

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



VARIACIONES HEMATOLÓGICAS POST TRATAMIENTO
ORAL CON DOXICICLINA Y DOXICICLINA AMOXICILINA,
EN *Canis familiaris* CON EHRlichiosis EN EL DISTRITO
DE TRUJILLO

TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

JOSÉ CARLOS MORÁN LOAYZA

TRUJILLO, PERÚ

2016

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:

.....
M.V. Mg. César Leopoldo Lombardi Pérez
PRESIDENTE

.....
M.V. Mg. Patricia Vilma Guerrero Díaz
SECRETARIA

.....
M.V. M.Sc. Juan Carlos Hernández Paredes
VOCAL

.....
M.V. M.Sc. José Luis Villena Suárez
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios Padre celestial y a la Santísima Virgen de Guadalupe por su infinita bondad y misericordia de mantenerme con vida hasta el día de hoy, para lograr mis objetivos, metas y sueños.

A mis padres, hermanos, primos y tíos por haberme apoyado en todo momento con sus consejos, valores y por permitir que este proyecto se realice, pero más que nada, por su amor y apoyo incondicional.

A mi asesor y amigo José Luis Villena Suarez, por su dedicación en la elaboración de esta tesis, confianza, respeto, cariño, por enseñarme a amar cada día mi carrera y a no dejar de estudiar nunca.

A todos los que conforman la familia del Centro Veterinario “Mi Mascota” por sus sabias enseñanzas, sus consejos y los valores presentes en todo momento.

AGRADECIMIENTO

A la facultad de Ciencias Agrarias, a la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a mis maestros de siempre y en especial a mi asesor Dr. José Luis Villena Suárez por su dedicación, confianza respeto y cariño en la elaboración de esta tesis.

A mis amigos: Elena, Fiorella, Shanti, Nilton, Ricardo, William, Diana, Alain, Oscar, Luis Alberto, Andrea, Israel, Alejandro, Walter, a todos ellos gracias por compartir gratos momentos tanto en esta linda profesión como en la vida.

A mí jurado, los doctores César L. Lombardi Pérez, Patricia Guerrero Díaz y Juan Carlos Hernández Paredes por su tiempo prestado, por la comprensión y por la ayuda en toda mi carrera y más aún en la realización de mi tesis.

A los Centros Veterinarios “Mi Mascota”, “San Martín”, “El Arca de Noé”, y “Pet Shop Hop” por apoyarme en la realización de esta investigación.

Por último agradecer especialmente a Ana Paula Valladares García y a todas y cada una de aquellas personas que sin esperar nada a cambio, compartieron momentos dichosos en esta vida y hacer posible este sueño.

ÍNDICE GENERAL

CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN DEL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ANEXOS.....	viii
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
2.1. Ehrlichiosis: historia y distribución geográfica.....	13
2.2. Enfermedades ehrlichiales en caninos.....	14
2.3. Generalidades de los agentes rickettsiales.....	14
2.4. Patogénesis de ehrlichiosis canina	15
2.5. Diagnóstico de ehrlichiosis.....	20
2.5.1. Diagnóstico clínico	21
2.6. Diagnóstico de laboratorio	22
2.7. Hematología.....	23
2.8. Pruebas inmunológicas.....	27
2.8.1. Inmunofluorescencia indirecta (IFI).....	27
2.8.2. Inmunoabsorbancia ligada a enzimas (ELISA)	28
2.9. Terapia antimicrobiana de ehrlichiosis canina.	30
2.9.1. Tetraciclinas y doxiciclina.....	32
2.9.2. Amoxicilina.....	37
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
3.1. Lugar de ejecución y duración del estudio.....	40
3.2. Materiales	40
3.2.1. Grupos experimentales	40
3.3. Metodología	40

3.3.1. Toma de muestra sanguínea.....	40
3.4. Desarrollo de la técnica de ELISA indirecta.....	41
3.5. Hemograma.....	42
3.6. Tratamiento farmacológico.....	42
3.7. Análisis de Datos.....	42
IV. RESULTADOS.....	43
4.1. Serie roja post tratamientos a los días 7, 14 y 21.....	43
4.2. Índices eritrocitarios evaluados post tratamientos a los días 0, 7, 14 y 21.....	45
4.3. Recuento plaquetarios evaluados post tratamientos a los días 0, 7, 14 y 21.....	46
4.4. Recuento leucocitario.....	47
V. DISCUSIÓN.....	51
VII. RECOMENDACIONES.....	56
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	57
ANEXOS.....	66

