



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
LAMBAYEQUE-PERU



CIUDAD UNIVERISTARIA

TELEFAX. 074 283612

**PERFIL DE LAS PROTEINAS
SANGUINEAS EN PERROS POSITIVOS
CON *Ehrlichia canis* AGOSTO 2015.
FEBRERO 2016, CIUDAD DE CHICLAYO
DEPARTAMENTO DE LAMBAYEQUE**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO

PRESENTADA POR:

Bach. MIREYLLE GISET SIADÉN PAIVA

LAMBAYEQUE – PERÚ

2017

**PERFIL DE LAS PROTEINAS
SANGUINEAS EN PERROS POSITIVOS
CON *Ehrlichia canis* AGOSTO 2015.
FEBRERO 2016, CIUDAD DE CHICLAYO
DEPARTAMENTO DE LAMBAYEQUE**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

Bach. MIREYLLE GISET SIADÉN PAIVA

REVISADO Y APROBADO POR:

MV. MSc RUTH ALVA FERNANDEZ
PRESIDENTE

MV. MSc JOSE LUIS VILCHEZ MUÑOZ
SECRETARIO

MV. CÉSAR MORANTE CHAVARRI
VOCAL

MV. MSc. LUMBER GONZÁLES ZAMORA
PATROCINADOR

DEDICATORIA

Agradezco en primer lugar a Nuestro Dios Todo poderoso, quien guía mis pasos y me brinda la fortaleza espiritual necesaria para poder llegar a cumplir cada meta trazada en mi vida.

A mis padres Martha Paiva Mejía y Eduardo Siadén Satornicio que gracias a su apoyo moral y económico, hacen de mí, ser cada día una mejor persona como mujer, amiga, hija y como profesional. Y que a pesar de mis tropiezos siguen alentándome a no desistir y siempre persistir, que son mi motor y motivo para salir adelante.

A mis hermanos Dany Manuel, Sughei del Milagro, Sandy Lisbeth y Leydi Julissa que siempre están alentándome a no desistir y por su apoyo incondicional.

A mi mamita Flora Satornicio Suysuy, que aunque ya no está con nosotros, siempre ha sido un bastón importante en mi formación a lo largo de mi vida, y sé que desde el cielo siempre guía mis pasos y me protege.

Mireylle Gisela Siadén Paiva

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi guía y haberme permitido culminar con este trabajo de investigación. A mi asesor de tesis el M.Sc. M.V. Lumber Gonzales por su gran apoyo y orientación para la culminación de este trabajo de investigación, por su amistad y por sus conocimientos transmitidos a lo largo de nuestra formación como estudiantes universitarios.

Al Doctor Bruno Becerra por haberme brindado la oportunidad de aprender, por sus consejos brindados y su ayuda desinteresada. Y a licenciada Nilet Mas por sus conocimientos brindados y su apoyo desinteresado.

Mireylle Giset Siadén Paiva

RESÚMEN

La presente investigación denominada “Perfil de las proteínas sanguíneas en perros positivos con *Ehrlichia canis*, Agosto 2015 – Febrero 2016, ciudad de Chiclayo, departamento de Lambayeque”, se centró en corroborar si las proteínas sanguíneas tales como proteínas plasmáticas, albumina y globulina, son un factor prescindible en el diagnóstico positivo de la enfermedad de *Ehrlichia canis*.

El objetivo principal de la investigación fue analizar las proteínas sanguíneas en perros positivos con *Ehrlichia canis*.

La muestra comprendió 90 canes, para lo cual nos ayudamos de los Snap 4Dx (Idexx) y corroborar que los canes estudiados eran positivos a la enfermedad.

El resultado de la hipótesis global se prueba que el 77% de los canes de estudio presentan hiperproteinemia, el 48% de los canes presentan hiperglobulinemia y el 77% hipoalbuminemia, con un intervalo de confianza de 0.95.

Palabras claves: *Ehrlichia canis*, albumina, globulina, proteínas plasmáticas, proteínas totales.

ABSTRACT

The present research, entitled "Profile of blood proteins in dogs positive with Ehrlichia canis, August 2015 - February 2016, city of Chiclayo, department of Lambayeque", focused on corroborating whether blood proteins such as plasma proteins, albumin and globulin are a factor that is dispensable in the positive diagnosis of Ehrlichia canis disease.

The main objective of the research was to analyze blood proteins in dogs positive with Ehrlichia canis.

The sample comprised 90 dogs, for which we helped the Snap 4Dx (Idexx) and corroborate that the dogs studied were positive to the disease. The results of the global hypothesis show that 77% of the study dogs present hyperproteinemia, 48% of the dogs present hyperglobulinemia and 77% hypoalbuminemia, with a confidence interval of 0.95.

Key words: Ehrlichia canis, albumin, globulin, plasma proteins, total proteins.

INDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
RESÚMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	xii
II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	14
2.1. Historia.....	14
2.2. Ehrlichiosis en el Perú.....	15
2.3. Clasificación taxonómica.....	15
2.4. Ehrlichiosis como enfermedad.....	17
2.4.1. Ehrlichiosis en caninos.....	18
2.4.1.1. Ehrlichiosis monocítica canina (EMC).....	18
2.4.1.2. Ehrlichiosis granulocítica canina (EMC).....	20
2.4.1.3. Ehrlichiosis trombocítica canina (EMC).....	20
2.5. Morfología.....	21
2.6. Transmisión.....	22
2.7. Rhipicephalus sanguineus.....	22
2.8. Huéspedes.....	23
2.9. Localización en el huésped.....	23
2.10. Ciclo Biológico.....	23
2.11. Respuesta Inmune a la Enfermedad.....	25
2.11.1. Respuesta Inmune en Fase Aguda.....	25
2.11.2. Respuesta inmune en fase subclínica.....	26
2.11.3. Vulnerabilidad inmune ligada a la cronicidad.....	27
2.12. Fisiopatología.....	28
2.13. Signos Clínicos.....	30
2.14. Alteraciones Hematológicas.....	33
2.15. Niveles de proteínas normales.....	35
2.16. Relación de proteínas, albuminas, globulinas.....	36
2.17. Diagnóstico de la ehrlichiosis canina.....	38
2.17.1 Diagnóstico Clínico.....	39

2.17.2. Diagnóstico Diferencial.....	39
2.17.3. Inmunodiagnóstico	40
2.18. Tratamiento de la enfermedad	40
2.18.1. Evolución post-tratamiento	43
2.19. Profilaxis.....	44
III. MATERIALES Y MÉTODOS	46
3.2. Duración del trabajo	46
3.3. Material Biológico	47
3.3.1. De los animales	47
3.3.2. De la muestra.....	47
3.4. Materiales y equipo de laboratorio	47
3.5. Metodología.....	48
3.5.1. Información de la muestra.....	48
3.5.1.1. Procedimiento del análisis	48
3.5.2. Interpretación de los resultados de la muestra.....	50
3.5.2.1. Resultado positivo	50
3.5.2.2. Resultado negativo	51
3.5.2.3. Resultados inválidos.....	51
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	52
4.1. De los hallazgos bioquímicos	52
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES.....	64
BIBLIOGRAFIA.....	65
VIII. ANEXOS	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	Clasificación taxonomía basada en la secuencia del gen 16SrRNA.....	17
FIGURA 2	Ciclo biológico de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	24
FIGURA 3	Procedimiento para la elaboración del test SNAP 4Dx.....	49
FIGURA 4	Resultado de muestra control positiva.....	50
FIGURA 5	Resultado de muestra control negativa.....	51

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1	Valores de Prueba Bioquímica de las proteínas en perros positivos a <i>E. canis</i> del centro veterinario “Happy Pet” de la ciudad de Chiclayo.....	52
CUADRO 2	Valores de globulina y albumina en perros positivos a <i>Ehrlichia canis</i> del Centro Veterinario “Happy pet”, de la ciudad de Chiclayo.....	53
CUADRO 3	Clasificación de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> según su sexo, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque..	55
CUADRO 4	Edades (en meses) de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	56
CUADRO 5	Diferentes razas de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	57
CUADRO 6	Tipos de alteraciones de poteínas plasmáticas de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	59
CUADRO 7	Tipos de alteraciones de poteínas totales de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	60
CUADRO 8	Tipos de alteraciones de albúminas de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	61
CUADRO 9	Tipos de alteraciones de globúlinas de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> , del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 Clasificación de canes positivos a <i>Ehrlichia canis</i> según su género, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	55
GRÁFICO 2 Edades (en meses) de perros positivos a <i>E. canis</i> , provenientes del centro veterinario “Happy Pet”, del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	56
GRÁFICO 3 Clasificación de perros positivos a <i>E. canis</i> , según su raza, provenientes del centro veterinario “Happy Pet”, del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.....	58
GRÁFICO 4 Alteración de proteínas plasmáticas de canes positivos a <i>E. canis</i>	59
GRÁFICO 5 Alteración de proteínas totales de canes positivos a <i>E. canis</i>	60
GRÁFICO 6 Alteración de la albúmina de canes positivos a <i>E. canis</i>	61
GRÁFICO 7 Alteración de la globúmina de canes positivos a <i>E. canis</i>	62

I. INTRODUCCIÓN

Las características ambientales de la ciudad de Chiclayo, por ser una zona tropical, es favorable para la presentación y difusión de diversas enfermedades. Las garrapatas que viven en áreas tropicales y subtropicales, transmiten al perro diversas enfermedades tales como ehrlichiosis y anaplasmosis.

La ehrlichiosis canina, también denominada pancitopenia canina tropical, enfermedad de los perros rastreadores, síndrome idiopático, fiebre hemorrágica canina y tifus canino, es una enfermedad relativamente común en perros causada por la rickettsia *Ehrlichia canis* y transmitida por garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*). Se describió por primera vez en Argelia en 1935, documentándose posteriormente en muchas regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Breitschwerdt 1987) en correspondencia con el rango geográfico de la garrapata marrón del perro (Ettinger, 1992), considerándose como una zoonosis (Fishbein y col.).

El agente etiológico de la ehrlichiosis es una bacteria intracelular obligatoria, Gram negativa, de forma cocoide que requiere de un mamífero como reservorio y de un artrópodo como vector (Tami, 2003).

La *E. canis* se replica en células del sistema mononuclear fagocítico, permitiendo su expansión por el organismo, infectando los tejidos perivasculares provocando una vasculitis severa, gasto de plaquetas y posteriormente hemorragias. La enfermedad afecta a animales de cualquier edad (desde 2 meses hasta los 14 años) (Codner y Farris-Smith 1986) con una relación machos: hembras de 1.5:1 (Breitschwerdt y col., 1987). El período de incubación de la enfermedad es de 8 a 20 días (Troy y Forrester 1990).

El curso clínico puede ser agudo, subagudo o subclínico y crónico. Cada estado se puede caracterizar por una variedad de anormalidades clínicas y hematológicas. Las manifestaciones clínicas se traducen en pérdida de peso, hipertermia, epistaxis, petequias y equimosis, signos neurológicos y en un porcentaje escaso de casos, signos oculares tales como uveítis y alteraciones retinianas (Troy y Forrester 1990; Woody y Hoskins 1991; Martin 1999).

Cada vez se está dando más importancia a estas enfermedades en la especie canina, tanto por los efectos que pueden tener sobre el animal como por su potencial papel zoonótico. En el país es cada vez más notorio el interés de los propietarios de las mascotas por brindarles una mejor atención y cuidado. De ahí surge la importancia de los profesionales en medicina veterinaria, quienes se encargan de asesorar en el control y manejo para poder darles una mejor calidad de vida.

Sin embargo hasta el momento los trabajos de investigación sobre el sin número de enfermedades que aquejan a nuestras mascotas son escasos, y los que existen no se dirigen a áreas específicas como las diversas enfermedades que existen en climas húmedos tropicales como el nuestro, los cuales son el origen de múltiples padecimientos que afectan el crecimiento y desarrollo normal de nuestras mascotas.

Por ello, esto representa una gran pérdida no solo económica sino emocional, ya que estos seres son parte de la familia, y están en constante interacción con el propietario y se tiene el conocimiento pleno de las enfermedades que pueden atacarlos o a qué riesgos están expuestos en nuestro entorno no sabremos cómo actuar para protegerlos.

Debido a la frecuencia de este problema en la ciudad de Chiclayo, la ehrliquiosis canina ha tomado un protagonismo en nuestro medio, aunque poca es la información que se tiene de los aspectos clínicos y epidemiológicos. Por lo que, el objetivo de este trabajo es utilizar la determinación de las proteínas sanguíneas, con énfasis en la hiperglobulinemia, para el diagnóstico de la erliquiosis puesto que los centros veterinarios emplean métodos diagnósticos costosos para confirmar el diagnóstico presuntivo y eso los pone fuera del alcance de la economía del propietario del paciente.

II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1. Historia

La ehrlichiosis canina es una enfermedad de distribución cosmopolita que afecta principalmente a perros. El agente etiológico es *Ehrlichia canis*, familia Rickettsiaceae (Font y col., 1988). El género *Ehrlichia* se designó como tal en 1945 en honor a Paul Ehrlich (Moshkovski, 1945; Silverstein, 1998). La *Ehrlichia canis* fue identificada por primera vez en 1935 en el Instituto de Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard, quienes observaron unos pequeños microorganismos en el interior de los monocitos de perros infestados por garrapatas que habían desarrollado un cuadro patológico caracterizado por la aparición de fiebre y anemia (Moshkovskii, 1945). En 1957, se publicó la primera descripción de infección por *Ehrlichia* en perros en el continente americano, en la Isla de Araba (Dagnone y col., 2001). En Estados Unidos la primera descripción de *Ehrlichia canis* en perros se produjo en Oklahoma en 1962 (Ewing, 1969).

En 1971 se describió una ehrlichia granulocítica en perros que años más tarde se denominó *E. ewingii*. Pocos años después se describió un organismo similar a *E. canis*, que parasitaba plaquetas de perros y se denominó *E. platys* (López y col., 1999). Fue a las finales de la década de los 60's que se estableció su participación citológica en la llamada "Pancitopenia tropical canina" (Greene, 2000).

En Brasil, fue descrita por primera vez en 1973 la ehrlichiosis monocítica canina. Posteriormente en 1976, se describió por primera vez *Ehrlichia canis* en perros (Dagnone y col., 2001). En 1978 se identificó por primera vez en caninos de Estados Unidos a *Ehrlichia platys*, actualmente denominado como *Anaplasma platys* (Dumler y col., 2001). En 1982, se describió por primera vez en Venezuela los primeros casos de Ehrlichiosis canina; las Ehrlichias fueron observadas en frotis sanguíneos coloreados. (Arraga, 1992). En 1998 fue diagnosticada por primera vez Ehrlichiosis en Chile en perros provenientes de la comuna de Puente Alto, al sur de Santiago (López y col., 2003). Otros países, como Sudáfrica han realizado investigaciones moleculares sobre la presencia de infección ehrlichial y protozoos transmitidos por garrapatas en perros domésticos (Matjila y col., 2008).

2.2. Ehrlichiosis en el Perú

En nuestro país fue identificada en el año 1982 luego de la importación de perros de raza Pastor Alemán desde EE.UU. para la Policía Nacional, desde entonces esta enfermedad tiene cada vez mayor impacto en nuestro medio y cobra cada vez más vidas caninas (Oliva, 2015).

El primer agente reportado en Perú del género *Ehrlichia*, fue *Ehrlichia canis*, causante de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) (Chavera y col., 1982), que actualmente tiene un gran impacto en nuestro país. En el 2002 se encontró una seroprevalencia de 16.5 % en Lima Metropolitana en caninos de distritos colindantes a zonas con aguas naturalmente estancadas (Chorrillos, La Molina y San Juan de Miraflores) en los meses de febrero a mayo del 2001 (Adrianzen y col., 2003) y en 2006 en Sullana - Piura se encontró una seroprevalencia de hasta 76% (San Miguel, 2006). Así mismo se sabe de la importancia de los factores de riesgo asociados a la presentación de ehrlichiosis canina (Contreras, 2006).

2.3. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica clásica se basaba en las características morfológicas, ecológicas y epidemiológicas de las bacterias y en las manifestaciones clínicas de la enfermedad que producen (Dumler y col., 2001). Basándose en los resultados obtenidos de las secuencias del gen 16S rRNA y groESL y de los análisis antigénicos (Sumner y col., 1997; Zhang y col, 1997), Dumler y col. en 2001 en un artículo publicado en el International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology proponen una reorganización de estas especies a través de la eliminación de las tribus de la familia *Rickettsiaceae* y la incorporación de las especies de la anteriormente denominada tribu *Ehrlichieae* a la familia *Anaplasmataceae*. Así los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se incorporan a la Familia *Anaplasmataceae* dentro del orden *Rickettsiales* y del Filum *Proteobacteria*. Basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, las especies anteriormente incluidas en los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se reorganizarían en cuatro grupos genéticos (Dumler y col., 2001):

Grupo 1: Amplía el género *Anaplasma*, incluyendo en él: además de las especies hasta entonces incluidas *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* y *Anaplasma caudatum*; las siguientes especies *Ehrlichia phagocytophila* (hoy

llamada *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (actualmente *Anaplasma bovis*) y *Ehrlichia platys* (hoy *Anaplasma platys*). La especie tipo es *A. marginale*.

Grupo 2: El género *Ehrlichia* se amplía con la inclusión de *Cowdria ruminantium* (ahora *Ehrlichia ruminantium*). La especie tipo es *E. canis*; otras especies de este género son *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*.

Grupo 3: El género *Neorickettsia*, cuya especie tipo es *N. helminthoeca*, quedaría ampliado al incluirse en el mismo las especies *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (que pasan a denominarse *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente).

Grupo 4: la especie *Wolbachia pipientis* será el único miembro del género *Wolbachia*.

La clasificación actual del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Garrrity y col 2001), es similar a la propuesta por Dumler y colaboradores, si bien incluye los géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* dentro de la familia *Ehrlichaceae*, en lugar de en la familia *Anaplasmaeae*. Todos los miembros de la familia *Ehrlichaceae* son bacterias intracelulares obligadas que se replican en el interior de una vacuola intracitoplasmática derivada de la membrana externa de la célula eucariota hospedadora. Son organismos de cocoides a elipsoides, a menudo pleomórficos, pequeños y gram-negativos que residen en vacuolas citoplásmicas, formando inclusiones únicas o, más habitualmente compactas (mórulas) (Moshkovski, 1945; Ristic y Huxsoll, 1984; Dumler y col., 2001).

En 2001 Dumler y colaboradores llevaron a cabo una reorganización de los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Cowdria*, *Neorickettsia* y *Wolbachia*, que previamente habían sido clasificados en base a sus características morfológicas, ecológicas, epidemiológicas y clínicas. En la nueva clasificación taxonómica se emplearon análisis genéticos basados en la similitud del RNA ribosómico, del *groESL heat shock operon* y de genes que codifican proteínas de superficie, quedando finalmente la familia *Anaplasmaeae* dividida en tres genogrupos o géneros: *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia* (Dumler y col., 2001), cuyos miembros producen, por lo general, una elevada reacción antigénica cruzada entre especies de un mismo genogrupo (Cohn, 2003). Por lo tanto, taxonómicamente, estas especies quedarían clasificadas dentro del Reino bacteria, filum *Proteobacterias*, orden *Rickettsiales*, familia *Anaplasmaeae*

(Dumler y col.,2001) y las diferentes especies quedarían incluidas en los géneros descritos de la siguiente forma: El género *Ehrlichia* incluye las especies *E. canis*, *E. ewingii*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium* y *E. muris*.; El género *Anaplasma* incluye a *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *A. bovis* y *A. marginale*.; El género *Neorickettsia* incluye a *N. risticii*, *N. sennetsu* y *N. helminthoeca*. (Tabla N° 01).

