la cobalamina; en el organismo se transforman de forma espontánea en metil y 5' desoxiadenosil que son las formas fisiológicamente activas o coenzimas de la vitamina B₁₂. La cianocobalamina por exposición a la luz y a los agentes reductores pasa rápidamente a la forma de hidroxicobalamina. (29)

La vitamina B₁₂ es convertida en dos coenzimas (metilada y adenosinada), que son parte del grupo prostético de una gran variedad de apoenzimas, las cuales son inactivas sin el factor cobalamina y son convertidas en haloenzimas cuando se les une éste. Si la metilcobalamina se inhibe, también lo es la reparación y formación del tejido nervioso, ya que aquélla participa en la transferencia del grupo metilo para la regeneración de metionina de la homocisteína en los mamíferos. (35)

La vitamina B12 (cianocobalamina e hidroxicobalamina) actúa como coenzima en varias funciones metabólicas incluyendo el metabolismo de grasas y carbohidratos y síntesis de proteínas. Es necesaria para el crecimiento, la replicación celular, hematopoyesis y la síntesis de nucleoproteínas y mielina. La vitamina B12 participa en la formación de los glóbulos rojos mediante la activación de las coenzimas del ácido fólico. Tanto la cianocobalamina como su análogo la hidroxicobalamina son formas sintéticas de vitamina B12 y tienen una acción hematopoyética aparentemente idéntica a la del factor antianémico presente en los extractos de hígado purificados. (35)

c. Dimensión farmacocinética de la vitamina B₁₂.

La vitamina B12 se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal y su absorción tiene lugar en la mitad inferior del íleon. (36)

Al hablar de los procesos a los que un fármaco es sometido a través de su paso por el organismo (dimensión farmacocinética), mediante la cianocobalamina e hidroxicobalamina marcadas con cobalto 60 radiactivo se ha probado que la cianocobalamina y la hidroxicobalamina se absorben cómodamente cuando se administran por vía intramuscular y subcutánea; es más, la concentración sanguínea se eleva, llegando al máximo en 4 a 5 horas y declinando en el transcurso de 72 horas. Con la hidroxicobalamina se logran niveles sanguíneos altísimos y sustentados que con la cianocobalamina, lo que se debe a una absorción más lenta, una acumulación mayor y una eliminación mucho más lenta con la primera de esas drogas, todo lo cual acata a una combinación más fija con las proteínas del organismo, sobre todo las del plasma sanguíneo.

“La administración parenteral de vitamina B12 en forma de cianocobalamina (vitamina B12 propiamente dicha) o hidroxicobalamina (vitamina B12a) produce efectos beneficiosos sorprendentes en la anemia

perniciosa. Dentro de las 48 horas el paciente experimenta una mejoría sintomática, con aumento de su fuerza y apetito y en unos días desaparece la palidez” (27)

Se almacena principalmente en el hígado y se libera lentamente de acuerdo con las necesidades para llevar a cabo las funciones metabólicas celulares normales. La Vida media es de aproximadamente 6 horas.

La eliminación es dentro de las 48 horas siguientes a la administración de una inyección de vitamina B12 entre el 50 y el 98 % de la dosis aparece en la orina. La mayor parte se excreta dentro de las primeras 8 horas. La hidroxicobalamina se une más estrechamente a las proteínas y es retenida en el organismo por mayor tiempo que la cianocobalamina, sin embargo, no tiene ninguna ventaja sobre la cianocobalamina. (35)

Dosis

Perros: 0.03-0.05 mg/animal (27)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN Y TIEMPO EXPERIMENTAL

La presente Investigación se realizó en la ciudad de Lambayeque; se seleccionaron Caninos clínicamente enfermos que se atienden en la Clínica Urgencias Veterinaria Fox. El tiempo experimental fueron de 6 meses.

3.2 MATERIALES

3.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizó las muestras biológicas de sangre entera (EDTA + sangre), que se extrajo de la vena cefálica de 26 Caninos.

3.2.2 MATERIAL DE OFICINA

- Hoja de identificación del canino.
- Lapicero.
- Plumón

3.2.3 MATERIAL FARMACOLÓGICO

- Presentación farmacéutica de los medicamentos:
 - Ácido fólico: Tableta, conteniendo 0,5 mg de ácido Fólico (caja x 30 tabletas).
 - Sulfato Ferrosos: Tableta, conteniendo 300 mg de Sulfato Ferroso.
 - Vitamina B12: Ampolla, conteniendo 1mg/ml de hidroxicobalamina
- Kit del Test Rápido Anigen para E. canis Ab.: Este test es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos de Ehrlichia canis en suero, plasma o sangre total canina.

3.2.4 MATERIAL DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Los materiales utilizados para la obtención de cada muestra son los siguientes:

- Tubos vacutainer.
- Agujas hipodérmicas
- Alcohol
- Algodón
- Guantes.
- Agua oxigenada

3.2.5 EQUIPO

- Equipo de Analizador hematológico

Modelo: kt-63000-vet

Marca: GENRUI

Parámetro: Se utiliza para detectar los parámetros de RBC, WBC, HGB y conteo diferencial. 20 parámetros y 3 histogramas.



Figura 1: Equipo Analizador hematológico

3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.3.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La toma de muestras sanguínea se realizó mediante el sistema al vacío en tubos con EDTA; obteniendo sangre para realizar el hemograma y la prueba de ELISA.

Para realizar una correcta toma de muestras sanguíneas en los pacientes se siguió la siguiente secuencia:

- Identificación de tubos al vacío con datos del paciente
- Sujeción adecuada
- Desinfección del área de toma de muestra y rasurado en caso de ser necesario.

Aplicación de la hemostasia y por consiguiente extracción de la muestra, después proceder a homogenizar el tubo para mezclar la sangre con el mismo.