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Promedios de la serie roja de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina evaluados a los días 7, 14, 21.....	44
Cuadro 2.	Promedios de la serie roja de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina evaluados a los días 7, 14, 21.....	44
Cuadro 3.	Promedios de los índices eritrocíticos de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.	45
Cuadro 4.	Promedios de los índices eritrocíticos de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.	46
Cuadro 5.	Promedios del recuento plaquetario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.	47
Cuadro 6.	Promedios del recuento plaquetario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.	47
Cuadro 7.	Promedios del recuento leucocitario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.	48
Cuadro 8.	Promedios del recuento leucocitario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.	49
Cuadro 9.	Promedios del recuento leucocitario diferencial de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21... ..	50
Cuadro 10.	Promedios del recuento leucocitario diferencial de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.	50

ANEXOS

Anexo 1.	Ficha clínica.....	67
Anexo 2.	Hemograma.....	68
Anexo 3.	Signos clínicos en Canis familiaris en el día cero para los tratamientos Doxiciclina y Doxiciclina - Amoxicilina.....	69
Anexo 4.	Valores promedios absolutos de hemogramas del tratamiento Doxiciclina, a los días 0, 7, 14 y 21.....	69
Anexo 5.	Valores promedios absolutos de hemogramas del tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina, a los días 0, 7, 14 y 21.....	70
Anexo 6.	Canis familiaris según raza, sexo, edad y peso vivo tratados con Doxiciclina.....	71
Anexo 7.	Canis familiaris según raza, sexo, edad y peso vivo tratados con Doxiciclina - Amoxicilina.....	72
Anexo 8.	Tiempo post presencia de garrapatas según historia clínica.....	73
Anexo 9.	Principales alteraciones leucocitarias en tratamientos Doxiciclina y Doxiciclina - Amoxicilina al día cero.....	74
Anexo 10.	Principios de la técnica de ELISA para la detección de anticuerpos contra E. canis, mediante el Snap 4Dx®.....	75

RESUMEN

Se evaluaron 40 *Canis familiaris* de diferente edad, raza y sexo, con ehrlichiosis, diagnosticados mediante el test de ELISA, se consideraron dos grupos de 20 pacientes cada uno seleccionados al azar. Se evaluaron las variaciones hematológicas post tratamiento oral con Doxiciclina – Amoxicilina y Doxiciclina, en el distrito de Trujillo, Perú.

Todos los pacientes antes del tratamiento presentaron anemia normocítica – normocrómica la cual evolucionó favorablemente luego de ambos tratamientos antimicrobianos.

El tratamiento de ehrlichiosis canina con Doxiciclina – Amoxicilina mostró recuperación de los valores hematológicos en el día 7 post-tratamiento, mientras que utilizando Doxiciclina la recuperación ocurrió al día 14.

ABSTRACT

We evaluated 40 *Canis familiaris* of different age, breed and sex, with ehrlichiosis, diagnosed by the ELISA test, considered two groups of 20 patients each selected randomly. Hematological variations were evaluated post oral treatment with Doxycycline - Amoxicillin and Doxycycline, in the district of Trujillo, Peru.

All patients before treatment presented normocytic- normochromic anemia which evolved favorably after both antimicrobial treatments.

The treatment of canine ehrlichiosis with Doxycycline - Amoxicillin showed recovery of the hematological values on day 7 post- treatment, while using Doxycycline recovery occurred at day 14.

I. INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis canina es una infección bacteriana con prevalencia importante en condiciones de calor y humedad, presenta una incidencia importante en las regiones cálidas con alta humedad, condiciones que reúne toda la costa norte peruana. (Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007).

El agente etiológico, *Ehrlichia canis* (*E. canis*), bacteria gram negativa, intracelular obligada, productora de infecciones crónicas; es transmitida por la picadura de la garrapata parda del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Bride y otros, 2001; Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007).

Ehrlichiosis es una infección crónica que produce daños multisistémicos importantes, afecta al sistema hematopoyético, linfoide, hepático, renal, articular, ocular, razón por la cual es necesario para la terapéutica hacer uso de la polifarmacia antimicrobiana. Ehrlichiosis canina responde favorablemente al tratamiento con tetraciclinas, dentro de ellas a las glicilciclinas, siendo la doxiciclina la droga de elección como antimicrobiano por ofrecer mejores resultados, amplio espectro, aceptable farmacocinética y farmacodinamia, soportar ácidos gástricos y un tiempo de vida media de 24 horas (Sumano y Ocampo, 2006). La asociación doxiciclina más amoxicilina además de tratar *E. canis*, previene de infecciones secundarias por Gram positivas, logrando una recuperación pronta y eficaz en los pacientes.