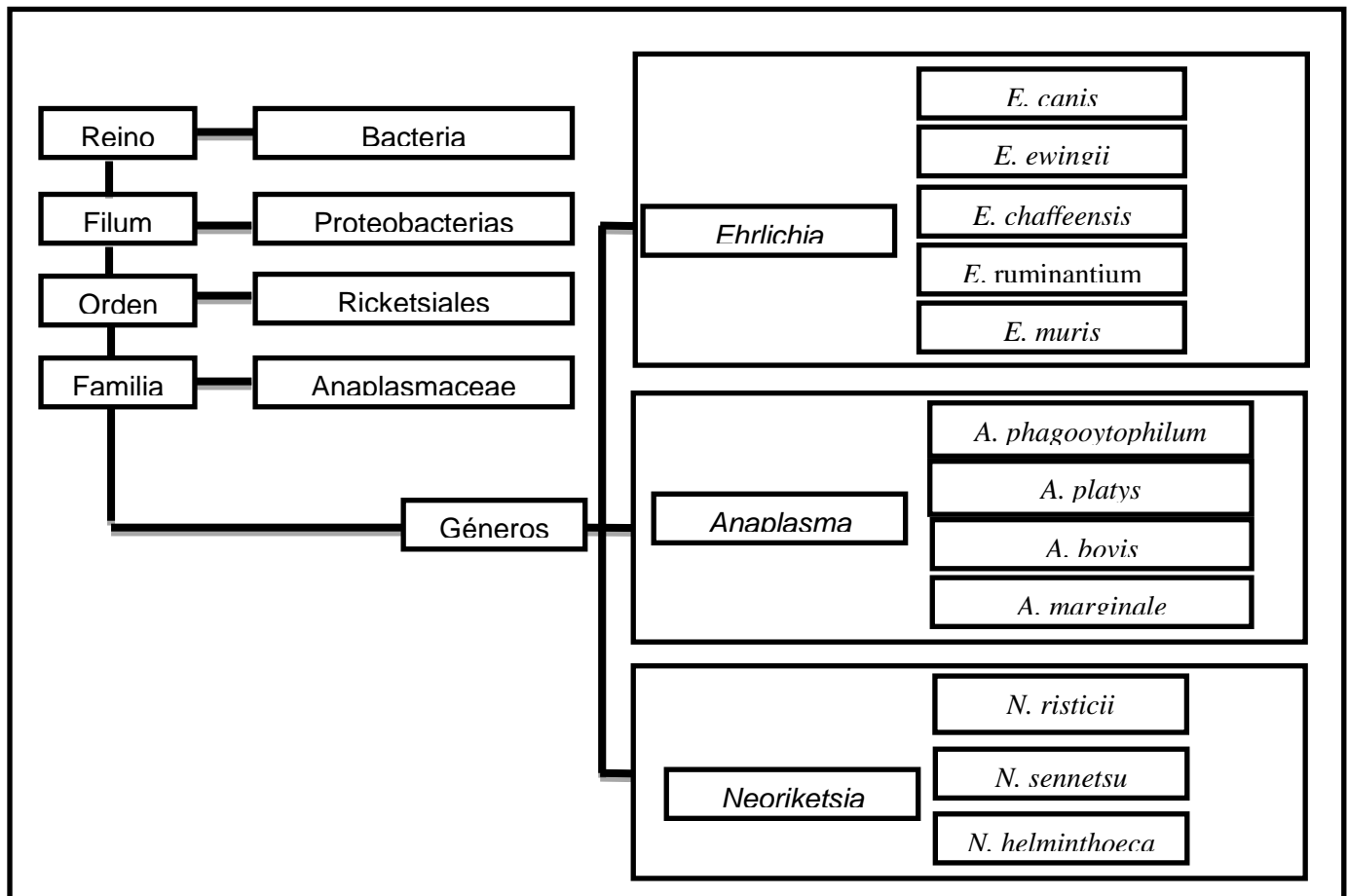


Figura N°01: Clasificación taxonomía basada en la secuencia del gen 16S rRNA (Dumler y col. 2001)

2.4. Ehrlichiosis como enfermedad

La ehrlichiosis es usualmente nombrada por la especie hospedera y el tipo de línea celular infectada, teniendo así especies monocíticas, granulocíticas o trombocíticas, pudiendo alguna de ellas infectar más de un tipo celular (Neer, 2000).

2.4.1. Ehrlichiosis en caninos

La infección en el perro por *E. canis* tiene lugar cuando la garrapata infectada se alimenta de su sangre, dependerá a partir de ello el tipo de presentación de la enfermedad según el tipo o línea celular infectada. En condiciones experimentales el periodo de incubación de la Ehrlichiosis canina es de 9 a 14 días (Ewing y Buckner, 1965); sin embargo, en otros estudios sobre infección natural y experimental se indica que dicho periodo puede comprender de 8 a 20 días (Rikihisa, 1991).

Es por ello, que debido a la existencia de múltiples especies ehrlichiales y diferencias antigénicas entre las mismas, el periodo de incubación varía de 7 a 21 días para cada una de las formas de presentación de la enfermedad. (Barrios, 2010).

2.4.1.1. Ehrlichiosis monocítica canina (EMC)

También denominada ehrlichiosis monocitotrópica canina, esta enfermedad es causada principalmente por *Ehrlichia canis*, la cual infecta células mononucleares (monocitos y linfocitos) (Dumler y col., 2001).

El vector principal es la garrapata parda del perro, *Rhipicephalus sanguineas*, la cual es de distribución mundial (Groves y col., 1975), describiéndose también la transmisión experimental por *Dermacentor variabilis* (Jhonson y col. 1998). Esta última de amplia distribución en Centroamérica. Como el *Rhipicephalus sanguineus* también es transmisor de otros hemoparásitos, es relativamente común encontrar infecciones mixtas con *Bartonella spp*, *Rickettsia spp.*, *Hepatozoon canis* o *Babesia canis*; infecciones por dos o más especies diferentes de ehrlichias que hayan sido identificadas en caninos (Meinkoth y col., 1998).

Ehrlichia canis, al igual que el resto de las especies de ehrlichias, es una bacteria Gram negativa, que se comporta como un parásito obligatorio intracelular. 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. Asimismo, puede afectar múltiples especies de la familia *Canidae*, entre ellas el zorro, el

coyote y el chacal, las cuales actúan como reservorios naturales (Neer, 2000).

La enfermedad puede presentar tres fases: aguda, subclínica y crónica. La fase aguda dura de dos a cuatro semanas, siendo la sintomatología bastante inespecífica, pudiéndose confundir con otras infecciones (babesiosis, leptospirosis) (Greene, 2000). Después de la fase aguda, el animal puede curarse por sus propios mecanismos inmunitarios, o entrar a la fase subclínica, donde los signos clínicos desaparecen pero la bacteria sigue permaneciendo en el organismo. Esta fase puede persistir por años (Nyindo y col., 1980; Waner y col., 1997). Los perros que sean inmunocompetentes eliminarán el parásito, en tanto que los perros con respuesta inmunológica insuficiente estarán a una fase crónica de la enfermedad. Es importante mencionar que algunas razas de perros son más susceptibles a padecer la enfermedad de forma más severa, como los pastores alemanes (Greene, 2000).

Los hallazgos laboratoriales más frecuentes son anemia, leucopenia, hiperproteinemia/hipergamaglobulinemia (alteración típica de los animales infectados), trombocitopenia y alteraciones de los indicadores hepáticos; también se describe el aumento de urea y creatinina, aunque en un menor número de casos (Greene, 2000).

El diagnóstico de presunción, basado en el cuadro clínico, suele realizarse en pacientes con un cuadro febril y con antecedentes de picadura por garrapatas (Dumler y col., 1993; Greene, 2000). El examen de frotis sanguíneo teñido es ampliamente utilizado para la detección temprana de la enfermedad mediante la observación de corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos. Las mórulas o inclusiones intracelulares de *E. canis* pueden detectarse en el citoplasma de monocitos y de linfocitos (Carter y col., 1971; Nyindo y col., 1980). Algunos autores identifican estas mórulas más fácilmente en monocitos que en linfocitos (Carter y col., 1971), mientras que otros las detectan en mayor número en linfocitos (Ewing y col., 1969). Por otra parte, el diagnóstico serológico se realiza mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o por la técnica indirecta de ELISA (de Morais y col., 2004).

2.4.1.2. Ehrlichiosis granulocítica canina (EMC)

También denominada Ehrlichiosis granulocitotrópica canina, esta enfermedad es causada principalmente por *Ehrlichia ewingii*, la cual infecta células polimorfonucleares (Dumler y col., 2001), teniendo como posibles vectores a las garrapatas *Amblyomma americanum* y *Otobius megnini*. *E. equi* también causa EGC, cuyos hospederos naturales además del perro, son los humanos, equinos y llamas; experimentalmente mulas y ovejas, cabras, gatos y primates, siendo el vector conocido *Ixodes ricinus* (Paulino, 2011). Actualmente la EGC es conocida como Anaplasma granulocítica canina (AGC) debido a la reciente reclasificación de *E. equi* como *Anaplasma phagocytophilum* (Dumler y col., 2001). Esta forma de ehrlichiosis se asemeja a la EMC reumatoide, que es poco común en la EMC, se ve a menudo en perros con EGC. El síndrome de anemia crónica moderada a grave también se ha informado (Neer, 2000).

Se sabe que *Ehrlichia ewingii*, a través del análisis de la secuencia de genes ARNr 16S, presenta grandes semejanzas genéticas con el agente de la Ehrlichiosis granulocítica humana (EGH) (*Anaplasma phagocytophilum*) (Paddock y Childs, 2003).

En cuanto al diagnóstico, el examen de frotis sanguíneo para la búsqueda de corpúsculos de inclusión intracitoplasmáticos sigue siendo uno de los métodos más fáciles y de poco costo para la detección temprana de Ehrlichiosis granulocítica en caninos.

Los hallazgos hematológicos indican trombocitopenia, anemia, leucopenia, mientras que la hiperglobulinemia es el hallazgo bioquímico típico (Paulino, 2011). El diagnóstico serológico tiene el inconveniente de mostrar reacción cruzada entre *E. ewingii*, *E. canis* y *E. chaffeensis* (Neer, 2000).

2.4.1.3. Ehrlichiosis trombocítica canina (EMC)

También denominada Trombocitopenia cíclica infecciosa del perro, esta enfermedad infecciosa es causada por un parásito pequeño, perteneciente a la familia Anaplasmataceae, clasificado como *Anaplasma*

platys (antiguamente llamado *Ehrlichia platy*) (Dumler y col., 2001). Esta bacteria infecta exclusivamente plaquetas, no habiéndose encontrado en otro tipo de células, considerándose que la infección por este agente es específica del perro. La principal garrapata involucrada en la transmisión de la Ehrlichiosis canina, *Rhipicephalus sanguineus*, ha sido implicada, pero no confirmada, como un vector de *Anaplasma platys* (Paulino, 2011).

Al parecer, *Anaplasma platys* penetra en las plaquetas por endocitosis después de adherirse. La fisión binaria de microorganismos dentro de la vacuola da por resultado la formación de una pequeña mórula. En el transcurso de unos cuantos días de la aparición de plaquetas parasitadas, hay una disminución precipitada de sus cifras y no suelen observarse más los microorganismos (Dagnone y col., 2003).

Los signos clínicos comienzan después de un periodo de incubación de 8 a 15 días, con signos digestivos, anorexia y trastornos de la hemostasia. El diagnóstico se realiza mediante los mismos métodos utilizados para *E. canis*, siendo los hallazgos más comunes la trombocitopenia, hipoalbuminemia e identificación de inclusiones en plaquetas (Paulino, 2011). La técnica de PCR es considerando el método más fiable debido a las reacciones cruzadas producidas en la serología (Chang y Pang, 1996).

2.5. Morfología

La *Ehrlichia canis* es un microorganismo pleomórfico, cocoide y gran negativo que se observa en forma individual (cuerpo elemental) o en racimo (mórulas), en el citoplasma de leucocitos infectados, principalmente linfocitos y monocitos, cuando se emplean colorantes tipo Romanowsky (Bermeo, 2003).

Cuando están aisladas se denominan cuerpos elementales y miden 0.4 micras de diámetro, pero que tienden a agregarse, formando inclusiones inmaduras denominadas "cuerpos iniciales" que miden de 0.4 a 2.5 micras de diámetro, para luego formar una mórula, la cual se puede distinguir con mayor facilidad por su mayor tamaño que varía entre 1 y 4 micras. Morfológicamente las otras variedades son similares, sin embargo, *E. platys* infecta específicamente a las

plaquetas y *E. equi* principalmente neutrófilos y eosinófilos. La *E. canis* es considerada agente causal de la ehrlichiosis humana (Bermeo, 2003).

2.6. Transmisión

En general, *Ehrlichia spp.* se transmite por la picadura de garrapatas. En concreto, en el caso de *E. canis* existe un único vector conocido: *Rhipicephalus sanguineus*. Esta garrapata, al alimentarse de un perro con ehrlichiosis, puede ingerir glóbulos blancos con Ehrlichia en su citoplasma. Este hecho es mucho más frecuente si la garrapata se fija a perros en fase aguda de la enfermedad, ya que es en esta fase cuando se encuentran un mayor número de leucocitos infectados en sangre (Hibler y col, 1986).

El potencial de la garrapata como vector y reservorio de esta enfermedad es muy alto. De hecho, una vez que la garrapata ha ingerido sangre, ésta puede transmitir la infección hasta al menos 155 días después. Las secreciones de las glándulas salivares de la garrapata constituyen la fuente de transmisión para el perro. Estas secreciones y la inflamación causada por la picadura parecen favorecer la llegada de leucocitos a ese lugar, facilitándose la entrada de *Ehrlichia spp.* en los mismos. La transmisión de *E.canis* en la garrapata es de tipo transtadial, es decir, de larva a ninfa y de ninfa a adulto, sin que se haya podido demostrar hasta el momento la existencia de transmisión transovárica (de una generación de garrapatas a la siguiente). Aunque no es la forma natural de transmisión de la enfermedad, se debe considerar que el empleo de sangres de perros donantes positivos a ehrlichiosis para ser transfundidas puede provocar su transmisión a los perros receptores. Existe un estudio que indica que la transfusión con sangre de perros con infección crónica, que habían contraído la infección 5 años antes, provocó enfermedad a los perros receptores. Por ello, es recomendable confirmar que los perros empleados como donantes son negativos a ehrlichiosis (Sainz y col., 2012).

2.7. *Rhipicephalus sanguineus*

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* pertenece al grupo de las garrapatas duras (familia *Ixodidae*) y es el vector de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC); comúnmente se le conoce como “garrapata marrón del perro”. Es originaria de África y es una de las garrapatas más distribuidas del mundo, ya que ha migrado por medio del hombre y sus perros. (Chávez, 2014).

2.8. Huéspedes

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus* afecta principalmente al perro, pero también puede afectar a una gran variedad de mamíferos y aves terrestres; se pueden mencionar a los gatos, venados, bovinos, liebres, cabras, caballos, borregos, leones, aves (avestruz, pavo, garza), reptiles y el hombre. Es importante mencionar que el perro siempre es el huésped definitivo de elección para la garrapata cuando está presente. (Rojas, 2001).

2.9. Localización en el huésped

Rhipicephalus sanguineus en el perro se localiza en orejas, cuello y en los Espacios interdigitales. En perros con altas infestaciones de garrapatas todos los estados activos pueden ser encontrados atacando partes del cuerpo con pelo. (Rojas, 2001).

2.10. Ciclo Biológico

Esta garrapata es encontrada en los huéspedes a lo largo de todo el año en zonas tropicales y subtropicales; mientras que en áreas templadas, donde hay cambios climáticos, las garrapatas son encontradas en el huésped a lo largo del verano y pocas en invierno. (Alcaíno y col., 1990; Rojas, 2001). Las etapas inmaduras en la naturaleza se alimentan de los mamíferos pequeños; los perros generalmente son los únicos huéspedes en las etapas inmaduras y adultas. (Rojas, 2001; Breitschwerdt, 2003). El ciclo de *R. sanguineus* es de tres hospederos, lo que significa que cada uno de las fases móviles después de alimentarse de sangre por unos días, deben de abandonar a los huéspedes para evolucionar en el medio ambiente. La duración del ciclo biológico depende de factores ambientales como la temperatura y humedad. La temperatura óptima para la incubación de los huevos, la transformación de larvas en ninfas y de éstas en adultos, es de 30°C; el período de cada una de estas etapas se alarga conforme baja la temperatura; mientras que el rango de humedad es más amplio y va de 20 - 93%.

En condiciones ambientales ideales el ciclo se completa en aproximadamente 63 días, pero si el ambiente no es favorable el ciclo se puede prolongar por varios meses, durante los cuales la garrapata permanece oculta en un estado de letargia denominado diapausa. (Chávez, 2014).

Las hembras repletas realizan una puesta aproximadamente de 4000 huevos, luego de un período de pre ovoposición que va desde 3 a 83 días, los huevos los ponen en lugares protegidos de la luz y de la desecación. Los huevos de garrapata eclosionan entre los 8 y 67 días; las larvas pasan por un período de maduración tras el cual están capacitadas para fijarse a un primer huésped para alimentarse. Entre los 3 y 7 días post fijación, la larva se suelta y busca un lugar resguardado donde realizar su primera muda y se vuelven ninfas que aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva repleta y están preparadas para subir a un segundo huésped para volver a alimentarse. Se alimenta por 4 a 9 días pasados los cuales la ninfa repleta se suelta del huésped, cae al suelo y busca un sitio resguardado para realizar la segunda muda a partir de la cual emergerán los adultos entre los 12-129 días después, ya que las ninfas pueden sobrevivir más de 568 días en espera de un huésped. Los machos y hembras adultos se fijan a un tercer huésped para alimentarse; las hembras sólo se fijan y succionan sangre una vez y caen al suelo, mientras que los machos se alimentan en forma intermitente y persisten más tiempo sobre el hospedador, para que la mayoría de las hembras queden fecundadas. Éstas, una vez alimentadas, caen al suelo y buscan un refugio donde realizar la puesta de huevos y empieza de nuevo el ciclo. (Chávez, 2014).

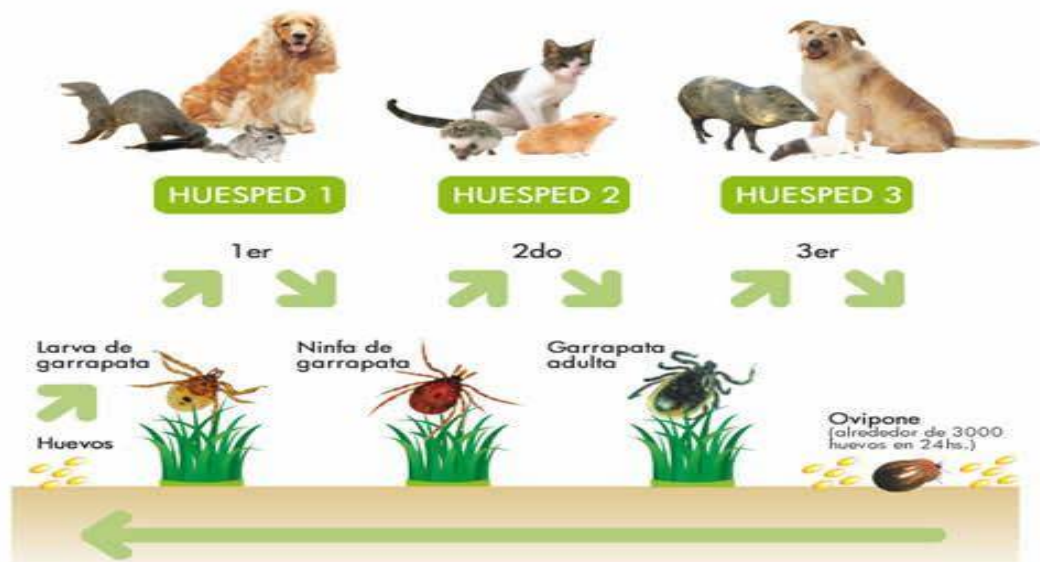


Fig. N° 2: Ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus* (Imagen: Frontline España)

2.11. Respuesta Inmune a la Enfermedad

2.11.1. Respuesta Inmune en Fase Aguda

Muchos hallazgos sostienen la idea que la respuesta inmune juega un papel muy importante en la patogénesis de la ehrlichiosis monocítica canina aguda (EMC). Estos hallazgos incluyen una fuerte infiltración de células plasmáticas en el parénquima de diversos órganos, la hipergamaglobulinemia policlonal (no correlacionada con los títulos de anticuerpos específicos contra *E. canis*). Test de Coomb's positivos, Test de autoaglutinación positivos y la producción de anticuerpos antiplaquetarios (AAP) resultantes de la infección experimental de perros con *E. canis* (Harrus y col., 1996a; Woody y Hoskins, 1991).