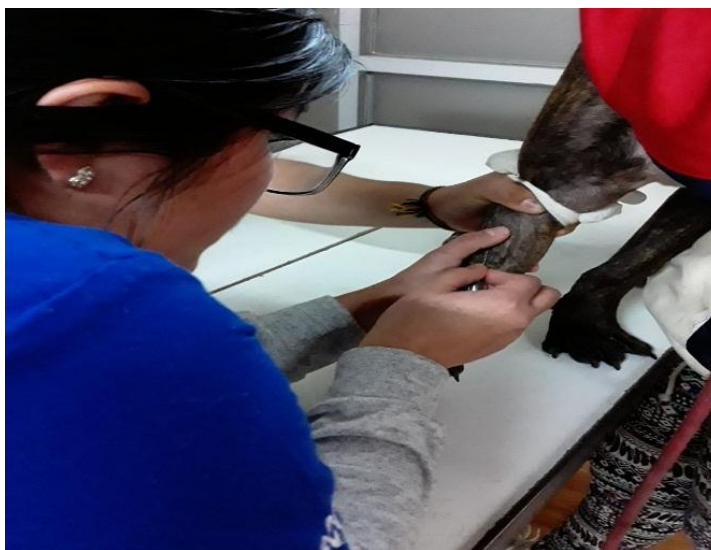


Figura 2: Obtención de muestra sanguínea

3.3.2 ANÁLISIS DE MUESTRA

- Hemograma: Se realizó utilizando el hemocitómetro automatizado de uso veterinario marca GENRUI modelo KT-6300 VET el mismo que utiliza la impedancia eléctrica como método de conteo automatizado.
- Después de haber sacado el análisis de sangre y observado los parámetros y comparando con los signos clínicos de los pacientes se procede a hacer canis kit de prueba Anigen Rapid E. canis Ac
- kit de prueba Anigen Rapid E. canis Ac tiene las letras “T” y “C” como línea de prueba y línea control respectivamente sobre la superficie del dispositivo. Estas dos líneas no son visibles en la ventana de resultados antes de la aplicación de cualquier muestra. La línea control es usada como control del procedimiento, y debe aparecer siempre, si el procedimiento de prueba es realizado correctamente y los reactivos de prueba están funcionando. Una línea de prueba púrpura aparecerá en la ventana de resultados si en la muestra hay presencia de anticuerpos contra E. canis. Los antígenos de E. canis especialmente seleccionados son usados en la banda de prueba como materiales de detección y captura. Estos permiten al kit de prueba Anigen Rapid E. canis Ac identificar los anticuerpos de Ehrlichia canis en muestras de suero, plasma o sangre total canina con una alto grado de exactitud.
 - Retire el kit de prueba de la bolsa de aluminio y ubíquelo sobre una superficie plana y seca.
 - Dispensar 3 gotas de diluyente de sangre total dentro del tubo de prueba para la dilución de la sangre total. Adicionar 1 gota (30ul) de muestra de sangre total con un gotero desechable y mézclelos por 1 minuto.
 - Adicionar 10ul de la mezcla de muestra al pozo de muestra marcado con la letra “S” del dispositivo de prueba con un tubo capilar y espere 1 minuto.
 - Adicione 3 gotas del búfer revelador dentro del pozo para el búfer.



Figura 3: Realización del Test de prueba Anigen Rapid E. canis Ac

- Para los resultados de prueba, se observará la banda púrpura en la ventana de resultados del dispositivo. Interprete los resultados de prueba a los 20 minutos.



Figura 4: Interpretación del resultado de la prueba Anigen Rapid E. canis Ac

Dando positivo los animales se seleccionaron y se clasificaron dos grupos un grupo testigo y un Experimental. Al grupo experimental se le dan los coadyuvantes después de 7 días de empezar el tratamiento común de ehrlichiosis canina, dichos medicamentos se darán por un lapso de 7 días, culminado los días, pasando 5 días se extraerá una muestra de sangre para ser procesada en el analizador hematológico KT- 6300 Vet y repetir los mismos pasos ya mencionados.

3.3.3 VARIABLES

Se consideraron las siguientes variables:

A. Variable Independiente

Efecto del sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B12 como coadyuvante

B. Variable Dependiente

Tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia Canis* Caninos de todas las razas

3.4 MUESTRA

3.4.1 TAMAÑO DE MUESTRA

Referente a la población y muestra de la investigación, se realizó muestra piloto, evaluando durante los meses noviembre-diciembre del 2018.

Con esto, tenemos a 52 historias clínicas de casos sospechosos, identificados sólo a 3 casos *Ehrlichia canis*, lo que permite tener una prevalencia de 5.77 (0.058) para la investigación. Esto se especifica en el siguiente cuadro, donde observamos la cantidad de perros debida con esta enfermedad de la *Ehrlichia canis* y la presencia de anemia.

52 casos sospechosos ——— 100 %

3 casos positivos ——— x

$$X = 5.77$$

Prevalencia: 0.058

Como se desconoce la población, se aplicara la fórmula para estimar población desconocida, donde:

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = \text{Nivel de confiabilidad } 95\% = 1.96$$

p = proporción de elementos que poseen la característica de interés. Se obtuvo de la muestra piloto.

e = error máximo tolerable.

De esta forma, la fórmula para estimar la proporción poblacional cuya situación es donde “n” es infinita, queda de la siguiente manera:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 p^*q}{e^2}$$

En los siguientes cuadros observamos la frecuencia absoluta de perros positivos con *Ehrlichia canis*, con su debida frecuencia porcentual, de forma general.

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.058) (0.942)}{(0.09)^2}$$
$$n = 25.91 \text{ ----- } 26$$

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la muestra total será de 26 perros, divididos en dos grupos 13 perros que sería el grupo testigo (grupo placebo), y un grupo de 13 perros que se aplicaran los medicamentos mencionados.

3.4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente estudio se empleó la Prueba T, para el cual se utilizó el software estadístico SPSS²⁵.

IV. RESULTADOS

En el presente trabajo de investigación se muestran los siguientes resultados:

4.1 ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN RECuento ERITROCITARIO (RBC).

CUADRO 1: Valores del recuento Eritrocitario de los canes del grupo experimental antes y después del tratamiento.

GRUPO EXPERIMENTAL		
RECuento ERITROCITARIO ($10^6/\text{ul}$)		
Nº	Antes	Después
1	4,14	5,49
2	5,01	5,96
3	2,34	4,35
4	5,45	5,75
5	4,12	5,23
6	5,75	5,84
7	3,99	5,79
8	3,25	5,65
9	3,96	5,91
10	2,49	5,49
11	4,99	6,18
12	4,02	5,62
13	4,47	5,67

Fuente: Anexo N° 3

En el cuadro 1: valores del recuento eritrocitario del grupo experimental comparando los resultados de antes y después del tratamiento, teniendo en cuenta los valores normales que debería tener el cual oscila entre $5.5-8.5 \times 10^6/\text{ul}$ (37)

CUADRO 2: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable recuento eritrocitario ($10^6/\text{ul}$).

	<i>Grupos</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación</i>
Antes	G. Testigo	4,408 a	($\pm 0,769$)
	G. Experimental	4,152 a	($\pm 1,03$)
Después	G. Testigo	5,168 B	($\pm 0,328$)
	G. Experimental	5,610 A	($\pm 0,448$)

Significancia 99,3 %

Fuente cuadros anexos N° 4 y 5

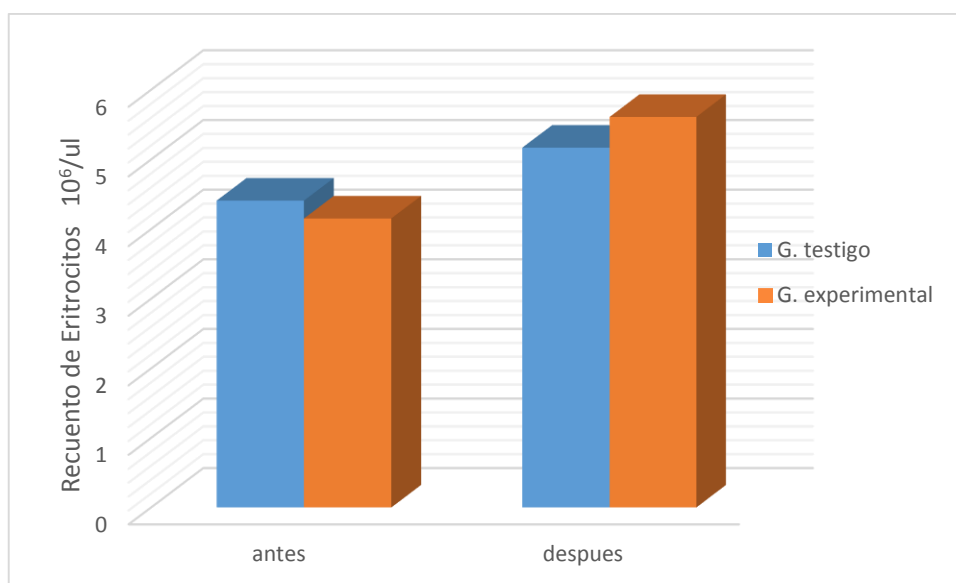


Grafico 1: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticada con *ehrlichiosis canina* sobre la variable recuento eritrocitario

En el cuadro 2 y Grafico 1: Podemos ver que antes de someter los perros al tratamiento con el coadyuvante el recuento eritrocitario para el grupo testigo fue de 4,408 y para el grupo experimental 4,152, no habiendo diferencia significativa, sin embargo podemos apreciar que después de la aplicación de los coadyuvantes la menor media fue para el grupo testigo y la mayor media fue para el grupo experimental, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$).

Se conoce que el RBC Consiste en determinar la cantidad de eritrocitos en sangre periférica por unidad de volumen por microlitro, tomando como referencia los valores normales que un perro debería tener de los cuales son $5.5-8.5 \times 10^6/\mu\text{l}$ (37) se puede determinar que el valor de $5.610 \times 10^6 /\mu\text{l}$ obtenido del grupo experimental, abarca dentro de los parámetros normales mencionados a comparación del grupo testigo.

4.2 ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN HEMATOCRITO (HCT).

CUADRO 3: Valores de hematocrito de los canes del grupo experimental antes y después del tratamiento.

GRUPO EXPERIMENTAL		
HEMATOCRITO (%)		
N °	Antes	Después
1	25,70	35,70
2	33,70	38,20
3	16,00	27,10
4	38,80	39,80
5	21,50	31,50
6	34,60	35,90
7	24,20	36,20
8	19,40	32,70
9	26,20	41,10
10	15,60	36,20
11	29,40	37,90
12	25,60	35,70
13	28,00	35,80

Fuente: Anexo N° 3

En el cuadro 3: los valores del hematocrito de los canes del grupo experimental comparando antes y después del tratamiento , teniendo en cuenta los valores normales que debería tener de los cuales oscilan entre 37 % - 55 % (37)

CUADRO 4: Efecto del ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis sobre la variable hematocrito

	<i>Grupos</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación</i>
Antes	G. Testigo	29,077 a	(±5,790)
	G. Experimental	26,054 a	(±7,001)
Después	G. Testigo	32,770 B	(±2,799)
	G. Experimental	35,677 A	(±3,631)

Significancia al 99,1 %

Fuentes cuadro de anexo N° 6 y 7

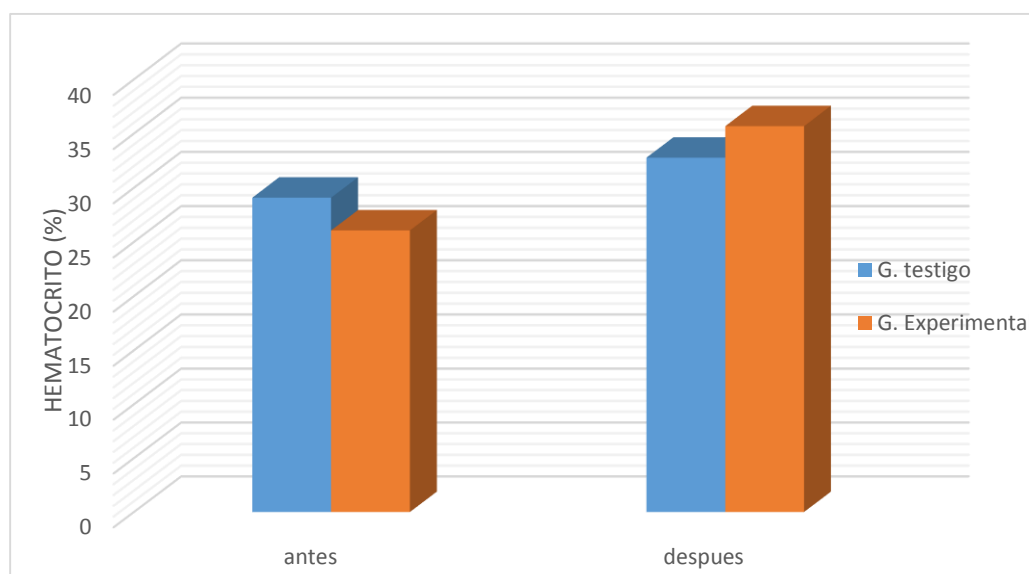


Gráfico 2: Efecto del ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticado con ehrlichiosis sobre la variable hematocrito

En el Cuadro 4 y Gráfico 2: Podemos ver que antes de someter los perros al coadyuvante su valor Hematocrito para el grupo testigo fue de 29,077 y para el grupo experimental 26,054; no habiendo diferencia significativa, sin embargo podemos apreciar que después de los coadyuvante aplicados la menor media fue para el grupo testigo y la mayor media fue para el grupo experimental, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$).

Se conoce que el HCT (hematocrito) es el volumen de eritrocitos con relación al total de la sangre, se expresa de manera porcentual y tomando como referencia los valores normales que un perro debería tener de los cuales son 37 % - 55 % (37) se puede determinar que el dato de 35,677 % obtenido del grupo experimental si bien es cierto no está dentro de los parámetros se acerca más al parámetro normal en comparación con el valor de 32,77 % obtenido del grupo testigo.

4.3 ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN HEMOGLOBINA (HB)

CUADRO 5: Valores de hemoglobina de los canes del grupo experimental antes y después del tratamiento.

GRUPO EXPERIMENTAL		
HEMOGLOBINA (g/dl)		
Nº	Antes	Después
1	7,80	12,80
2	10,70	12,50
3	4,70	9,80
4	11,90	12,90
5	6,10	12,30
6	11,10	13,20
7	7,70	12,40
8	5,70	12,50
9	7,80	12,80
10	4,40	11,70
11	8,90	11,10
12	8,50	13,30
13	8,20	12,90

Fuente: Anexo N° 3

En el cuadro 5: Valores de hemoglobina de los canes pertenecientes al grupo experimental, teniendo en cuenta los valores normales que debería tener de los cuales son 12-18 g/dl (37)

CUADRO 6: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable hemoglobina (g/dl).