La fiebre y algunos signos clínicos inespecíficos (depresión, anorexia y fiebre) observados en los perros infectados son causados por el incremento en la producción de interleucina-1 (IL-1) por células presentadoras de antígeno, células B o por productos pirógenos exógenos de la bacteria (Tizard, 2002).

El Pastor Alemán evidencia una mayor dificultad para eliminar a la *E. canis* en comparación con otras razas (Hoyos, 2005). La dificultad racial se atribuye a la habilidad para elaborar una adecuada respuesta inmune celular y/o respuesta inmune humoral. Se tiene bien documentado que la respuesta celular contra *E. canis* es deficiente en Pastores Alemanes comparada con los perros de raza Beagle (Nyindo y col., 1980).

La activación de células T fue propuesta en la patogénesis de la EMC, siendo necesaria en la interacción de la respuesta humoral y celular para una efectiva destrucción de la bacteria (Greene. 2000). Posteriormente, se sugirió que la respuesta celular es el más importante componente del sistema inmune que provee protección contra *E.canis* (Nyindo y col., 1980). Se ha determinado la importancia de los linfocitos T CD8+ los cuales se incrementan en la sangre periférica de perros infectados con *E. canis* (Page, 1995). El incremento de los linfocitos T citotóxicos y células asesinas naturales (*Natural Killer*) ocurre durante la infección como consecuencia de la citotoxicidad mediada por células (Hoyos, 2005).

La respuesta humoral hacia *E. canis* puede ser estudiada mediante electroforesis, inmunofluorescencia para anticuerpos, Elisa y EITB. El análisis de Inmunoblot ha mostrado que el suero inmune obtenido de perros infectados con *E. canis* reacciona con una gran variedad de proteínas de 21 hasta 160 kDa (Hoyos, 2005).

Los anticuerpos antiplaquetarios (AAP) son moléculas que se producen por interacción del antígeno con el sistema inmune. Aparentemente las células B poseen receptores autoanticuerpo de manera natural, los cuales entran en contacto con los antígenos de *E. canis*, siendo éstos similares antigénicamente a las moléculas de las plaquetas propias del organismo (Waner y col., 1995).

El bazo juega un rol principal en la patogénesis de enfermedades inmunomediadas. El bazo es el principal sitio para la síntesis de algunas sustancias que actúan como opsoninas y promotores de fagocitosis. (Hoyos, 2005).

2.11.2. Respuesta inmune en fase subclínica

Actualmente, no se han realizado muchos trabajos utilizando modelos animales (roedores), para obtener mayor información acerca de la ehrlichiosis subclínica o fase persistente. Recientemente, Olano y col. (2004) realizaron un trabajo en el que se inoculó experimentalmente *E. canis* en perros y evaluaron los cambios histopatológicos correlacionándolos con la producción de anticuerpos, así como con la distribución y cantidad de agentes ehrlichiales en diversos tejidos. Para ello utilizaron pruebas como PCR a tiempo real (*Real time* PCR), inmunofluorescencia indirecta (IFA), EITB e inmunohistoquímica. (Hoyos, 2005).

Para *E. canis* la inmunidad protectora es mantenida primariamente vía la respuesta inmune celular antes que la respuesta inmune humoral, siendo la respuesta humoral la que predomina en esta etapa (Harrus y col., 1999). La etapa subclínica puede ocurrir en perros infectados con *E. canis* de manera natural o en animales infectados después de un corto periodo de tratamiento antibiótico insuficiente (oxitetraciclina y/o doxiciclina) (Ristic y Holland, 1993).

Debido a que el IFN-gamma es crucial para la eliminación en la etapa aguda de los agentes ehrlichiales, *E. chaffeensis* es capaz de establecer una

infección persistente (período subclínico) en ratones experimentalmente infectados con el gen del CMH-II noqueado, en otras palabras con la activación de células T CD4+ anulada (Hoyos, 2005). El cese de la actividad de replicación de las ehrlichias arrestadas en el bazo y medula ósea principalmente, permite que no se desencadene respuesta celular alguna, es decir el organismo no identifica al patógeno intracelular, lo que persiste es la producción inespecífica de anticuerpos antiplaquetarios, antiehrlichiales y antieritrocíticos, los cuales mantienen las alteraciones hematológicas (trombocitopenia y anemia hemolítica) (Harrus y col., 1996a).

2.11.3. Vulnerabilidad inmune ligada a la cronicidad

Las condiciones para presentarse la fase crónica no están bien comprendidas aún, pero se cree que así como en la etapa aguda y subclínica el estado inmunológico del animal tenga gran importancia para la manifestación de esta etapa. Así también, factores como susceptibilidad racial, condiciones de stress, coinfecciones con otros parásitos, localización geográfica, la especie del agente o constantes reinfecciones en el animal pueden estar involucrados (Hoyos, 2005).

En esta etapa de la enfermedad se presenta daño medular, principalmente cuadros de aplasia medular en los casos graves. Esta lesión crónica a nivel de médula ósea es probable que sea producto del depósito de inmunocomplejos, así como de la destrucción de las células precursoras sanguíneas por parte del sistema inmune. De este modo, se destruyen lentamente las células hematopoyéticas, cuyo estímulo induzca la proliferación de tejido fibroso (Sainz y col., 2000).

Se desconocen aún los mecanismos inmunológicos en esta etapa de la enfermedad, pero se sospecha que las respuestas celular y humoral están seriamente afectadas debido a la depleción de las poblaciones celulares circulantes (Sainz y col., 2000). Se sabe que los anticuerpos circulantes en las últimas etapas de la fase crónica tienden a caer a niveles muy bajos. Esto podría entenderse como una reacción debido a la ausencia de células productoras de anticuerpos (Hoyos, 2005).

2.12. Fisiopatología

Las garrapatas se infectan con la *E. canis* cuando se alimentan de perros que son rickettsémicos durante las dos primeras semanas de comenzada la enfermedad. Los organismos se multiplican en las células sanguíneas, células del intestino delgado y de las glándulas salivales de las garrapatas infectadas (Ettinger, 1992). Al alimentarse, las garrapatas inyectan en el lugar, las secreciones de las glándulas salivales contaminadas con la ehrlichia (Waner y Harrus, 2000).

Estas secreciones y la inflamación causada por la picadura parecen favorecer la llegada de leucocitos a ese lugar, facilitando la entrada de la ehrlichia en los mismos (Sainz y col., 2000). Clásicamente se describen 3 fases de la enfermedad (aguda, subclínica y crónica) aunque en la práctica clínica no se diferencian fácilmente (Sainz y col., 2000).

Luego que *E. canis*; ha entrado en las células mononucleares, se desencadena la fase aguda, donde los parásitos entran en el torrente sanguíneo y linfático y parasitan a los macrófagos del sistema retículo-endotelial en el bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replican por fisión binaria, al entrar *E. canis*, a estos órganos, causa una hiperplasia, manifestándose clínicamente, con un aumento del tamaño de estos órganos. Además, *E. canis* se puede diseminar por un gran número de órganos (pulmón, riñones, meninges) en los que suele provocar lesiones inflamatorias y vasculitis, fundamentalmente de origen inmunomediado. En algunos casos, el cuadro puede desencadenar una coagulación intravascular diseminada, que puede acabar con la vida del animal. (Sainz y col., 2000; Waner y Harrus, 2000).

Como consecuencia de la infección, se produce una respuesta inmunitaria humoral importante, que a menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno. Este fenómeno suele presentarse en la fase subclínica de la enfermedad, en la que sólo se detectan alteraciones en la analítica unidos a títulos de anticuerpos positivos. Es especialmente frecuente, la presencia de trombocitopenia y trombocitopatías motivadas fundamentalmente por procesos inmunomediados. Por la misma razón, en ocasiones se puede presentar leucopenia y anemia (ésta última también debida en ocasiones a la presencia de cuadros hemorrágicos). (Sainz y col., 2000; Waner y Harrus, 2000). Los perros que no pueden montar una respuesta inmune efectiva se enfermarán crónicamente (Bockino y col., 2003).

En principio no hay predilección de raza, edad o sexo a presentar esta enfermedad, considerándose que la respuesta inmune de cada paciente juega un papel importante en la patogenia (Sainz y col., 2000). Existe evidencia creciente, como una extensiva infiltración de órganos parenquimatosos por células plasmáticas, la ocurrencia de hipergammaglobulinemia policlonal que no está correlacionada con títulos de anticuerpos específicos de *E. canis*, pruebas de Coombs y autoaglutinación positivas que soporta la hipótesis de que mecanismos inmunes están involucrados en la patogénesis de la EMC aguda. (Harrus y col., 1999).

También fueron demostradas nuevas evidencias sobre la intervención de mecanismos inmunopatológicos en la patogénesis de la EMC en infecciones experimentales realizadas en perros esplenectomizados. Estos presentaron una forma menos severa de la enfermedad aguda en comparación con los perros enteros. Los resultados sugieren un compromiso en el bazo en la patogénesis de la EMC (Warner y Harrus, 2000).

La esplenomegalia causa un aumento del secuestro y destrucción plaquetaria por los macrófagos del bazo. Esto disminuye el número de trombocitos circulantes (Pantanowitz, 2003).

Los canes, los cuales se les ha extraído el bazo y están infectados con *E. canis*, los efectos y síntomas son menos severos que en los canes intactos, lo que sugiere que el bazo juega un papel fundamental en la patogénesis de la ehrlichiosis. Algunos animales con buena respuesta celular, pueden superar la infección sin necesidad de ser tratados, sin embargo, en la mayoría de los casos la enfermedad progresa a una fase crónica cuya severidad es variable. Esta severidad depende fundamentalmente del grado de afección de algunos órganos vitales. En este sentido, los casos con insuficiencia renal no suelen responder bien al tratamiento. Igualmente en ocasiones la médula ósea se puede afectar hasta el extremo de presentarse una aplasia medular que produce un cuadro de pancitopenia que suele desembocar en la muerte del animal. (Harrus y col., 1999).

La autoinmunidad es un fenómeno observado en muchas enfermedades transmitidas por garrapatas. La demostración de anticuerpos antiplaquetarios (APA) en suero de perros luego de una infección experimental con *E. canis* soportan la hipótesis de que la destrucción inmune puede también contribuir con la trombocitopenia (Harrus y col., 1999). La incidencia de desórdenes

autoinmunes en pacientes con ehrlichia es inexplicablemente alta; además de causar trombocitopenia, la disfunción inmune también contribuye con otros aspectos de la infección, tales como infecciones secundarias fatales (Pantanowitz, 2003).

2.13. Signos Clínicos

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, 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 (Huxoll y col, 1970; Woody y Hoskins, 1991). 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; Sainz y col, 1996).

Una vez que se ha producido la entrada de *Ehrlichia spp.* en el organismo, el periodo de incubación de la enfermedad viene a durar de 9 a 14 días, tras los cuales comienzan a aparecer las primeras manifestaciones de la enfermedad que se corresponden en el tiempo con la fase aguda de la enfermedad. Ésta suele durar de 4 a 7 semanas. La presencia de garrapatas debería observarse en esta fase; sin embargo, no es un signo constante y sólo se ha constatado en un 40% de los animales afectados (Lorente, 2005). Por supuesto el contacto con garrapatas es imprescindible para el desarrollo de la enfermedad, por lo que en zonas endémicas realizar una buena anamnesis demandando información sobre el contacto con los vectores es fundamental (Woody y Hoskins, 1991; Breitschwerdt, 2003).

Tras la fase aguda se presenta la fase subclínica, caracterizada por la ausencia de sintomatología. Su duración en infecciones naturales puede ser de hasta 5 años (Codner y Farris-Smith, 1986). Durante la misma el animal puede superar la enfermedad (Greene y Harvey, 1984; Hibler y col, 1986) o progresar en un

momento dado hacia la fase crónica (Buhles y col 1974; Greene y Harvey, 1984), que puede conducirle a la muerte (Bhules y col, 1974).

La virulencia de la cepa de *E. canis*, la duración del proceso, el grado de respuesta del perro afectado, su edad y raza son factores que determinan la evolución de la enfermedad, así como la presentación de un mayor o menor número de manifestaciones clínicas (Lorente, 2005).

El cuadro clínico más frecuente (en el 75% de los casos) es la aparición de sintomatología general inespecífica (Sainz y col, 1996). Entre los signos generales se puede detectar fiebre, apatía, decaimiento, anorexia o apetito caprichoso, pérdida de peso, linfadenomegalia, esplenomegalia (Huxsoll y col, 1970; Greene y Harvey, 1984; Breitschwerdt y col, 1987; Sainz y col, 1996). También puede aparecer edema de extremidades o de escroto (Huxsoll y col, 1970; Woody y Hoskins, 1991; Breitschwerdt, 1995). Estas son las manifestaciones clínicas más frecuentes en la fase aguda, aunque también suelen aparecer con bastante frecuencia en las formas leves de la fase crónica (Hibler y col, 1986).

Las manifestaciones respiratorias, oculares y cutáneas son las siguientes en frecuencia de presentación, apareciendo en un 35- 40% de los casos (Sainz, 1996). Estos signos suelen ser más habituales en la fase crónica, aunque también se han descrito en la fase aguda (Huxsoll y col, 1970; Codner y col, 1985). El cuadro respiratorio se caracteriza por la presentación de exudado mucopurulento acompañado en ocasiones de disnea y tos (Huxsoll y col., 1970; Codner y col., 1985; Sainz, 1996). La disnea puede también ser debida a la existencia de anemia severa (Sainz, 1996).

Los signos oftalmológicos suelen ser más frecuentes en la fase crónica de la enfermedad, habiéndose descrito uveitis anterior, fotofobia, conjuntivitis, opacidad corneal e hipema. Más raramente se puede presentar retinitis difusa, desprendimiento de retina, hemorragia subretiniana y neuritis óptica (Troy y col, 1980; Hoskins y col, 1983, Troy y Forrester, 1990). Se ha descrito también la aparición de ceguera aguda en casos de ehrlichiosis monocítica canina. Estos cuadros oftalmológicos graves parecen estar asociados a la hiperviscosidad sanguínea secundaria a la gammapatía monoclonal presente en algunos casos de ehrlichiosis (Lorente, 2005).

Si bien la única sintomatología cutánea relacionada con la ehrlichiosis hasta hace poco tiempo era la aparición de equimosis y petequias (Troy y col, 1980; Waddle y Littman, 1988), Sainz en 1996 describe una incidencia relativamente elevada de problemas cutáneos asociados a la ehrlichiosis, que pueden variar desde la mala calidad del pelo hasta la aparición de dermatitis alopécicas con eritema y descamación que remiten tras el tratamiento; lesiones semejantes han sido descritas por otros autores (Lorente, 2004).

La frecuencia de presentación de hemorragias se estima en un 35% (Waddle y Littman, 1988; Sainz y col, 1996), si bien algunos estudios refieren incidencias más altas (Troy y col, 1980) y otros, más bajas (Price y col, 1987). El signo hemorrágico más frecuente (en el 70% de los casos con hemorragias) es la epistaxis (Troy y Forrester, 1990; Sainz y col, 1996). Otros signos hemorrágicos que pueden aparecer son petequias, equimosis, hematoquecia, hematuria o hemorragia subconjuntival. También ha sido descrita la aparición de hematomas tras la extracción sanguínea o la inyección de fármacos (Troy y col, 1980). Otros síntomas que se pueden presentar, con menor frecuencia y especialmente en fase crónica, son de tipo neurológico, digestivo, locomotor, urinario y reproductor: A nivel neurológico se ha observado la aparición de episodios de ataxia, síndromes de neurona motora superior e inferior, hiperestesia generalizada, polineuropatía periférica, e incluso convulsiones (Troy y col, 1980; Greene y Harvey, 1984; Hibler y col, 1986; Sainz, 1996).

En cuanto al sistema locomotor se ha descrito la aparición de cojeras intermitentes debidas a poliartritis y polimiositis (Lorente, 2004). Los signos digestivos suelen ser infrecuentes, limitándose a la aparición de hematemesis y de sangre en heces en animales con tendencias hemorrágicas (Woody y Hoskins, 1991), aunque más recientemente se han descrito procesos diarreicos de intestino grueso (Sainz, 1996).

En fases crónicas se puede desarrollar una glomerulopatía inmunomediada que produce una insuficiencia renal la cual no suele responder al tratamiento. En estos casos la sintomatología asociada es la clásica de una insuficiencia renal crónica: poliuria, polidipsia, anorexia, vómitos o úlceras orales (Troy y col, 1980). La patología a nivel reproductor es muy poco frecuente, habiéndose descrito hemorragias petequiales en mucosa genital y edema de escroto. En hembras se

ha asociado con ehrlichiosis la presencia de sangrado prolongado durante el proestro y el post-parto, infertilidad, abortos y muerte neonatal (Woody y Hoskins).

Tal y como se acaba de referir, la sintomatología de esta enfermedad es muy variada e incluso recientemente se ha descrito un caso de trombosis de la aorta y de la vena porta en un perro con ehrlichiosis (Lorente, 2005).

2.14. Alteraciones Hematológicas

La trombocitopenia es casi un factor constante en la infección por *Ehrlichia*, apareciendo a los 15-20 días post-infección y pudiendo persistir durante todas las fases de la enfermedad (Troy y col, 1980; Codner y Farris-Smith, 1986; Breitschwerdt y col, 1987; Waddle y Littman, 1988). Sin embargo, se han descrito casos de ehrlichiosis sin trombocitopenias (Woody y Hoskins, 1991; Frank y Breitschwerdt, 1999). La patogenia de la trombocitopenia es compleja y multifactorial, participando mecanismos inmunológicos y no inmunológicos que producen una disminución de la producción y un aumento de la destrucción de plaquetas (Lorente, 2005).

Uno de los mecanismos inmunológicos que intervienen en la trombocitopenia por ehrlichiosis es la producción de anticuerpos antiplaquetarios. Estos anticuerpos se han encontrado en elevadas cantidades tanto en perros tras la infección experimental o natural, (Harrus y col, 1996a; Buhles y col, 1975; Waner y col, 1995; Waner y col, 2000) como en personas afectadas por ehrlichiosis (Wong y Thomas, 1998). En el perro estos anticuerpos se encuentran en unos niveles elevados a partir del séptimo día post-infección, luego comienzan a disminuir hacia el día 29, desapareciendo en el día 75 (Lorente, 2004).

Para otros autores la trombocitopenia llega a su máxima expresión sobre el día 30 y posteriormente comienza a recuperarse (Reardon y Pierce, 1981). La trombocitopenia en la fase aguda de la infección podría ser debida fundamentalmente a una destrucción plaquetaria inducida por la presencia de estos anticuerpos. Se han sugerido diversos mecanismos por los que los anticuerpos antiplaquetarios participan en la génesis de la trombocitopenia: favorecen el secuestro de plaquetas recubiertas de anticuerpos por el bazo y otros tejidos linfoides; favorecen la destrucción plaquetaria prematura por fijación del complemento o fagocitosis; inducen disfunción plaquetaria que conduce al sangrado, aún con la presencia de un número normal de plaquetas; afectan el

ritmo de producción plaquetaria (Harrus y col, 1996a; Frank y Breitschwerdt, 1999).

Además, se han descrito otros mecanismos que intervienen en la patogenia de la trombocitopenia como la existencia de un factor supresor de la migración plaquetaria sintetizado por los linfocitos B (Ristic y Holland, 1993).