	<i>Grupos</i>	<i>media</i>	<i>Desviación estándar</i>
Antes	G. Testigo	9,446 a	($\pm 2,019$)
	G. Experimental	7,962 a	($\pm 2,347$)
Después	G. Testigo	11,185 b	($\pm 0,951$)
	G. Experimental	12,323 a	($\pm 0,966$)

Significancia al 98,3 %

Fuente Anexo N° 8 y 9

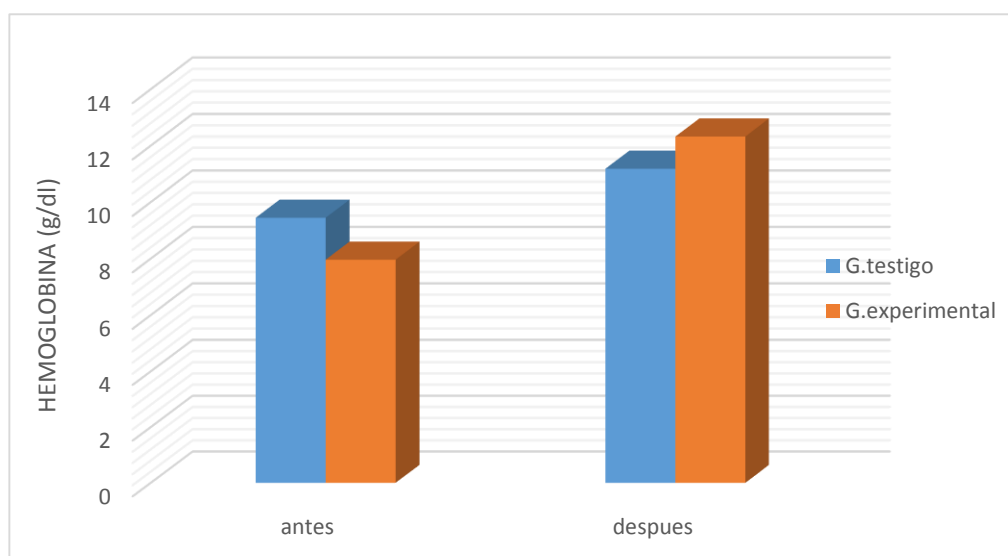


Gráfico 3: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable hemoglobina (g/dl).

En el cuadro 6 y gráfico 3: Podemos ver que antes de someter los perros al coadyuvante su valor Hemoglobina para el grupo testigo fue de 9,446 y para el grupo experimental 7,962, no habiendo diferencia significativa ($p > 0.05$), sin embargo podemos apreciar que después de los coadyuvante aplicados la menor media fue para el grupo testigo y la mayor media fue para el grupo experimental, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$).

Se conoce que los valores normales de hemoglobina en un perro es de 12 -18 g/dl (37) se puede determinar que el valor de 12, 323 g/dl obtenido del grupo experimental, abarca dentro de los parámetros normales mencionados a comparación del grupo testigo.

4.4 ANÁLISIS DE LA MUESTRA SEGÚN PLAQUETAS (PLT)

CUADRO 7: Valores plaquetarios de los canes del grupo testigo y grupo experimental antes y después del tratamiento.

GRUPO EXPERIMENTAL		
PLAQUETAS (10³/ul)		
Nº	Antes	Después
1	180,00	225,00
2	78,00	188,00
3	70,00	173,00
4	173,00	223,00
5	118,00	203,00
6	80,00	168,00
7	95,00	257,00
8	83,00	214,00
9	64,00	231,00
10	57,00	205,00
11	48,00	236,00
12	39,00	179,00
13	69,00	213,00

Fuente: Anexo N° 3

En el cuadro 7: Valores plaquetarios de los canes del grupo experimental antes y después del tratamiento, teniendo en cuentas los valores normales que deberían tener los cuales oscilan entre 175 -500 10³/ul (37)

CUADRO 8: Análisis porcentual de casos que presentaron alteraciones plaquetarias antes de empezado el tratamiento.

ALTERACION PLAQUETARIA	POCENTAJE
TROMBOCITOPENIA	84,62%
NORMAL	15,38%
TOTAL	100,00%

Fuente: Anexo N° 1 y 2

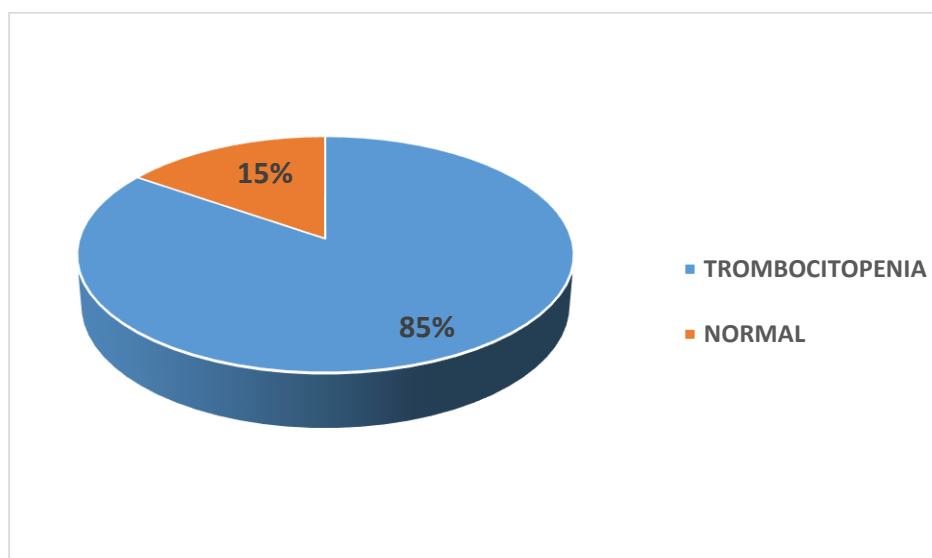


Gráfico 4: Análisis porcentual de casos que presentaron alteraciones plaquetarias antes de empezado el tratamiento.

En el cuadro 8 y Gráfico 4: De 26 canes en total solo el 15,38% estuvo dentro de los parámetros normales de plaquetas los cuales son 175-500 ($10^3/\text{ul}$) (37) y el 84,62% del total de canes presentaron trombocitopenia .

CUADRO 9: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B₁₂ como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable Plaquetas (10³/ul).

	<i>Grupos</i>	<i>media</i>	<i>Desviación estándar</i>
Antes	G. Testigo	113,615 a	59,266
	G. Experimental	88,769 a	43,82
Después	G. Testigo	175, 00 a	54,68
	G. Experimental	208,846 a	26,426

Significancia al 94 %

Fuente Anexo N°10 y 11

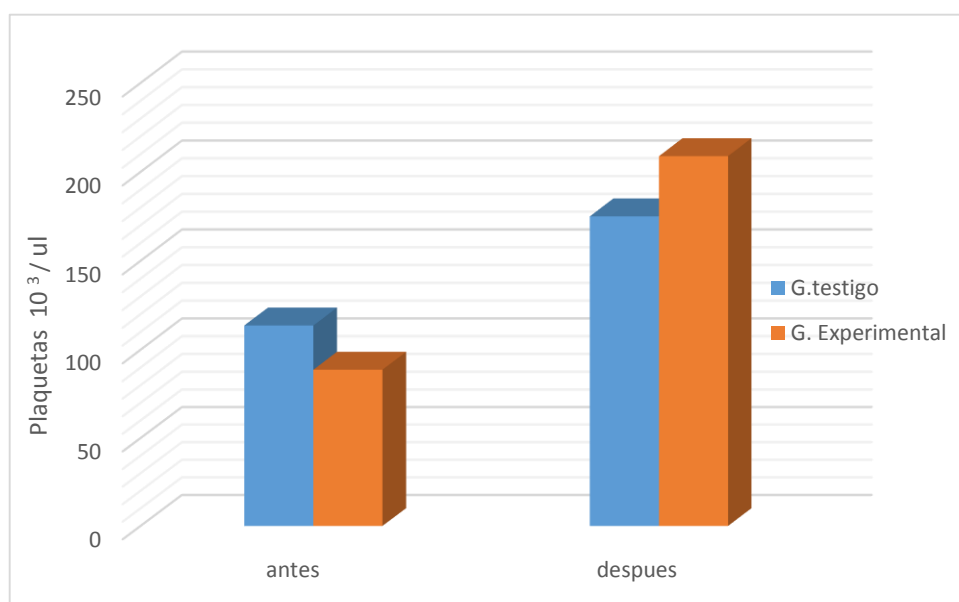


Gráfico 5: Efecto de ácido fólico, sulfato ferroso y vitamina B12 como coadyuvante en el tratamiento de caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina sobre la variable Plaquetas (10³/ul).

En el cuadro 9 y gráfico 5: Podemos ver que antes de someter los perros al coadyuvante su valor plaquetario para el grupo testigo fue de 113,615 10³/ul y para el grupo experimental 88,769 10³/ ul no habiendo diferencia significativa (p>0.05), sin embargo podemos apreciar que después de los coadyuvante aplicados la menor media

fue para el grupo testigo y la mayor media fue para el grupo experimental, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$).

Se conoce que los valores normales de plaquetas son $175 - 500 \times 10^3/\text{ul}$ (37) se puede determinar que el dato de $208,846 \times 10^3/\text{ul}$ obtenido del grupo experimental, abarca dentro de los parámetros normales mencionados a comparación a $175,00 \times 10^3/\text{ul}$ valor del grupo testigo que se encuentra en el límite inferior de los valores normales mencionado.

V. DISCUSIÓN

Finalizando el Proceso de investigación utilizando la Prueba estadística “T” de Student, se encontraron diferencia entre los valores hematológicos del grupo testigo y del grupo experimental .Siendo el valor mayor del grupo experimental. Esto demuestra que los medicamentos sulfato ferroso, ácido Fólico y vitamina B₁₂ generan efecto positivo como coadyuvantes, aumentando los valores de Recuento Eritrocitario, Hematocrito, Hemoglobina y plaquetas en los canes diagnosticados con Ehrlichiosis canina.

Así mismo, en la investigación se encontraron alteraciones hematológicas como trombocitopenia, anemia. Siendo respaldado estos valores por autores que afirman que estas alteraciones se deben a que el microorganismo invade a las células mononucleares y a las células circulares como los glóbulos rojos provocando aplasia medular produciendo las alteraciones patológicas. (6). Por consiguiente manifiestan que la anemia está asociada por la supresión en la producción de eritrocitos, desencadenando una destrucción extravascular de los eritrocitos y hemolisis; todo esto se debe a los trastornos inmunomediados la alteración en la disponibilidad del hierro. (33)

Se encontraron los valores de trombocitopenia en un 84,62% de los casos positivos diagnosticados, datos que coinciden donde la trombocitopenia resultó ser significativa estadísticamente; alcanzando un 94,87% +/- 5.83% (10), por consiguiente en un estudio se obtuvo un 89,65% de animales trombocitopenicos positivos a Ehrlichiosis canina el cual también afirman que la trombocitopenia es considerada como la anormalidad hematológica más común y consistente de perros, infectados con E. canis (6). Así mismo afirma que la trombocitopenia en perros infectados con E. canis, se produce en todas las fases de la enfermedad. Mientras mayor sea la magnitud de la trombocitopenia, mayor será la posibilidad para la detección de E. canis. (38)

Cabe destacar que algunos autores indican que la ausencia de trombocitopenia no descarta la enfermedad (39) esto podría explicar el caso de 4 canes representando el 15,38%, donde los valores plaquetarios estuvieron dentro de los parámetros normales sin embargo resultaron positivos al kit de prueba Anigen Rapid E. canis.

Asimismo el efecto del sulfato ferroso resultó ser significativo estadísticamente sobre las variables y esto se debe a que las sales ferrosas son las más solubles y mejor absorbibles. El Fe absorbido genera un acelerado proceso eritropoyético produciendo también un incremento de los reticulocitos en sangre periférica, que es máximo entre los 5 y 10 días de iniciado el tratamiento. Al mismo tiempo se incrementa el número de glóbulos rojos circulante, la hemoglobina y el hematocrito. Produciendo habitualmente una rápida mejoría sintomática. La normalización del cuadro hematológico y la mejoría clínica se logran rápidamente pero la reposición total de los depósitos de Fe lleva un tiempo mucho mayor. (24) . Esto datos coinciden donde se utilizó un dieta base de sulfato ferroso y ácido fólico en promedio la concentración de la hemoglobina se incrementó de 9.9 a 14.7 g/dL correspondiendo a antes (anemia) y después, respectivamente, observándose la recuperación de la anemia del 100 por ciento de los animales experimentales.(8)

La significancia estadística encontrada en el presente trabajo del ácido fólico con la vitamina B12 sobre las variables demuestra que hubo un efecto positivo , esto se debe a que el ácido fólico en la médula ósea es necesario para la formación de glóbulos rojos y la síntesis de ARN. (29) .Esto tiene relación, donde se afirma que el ácido fólico es esencial en la reproducción celular y ayuda en la formación de glóbulos rojos (33). Por consiguiente el metabolismo del ácido fólico y de la vitamina B12 está interrelacionado, y se debe considerar cuando se instituye la terapia. La respuesta clínica y hematológica al ácido fólico es rápida en 1 ó 2 días el apetito del paciente mejora y vuelve la sensación de bienestar, con un incremento de la energía y del interés por el entorno. (25)

Con respecto hacia la variable plaquetaria no hubo efecto significativo estadísticamente ($p=0.062$), lo que se determina que al 94 % si fue significativa estadísticamente. Se sabe que la ehrlichiosis canina genera hipoplasia en las células precursoras de medula ósea (20), por consiguiente las plaquetas se originan en la medula ósea (40). Si bien es cierto hubo un

aumento con respecto a la media del grupo experimental siendo de $208.846 \times 10^3/\mu\text{l}$ estando dentro de los parámetros normales , teniendo relación con la estimulación en la producción celular en la medula ósea producidas por el ácido fólico , y la vitamina B₁₂ .Así mismo se sabe que la vida media de las plaquetas es 3 a 7 días (40) y en otra investigación se dice que la vida media oscila entre 6-10 días (41) , relacionando con los 7 días que se dieron los coadyuvantes en la presente investigación se puede decir que las plaquetas estaban en proceso de formación , lo cual los valores no fueron relativamente significante , a pesar que la media obtenida del grupo experimental después de aplicado los coadyuvantes , fue más elevada que al inicio del tratamiento .