De todo ello se deduce que en la fase aguda de la infección, la trombocitopenia es generada por una disminución de la vida media plaquetaria más que por un descenso en la producción de plaquetas (Reardon y Pierce, 1981). En esta fase llega incluso a observarse un incremento de la trombopoyesis (Waner y col, 1995), mientras que, en la fase crónica de la enfermedad, la principal causa de trombocitopenia sería la hipoplasia de médula ósea (Lorente, 2005).

La fase aguda de la ehrlichiosis puede cursar con anemia producida por la destrucción acelerada de eritrocitos por mecanismos inmunológicos (Buhles y col, 1975; Reardon y Pierce, 1981). En esta fase la anemia normalmente es regenerativa (Woody y Hoskins, 1991) ya que la médula ósea suele ser hiper celular (Buhles y col, 1974). Un elevado número de perros con anemia regenerativa serán positivos al test de Coombs, lo cual debe ser tenido en cuenta para no incurrir en errores diagnósticos (Greene y col, 1984).

Durante la fase subclínica, el recuento de eritrocitos generalmente se normaliza (Buhles y col., 1974), aunque se pueden encontrar casos con ausencia de sintomatología clínica y presencia de alteraciones hematológicas (Codner y Farris-Smith, 1986). En la fase crónica, la anemia será no regenerativa debido a la destrucción continuada de eritrocitos, la pérdida crónica de sangre y la existencia de hipoplasia o aplasia medular (Buhles y col, 1974 y Woody y Hoskins, 1991).

El recuento de leucocitos en sangre es variable, encontrando inicialmente una ligera leucopenia (Buhles y col, 1974; Reardon y Pierce, 1981) debida al secuestro de leucocitos motivado por procesos inmunológicos e inflamatorios (Lorente, 2004).

Esta leucopenia puede transformarse posteriormente en leucocitosis (Hibler y col, 1986). Se ha descrito una inversión de la formula leucocitaria en perros con ehrlichiosis, con presentación de una neutropenia y una linfocitosis relativa (Sainz,

1996), también se ha reseñado la existencia de linfocitosis granular (Lorente, 2005).

Estas citopenias (anemia, leucopenia, trombocitopenia) son mucho más graves en la fase crónica y se suelen asociar a una hipoplasia medular; habiéndose observado incluso la aparición de aplasia medular completa con cuadro severo de pancitopenia que desemboca en la muerte del perro. Otros procesos inmunológicos, además de la producción de citoquinas participan en estas citopenias de fase crónica. No obstante, en la fase crónica de la enfermedad suele observarse una plasmocitosis debida al estímulo antigénico crónico (Lorente, 2005).

La leucopenia observada en el curso de la ehrlichiosis, motivada por una depleción del número de neutrófilos, se puede presentar con un aumento de células inmaduras que carecen de capacidad fagocitaria y de combustión respiratoria óptima lo que incrementa la susceptibilidad de estos pacientes a otras infecciones (Lorente, 2005).

La función de los leucocitos también puede verse alterada, así, los linfocitos de perros con ehrlichiosis pueden producir un factor con efecto citotóxico sobre monocitos autólogos (Kakoma y col, 1977).

2.15. Niveles de proteínas normales

En un perro sano, los niveles de proteína totales normales deberían ser 5,5 a 7,5 g /dl (gramos por decilitro). Este combina tanto la albúmina y globulina, los valores de albúmina normales deben leerse 2,6-4,0 g /dl, mientras que los niveles de globulina sanos deben ser 2.1 a 3.7 g /dl. (Breininger E. y Pintos L., 2007).

También se ha podido estudiar las funciones y los valores de las proteínas en fase aguda como la proteína C reactiva que regula los procesos inflamatorios y sirve de defensa frente a microorganismos (Jain, 1989) siendo sus niveles normales en un perro sano < 5 g/l (Capsi et al, 1987). La albúmina; regula la presión osmótica y sirve de transporte de diversas moléculas (Jain, 1989) y sus niveles normales en suero de perro sano es de 2.6-3.3 g/l (Kaneko, 1997).

Las proteínas que se miden son las albúminas y globulinas. Su valor normal es de alrededor de 7 mg/dl. Es muy raro que las proteínas totales estén elevadas, y

sus valores normales en un cachorro es de 4,0-5,8 g/dl, mientras que en el adulto sus valores son de 5,5-7,8 g/dl. (Iglesias, 2006)

2.16. Relación de proteínas, albuminas, globulinas

Hiperproteinemia con hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia son las alteraciones bioquímicas predominantes en perros infectados por *E. canis* (Weisiger y col., 1975 y Harrus y col., 1996a).

La exacerbada producción de anticuerpos presente en ehrlichiosis canina se traduce en la existencia de hiperproteinemia, (Troy y col, 1980 y Weiser y col, 1991), caracterizada por una hipergammaglobulinemia principalmente policlonal (Buhles y col., 1974; Ristic y Holland, 1993). No obstante, también se ha observado hipergammaglobulinemia monoclonal (Hoskins y col., 1983 y Breitschwerdt y col., 1987). La concentración de gamma-globulinas aumenta durante la fase febril de la ehrlichiosis canina y persiste durante las fases subclínica y crónica de la enfermedad (Ristic y Holland, 1993). Los niveles de hipergammaglobulinemia y de actividad de anticuerpos específicos no guardan correlación, indicando que la mayoría de las globulinas responsables de la elevación de las gammaglobulinas no son anticuerpos frente *E. canis* (Reardon y Pierce, 1981).

La hipergammaglobulinemia monoclonal produce un aumento de la viscosidad de la sangre que puede exacerbar la tendencia hemorrágica de la enfermedad y tener consecuencias oftalmológicas como hemorragias intraoculares, desprendimiento de retina e incluso ceguera aguda (Lorente, 2005).

La hipoalbuminemia comienza a presentarse hacia el día 14 y se recupera a partir del día 35 sin llegar a los valores normales iniciales (Reardon y Pierce, 1981). La hipoalbuminemia, que se observa en la primera fase de la infección, puede ser consecuencia tanto de la pérdida periférica de albúmina a fluidos edematosos por el incremento de permeabilidad vascular, pérdida de sangre o disminución de la producción de proteína debida a una enfermedad hepática concurrente (Reardon y Pierce, 1981). La hipoalbuminemia también podría mantenerse como mecanismo compensatorio de la hiperglobulinemia, para así contrarrestar un incremento de la presión oncótica y prevenir el aumento de viscosidad de la sangre (Woody y Hoskins, 1991).

En fases más crónicas, la glomerulopatía y la vasculitis podrían ser las causas de la hipoalbuminemia (Woody y Hoskins, 1991; Codner y Maslin, 1992).

La hiperproteinemia debida a una hiperglobulinemia es un hallazgo también frecuente en el curso de la ehrlichiosis canina, debido al estímulo antigénico crónico (Buhles y col, 1974; Weisiger y col., 1975; Troy y col., 1980; Codner y col., 1985; Codner y Farris-Smith, 1986; Breitschwerdt y col, 1987; Weiser y col, 1991).

El aumento de las globulinas no está tan relacionado con la cantidad de anticuerpos producidos frente a *E. canis* como con la duración de la enfermedad y la producción de autoanticuerpos (Ristic y col, 1972; Weisiger y col, 1975; Reardon y Pierce, 1981).

La hiperglobulinemia suele corresponder a una gammapatía policlonal, como se puede apreciar por electroforesis (Lorente, 2005). Ocasionalmente se puede detectar gammapatía monoclonal por aumento de inmunoglobulina G (Hoskins y col, 1983; Codner y Farris-Smith, 1986 y Breitschwerdt y col, 1987).

Acompañando a la hiperglobulinemia se suele encontrar una hipoalbuminemia, producida por diferentes causas como el agotamiento de la albúmina en el proceso inflamatorio y el catabolismo proteico asociado a la enfermedad (Lorente, 2005). Además, se ha observado una relación inversamente proporcional entre la cantidad de proteína perdida en orina y la concentración sérica de albúmina, por lo que la presencia de proteinuria es un indicador importante de la disminución de la albúmina (Codner y Maslin, 1992).

La hiperproteinemia por hiperglobulinemia parece ser el hallazgo más frecuente en la bioquímica sanguínea en los perros con EMC (Frank & Breitschwer y col, 1999).

Esta hiperglobulinemia suele deberse a una gammapatía policlonal, pero también se ha descrito la presentación de gammapatías monoclonales (Breitschwerdt y col., 1987, Neer 2000). A menudo se asocia esta hiperglobulinemia con la presencia de hipoalbuminemia, que puede deberse, entre otros, a la existencia de proteinuria, pérdida de peso, mal nutrición, hepatopatía o a un intento de compensación de la hiperproteinemia (Hibler y col., 1986 y Woody & Hoskins 1991).

Las proteínas estarán aumentadas por encima de los valores esperados en, aproximadamente, un 50-75% de los perros seropositivos a E. canis.

Veremos aumentos de las globulinas (beta, gamma o ambas). Observaremos también una disminución de la albúmina que se asocia en algunos casos a afectación del riñón (nefropatía por daño del glomérulo renal) que suele ser reversible (Zaldívar J.E, 2009).

Las alteraciones de la analítica en perros con ehrlichiosis son muy variadas. El hallazgo más típico en hematología es la trombocitopenia. También se puede detectar anemia (siendo más frecuente la no regenerativa) y, en menor medida, leucopenia. En relación con la bioquímica sanguínea destaca por su elevada frecuencia de presentación la existencia de hiperproteinemia. Esta hiperproteinemia suele deberse a una hipergammaglobulinemia habitualmente policlonal, debida a la gran respuesta humoral que se presenta en esta enfermedad. Debido a la presentación de hipoalbuminemia en algunos casos, los valores de proteínas totales pueden ser normales. Por todo ello y, también el control post-tratamiento, el proteinograma es una técnica muy útil. En ocasiones, los indicadores de la funcionalidad renal y hepática también pueden alterarse. (Tesouro D. y Sainz R., 2000).

En la bioquímica sanguínea es habitual encontrar hiperproteinemia, debido a un aumento de la beta y gammaglobulinas, normalmente policlonal, aunque en ocasiones se detecta en el proteinograma picos monoclonales. También se suele presentar hipoalbuminemia asociada a proteinuria debido a glomerulonefritis. Ocasionalmente, la analítica sanguínea puede poner de manifiesto alteraciones motivadas por la existencia de insuficiencia renal y/o hepática. (Lorente, 2005).

2.17. Diagnóstico de la ehrlichiosis canina

En cualquier proceso patológico para llegar al diagnóstico es necesario previamente presuponer la compatibilidad del proceso con el diagnóstico (Lorente, 2005).

El diagnóstico de ehrlichiosis se realiza en base a la historia clínica y los hallazgos en el examen físico. La ausencia de hemorragias no debe descartar la presencia de la enfermedad, debido a que únicamente el 50% de los perros infectados presentan este signo. La hemorragia bioquímica y la serología son útiles para establecer el diagnóstico definitivo ante mortem (Marín y col., 1998).

2.17.1 Diagnóstico Clínico

Tal y como se ha abordado previamente, el cuadro clínico de la ehrlichiosis canina es totalmente inespecífico: depresión, letargia, pérdida de peso, anorexia, fiebre, linfadenomegalia (Greene y Harvey, 1984; Breitschwerdt y col., 1987; Waddle y Littman, 1988; Troy y col., 1980; Sainz, 1996). 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* spp, en especial, en áreas con una alta tasa de prevalencia (Woody y Hoskins, 1991).

2.17.2. Diagnóstico Diferencial

Debido a la gran variedad de signos clínicos con los que cursa la ehrlichiosis, el diagnóstico diferencial debe incluir numerosas patologías. Sin embargo, la leishmaniosis, en áreas geográficas como la nuestra, es la enfermedad con la que más frecuentemente se puede confundir, debido a la similitud de muchos de sus signos: hemorragias, apatía, pérdida de peso, linfadenopatía, uveitis, hiperproteinemia con hiperglobulinemia, artritis, etc. (Sainz, 1996).

También 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 (Lorente, 2005).

En ehrlichiosis, a pesar de la gran cantidad de autoanticuerpos producidos no se han encontrado anticuerpos antinucleares, característicos del lupus eritematoso sistémico (Lorente, 2005). La presencia de linfocitosis granular o

la afectación de la médula ósea podría confundirla con procesos neoplásicos como el mieloma, la leucemia linfoblástica aguda o la leucemia linfocítica crónica (Weiser y col, 1991).

2.17.3. Inmunodiagnóstico

Las técnicas serológicas y en especial, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) son las más empleadas en la práctica clínica. La detección de un título de anticuerpos positivo, en un perro con signos clínicos o alteraciones en la analítica compatibles con ehrlichiosis, permite realizar un diagnóstico de la enfermedad. Las Ig G tardan en aparecer entre 14 y 21 días después de la infección, por lo que en fases agudas podemos encontrar títulos por debajo del umbral de positividad. Los anticuerpos no pueden ser detectados en la fase temprana de la enfermedad, cuando la ehrlichiosis empieza a progresar los niveles de anticuerpos, alcanzan niveles significativos, por lo que recomienda realizar dos exámenes IFI, con dos semanas de diferencia, los canes que estén infectados mostraran un aumento en los niveles de anticuerpos. Otro tipo de examen serológico, más reciente para el diagnóstico de ehrlichiosis, es la técnica ELISA, la cual puede ser realizada en los laboratorios veterinarios y en la actualidad se ofrecen en el mercado, algunos test comerciales. Los anticuerpos contra *Ehrlichia* pueden permanecer activos por un año o más, pero ellos no hacen inmune al can a la ehrlichiosis, el can puede volver a padecer la enfermedad. (Angulo Campos J y Rodríguez Vilchez L, 2005).

2.18. Tratamiento de la enfermedad

A lo largo de la historia y desde las primeras descripciones de la ehrlichiosis canina, se han empleado en el tratamiento de la ehrlichiosis un gran número de fármacos como el tripán azul, acaprina, gonacrina, sales orgánicas de antimonio y de arsénico y solución salina formolada, aunque con todos ellos, la respuesta fue decepcionante (Ewing, 1969). Algunos antimicrobianos como la sulfametacina, sulfameracina, sulfonamida y penicilina tampoco tuvieron éxito en el tratamiento de esta enfermedad (Lorente, 2005).

La tetraciclina y los antibióticos de su familia han sido tradicionalmente los fármacos efectivos empleados para el tratamiento de la ehrlichiosis (Huxsoll y col, 1970; Bhules y col, 1974). Aunque la tetraciclina y la oxitetraciclina siguen

manteniendo su eficacia, son la doxiciclina y la minociclina los fármacos de este grupo más empleados en la actualidad, debido a su excelente absorción y a su sencilla administración una vez al día (Troy y Forrester, 1990), en comparación con la dosificación de las otras tetraciclinas cada 8 horas y en ayunas. Además, la oxitetraciclina puede ser nefrotóxica, mientras que la baja toxicidad renal de la doxiciclina hace recomendable su empleo en perros con insuficiencia renal. Hay que tener en cuenta que cualquiera de los fármacos incluidos en este grupo de antibióticos produce decoloración dental en cachorros (Lorente, 2005).

La doxiciclina actúa favoreciendo la fusión entre los fagosomas, donde se encuentran las ehrlichias, y los lisosomas. También posee actividad bacteriostática, se implanta en los ribosomas de la bacteria e inhibe, de este modo, la síntesis de proteína bacteriana. Se han empleado diversos protocolos de tratamiento con la doxiciclina (Lorente, 2005), aunque actualmente se aconseja administrar la doxiciclina en dosis diaria de 10mg/kg (Sainz y col, 2000). En cuanto a la duración del tratamiento, si en un principio se recomendaron tratamientos de 7 a 14 días (Lorente, 2005), la recomendación actual es la de mantener el tratamiento durante 28 días. Los protocolos de tratamiento más cortos pueden dar lugar a una mejoría inicial del paciente, pero los síntomas suelen volver a aparecer (Sainz y col, 2000).

El cloranfenicol se ha venido empleando en cachorros, para evitar la coloración dental que se produciría al emplear tetraciclinas a esa edad, y en hembras gestantes o lactantes (Troy y Forrester, 1990; Woody y Hoskins, 1991). Los protocolos utilizados varían de los 15 a los 50 mg/kg cada 8 horas durante 14 días, vía oral, intravenosa o subcutánea (Troy y Forrester, 1990; Woody y Hoskins, 1991). Su efectividad es cada vez más controvertida (Troy y Forrester, 1990) y ello, unido a su toxicidad sobre la médula ósea, hacen que no sea un fármaco de primera elección, sobretodo en perros anémicos y/o trombocitopénicos (Troy y Forrester, 1990).

Recientemente y también con el fin de evitar la coloración dental producida por la doxiciclina en niños, se ha empleado con éxito la rifampicina en el tratamiento de la ehrlichiosis granulocítica humana. Hasta el momento no se han encontrado estudios sobre el empleo de este antibiótico en el tratamiento de la ehrlichiosis canina. El dipropionato de imidocarb es una diamidina que ha mostrado gran actividad tanto curativa como profiláctica en babesiosis canina (Lorente, 2005).

Durante más de 20 años, éste fármaco ha mostrado ser un efectivo tratamiento frente a la ehrlichiosis canina en dos dosis separadas de 5-7 mg/kg, vía intramuscular o subcutánea, cada 15 días (Sainz y col., 2000). Este fármaco es clínicamente tan eficaz como la doxiciclina, respondiendo favorablemente los perros al tratamiento en 24-72 horas, en el caso de formas agudas o crónicas leves. No obstante, se ha observado una normalización más lenta, tanto del recuento plaquetario como del proteinograma, en aquellos casos tratados con dipropionato de imidocarb (Sainz y col, 2000).

Con relativa frecuencia se presentan, tras la administración de dipropionato de imidocarb, efectos secundarios como disnea, sialorrea, diarrea, exudado nasal, taquicardia y temblores (Woody y Hoskins, 1991), que parecen ser debidos a un efecto anticolinesterasa provocado por el fármaco (Ogunkoya y col, 1981). Estos signos remiten tras la administración de sulfato de atropina a dosis de 0.05mg/kg (Ogunkoya y col, 1981).

Se han empleado protocolos que emplean conjuntamente doxiciclina y dipropionato de imidocarb; sin embargo, su administración conjunta no parece aportar beneficio por lo que no es aconsejable (Sainz y col, 2000).

La enrofloxacin para el tratamiento de la ehrlichiosis canina se ha empleado a dosis de 5 mg/kg cada 24 horas durante 15 días (Lorente, 2005). Sin embargo, estudios posteriores demostraron la falta de respuesta a este fármaco de perros con ehrlichiosis (Neer y col, 1999). El empleo de ciprofloxacina para el tratamiento de la ehrlichiosis humana tampoco ha sido efectivo (Lorente, 2005).

No suele ser necesario instaurar un tratamiento de apoyo en el curso de la ehrlichiosis canina ya que la terapia específica por sí sola suele conseguir una buena respuesta. No obstante, según la gravedad del proceso pueden ser necesarios algunos tratamientos de soporte como fluidoterapia o transfusiones (Woody y Hoskins, 1991; Neer y col, 1999). Además, en ocasiones se necesita instaurar un tratamiento específico frente a determinadas complicaciones (como la glomerulonefritis) asociadas a una infección crónica por *E. canis* (Cohn, 2003).

En general, se recomienda evitar el uso de glucocorticoides, a no ser en caso de trombocitopenias o anemias graves que puedan condicionar la vida del animal, en las que su empleo puede disminuir la destrucción inmunomediada de

plaquetas o eritrocitos asociada a la infección (Lorente, 2005). La dificultad que, en ocasiones, existe para diferenciar la ehrlichiosis de otras anemias y/o trombocitopenias inmunomediadas o autoinmunes, también puede justificar, el empleo de glucocorticoides, a la espera de los resultados serológicos (Troy y Forrester, 1990; Neer y col, 1999; Frank y Breitschwerdt, 1999). Los glucocorticoides también pueden estar indicados en el curso de poliartritis, vasculitis o meningitis asociadas a la infección (Lorente, 2005). En todo caso, los corticoides se deben emplear siempre asociados al tratamiento específico frente a la ehrlichiosis ya que, de otra manera, podrían agravar la infección (Breitschwerdt, 2003).

2.18.1. Evolución post-tratamiento

La evolución de la eficacia terapéutica debe abordar el estudio de diferentes aspectos. La mejoría clínica precede en el tiempo a la normalización de la analítica. En este sentido, a las 24-48 horas de iniciado el tratamiento suele apreciarse una mejoría clínica importante en perros en fase aguda o fase crónica leve de la enfermedad (Breitschwerdt y col., 1987). Sin embargo, la eficacia clínica del tratamiento se puede retrasar incluso 6 semanas, en formas crónicas (Woody y Hoskins, 1991; Sainz, 1996).

Los parámetros laboratoriales que más rápidamente se normalizan son los recuentos de eritrocitos y de plaquetas, normalizándose habitualmente a los 14 días de tratamiento (Neer y col, 1999; Frank y Breitschwerdt, 1987). Incluso en casos crónicos, si el cuadro clínico y los parámetros hematológicos no mejoran en una o dos semanas desde el inicio del tratamiento, se debería reevaluar el diagnóstico, ya que la falta de mejoría puede ser debida a una infección crónica grave o a la existencia de coinfección con otro microorganismo o de una concurrencia con una enfermedad no infecciosa (Cohn, 2003). La mayoría de los casos que no responden al tratamiento, en ausencia de otra infección, presentan insuficiencia renal y/o aplasia medular severa (Sainz y col., 2000).

El proteinograma tarda en normalizarse entre 3 y 9 meses, siendo empleado rutinariamente para confirmar la presencia de una buena respuesta al tratamiento a largo plazo. El seguimiento de la evolución de la enfermedad en base a una monitorización serológica se ve dificultada por el

hecho de que, si bien los títulos de anticuerpos suelen empezar a disminuir entre 3 y 9 meses tras el tratamiento de la enfermedad, muchas veces pueden mantenerse elevados durante largos periodos de tiempo, incluso varios años, sin ninguna otra alteración clínica ni laboratorial (Harrus y col, 1996a; Frank y Breitschwerdt, 1999; Sainz y col, 2000). Aún queda por determinar el significado real de esta persistencia en el título de anticuerpos. En teoría, un buen método de elección para evaluar la persistencia de una infección por *Ehrlichia* sería la realización de PCR de un aspirado esplénico; otros tejidos que pueden emplearse para el PCR serían médula ósea o sangre, pero la sensibilidad de la técnica es inferior (Lorente, 2005). La PCR debería negativizarse tras el tratamiento de la enfermedad; sin embargo no se han encontrado estudios que verifiquen esta afirmación. Se desconoce el tiempo de permanencia del ADN de *Ehrlichia canis*, tras un tratamiento eficaz, en el hospedador. Sin embargo, algunos autores aconsejan volver a tratar con igual o diferente protocolo aquellos animales tratados correctamente en los que la PCR sea positiva y no se observe una resolución clínica y laboratorial (Cohn, 2003).

2.19. Profilaxis

La transmisión obligada de la ehrlichiosis a través de garrapatas, exceptuando la transmisión por transfusión sanguínea, hace que la profilaxis de la infección esté dirigida al control de garrapatas. Para evitar la transmisión, es necesario impedir la alimentación de la garrapata, ya que es en ese periodo cuando se producirá la transmisión. Las medidas profilácticas también deben aplicarse a aquellos animales diagnosticados de ehrlichiosis debido al riesgo de reinfecciones que estos animales tienen, ya que normalmente el medio en el que residen continúa siendo el mismo y hay que romper la cadena epidemiológica (Lorente, 2005)

Se han llevado a cabo diferentes estudios para valorar el tiempo necesario para la adquisición y transmisión de agentes infecciosos por garrapatas durante la alimentación de las mismas. En general esta transmisión es improbable para tiempos inferiores a 24 horas de permanencia de la garrapata fijada al hospedador, a partir de las 48 horas la transmisión es muy factible y el porcentaje de transmisión aumenta enormemente a partir de las 72 horas (Lorente, 2005). Estos estudios se han realizado sobre la transmisión de diferentes agentes rickettsiales, borrelias, babesias y *Anaplasma*

phagocytophilum. Parece ser que el tiempo necesario para la transmisión de *A. phagocytophylum* puede ser ligeramente inferior al de otros agentes. Se han observado también variaciones en los tiempos de transmisión según la especie de garrapata y hospedador y según el estadio evolutivo de la garrapata (Lorente, 2005).

El único producto comercializado para perros que posee efecto anti-picadura y efecto activador de la separación de la garrapata del hospedador, unido a un efecto prolongado y un elevado margen de seguridad es el collar de amitraz (Lorente, 2005).

Con los piretroides y con el propoxur se observa un efecto knock down o de muerte rápida (Bourdeau, 2002). Los únicos productos comercializados con estos principios activos carecen de efecto residual sobre el animal, exceptuando dos productos con permetrinas (Defendog® de laboratorios Virbac y Exspot® de laboratorios Shering Plough). Sin embargo, no existen estudios, en conocimiento del autor, sobre la eficacia de estos productos comerciales en la prevención de infestaciones por *R. sanguineus*.

Se han llevado a cabo diversos estudios para determinar la eficacia de distintos productos, comercializados en veterinaria, a la hora de repeler o matar rápidamente garrapatas que entran en contacto con perros. Muchos de estos estudios realizan una comparación de la eficacia de dos productos, aunque no siempre es fácil comparar los resultados de distintos trabajos, al existir una gran variación en los métodos y materiales. Según estos estudios los collares de amitraz, el fipronil, y la asociación de permetrina e imidacloprid serían eficaces en el control de infestaciones por *R. sanguineus* al menos en un 90% hasta 3 semanas después de la aplicación del primer tratamiento (Lorente, 2005).

Se ha observado que los collares con deltametrina poseen también actividad garrapaticida; sin embargo su eficacia es inferior a la de los collares con amitraz (Estrada- Peña y Ascher, 1999).

La evaluación comparada entre la aplicación de fipronil en spot-on y un collar de amitraz, muestra también un mayor efecto garrapaticida en los perros a los que se les aplicó amitraz (Lorente, 2005).

Hasta el momento sólo se ha realizado un estudio de campo que haya investigado la eficacia de un producto en la prevención de la transmisión de *E. canis* por *R. sanguineus*.

Los autores de este trabajo afirman que el empleo mensual de fipronil es efectivo en la prevención de la ehrlichiosis canina monocítica (Lorente, 2005).

Otro punto importante en la profilaxis de las infecciones transmitidas por garrapatas sería la actuación a nivel del medio ambiente y un buen medio para ello sería conseguir romper el ciclo biológico. Así el empleo de inhibidores de formas juveniles como el piriproxifeno en unión a un adulticida permitiría la inhibición de los huevos producidos por las garrapatas supervivientes (Bourdeau, 2002).

Finalmente, algunos autores han señalado la posibilidad de administrar con fines preventivos tetraciclinas a dosis bajas en zonas endémicas, con la controversia que estas medidas ocasionan debido a la posibilidad de crear resistencias (Neer y col., 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

El estudio se realizó en el Centro Veterinario "Happy Pet" y las muestras fueron procesadas en el laboratorio "Pet lab", de la misma Clínica Veterinaria, ubicado en la Av. Juan Tomis Stack N°149. Geográficamente está ubicado en el Distrito de Chiclayo departamento de Lambayeque. Sus coordenadas son 6°46'16" de latitud sur y 79°50'27" de longitud oeste. Con una altura promedio de 27 metros sobre el nivel del mar. Cuya zona climática es tropical, con una temperatura anual promedio de 22, 3° C, llegando en el verano a superar a 32° C; con una población aproximada de 638 178 habitantes.

3.2. Duración del trabajo

El trabajo se desarrolló en el periodo comprendido de invierno - verano del 01 de agosto del 2015 hasta 29 de febrero del 2016, con una duración de 6 meses.

3.3. Material Biológico

3.3.1. De los animales

Para la presente investigación se emplearon 90 caninos, atendidos en la clínica veterinaria, como criterio de inclusión, se consideró todo aquel animal de diferente raza, sexo y edad, y se realizó una inspección clínica general que incluyó la observación del estado general, la medición de la temperatura corporal y la presencia o no de alteraciones hemorrágicas, como manifestaciones fundamentales. La población en estudio por la totalidad de los casos clínicos o con diagnóstico de *Ehrlichia canis*.

3.3.2. De la muestra

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas por punción de la vena cefálica, la sangre se recepcionó en tubos de vacutainer con anticoagulante (EDTA), para la realización de hemograma; en donde vamos a obtener los niveles de proteínas plasmáticas y test SNAP 4Dx. También se utilizó tubos de vacutainer sin anticoagulante para La obtención de las demás proteínas.

3.4. Materiales y equipo de laboratorio

- ✓ Algodón
- ✓ Alcohol
- ✓ Jeringas y agujas descartables
- ✓ Espectrofotómetro semiautomatizado RT 9200
- ✓ Tubos vacutainer sin anticoagulante
- ✓ Tubos vacutainer con EDTA
- ✓ Ligadura
- ✓ Centrifuga
- ✓ Rack térmico RT-A 19
- ✓ Tubos de ensayo de 10 cm
- ✓ Pipetas de rango 2 a 20
- ✓ Pipetas de rango 100 a 1000
- ✓ Tip azules
- ✓ Tip blancos
- ✓ Reactivo para albumina
- ✓ Reactivo para proteínas
- ✓ Tubos de ensayo

- ✓ Guantes
- ✓ Mascarillas
- ✓ Mandil

3.5. Metodología

Una vez obtenidas las muestras de sangre se realizó el test de SNAP 4Dx es el análisis que permite detectar en tan solo ocho minutos anticuerpos frente a *Anaplasma phagocytophilum* y *A. platys*, responsables de la anaplasmosis granulocítica canina y trombocitopenia infecciosa cíclica respectivamente.

Snap 4Dx permite evaluar en un solo test las coinfecciones producidas por diferentes enfermedades transmitidas por vectores. Es el único test en clínica que utiliza la probada tecnología ELISA que realiza el paso de lavado de la muestra a diferencia de otras tecnologías. Esto hace que Snap tenga una especificidad y sensibilidad superior a otros tests. Pero las ventajas de la detección de enfermedades transmitidas por vectores van más allá del simple bienestar de la mascota.

El Test SNAP 4Dx tiene una especificidad de al menos un 98% para estas cuatro enfermedades: filariosis, ehrlichiosis, enfermedad de Lyme y anaplasmosis.

3.5.1. Información de la muestra

Las muestras estuvieron a temperatura ambiente (18–25°C) antes de comenzar el procedimiento de análisis.

Se usaron suero y sangre total anticoagulada (con EDTA), fresca.

3.5.1.1. Procedimiento del análisis (IDEXX, laboratorio; 2015)

1. Si los componentes estuvieron refrigerados, esperar a que se equilibren a temperatura ambiente (18–25°C) durante 30 minutos. No calentarlos.
2. Con la pipeta del kit, vertimos 3 gotas de muestra en un tubo de ensayo nuevo.
3. Añadimos 4 gotas de conjugado al tubo de ensayo sosteniendo la botella en posición vertical.

4. Tapamos el tubo de ensayo y mezclamos a fondo invirtiéndolo entre 3 y 5 veces.
5. Colocamos el dispositivo sobre una superficie horizontal. Añadimos todo el contenido del tubo de ensayo en el pocillo de muestras, teniendo cuidado de no verter el contenido fuera de dicho pocillo.
6. La muestra fluirá por la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en aproximadamente 30–60 segundos. Es posible que quede algún resto de la muestra en el pocillo.
7. En cuanto aparezca color en el círculo de activación, presionamos el activador con firmeza hasta que quede al ras con el cuerpo del dispositivo.
8. Nota: es posible que alguna muestra no fluya hacia el círculo de activación dentro de los 60 segundos, y, por lo tanto, el círculo no se coloreará. En ese caso, presionamos el activador después de que la muestra haya fluido por la ventana de resultados.
9. Leemos los resultados del análisis cuando hayan pasado 8 minutos.
10. Nota: Puede ocurrir que el punto del control positivo desarrolle antes el color; sin embargo, la prueba no se habrá completado hasta que no pasen los 8 minutos.

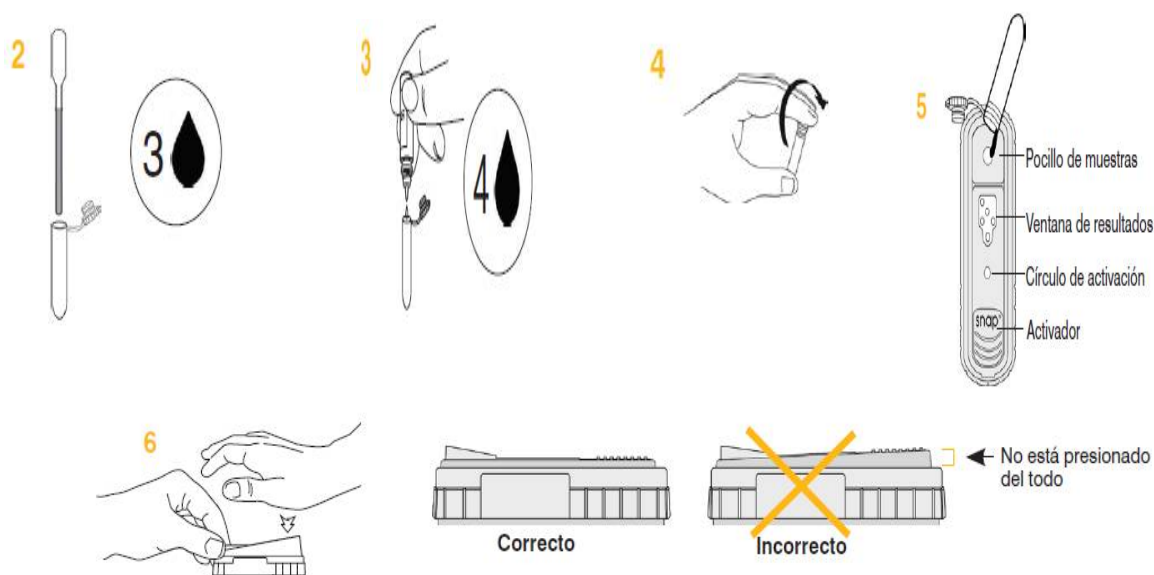


Fig. N° 3: Procedimiento para la elaboración del test SNAP 4Dx
(Imagen: IDEXX. laboratorio: 2015)

3.5.2. Interpretación de los resultados de la muestra

3.5.2.1. Resultado positivo

Cualquier desarrollo del color en los puntos de la muestra indica la presencia de antígeno de la *Dirofilaria immitis*, anticuerpos frente a *A. phagocytophilum*, anticuerpo frente a *A. platys*, anticuerpos frente a *B. burgdorferi*, anticuerpos frente a *E. canis* o anticuerpos frente a *E. ewingii* en la muestra.

Notas:

El punto de muestra para *A. phagocytophilum/A. platys* no permite diferenciar entre las dos especies: un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos frente a *A. phagocytophilum* y/o *A. platys*. El punto de muestra para *E. canis/E. ewingii* no permite diferenciar entre las dos especies: un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos frente a *E. canis* y/o *E. ewingii*. En un bajo porcentaje de muestras (0,027% tal y como se ha notificado), las sustancias interferentes en la sangre del paciente pueden producir que todos los puntos del dispositivo causen una reacción positiva.

En este caso, la muestra se debe volver a analizar como plasma o suero para reducir la probabilidad de interferencia.

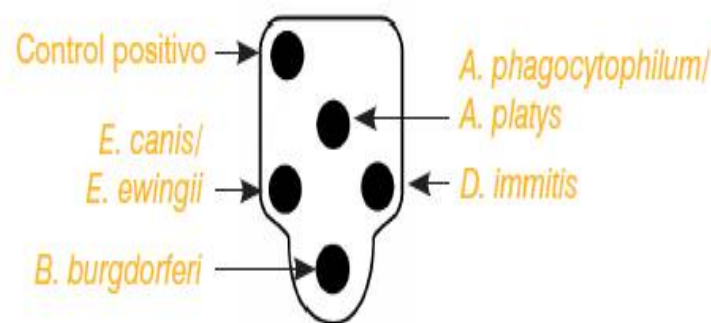


Fig. N° 4: Resultado de muestra control positiva (Imagen: IDEXX, laboratorio 2015)

3.5.2.2. Resultado negativo

Solamente se produce color en el punto del control positivo.



Fig. N° 5: Resultado de muestra control negativa (Imagen: IDEXX, laboratorio)

3.5.2.3. Resultados inválidos

- **Fondo-** Es posible que se produzca color de fondo si se permite que la muestra fluya sobrepasando el círculo de activación. Algo de color de fondo es normal. Sin embargo, si el color de fondo dificulta el resultado del análisis, repetimos el análisis.
- **No se produce color-** Si en el punto del control positivo no produce color, se repite el análisis.

A las pruebas positivas se le realizó un estudio bioquímico de las proteínas sanguíneas para medir los valores de proteínas plasmáticas y proteínas totales (globulinas y albuminas), y poder generar así los datos concernientes a la investigación, los cuales son registrados en una hoja de cálculo para su procedimiento y análisis.

La concentración de las proteínas plasmáticas se obtiene a partir de sangre con anticoagulante; el tubo que contiene sangre más anticoagulante se debe centrifugar a 2500 r.p.m. durante 5 minutos.

Las proteínas plasmáticas pueden ser determinadas a partir del plasma que se encuentra en la parte superior de un tubo capilar centrifugado para la determinación del hematocrito (Hto). Se rompe el tubo por arriba de la capa leucoplaquetaria, se deposita una gota en el refractómetro clínico y se realiza la lectura en la escala de proteínas o sólidos totales. Y para la obtención de las pruebas bioquímicas se realiza de acuerdo al protocolo que viene en el inserto de los reactivos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente trabajo de investigación, se recolectaron 90 muestras de canes positivos a *Ehrlichia canis*, para el análisis se utilizaron las técnicas mencionadas en el capítulo anterior, donde se midieron las variables:

- ✓ **Proteínas plasmáticas**
- ✓ **Proteínas Totales**
 - **Albúmina**
 - **Globulina**
 - **ALB/GLOB**

Recogiendosé en este apartado:

4.1. De los hallazgos bioquímicos

Cuadro N°1: Valores de Prueba Bioquímica de las proteínas en perros positivos a *E. canis* del centro veterinario “Happy Pet” de la ciudad de Chiclayo.

	Promedio	Desv. estándar	Intervalo de confianza	
Prot. Plasmáticas mg/dl	8.557777778	1.540755526	8.547593577	8.567961979
Prot. Totales mg/dl	6.678777778	1.703383169	6.667518628	6.690036927

En el cuadro N° 1, se presenta el trabajo que se realizó en el Centro Veterinario “Happy Pet”, de la ciudad de Chiclayo, departamento de Lambayeque, donde se obtuvo un promedio de $8.55/10^6 \times$ mg/dl para las proteínas plasmáticas; lo cual indica que la población de estudio presenta una infección bacteriana, con una desviación estándar de $1.54/10^6 \times$ mg/dl, un intervalo de confianza de $8.54/10^6 \times$ mg/dl, a $8.56/10^6 \times$ mg/dl.; un valor mínimo y máximo de 6 mg/dl y 14 mg/dl., respectivamente.

Para las proteínas totales hallamos un promedio de 6.67 mg/dl, con una desviación estándar de 1.7 mg/dl, con un intervalo de confianza de 6.66 mg/dl, a 6.69 mg/dl., un valor mínimo y máximo de 4.43 mg/dl y 14.03 mg/dl, respectivamente. El valor mínimo encontrado de 4.43 mg/dl de la población estudiada; nos señala que existe una infección crónica, también encontramos un valor máximo de 14.03 mg/dl; lo que nos manifiesta que dentro de la población de muestreo hemos encontrado perros que podrían presentar una deshidratación.