VI. CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo han permitido obtener las siguientes conclusiones:

- El sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B₁₂ como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* producen aumento altamente significativo en el recuento eritrocitario ($p=0,007$).
- El sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B₁₂ como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* producen aumento altamente significativo en el hematocrito ($p=0,009$).
- El sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B₁₂ como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* producen aumento significativo en la hemoglobina ($p=0.017$).
- El sulfato ferroso, ácido fólico y vitamina B₁₂ como coadyuvante para el tratamiento de caninos diagnosticados con *Ehrlichia canis* no producen aumento significativo de plaquetas ($p=0.062$), pero se determina que tiene significancia al 94%.

VII. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede dar las siguientes recomendaciones:

- Usar los coadyuvantes en la clínica diaria en los caninos diagnosticados con ehrlichiosis canina para mejorar las alteraciones hematológicas.
- Realizar trabajos complementarios, empleando los mismos coadyuvantes en otros géneros de similar patogenia como lo es Anaplasma y evaluando si es que dichos coadyuvantes también influyen en la recuperación del paciente y por consiguiente en el restablecimiento de los valores hematológicos de los canes.
- Evaluar el uso de los coadyuvantes por más tiempo para observar si se genera un mayor efecto sobre alteraciones hematológicas.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Frontline. ¿Cómo afectan las garrapatas a la salud de las mascotas? [artículo en Internet]. [Argentina]: Boehringer Ingelheim; 2017 [citado 30 de diciembre de 2018] Recuperado a partir de: <https://frontline.com.ar/pulgas-garrapatas/garrapatas/Pages/salud-de-las-mascotas>
2. Jiménez L, Cala F, Albarracin J, Beatriz L. La Ehrlichiosis canina: *Ehrlichia canis* (caso clínico) [Internet]. 2017 [citado 30 de diciembre de 2018];18(8):1-9. recuperado a partir de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080817/081707.pdf>
3. Adrianzén GJ, Chávez VA, Casas AE, Li EO. Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima [Internet]. 2003 [citado el 01 de enero de 2019]; 14(1):43-48. Recuperado a partir de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/1596/1375>
4. Oliva JM (dir). Determinación de Ehrlichiosis canina en la ciudad de Chiclayo, mediante diagnóstico clínico y hematológico directo durante enero-octubre 2014 [tesis de licenciatura]. [Lambayeque-Perú]: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2015.
5. Astonitas L (dir). Perfil hematológico en perros con ehrlichiosis canina en el distrito de Chiclayo [tesis de licenciatura]. [Lambayeque-Perú]: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2015.
6. Hoyos LA. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de ELISA en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis canina [tesis de licenciatura]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
7. Alberca R. Evaluación hematológica de perros diagnosticados a Ehrlichiosis canina en la ciudad de Jaén-Perú [tesis de licenciatura]. [Cajamarca-Perú]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2014 [citado 03 de enero de 2019]. (1-96p.).
8. Ayala M. Yogurt fortificado con vitamina A, ácido fólico, hierro y zinc en animales experimentales con anemia inducida. [tesis de licenciatura]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015.

9. Sullca MM. Características personales y clínicas de niños que reciben tratamiento de sulfato ferroso – Centro de salud San Salvador, Cusco 2016 [tesis de Licenciatura]. [Cusco-Perú]: Universidad Andina del Cusco; 2017 [citado 03 de enero de 2019]. (1-109p.). Recuperado a partir de: http://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/UAC/1157/3/Mirella_Tesis_bachiller_2017.pdf.
10. Robles DA. Diagnóstico de la Ehrlichiosis canina basado en los hallazgos clínico-hematológicos de los caninos atendidos en el centro veterinario “San Martín” de la ciudad de Trujillo durante marzo 2006 a marzo 2007 [tesis de licenciatura]. Lambayeque (PE): Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo; 2008.
11. Domínguez GG. Prevalencia e identificación de hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) en perros de la ciudad de Cuenca [tesis de licenciatura]. [Cuenca-Ecuador]: Universidad de Cuenca; 2011 [citado 04 de enero de 2019]. Recuperado a partir de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3024/1/tv199.pdf>
12. Olaya AJ. Efecto hepatoprotector del ácido tióctico en *canis familiaris* con ehrlichiosis canina tratados con doxiciclina en el distrito de Trujillo [tesis de licenciatura]. [Trujillo-Perú]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2017.
13. Gutiérrez C, Pérez-Ybarra L, Agrela I. Ehrlichiosis Canina. Revista Saber [Internet]. 2016 Sep [2016 Sep 01]; 28(4):38-1. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427751143001>
14. Harrus S, Waner T, Neer M. infecciones por Ehrlichia y Anaplasma, capítulo 26. En: Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 4ta ed. Georgia-EE.UU: Editorial ELSEVIER; 2007; 225-238.
15. Huerto E, Dámaso, Mata B. Factores asociados a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infectados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2015;32(4):756-60.
16. Rodríguez RI, Albornoz RE, Bolio GM. Ehrlichia canis en perros en Yucatán: seroprevalencia, la prevalencia de la infección y los factores asociados México. Parasitología Veterinaria, 2004; 127(1): 75-79.
17. Benegas V. Estudio retrospectivo de la prevalencia de Ehrlichiosis canina (*Ehrlichia canis*) en la ciudad de Arica-Chile. Periodo 2010-2014 [tesis de licenciatura]. [Tacna-