La hiperproteinemia es un hallazgo destacado en casos de ehrlichiosis canina (Burghen y col, 1971; Buhles y col., 1974; Weisiger y col, 1975; Troy *et al*, 1980; Kuehn y Gaunt, 1985; Codner y Farris-Smith, 1986; Davoust y col, 1991a; Davoust y col, 1991b; Weiser y col, 1991). En nuestra investigación hemos observado una mayor alteración en las proteínas plasmáticas, así la disproteinemia se comprueba en una gran mayoría de los casos (en torno al 77% de los casos estudiados), que nos indica un proceso de infección crónica (Núñez, 2007).

En los casos estudiados obtuvimos una hiperproteinemia acompañado con una hiperglobulinemia en torno a un 48%; porcentaje muy similar observado en otros estudios, que describen una frecuencia de 30-50% de los casos estudiados (Troy y col, 1980; Kuehn y Gaunt, 1985; Waddle y Littman, 1988). Algo muy similar se encontró en el trabajo de investigación de Lorente (2005) que describe una frecuencia de 40% de los casos. Es frecuente la aparición de hiperproteinemia por hiperglobulinemia, en la fase subclínica (Ghorbel y col, 1993b, Sainz y Tesouro, 2001).

En 52 casos encontramos proteína total aparentemente en sus valores normales, del cual el 19% de los casos presenta hiperglobulinemia y el resto de ellos se encuentran dentro de sus valores normales, esto indicaría un nivel bajo de la albúmina (Benjamín, 1991; Zapata y Fajardo, 2007).

Sólo en 11 casos hemos encontrado hiperproteinemia, asociándose un 3% con hipoglobulinemia, este hecho concuerda con los resultados de otros autores que describen su aparición de manera esporádica en la fase subclínica de la enfermedad (Kuehn y Gaunt, 1985; Sainz, 1996).

La correlación entre las variables proteína plasmática y proteína total es baja ($r = 0.163461489$), lo que significa que la proteína plasmática y la proteína total se comportan de manera independiente entre sí.

Cuadro N° 2: Valores de globulina y albumina en perros positivos a *Ehrlichia canis* del Centro Veterinario “Happy pet”, de la ciudad de Chiclayo.

	Promedio	Desv. estándar	Intervalo de confianza	
Albúminas mg/dl	1.86922222	0.4657656	1.86614357	1.87230087
Globulinas mg/dl	4.83333333	1.73382541	4.82187296	4.8447937
ALB/GLO	0.43411111	0.18471292	0.43289018	0.43533204

En el cuadro N° 2, podemos apreciar los valores de globulina, albumina y ALB/GLOB en los canes provenientes del centro veterinario “Happy Pet”, del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque; donde se encontró un promedio de 1.86 mg/dl para las albuminas, con una desviación estándar de 0.46 mg/dl, un intervalo de confianza de 1.86 mg/dl, a 1.87 mg/dl., un valor mínimo y máximo de 1.03 mg/dl y 3.12 mg/dl. El promedio para la población en estudio indica que existe una hipoalbuminemia; tomando como referencia los valores normales es 3-4.5 mg/dl (Suiza Vet.), como también encontramos un valor mínimo de 0.75 mg/dl.

Para la globulina encontramos un promedio de 4.77 mg/dl, con una desviación estándar de 1.73 mg/dl; lo que nos manifiesta que existe una hiperglobulinemia ya que los valores normales de referencia son de 3 – 4.1 mg/dl., un intervalo de confianza de 4.82 mg/dl, a 4.84 mg/dl., un valor mínimo y máximo de 2.5 mg/dl y 12.81 mg/dl. El valor máximo de 12.81 mg/dl, nos indica una infección bacteriana debido a la enfermedad de *E. canis*.

En la relación ALB/GLO encontramos un promedio de 0.43, una desviación estándar de 0.18 y un intervalo de confianza de 0.43. Con un valor mínimo de 0.09 y un valor máximo de 0.97. En la presente investigación, se aprecia una disminución de los valores del cociente albúmina/globulinas en perros con ehrlichiosis, lo que nos indica una pérdida de la distribución normal de ALB/GLO.

La causa de la hiperglobulinemia puede ser la existencia de una respuesta inmunitaria humoral exacerbada como inefectiva (Woody y Hoskins, 1991). Los niveles séricos de globulinas aumentan progresivamente en el curso de la enfermedad y adquieren unos valores elevados de la primera a la tercera semana postinfección (Tesis: Márquez I., 2011).

La hipoalbuminemia ha sido descrita en fases agudas y crónicas de la infección, habiéndose sugerido su desaparición en la fase subclínica (Davoust y col, 1991b). En nuestro estudio hemos observado una prevalencia en torno a 82% de los casos, que puede ser un indicador de la presencia de patologías renales subclínicas por depósito de inmunocomplejos (Breitschwerdt y col, 1987; Breitschwerdt, 2002).

Por último, los resultados respecto a los valores de globulinas y albúmina hacen que en un 82% de los animales presenten una alteración del cociente

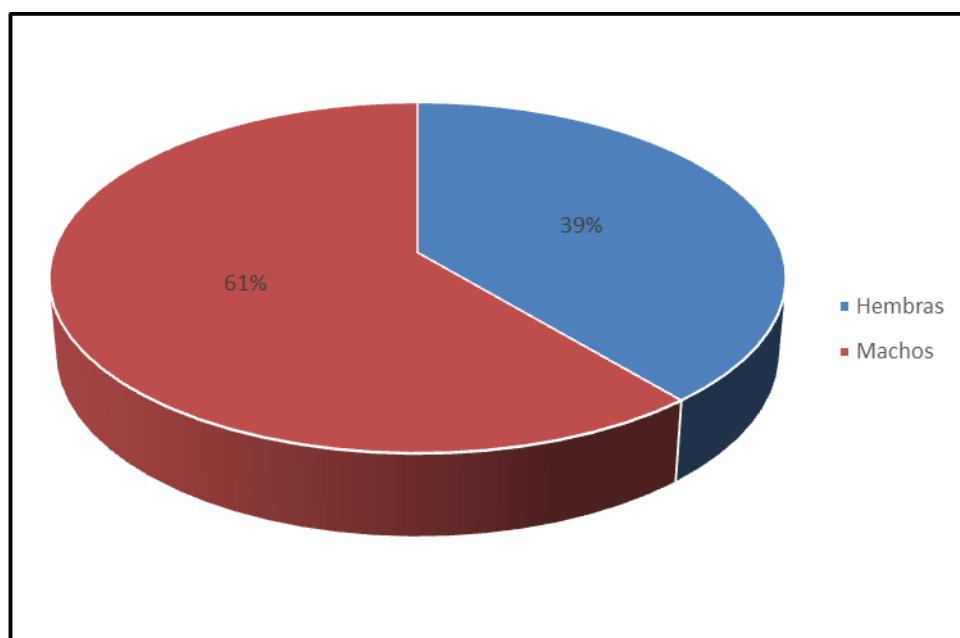
Albumina/Globulinas, haciendo que la disproteinemia sea la alteración biopatológica más frecuentemente en este estudio.

La correlación entre las variables globulina y albumina es muy baja ($r = 0.043080054$), lo que nos indica que la globulina y albumina son independientes entre sí.

Cuadro N° 3: Clasificación de canes positivos a *Ehrlichia canis* según su sexo, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Sexo	Cantidad	%
Hembras	35	39%
Machos	55	61%
Total	90	100%

Gráfico N° 01: Clasificación de canes positivos a *Ehrlichia canis* según su género, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

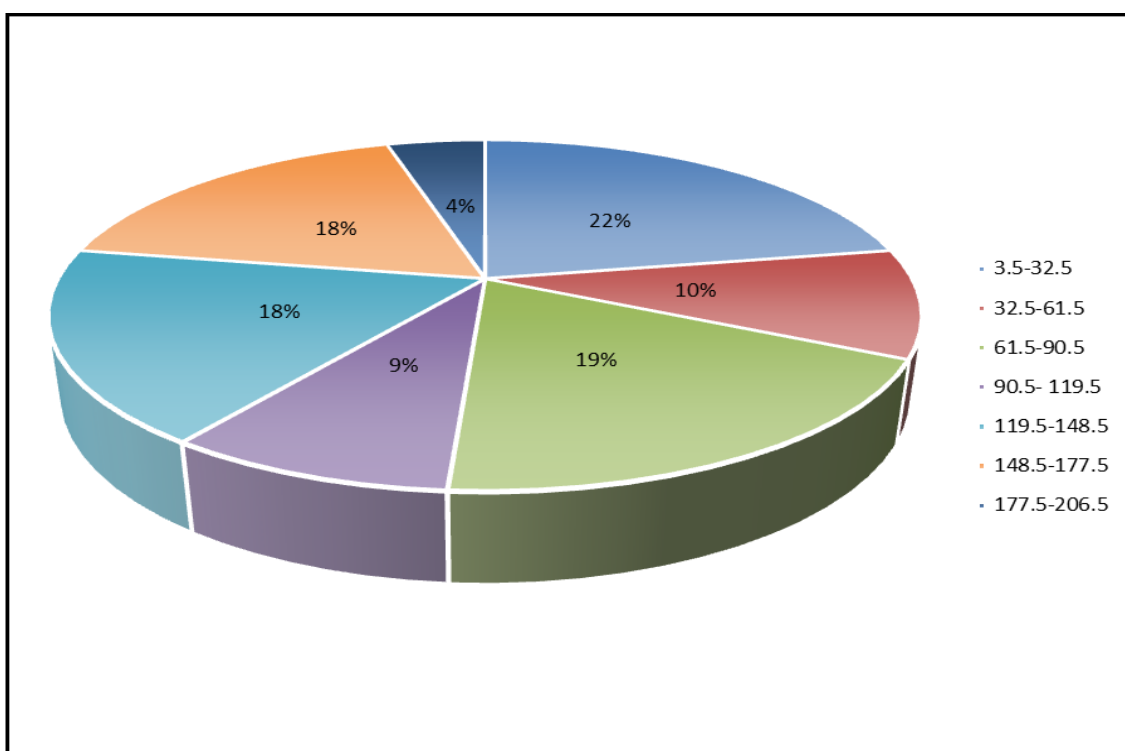


De acuerdo con los datos obtenidos se puede establecer que el 39% de la población de perros positivos a *Ehrlichia canis* son hembras y el 61% de la población restante son machos.

Cuadro N° 4: Edades (en meses) de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Edades (meses)	Cantidad	%
3.5-32.5	20	22%
32.5-61.5	9	10%
61.5-90.5	17	19%
90.5- 119.5	8	9%
119.5-148.5	16	18%
148.5-177.5	16	18%
177.5-206.5	4	4%
Total	90	100%

Gráfico N° 02: Edades (en meses) de perros positivos a *E. canis*, provenientes del centro veterinario “Happy Pet”, del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.



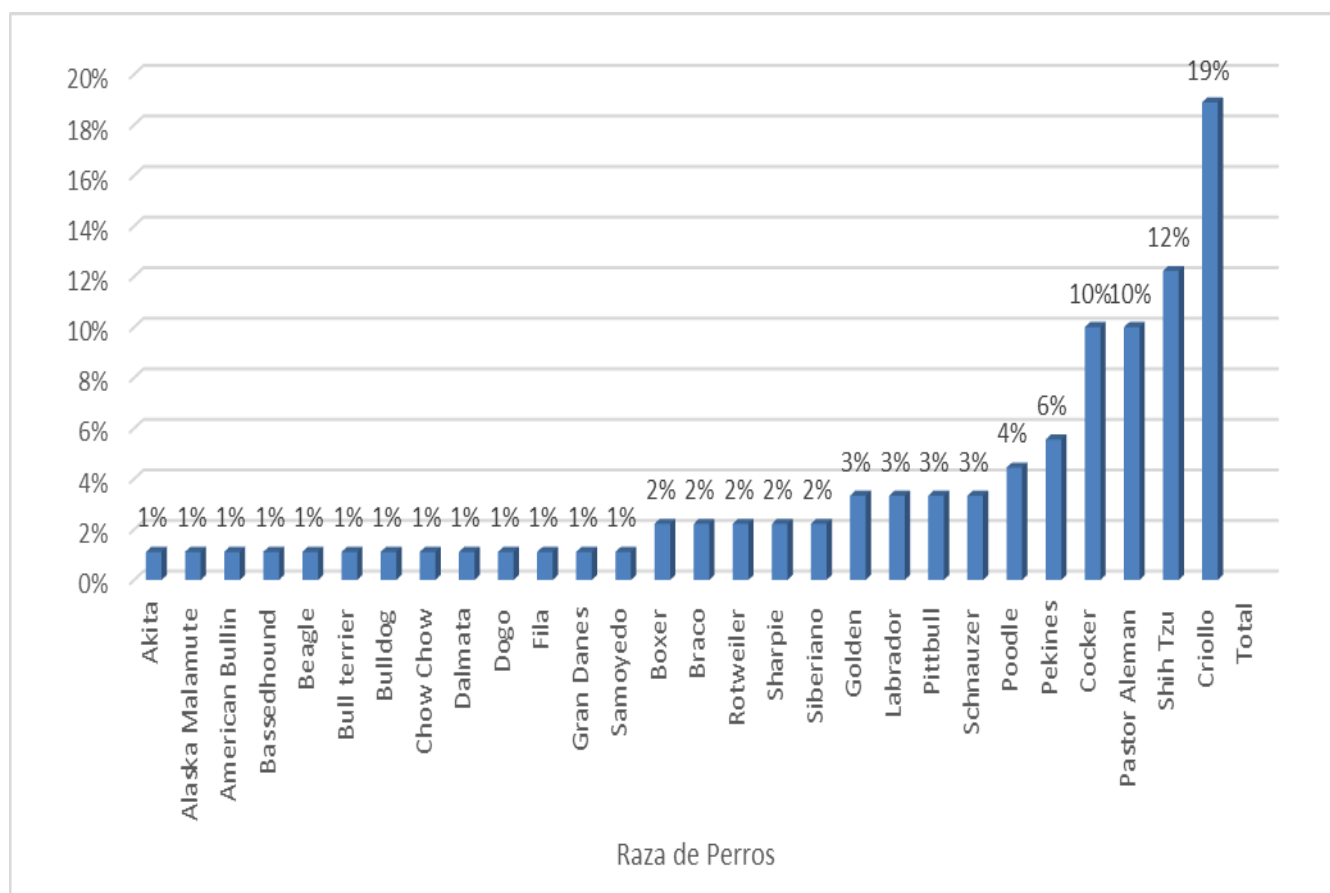
De acuerdo con los datos obtenidos se puede establecer que las edades de la población estudiada de los canes positivos a *E. canis*; el 22% está comprendido

entre las edades de 6 meses y 2 años, el 19% comprende entre las edades de 4 años a 7 años, el 18 % entre las edades de 9 años a 14 años, el 10% está comprendido entre las edades de 2 años a 4 años, el 9% comprende entre las edades de 8 años a 9 años y el 4% comprende entre las edades de 15 años a 17 años.

Cuadro N°5: Diferentes razas de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

RAZA	CANTIDAD	%
Akita	1	1%
Alaska Malamute	1	1%
American Bullin	1	1%
Bassedhound	1	1%
Beagle	1	1%
Bull terrier	1	1%
Bulldog	1	1%
Chow Chow	1	1%
Dalmata	1	1%
Dogo	1	1%
Fila	1	1%
Gran Danes	1	1%
Samoyedo	1	1%
Boxer	2	2%
Braco	2	2%
Rotweiler	2	2%
Sharpie	2	2%
Siberiano	2	2%
Golden	3	3%
Labrador	3	3%
Pittbull	3	3%
Schnauzer	3	3%
Poodle	4	4%
Pekines	5	6%
Cocker	9	10%
Pastor Aleman	9	10%
Shih Tzu	11	12%
Criollo	17	19%
Total	90	100.0%

Gráfico N° 03: Clasificación de perros positivos a *E. canis*, según su raza, provenientes del centro veterinario “Happy Pet”, del distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

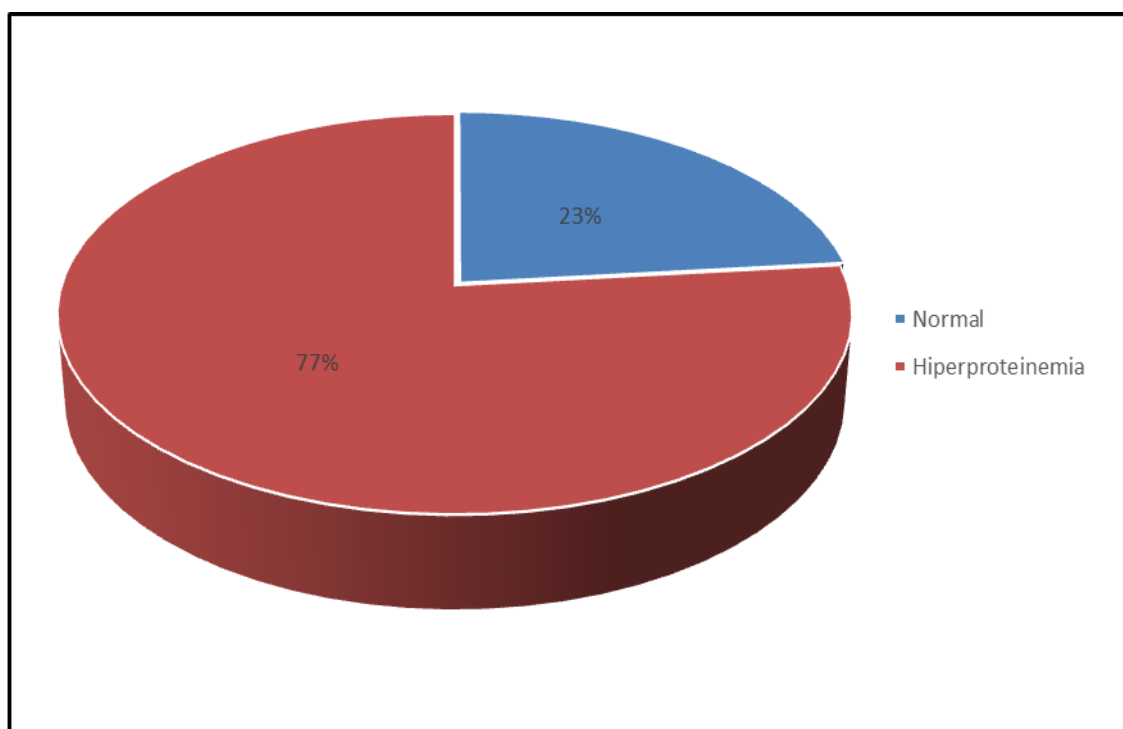


De acuerdo a los datos obtenidos se puede establecer que las razas Akita, Alaska Malamute, American Bullin, Bassedhound, Beagle, Bull Terrier, Bulldog, Chow Chow, Dalmata, Dogo de Burdeos, Fila Brasileiro, Gran Danes y Samoyedo representan el 1% de la población estudiada de canes positivos a *E. canis*, mientras las razas Boxer, Braco, Rootweiler, Sharpie y Siberiano respresntan el 2% de la población de muestreo, las razas Golden Retriever, Labrador, Pitbull y Schnauzer representan el 3% de la población estudiada, el 4% es representada por la raza Poodle de la población de muestreo, mientras tanto el 6% es respresentado por la raza Pekines, el 10% es representada por las razas Coocker y Pastor Alemán, el 12% por la raza Shih Tzu y el 19% por la raza criolla.

Cuadro N° 6: Tipos de alteraciones de proteínas plasmáticas de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Proteínas plasmáticas	n1	%
Hipoproteinemia	0	0%
Normal	21	23%
Hiperproteinemia	69	77%
Total	90	100%

Gráfico N° 04: Alteración de proteínas plasmáticas de canes positivos a *E. canis*

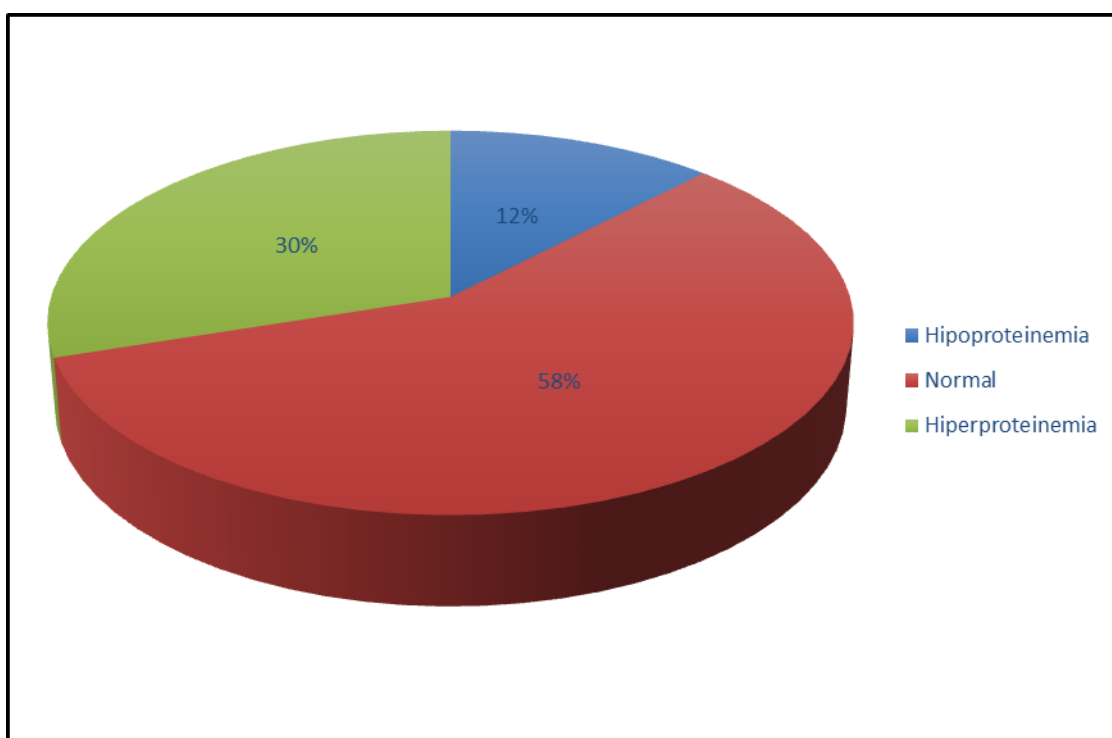


De acuerdo a los datos obtenidos se puede establecer que la población en estudio de perros positivos a *E. canis*, el 77% de ellos presentan una hiperproteinemia y el 23% restante, se encuentran en el rango de sus valores normales.

Cuadro N° 7: Tipos de alteraciones de proteínas totales de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Proteínas totales	n1	%
Hipoproteinemia	11	12%
Normal	52	58%
Hiperproteinemia	27	30%
Total	90	100%

Gráfico N° 05: Alteración de proteínas totales de canes positivos a *E. canis*.

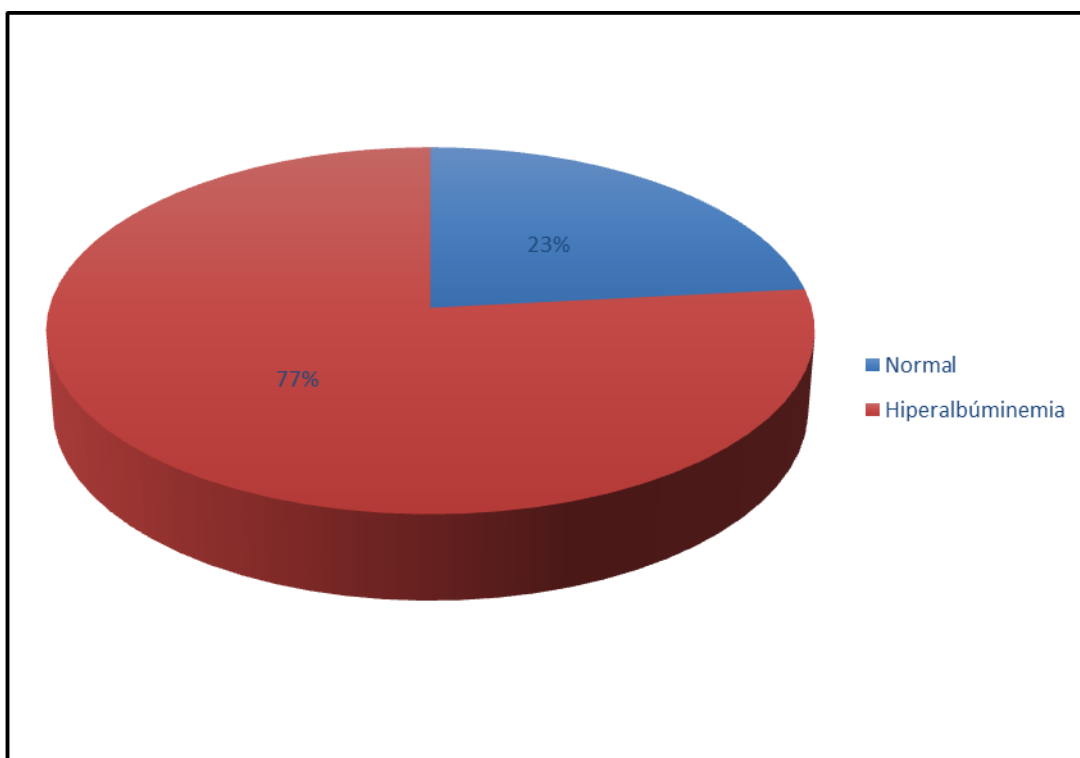


De acuerdo a los datos obtenidos se puede describir que el 58% de la población en estudio está en el rango de los valores normales, el 12% presenta hipoproteinemia y el 30% de ellos presenta hiperproteinemia.

Cuadro N° 8: Tipos de alteraciones de albúminas de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Albúmina	n1	%
Hipoalbuminemia	0	0%
Normal	21	23%
Hiperalbuminemia	69	77%
Total	90	100%

Gráfico N° 06: Alteración de la albúmina de canes positivos a *E. canis*.

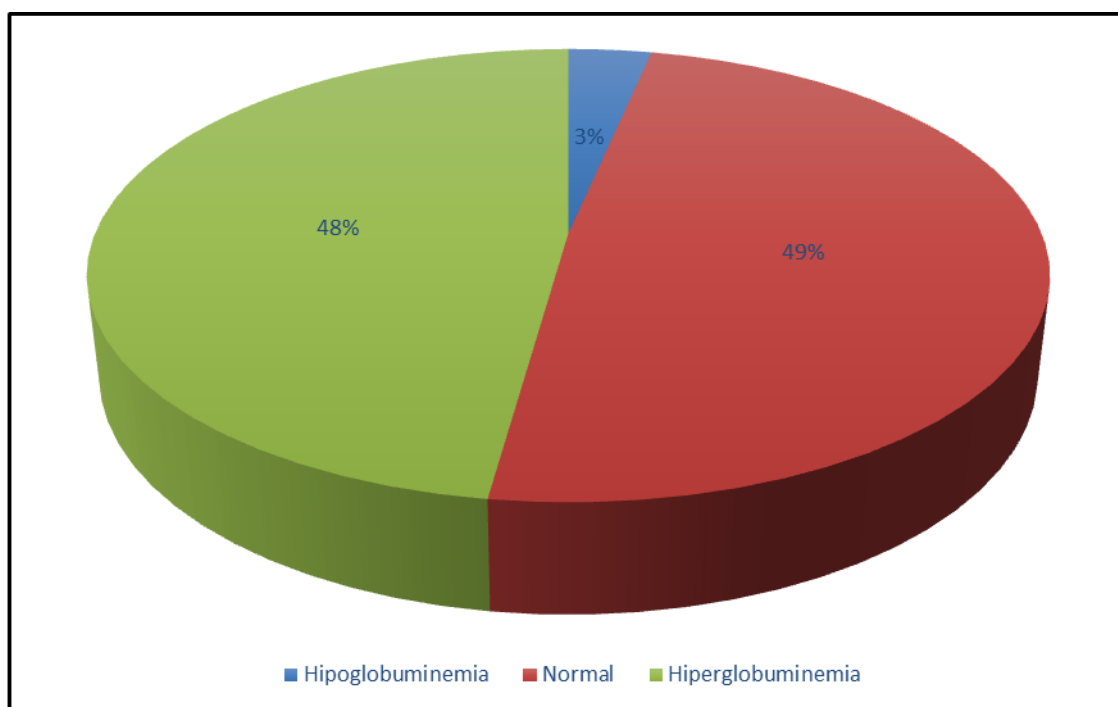


De acuerdo a los datos obtenidos se puede describir que el 23% de la población en estudio está en el rango de los valores normales, el 77% presenta hipoalbuminemia.

Cuadro N° 9: Tipos de alteraciones de globúlinas de canes positivos a *Ehrlichia canis*, del centro veterinario “Happy Pet”, Distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque.

Globulina	n1	%
Hipoglobulinemia	3	3%
Normal	44	49%
Hiperglobulinemia	43	48%
Total	90	100%

Gráfico N° 07: Alteración de la globúmina de canes positivos a *E. canis*.



De acuerdo a los datos obtenidos se puede describir que el 49% de la población en estudio está en el rango de los valores normales, el 3% presenta hipoglobulinemia y el 48% de ellos presenta hiperglobulinemia.

CONCLUSIONES

Tras analizar y discutir los resultados en este trabajo de investigación, nos permitimos concluir lo siguiente:

1. El valor promedio para proteína plasmática es 8.557777778 mg/dl., y con un intervalo de confianza de 8.547593577 mg/dl. a 8.567961979 mg/dl. ($\alpha = 0.95$).
2. El valor promedio para proteína total es 6.675444444 mg/dl., y con un intervalo de confianza de 6.664196326 mg/dl. a 6.686692563 mg/dl., ($\alpha = 0.95$).
3. El valor promedio para albúminas es 1.869222222 mg/dl, y con un intervalo de confianza de 1.86614357 mg/dl. a 1.87230087 mg/dl., ($\alpha = 0.95$).
4. El valor promedio para globulinas es 4.833333333 mg/dl., y con un intervalo de confianza de 4.82187296 mg/dl. a 4.8447937 mg/dl., ($\alpha = 0.95$).
5. El valor promedio de ALB/GLO es 0.434111111 y con un intervalo de confianza de 0.43289018 a 0.43533204. ($\alpha = 0.95$).
6. Existe una correlación baja entre las proteínas plasmáticas y las proteínas totales; $r = 0.404303709$. ($\alpha = 0.5$).
7. No existe correlación entre globulinas y albuminas; $r = 0.043080054$. ($\alpha = 0.5$).
8. La hipoalbuminemia no es un indicador determinante de la enfermedad Ehrlichia canis, ya que puede variar de acuerdo en la etapa que se encuentra el animal, al momento de presentar dicha enfermedad.

RECOMENDACIONES

- ✓ Seguir con las investigaciones en el diagnóstico del ehrlichiosis canina en las diferentes fases de su desarrollo de la enfermedad.
- ✓ Complementar los estudios de las pruebas bioquímicas, con niveles de urea, colesterol, creatinina, glucosa, bilirrubina, fosfatasa alcalina y enzimas.

BIBLIOGRAFIA

- Alcaíno, H et al. 1990. Archivos de Medicina Veterinaria, XXII No. 2: Ecología del *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) en la Región Metropolitana de Chile (Chile) 159 – 168.
- Angulo C.J y Rodríguez V.L, 2005. Diagnóstico situacioanl de cuatro hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Facultad de Ciencia Animal, Departamento de Medicina Veterinaria. Managua. 21 – 22.
- Arraga-Alvarado C. 1992. Ehrlichiosis canina en Maracaibo, Estado Zulia-Venezuela: reporte de 55 casos. Rev Cient Universidad de Zulia, 2 (Suppl. 2): 41-52.
- Adrianzén J, Chávez A, Casas E, Li O. 2003. Seroprevalencia de la Dirofilariosis y Ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. RIVEP. 14: 43-48.
- Barrios Arpi L. 2010. Evidencia hematológica y serológica de Ehrlichia spp. en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de ehrlichiosis en Lima Metropolitana. Tesis para optar el título de Médico Veterinario/ Facultad de Medicina Veterinaria. UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN MARCOS. Perú. 136.
- Bermeo, J. 2003. Incidencia de Ehrlichia en caninos del sector norte de la ciudad de Guayaquil. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad Agraria del Ecuador. Guayaquil. Ecuador. 5-6.
- Bockino, L.; P.M. Krimer; K.S. Latimer y P.J. Bain. 2003. Canine monocytic ehrlichiosis (Ehrlichia canis) an overview of canine ehrlichiosis. Disponible: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Bockino/index.htm>.
- Bourdeau, P. 2002. Acaricides: Topical or systemic. 18th ESVD-ECVD Annual Congress; Nice, France. 109-115.
- Breininger, E. y Pintos, L., 2007. Proteínas séricas y patologías asociadas a disproteinemia.
- Breitschwerdt, E.B.; Woody, B.J.; Zerbe, C.A.; De Buysscher, E.V., and Barta, O. 1987. Monoclonal gammopathy associated with naturally occurring canine ehrlichiosis. J Vet Intern Med. 1(1):2-9.
- Breitschewerdt, E.B. 2003; Canine and feline ehrlichiosis: new developments. 19th Annual Congress of the ESVDECVD. Tenerife, Spain. 66-71.
- Buhles, Jr.W.C.; Huxsoll, D.L., and Hildebrandt, P.K. 1974; Tropical canine pancytopenia: Role of aplastic anaemia in the pathogenesis of severe disease. J Comp Path. 85:85: 511-21.

- Caspi D., Snel F W.J.J., Batt Bennet D., Rutteman G.R., Hartman E.G., Baltz M.L., Gruys E., Pepys M.B. 1987. C reactive protein in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 48: 919- 921.
- Carter GB, Seaner I, Snape T. 1971. Diagnosis of tropical canine pancytopenia (*Ehrlichia canis infection*) by immunofluorescence. *Research in Veterinary Science* 12 (3): 18-322.
- Chang WL, Pang MJ. 1996. Specific Amplification of *Ehrlichia platys* DNA from Blood Specimens by TWO- Step PCR *J. Clin Microbiol* 34(12): 3142-3146.
- Chavera, A.; Viera, F. y Samamé, H. 1982. Ehrlichiosis Canina en el Perú. *Anales del VII Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias*, Ica – Perú.
- Chávez C.C., 2014. *Ehrlichia canis* en caninos y el tratamiento con doxiciclina. Tesina para optar el título de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 99.
- Codner, E.C.; Roberts, R.E., and Ainsworth, A.G. 1985; Atypical findings in 16 cases of canine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc.* 186(2):166-169.
- Codner, E.C. and Farris-Smith, L.L. 1986. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. *J Am Vet Med Ass.* 189:47-50.
- Cohn, L.A. 2003. "Ehrlichiosis and related infections", *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* Vol. 33, N°. 4, 863-84.
- Contreras AM. 2006. Estudio retrospectivo de caso control de ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos: periodo 2002-2005. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 45.
- Dagnome AS, Morais HAS, Vidotto O. 2001. Erliquiose nos animais e no homén. *Sem Cienc Agrar.* 2: 191-209.
- Dagnome A, Austran de Morais HS, Vidotto MC, Jojima FS, Vidotto O. 2003 Ehrlichiosis in anemia, thrombocitopenic, or tick infested dogs from a hospital population in Sourh Brazil. *Vet Parasitol* 117: 285-290.
- De Morais H, Hoskins J, Pereira N, Labarthe N. 2004. Guidelines for diagnosis and management of dog infected wirh *Ehrlichia spp.* *Clínica Veterinaria* 48: 28-30.
- Dumler J.S; Dawson JE; Walker DH. 1993. Human ehrlichiosis: hematopathology and inmunohistologic detection of *Ehrlichia chaffeensis*. *J Clin Microbiol* 38: 448-449.
- 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 familia *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of

some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology; 51:2145-2165.

- Estrada-Peña, A. and Ascher, F. 1999; Comparison of an amitraz-impregnated collar with topical administration of fipronil for prevention of experimental and natural infestations by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). JAVMA. 214:1799-1803.
- Ettinger, F. 1992. Tratado de medicina interna veterinaria. 3a ed. Ed Interamericana. 297-299.
- Ewing SA, Buckner RG. 1965. Manifestation of babesiosis, ehrlichiosis and combined infections in the dog. Am J Vet Res 26: 815 - 828.
- Ewing, S.A. Canine ehrlichiosis. Adv Vet Sci Comp Med. 1969; 13:331-353.
- Fisher, M; McGarry, J. 2006. "Fundamentos de Parasitología en Animales de Compañía". Alemania. Intermedica S.A. 137.
- Frank, J.R. and Breitschwerdt, E.B. 1999. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. J Vet Int Med. 13(3):194-201.
- Garrity, G.M.; Winters, M., and Searles, D.B. April. 2001. Taxonomic outline of the procaryotic genera. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition; 6.
- Greene, C.E. and Harvey, J.W. 1984; Canine ehrlichiosis. En: Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat. C.E. Greene (Ed). W.B. Saunders. Philadelphia. 704-709.
- Greene RT. 2000. Ehrlichiosis canina: Implicaciones clínicas de factores humorales. En Kirk ed. Terapéutica Veterinaria de pequeños animales. 12va Ed. México: Mc Graw-Hill. 317-320.
- Harrus, S.; Waner, T.; Avidar, Y.; Bogin, E.; Peh, H., and Bark, H. 1996a .Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. Vet Parasitol. 66(3-4):241-249.
- Harrus, S.; T. Waner; H. Bark; F. Jongejan; A.W.C.A. Cornelissen. 1999. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 37 (9): 2745-2749.
- Hibler, S.C.; Hoskins, J.D., and Greene, C. E. 1986. Rickettsial infections in dogs: part II. Ehrlichiosis and infections cyclic thrombocytopenia. Compend Contin Educ Pract Vet. 106-114.

- Hoskins, J. D.; Barta, O., and Rothschmitt, J. 1983. Serum hyperviscosity syndrome associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. J Am Vet Med Assoc. 183(9):1011-1012.
- Hoyos S. L. A. 2005. Evaluación del examen hematológico y la técnica indirecta de Elisa en el diagnóstico clínico-laboratorial de Ehrlichiosis canina. Tesis para optar el título de Médico Veterinario/ Facultad de Medicina Veterinaria. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. Perú. 110.
- Huxsoll, D.L.; 1970; Hildebrandt, P.K.; Nims, R.M., and Walker, J.S. Tropical canine pancytopenia. J Am Vet Med Ass.; 157:1627-1632.
- Iglesias I., 2006. Análisis de sangre II: Perfil bioquímico. Amor de Mascota.
- Jain N.C. 1989. Acute phase proteins. En: Current Veterinary Therapy X: Small animal practice. Eds. Kirk R.W., Bonagura J.D. Saunders. Philadelphia. 468-471.
- Johnson, E.M., Ewing, S.A., Barker, R.W., Fox, J.C., Crow, D.W. & Kocan, K.M. 1998. "Experimental transmission of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) by *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae)", *Veterinary parasitology*, vol. 74, N°. 2-4, 277-288.
- Kaneko, J.; Harvey, J.; Bruss, M. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5th. Edit. New York: Academic Press. 1-20.
- Kakoma, I.; Carson, C.A.; Ristic, M.; Huxsoll, D.L.; Stephenson, E.H., and Nyindo, M.B.A. 1977; Autologous Lymphocyte-Mediated Cytotoxicity Against Monocytes in Canine Ehrlichiosis. Am J Vet Res. 38(10):1557-1559.
- López, J.; A. Castillo; M. Muñoz; S. Hildebrandt. 1999. Hallazgo de *Ehrlichia canis* en Chile, Informe preliminar. Arch. Med. Vet. 31(2): 211-214.
- López J, Rivera M, Concha JC, Gatica S, Loeffholz M, Barriga O. 2003. Ehrlichiosis humana en Chile, evidencia serológica. Rev Med Chile 131: 67-70.
- Lorente M. C. 2004. Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la "Ehrlichiosis canina": evolución tras la administración de "dipropionato de imidocarb". Memoria para optar al grado de Doctor/ Facultad de Medicina Veterinaria. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Madrid. 324.
- Marín, H, J; Montañó H. J. A. y Dominguez, o. J. A. 1998 Diplomado a Distancia en Medicina Cirugía y Zootécnica de Perros y Gatos Módulo. Enfermedades Infecciosas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 298 – 304.
- Martin, G.S.; Christman, B.W., and Standaert, S.M. 1999. Rapidly fatal infection with *Ehrlichia chaffeensis*. N Engl J Med. 341:763-764.