- Perú]: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2016 [citado 04 de enero de 2019]. Recuperado a partir de: http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1851/967_2016_vicente_benegas_jcj_fcag_veterinaria.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Troy G, Forrester S. *Ehrlichia canis*, *E. equi*, and *E. risticii* infections. En: Greene CE (editor). Infectious Diseases of the Dog and Cat. Philadelphia: W.B. Saunders; c1990. 404-414.
 19. Sodikoff C. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en pequeños animales. Ed Harcourt, 2001. 399.
 20. Greene C., Anderson b. *Ehrlichia ewingii* sp. Nov., the etiologic agent of canine granulocytic ehrlichiosis. Int. J syst. Bacteriol. 2007; 12(2): 299-302.
 21. Chavera A., Samame H. Ehrlichiosis canina en el Perú. En: Analas VII Congreso nacional de ciencias veterinarias. Ica. 1982
 22. Hildebrant P, Huxsoll D, Walker J, Nims R, Taylor R, Andrews M. Pathology of canine ehrlichiosis: tropical canine pancytopenia. Am J Vet Res. 1973; 34:1320-1309.
 23. Ristic M, Williams J, Kakoma I. Current strategies in research on ehrlichiosis: ehrlichiosis. Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1990.
 24. Litter M. Compendio de farmacología. Argentina: El Ateneo Editorial; 2003.
 25. Forrellat M, Gómis I, Du Défaix HG. Vitamina B12: Metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 1999;15(3):159-74.
 26. Freeman L y Rush J. Enfermedades cardiovasculares: influencia de la nutrición. Enciclopedia de la nutrición clínica canina. [Internet]. Canadá: Royal Canin; 2010 [citado 05 de enero de 2019]. (1-517). Recuperado a partir de: <https://www.royalcanin.es/enciclopedia-nutricion-canina>
 27. Sumano H, Ocampo L. Farmacología Veterinaria. 3ra ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
 28. Blanco T. Alimentación y nutrición: fundamentos y nuevos criterios. 1ra ed. Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2011.
 29. Definición de Ácido Fólico [Internet]. A Ciencia General-Definista. 2019. Recuperado a partir de: <https://conceptodefinicion.de/acido-folico>

30. Valera G, Alonso E. Ácido Fólico y Salud. Madrid: Fundación Española de Nutrición; 1999.
31. Carbajal A. Vitaminas. Manual de nutrición y dietética. [Internet]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2017 [citado 05 de enero de 2019]. (1-41). Recuperado a partir de: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/manual-de-nutricion>
32. Vitamina B12 para perros [Internet]. Ven Fido. 2011. Recuperado a partir de: <http://www.venfido.com.mx/articulo.php?id=1344>
33. Boccio J, Monteiro J. Fortificación de alimentos con hierro y zinc: pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional, Brasil. Revista de Nutrição Campinas, 2004;17(1): 71-78.
34. Cecmed. Resumen de las características del producto Hidroxocobalamina-1000. Empresa Laboratorios Aica (La Habana, Cuba): Laboratorios Llorad; 2014. 4 p.
35. Malgor L, Valsecia ME. Farmacología de la Hematopoyesis: Farmacología de las anemias carenciales. New York: Editorial Médica Panamericana; 1991. 356 p.
36. Brito A, Hertrampf E, Olivares M, Gaitán D, Sánchez H, Allen LH, Uauy R. Folatos y vitamina B₁₂ en la salud humana. Rev Med Chile. 2012; 140:1475-1464.
37. López I, Mesa I. Guía práctica de interpretación analítica y diagnóstico diferencial en pequeños animales: hematología y bioquímica. España: Servet; 2015.
38. Greene CE. Enfermedades infecciosas, perros y gatos, vol.1, capítulo 28. En: Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por wolbachia. 3ra ed. Argentina: Inter-Médica; 2008. p.259-227.
39. Ettinger S. Tratado de Medicina Interna: enfermedades del perro y del gato. México: Inter-Médico; 1992. 299-297.
40. Bermejo E. Plaquetas. Rev. Hematología Argentina. 2017; 21(2):10-18.
41. Sans-Sebrafen J, Besses R, Vives C. Hematología Clínica. 5ta ed. España: Elsevier; 2006.

IX. ANEXOS

ANEXO N° 1 HISTORIA CLÍNICA

N° HC:

Fecha:.....

Datos del paciente

Nombre.....

Raza:

Sexo:

Edad.....

Datos de propietario

Nombre y apellidos:

.....

Dirección:celular.....

Constante fisiológicas T° FC FR.....	Peso : (kg)	Motivo de consulta
Anamnesis - - - - -	Signos clínico - - - - -	Dx presuntivo - - -
Examen auxiliar Hemograma	Test kit Ehrlichia canis Positivo Negativo	Tratamiento
Comentarios :		Próximo control

ANEXO N° 2

RELACIÓN DE VALORES HEMATOLOGICOS DEL GRUPO TESTIGO ANTES Y DESPUÉS DE APLICADO EL TX MÁS COADYUVANTE.

NOMBRE	RAZA	SEXO	EDAD	VALORES HEMATOLÓGICO DEL GRUPO TESTIGO ANTES				VALORES HEMATOLÓGICO DEL GRUPO TESTIGO DESPUÉS			
				RBC	HCT	HB	PLT	RBC	HCT	HB	PLT
ACROS	PITBULL	MACHO	8 AÑOS	4,83	29,9	9,30	46,00	5,20	30,50	10,50	110,00
ALI	SHITZU	HEMBRA	4 MESES	4,70	28,2	8,20	208,00	5,70	35,20	11,40	268,00
CADIJA	COOKER	HEMBRA	7 AÑOS	3,14	17,8	6,60	116,00	5,14	29,80	11,90	186,00
GOLIAT	PASTOR .A	MACHO	8 MESES	3,89	26,6	7,90	136,00	4,41	28,50	9,60	209,00
KEPLER	COCKER	MACHO	6 MESES	4,99	30,2	12,10	182,00	5,10	31,20	12,40	225,00
KIRA	CRIOLLO	HEMBRA	2 AÑOS	5,07	35,1	11,80	42,00	5,36	36,00	12,00	108,00
KITI	PASTOR .A	HEMBRA	7 MESES	3,10	19	5,60	56,00	5,10	30,70	9,50	130,00
MAX	POODLE	MACHO	9 MESES	4,27	25,7	8,40	98,00	5,27	31,40	10,80	143,00
MAXI	CRIOLLO	MACHO	6 AÑOS	4,26	37	11,60	157,00	5,25	37,50	12,60	215,00
PRISCILA	SHITZU	HEMBRA	1 AÑO	3,63	30,3	11,00	54,00	4,75	32,30	11,50	117,00
REX	CRIOLLO	MACHO	5 MESES	5,30	35,1	10,00	120,00	5,50	36,20	11,10	208,00
RUDO	SCHNAUZER	MACHO	10 MESES	5,35	33	10,10	65,00	5,41	34,30	11,20	125,00
SKYLLER	SCHNAUZER	MACHO	4 MESES	4,78	30,1	10,20	197,00	5,00	32,40	10,90	231,00

ANEXO N° 3**RELACIÓN DE VALORES HEMATOLÓGICOS DEL GRUPO EXPERIMENTAL ANTES Y DESPUÉS DE APLICADO EL COADYUVANTE.**

NOMBRE	RAZA	SEXO	EDAD	VALORES HEMATOLÓGICO DEL GRUPO EXPERIMENTAL ANTES				VALORES HEMATOLÓGICO DEL GRUPO EXPERIMENTAL DESPUÉS			
				RBC	HCT	HB	PLT	RBC	HCT	HB	PLT
AKILA	PITBULL	HEMBRA	2 AÑOS	4,14	25,70	7,80	180,00	5,49	35,70	12,80	225,00
BEIK	POODLE	MACHO	5 AÑOS	5,01	33,70	10,70	78,00	5,96	38,20	12,50	188,00
BLANCA	PASTOR. A	HEMBRA	9 MESES	2,40	16,00	4,70	70,00	4,35	27,10	9,80	173,00
CAMPEON	PEKINES	MACHO	14 MESES	5,45	38,80	11,90	173,00	5,75	39,80	12,90	223,00
STEFANY	CRIOLO	HEMBRA	5 AÑOS	4,12	21,50	6,10	118,00	5,23	31,50	12,30	203,00
KIRA	SHITZU	HEMBRA	2 AÑOS	5,75	34,60	11,10	80,00	5,84	35,90	13,20	168,00
KRONOS	PITBULL	MACHO	1 AÑO	3,99	24,20	7,70	95,00	5,79	36,20	12,40	257,00
LUNA	SCHNAUZER	HEMBRA	1 AÑO	3,25	19,40	5,70	83,00	5,65	32,70	12,50	214,00
MILA	CRIOLO	HEMBRA	2 AÑOS	3,96	26,20	7,80	64,00	5,91	41,10	12,80	231,00
NIKITA	PASTOR.A	HEMBRA	6 MESES	2,49	15,60	4,40	57,00	5,49	36,20	11,10	205,00
PARIS	SHARPEI	MACHO	8 MESES	4,99	29,40	8,90	48,00	6,18	37,90	11,70	236,00
SANDY	CRIOLO	HEMBRA	4 AÑOS	4,02	25,60	8,50	39,00	5,62	35,70	13,30	179,00
SANTI	LABRADOR	MACHO	5 MESES	4,47	28,00	8,20	69,00	5,67	35,80	12,90	213,00

ANEXO N° 4

PRUEBA T PARA RECuento ERITROCITARIO ANTES DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS COADYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	RBC ANTES DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	4,4085	13	,76893	,21326
	RBC ANTES TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	4,1522	13	1,02953	,28554

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					t	Gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia					
				Inferior	Superior				
RBC ANTES DEL TTO									
CON ANTIBIÓTICO - RBC									
Par 1	ANTES TTO CON	,25631	,87551	,24282	-,27276	,78538	1,056	12	,312
	ANTIBIÓTICO MÁS								
	COADYUVANTE								

ANEXO N° 5

PRUEBA T PARA RECuento ERITROCITARIO DESPUÉS DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
	RBC DESPUÉS DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	5,1683	13	,32846	,09110
Par 1	RBC DESPUÉS TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	5,6099	13	,44823	,12432

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					t	Gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia					
				Inferior	Superior				
<hr/>									
	RBC DESPUÉS DEL TTO								
	CON ANTIBIÓTICO -								
Par 1	RBC DESPUES TTO CON	-,44162	,48697	,13506	-,73589	-,14734	-3,270	12	,007
	ANTIBIÓTICO MÁS								
	COADYUVANTE								
<hr/>									

ANEXO N° 6

PRUEBA T PARA HEMATOCRITO ANTES DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	HCT ANTES DEL TTO CON ANTIBIOTICO	29,0769	13	5,78952	1,60573
	HCT ANTES DEL TTO CON ANTIBIOTICO MÁS COADYUVANTE	26,0523	13	6,99994	1,94144

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					T	Gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par	HCT ANTES DEL TTO CON								
1	ANTIBIOTICO - HCT ANTES DEL	3,02462	7,34838	2,03807	-1,41597	7,46520	1,484	12	,164
	TTO CON ANTIBIOTICO MÁS								
	COADYUVANTE								

ANEXO N° 7

PRUEBA T PARA HEMATOCRITO DESPUÉS DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	HCT DESPUÉS DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	32,7677	13	2,79861	,77619
	HCT DESPUÉS TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	35,6754	13	3,62995	1,00677

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					T	Gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	HCT DESPUÉS DEL TTO CON ANTIBIÓTICO - HCT	-							
	DESPUÉS TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	2,90769	3,38553	,93898	-4,95355	-,86184	-3,097	12	,009

ANEXO N° 8

PRUEBA T PARA HEMOGLOBINA ANTES DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	HB ANTES DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	9,4453	13	2,01825	,55976
	HB ANTES TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	7,9615	13	2,34717	,65099

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					T	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	HB ANTES DEL TTO CON ANTIBIÓTICO - HB ANTES TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	1,48385	3,07430	,85266	-,37393	3,34163	1,740	12	,107

ANEXO N° 9

PRUEBA T PARA HEMOGLOBINA DESPUES DE APLICADO EL TRATAMIENTO MAS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	HB DESPUÉS DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	11,1846	13	,95118	,26381
	HB DESPUÉS TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	12,3231	13	,96450	,26750

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas				T	Gl	Sig. (bilateral)
		Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
Par 1	HB DESPUÉS DEL TTO CON ANTIBIÓTICO - HB DESPUÉS TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	1,47735	,40974	-2,03122	-,24571	- 2,778	12	,017

ANEXO 10

PRUEBA T PARA PLAQUETAS ANTES DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	PLT ANTES DEL TTO CON ANTIBIÓTICO	113,6154	13	59,26570	16,43735
	PLT ANTES TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE	88,7692	13	43,82000	12,15348

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	PLT ANTES DEL TTO CON								
	ANTIBIÓTICO - PLT								
	ANTES TTO CON	24,84615	75,55555	20,95534	-20,81161	70,50392	1,186	12	,259
	ANTIBIÓTICO MÁS COADYUVANTE								

ANEXO 11.**PRUEBA T PARA PLAQUETAS DESPUÉS DE APLICADO EL TRATAMIENTO MÁS CODYUVANTE**

ESTADÍSTICAS DE MUESTRAS EMPAREJADAS					
		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	PLT DESPUÉS DEL TTO CON				
	ANTIBIÓTICO	175,0000	13	54,67937	15,16533
	PLT DESPUÉS TTO CON				
	ANTIBIÓTICO MÁS	208,8462	13	26,42551	7,32912
	COADYUVANTE				

PRUEBA DE MUESTRAS EMPAREJADAS

Diferencias emparejadas

		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	Gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par	PLT DESPUÉS DEL TTO CON								
1	ANTIBIÓTICO - PLT DESPUÉS	-					-		
	TTO CON ANTIBIÓTICO MÁS	33,84615	59,42481	16,48148	-69,75621	2,06390	2,054	12	,062
	COADYUVANTE								

FOTOS



Foto 1: Extracción de muestras de sangre



Foto 2: Procesado de las muestra de sangre con el analizador hematológico



Foto 3: selección de muestras para luego realización del test



Foto 4: Realización del Test de prueba Anigen Rapid E. canis Ac



Foto 5: Test de prueba Anigen Rapid E. canis Ac positivos



Foto 6: tabletas de ácido fólico (0.5 mg)y sulfato ferroso(300 mg)



Foto 7: ampollas de hidroxicoBALAMINA (1mg/ml)