- Matjila PT, Leisewitz AL, Jongejan F, Penzhorn BL. 2008. Molecular detection of tickborne protozoal and ehrlichial infections in domestic dog in South Africa. *Vet Parasitol* (1-2): 152-157.
- Meinkoth JH, Ewing SA, Cowell RL, Dawson JE, Warner CK, Mathew JS, Bowles M, Thiessen AE, Panciera RJ, Fox C. 1998. Morphologic and molecular evidence of a dual species Ehrlichial infection in a dog presenting with inflammatory central nervous system disease. *J Vet Intern Med* 12(5): 389-393.
- Moshkovski, S.D. 1945. Cytotropic inducers of infection and the classification of the *Rickettsiae* with *Clamidozoa*. *Adv Mod Biol (Moscow)*. 19:1-44.
- Neer, T.M.; Eddlestone, S.M.; Gaunt, S.D., and Corstvet, R.E.; 1999; Efficacy of enrofloxacin for the treatment of experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *J Vet Intern Med*. 13(5):501-504.
- Neer TM. 2000. Ehrlichiosis monocítica y granulocítica canina. En C.E Greene ed. *Enfermedades infecciosas en perros y gatos*. México. Mc Graw- Hill. P153-163.
- Nyindo M, Huxsoll DL, Ristie M, Kakoma I, Brown JL, Canon CA, Stepitenson E.H, 1980. Ceil-mediated and humoral immune responses of German Shtpherd dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*, *Am J Vet Res* 41: 250-254.
- Ogunkoya, A.B.; Adeyanju, J.B., and Aliu, Y.O. 1981; Experiences with the use of Imizol in treating canine blood parasites in Nigeria. *J Small Anim Pract*. 22(12):775-777.
- Olano, J.P., W. Gary, H. Feng, J. W. McBride and D.H. Walker. 2004. Histologic. Serologic and Molecular Analysis of Persistent Ehrlichiosis in a Murine Model *American Journal of Pathology*. 165:997-1006.
- Oliva Guzmán J., 2015. "Determinacion de ehrlichiosis canina en la ciudad de chicalayo, mediante diagnóstico clínico y hematológico directo durante enero – octubre 2014". Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Facultad De Medicina Veterinaria. UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO. Perú. 90.
- Paddock CD y Childs JE. 2003. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. *Clin Microbiol Rev* 16: 37-64.
- Pantanowitz, L. 2003. Mechanisms of thrombocytopenia in tick-borne diseases. *The internet journal of infectious diseases*. 2(2).
- Paulino A., 2011. "Detección serológica de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* y *Ehrlichia chaffeensis* en humanos que realizan actividades veterinarias en Lima Metropolitana. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Facultad de

Medicina Veterinaria. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. Perú. 72.

- Price, J.E.; Sayer, P.D., and Dolan, T.T. 1987; Improved clinical approach to the diagnosis of canine ehrlichiosis. *Tropical Animal Health and Production in Africa*. 19:1-8.
- Reardon, M.J. and Pierce, K.R. 1981. Acute experimental canine ehrlichiosis. *Vet. Pathol.* 18:48-61.
- Rikihisa, Y. 1991. The tribe *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases. *Clin Microbiol Rev.*; 4:286-308.
- 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.
- Ristic, M. and Huxsoll, D.L. 1984. Tribe II. *Ehrlichieae* Philip 1957, 948AL. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Edited by N.R. Krieg y J.G. Holt. Baltimore: Williams y Wilkins. Vol 1, 704-711.
- Rojas, E. 2001. (a) Las garrapatas IV (en línea). Consultado 19 feb. 2014. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/merial/Garrapatasiv>. Pdf.
- Sainz, A. 1996. Aspectos clínicos y epizootológicos de la ehrlichiosis canina. Estudio comparado de la eficacia terapéutica de la doxiciclina y el dipropionato de imidocarb. Tesis Doctoral. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Madrid.
- Sainz, A.; Delgado, S.; Amusatogui, I.; Tesouro, M.A., and Cármenes, P. 1996; Seroprevalence of canine ehrlichiosis in Castilla-León (NW Spain). *Preventive Veterinary Medicine*. 29:1-7.
- Sainz, A.; Amusatogui, I.; Rodríguez, F. y Tesouro, M.A. 2000. Las ehrlichiosis en el perro: presente y futuro. *Profesión veterinaria*. 12 (47): 22-8.
- San Miguel CS. 2006. Prevalencia de *Ehrlichia canis* en caninos de la Provincia de Sullana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Alas Peruanas. 51.
- Silverstein, A.M. 1998. On the naming of *Rickettsiae* after Paul Ehrlich. *Bull Hist Med*. 72:731-733.
- Sumner, J.W.; Nicholson, W.L., and Massung, R.F. 1997. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the *groESL* heat shock operon of *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol.*; 35:2087-2092.
- Tesouro Diaz MA y Sainz Rodriguez A. 2000. Naucni skup "Unapredjenje zdravstvene zastite zivotinja i proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla i hrane za zivotinje". Novi Sad (Yugoslavia).
- Tizard IR. *Inmunología Veterinaria*. MacGraw - Hill. 6 ed. México. 2002. 515p.

- 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.
- Waddle, J.R. and Littman, M.P. 1988; A retrospective study of 27 cases of naturally occurring canine ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 24:615-620.
- Waner, T.; Harrus, S.; Weiss, D.J.; Bark, H., and Keysary, A. 1995; Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. Vet Immunol Immunopathol. 48(1-2):177-182.
- Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, Keysary A. 1997. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. Vet Parasitol 69: 307-317.
- Waner, T.; Harrus S. 2000. Canine Monocytic Ehrlichiosis. Disponible: http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_carmichael/waner/chapter_rm.asp.
- Weisiger, R.M.; Ristic, M., and Huxsoll, D.L. 1975. Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* assayed by indirect fluorescent antibody method. Am J Vet Res.; 36(5):689-694.
- Weiser, M.G.; Thrall, M.A., and Fulton, R. 1991. Granular lymphocytosis and hyperproteinemia in dogs with chronic ehrlichiosis. J Am Anim Hosp Assoc. 27:84-88.
- Wong, S.J. and Thomas, J.A. 1998; Cytoplasmatic, Nuclear and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients. J Clin Microbiol. 1959-1963.
- Woody, B.J and Hoskins, J.D. 1991. Ehrlichial diseases of dogs. Vet Clin North Am. Small Anim Pract. 21(1):75-98.
- Zaldívar JE. 2009. Patologías del perro y del gato. Clínica Veterinaria Colores-AVATMA.
- Zhang, Y.; Ohashi, N.; Lee, E.H.; Tamura, A., and Rikihisa, Y. 1997. *Ehrlichia sennetsu* groE operon and antigenic properties of the GroEL homolog. FEMS Immunol Med Microbiol; 18:39-46.

VIII. ANEXOS

Valores bioquímicos de proteína plasmática y proteínas totales de perros positivos a Ehrlichia canis en el distrito de Chiclayo (agosto 2015 – febrero 2016).

Nombre	Sexo	Edad	Raza	Proteína Plasmática	Proteína Total
Tigre	Macho	2 años	Fila Brasileiro	6	5.21
Shazan	Macho	2 años	Boxer	6.1	5.31
Rony	Macho	6 años	Pastor Aleman	6.1	4.86
Mateo	Macho	2 años	Criollo	6.2	8.14
Kety	Hembra	2 años	Pastor Alemán	6.2	6.35
Puppy	Macho	2 años	Shih Tzu	6.4	4.81
Draco	Macho	4 meses y medio	Braco	7	5.81
Golfo	Macho	5 años	Cocker Americano	7	7.63
Leydi	Hembra	10 años	Criollo	7	5.19
Lola	Hembra	4 años	Criollo	7	6.25
Luna	Hembra	6 años	Gran Danes	7	5.52
Flip	Macho	1 año	Pastor Aleman	7	4.79
Chipi	Macho	9 años	Poodle	7	5.44
Simus	Macho	1 año 1 mes	Criollo	7.1	6.13
Ringo	Macho	4 años 6 meses	Cruce de Golden	7.1	7.08
Pangui	Macho	7 años	Golden Retriever	7.1	4.43
Brutus	Macho	9 meses	Pastor Aleman	7.1	6.2
Chano	Macho	7 años	Sharpie	7.1	5.3
Zeus	Macho	6 años	Akita	7.2	5.98
Mia	Hembra	1 año 3 meses	Bulldog	7.3	6.11
Chacha	Hembra	11 años	Shih Tzu	7.4	5.16
Bebe	Macho	10 años	Criollo	7.6	6.63
Pandora	Hembra	1 año 10 meses	Pastor Alemán	7.6	6.5
Pelusa	Hembra	11 años	Chow Chow	7.7	6.25
Moly	Hembra	9 meses	Bull Terrier	7.8	5.47
SN	Macho	1 año y medio	Pastor Alemán	7.8	5.2
Wilson	Macho	6 años	Pekines	7.8	8.45
Arnold	Macho	13 años	Shih Tzu	7.9	5.2
Toffe	Macho	2 años	Shih Tzu	7.9	6.23
Princesa	Hembra	9 años	Shih Tzu	7.9	6.77
Valentina	Hembra	9 años	Braco	8	6.17
Mayte	Hembra	4 años	Cocker	8	5.59
Kiro	Macho	10 años	Cocker	8	7.88
Kiro	Macho	10 años	Cocker	8	7.94
Canela	Hembra	5 años	Cocker Spaick	8	4.46
Tony	Macho	6 meses	Criollo	8	6.08
Gitano	Macho	11 años	Criollo	8	7.27
Boby	Macho	6 años	Dalmata	8	8.44

Kinder	Macho	10 años	Pekines	8	7.95
Refugiado	Macho	7 meses	Pitbull	8	5.71
Africa	Hembra	5 años	Schnauzer	8	4.95
Cindy	Hembra	15 años	Schnauzer	8	5.09
Mota	Hembra	13 años	Shih Tzu	8	7
Scot	Macho	1 año 6 meses	Shih Tzu	8	7.62
Bomnom	Macho	5 años	Shih Tzu	8	8.45
Yaco	Macho	8 años	Pastor Aleman	8	7.67
Gorda	Hembra	6 años	Pitbull	8.1	8.66
Tuqui	Macho	9 años	Pekines	8.3	8.14
Mel	Macho	12 años	Bassedhound	8.4	7.45
Principe	Macho	13 años	Pekines	8.5	5.37
Scooby	Macho	11 años y medio	Poodle	8.6	5.71
Layesca	Hembra	14 años	Siberiano	8.7	5.35
Malu	Hembra	12 años	Boxer con Doberman	8.8	7.64
Estrella	Hembra	13 años	Pekines	8.8	7.72
Mona	Hembra	4 años	Criollo	8.9	4.59
Kiara	Hembra	13 años	Alaska Malamute	9	7.57
Argos	Macho	4 años	Beagle	9	5.9
Pinky	Macho	14 años	Cocker	9	5.91
Ladrillerita	Hembra	2 años	Criollo	9	4.46
Barbara	Hembra	10 años	Criollo	9	5.51
Negro	Macho	3 años	Criollo	9	5.81
Kaila	Hembra	6 años	Dogo de Burdeos	9	6.5
Balin	Macho	10 años	Pastor Alemán	9	11.35
Ayax	Hembra	15 años	Pitbull	9	7.26
Leo	Macho	15 años	Samoyedo	9	6.12
Lola	Hembra	9 años	Schnauzer	9	11.04
Coffy	Macho	12 años	Poodle	9	6.71
Jalisco	Macho	2 años	American Bullin	9.1	6.11
Mitzzy	Hembra	4 años 1 mes	Shih Tzu	9.1	5.6
Pelusa	Hembra	11 años	Criollo	9.3	6.81
Flaquis	Hembra	12 años	Criollo	9.6	7.65
Andromeda	Hembra	17 años	Sharpie	9.6	5.56
Rex	Macho	7 años	Pastor Aleman	9.8	5.53
Sombra	Hembra	12 años	Labrador	9.9	7.37
Fox	Macho	10 años	Siberiano	9.9	4.75
Scooby	Macho	11 años	Poodle	9.9	7.37
Candy	Hembra	12 años	Cocker	10	5.56
Candy	Hembra	12 años	Cocker	10	5.56
Braco	Macho	1 año	Rootweiler	10	9.91
Mamut	Macho	12 años	Golden Retriever	10.1	6.07
Lulu	Hembra	8 años	Shih Tzu	10.4	7.33
Peluchin	Macho	11 años	Criollo	11	8.17

Peluchin	Macho	11 años	Criollo	11	8.28
Muñeca	Hembra	6 años	Criollo	11	8.75
Mona	Hembra	11 meses	Shih Tzu	11	5.66
Nina	Hembra	8 años	Cocker	12	7.68
Blondy	Hembra	5 años 9 meses	Labrador	12	10.39
Blondy	Macho	5 años 9 meses	Labrador	12	10.39
Titan	Macho	3 años	Rootweiler	13	14.03
Aceituna	Hembra	14 años	Criollo	14	4.82
			PROMEDIO	8.557777778	6.675444444
			DESV. ESTANDAR	1.540755526	1.701714378
			INTERVALO	0.010184201	0.011248119
			LIMITE INFERIOR	8.547593577	6.664196326
			LIMITE SUPERIOR	8.567961979	6.686692563

Valores bioquímicos de albúmina, globulina y ALB/GLO de perros positivos a Ehrlichia canis en el distrito de Chiclayo (agosto 2015 – febrero 2016).

Nombre	Sexo	Edad	Albumina	Globulina	ALB/GLO
Tigre	Macho	2 años	1.72	3.49	0.49
Shazan	Macho	2 años	1.91	3.4	0.56
Rony	Macho	6 años	1.31	3.55	0.37
Mateo	Macho	2 años	1.81	6.14	0.29
Kety	Hembra	2 años	2.2	4.15	0.53
Puppy	Macho	2 años	1.93	2.88	0.67
Draco	Macho	4 meses y medio	1.9	3.91	0.48
Golfo	Macho	5 años	2.24	5.44	0.41
Leydi	Hembra	10 años	2.16	3.03	0.71
Lola	Hembra	4 años	2.29	3.96	0.58
Luna	Hembra	6 años	1.47	4.05	0.36
Flip	Macho	1 año	1.66	3.37	0.49
Chipi	Macho	9 años	1.66	3.78	0.44
Simus	Macho	1 año 1 mes	2.8	3.33	0.84
Ringo	Macho	4 años 6 meses	1.46	5.35	0.27
Pangui	Macho	7 años	2.18	2.5	0.97
Brutus	Macho	9 meses	2.4	3.8	0.63
Chano	Macho	7 años	1.47	3.83	0.38
Zeus	Macho	6 años	2.52	3.46	0.72
Mia	Hembra	1 año 3 meses	2.64	3.47	0.76
Chacha	Hembra	11 años	1.9	3.26	0.58
Bebe	Macho	10 años	1.78	4.72	0.38
Pandora	Hembra	1 año 10 meses	2.44	6	0.4
Pelusa	Hembra	11 años	1.97	4.28	0.46

Moly	Hembra	9 meses	2.23	3.24	0.69
SN	Macho	1 año y medio	1.54	3.66	0.42
Wilson	Macho	6 años	1.43	7.02	0.2
Arnold	Macho	13 años	1.25	3.95	0.32
Toffe	Macho	2 años	1.21	5.02	0.24
Princesa	Hembra	9 años	1.15	5.48	0.21
Valentina	Hembra	9 años	1.03	5.14	0.2
Mayte	Hembra	4 años	2.53	3.06	0.83
Kiro	Macho	10 años	1.54	6.13	0.25
Kiro	Macho	10 años	1.54	6.13	0.25
Canela	Hembra	5 años	1.78	2.68	0.66
Tony	Macho	6 meses	2.41	5.32	0.45
Gitano	Macho	11 años	1.56	5.44	0.29
Boby	Macho	6 años	1.88	6.29	0.3
Kinder	Macho	10 años	1.91	5.81	0.33
Refugiado	Macho	7 meses	2.24	3.47	0.65
Africa	Hembra	5 años	1.37	3.58	0.38
Cindy	Hembra	15 años	1.69	3.4	0.5
Mota	Hembra	13 años	1.85	4.92	0.38
Scot	Macho	1 año 6 meses	2.31	4.96	0.47
Bomnom	Macho	5 años	2.96	5.32	0.55
Yaco	Macho	8 años	1.19	6.26	0.19
Gorda	Hembra	6 años	2.18	6.48	0.33
Tuqui	Macho	9 años	1.69	6.19	0.27
Mel	Macho	12 años	3.12	4.52	0.69
Principe	Macho	13 años	2.15	3.22	0.67
Scooby	Macho	11 años y medio	1.76	3.95	0.45
Layesca	Hembra	14 años	1.55	3.8	0.4
Malu	Hembra	12 años	2.22	5.11	0.43
Estrella	Hembra	13 años	1.91	5.72	0.33
Mona	Hembra	4 años	1.11	3.48	0.32
Kiara	Hembra	13 años	2.03	5.23	0.39
Argos	Macho	4 años	1.6	4.3	0.37
Pinky	Macho	14 años	2.65	3.26	0.81
Ladrillerita	Hembra	2 años	1.26	3.2	0.39
Barbara	Hembra	10 años	1.57	3.94	0.4
Negro	Macho	3 años	1.27	4.54	0.28
Kaila	Hembra	6 años	1.88	6.57	0.28
Balin	Macho	10 años	2.32	9.03	0.26
Ayax	Hembra	15 años	1.75	6.19	0.28
Leo	Macho	15 años	2.15	3.97	0.54
Lola	Hembra	9 años	2.65	8.39	0.32
Coffy	Macho	12 años	2.6	3.9	0.67
Jalisco	Macho	2 años	2.27	3.84	0.59
Mitzy	Hembra	4 años 1 mes	2.56	3.04	0.84

Pelusa	Hembra	11 años	1.51	5.2	0.29
Flaquis	Hembra	12 años	1.56	6.01	0.25
Andromeda	Hembra	17 años	2.03	3.53	0.58
Rex	Macho	7 años	2.11	3.42	0.62
Sombra	Hembra	12 años	2.16	5.21	0.41
Fox	Macho	10 años	1.54	3.21	0.48
Scoby	Macho	11 años	2.45	4.63	0.53
Candy	Hembra	12 años	1.73	3.83	0.45
Candy	Hembra	12 años	1.73	3.83	0.45
Braco	Macho	1 año	2.05	7.86	0.26
Mamut	Macho	12 años	1.69	4.38	0.39
Lulu	Hembra	8 años	2.19	5.46	0.4
Peluchin	Macho	11 años	1.26	6.88	0.18
Peluchin	Macho	11 años	1.26	6.88	0.18
Muñeca	Hembra	6 años	1.77	6.98	0.25
Mona	Hembra	11 meses	1.89	3.77	0.5
Nina	Hembra	8 años	1.42	6.2	0.23
Blondy	Hembra	5 años 9 meses	1.32	9.07	0.15
Blondy	Macho	5 años 9 meses	1.32	9.07	0.15
Titan	Macho	3 años	1.22	12.81	0.09
Aceituna	Hembra	14 años	1.35	3.47	0.39
			1.869222222	4.833333333	0.434111111
			0.465765596	1.733825413	0.184712923
			0.003078652	0.011460369	0.001220929
			1.86614357	4.821872964	0.432890182
			1.872300874	4.844793702	0.43533204
			3.12	12.81	0.97
			1.03	2.5	0.09