El problema planteado para esta investigación fue que el tratamiento rutinario con doxiciclina para la ehrlichiosis en *Canis familiaris* no es suficiente debido a que la población bacteriana y las infecciones

multisistémicas en ehrlichiosis incluyen bacterias gram negativas y gram positivas oportunistas y secundarias.

En el presente trabajo se evaluaron las variaciones hematológicas y su efecto al tratamiento vía oral de doxiciclina y de la asociación doxiciclina – amoxicilina en caninos con ehrlichiosis.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Ehrlichiosis: historia y distribución geográfica

El primer agente ehrlichial fue observado en Argelia (Donatien y Lestoquard, 1935), quienes identificaron un microorganismo rickettsial en monocitos de caninos que cursaban con una enfermedad que ocasionaba pancitopenia severa, el cual fue denominado *Rickettsia canis* (Sainz y otros, 2000), para luego ser renombrado en 1945 como *E. canis*, en honor al bacteriólogo Paul Ehrlich (Dumler y otros, 2001, López y otros, 2003).

En los Estados Unidos fue reconocida por primera vez *E. canis* en 1962 y a finales de la década de los 60, se definió el rol patogénico significativo de esta especie, cuando se pudo establecer su participación etiológica en la enfermedad llamada pancitopenia tropical canina (Ettinger, 1992; Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007; Murphy y Papasouliotis, 2012).

Dentro de los huéspedes vertebrados infectados además del canino se incluyen al coyote, zorro y chacal a los que se consideran reservorios (Greene, 2007).

Ehrlichiosis es una enfermedad que no presenta ninguna afinidad por sexo, pero si se ha descrito mayor sensibilidad en edades medias y en la raza Pastor Alemán (Harrus, 1997).

2.2. Enfermedades ehrlichiales en caninos.

Inicialmente las especies ehrlichiales se dividían en tres clases, basándose en las "células blanco" que infectaban, teniendo especies monocíticas, granulocíticas y trombocíticas. Algunas de ellas pueden infectar más de un tipo celular (Neer, 2000).

Ehrlichiosis monocitotrópica canina (EMC) es causada por el organismo intracelular *E. canis*; que es una bacteria pequeña, pleomórfica, cocoide, gram negativa, intracelular obligada que infecta principalmente a monocitos y macrófagos formando grupos llamadas mórulas (Greene, 2007). Las mórulas intracelulares de *E. canis* se pueden observar en los leucocitos caninos especialmente en aquellos animales que presentan fiebre como signo clínico, además de trombocitopenia, leucopenia, anemia, linfadenopatía, esplenomegalia, pérdida de peso (Fermin, 2008, Harrus, Waner y Neer, 2007; Walker, 2009).

Las mórulas de ehrlichia presentan una forma redonda oval y una coloración eosinofílica a basófila. Las mórulas de *E. canis* se localizan en el citoplasma de los linfocitos y monocitos, pudiendo observarse en la fase aguda de la infección (Fermin, 2008).

2.3. Generalidades de los agentes rickettsiales.

Los microorganismos rickettsiales pertenecen al Reino *Proteobacteria*, clasificados como alfa-proteobacterias, gram negativas, grupo que incluye un gran número de agentes oligotrofos (capaces de crecer en niveles bajos de nutrientes). Dentro de este Reino se encuentran también los géneros *Escherichia*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* y *Vibrio* (Prescott y otros, 1999). Las rickettsias

que causan ehrlichiosis y anaplasmosis se clasifican como bacterias dentro del grupo α -proteobacteria, son organismos intracelulares obligados, utilizan oxígeno, y tienen enzimas metabólicas, son susceptibles a algunos medicamentos antibacterianos (Harrus, Waner y Neer, 2007).

El género ehrlichia, pertenecen bacterias intracelulares gram-negativas transmitidas por la garrapata, infectan principalmente a los leucocitos (monocitos, macrófagos, granulocitos) (Prescott y otros, 1999; Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007). La morfología de estos microorganismos presentan formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias gram negativas con ausencia de flagelos (Breitschwerdt, 2007), las formas cocoides se presentan aisladas, en pares, con un diámetro de 0.3 a 0.5 μm y una longitud de 0.8 a 2.0 μm (Prescott y otros, 1999).

2.4. Patogénesis de ehrlichiosis canina

La enfermedad posee un período de incubación de aproximadamente 8 a 20 días (Sainz y otros, 2000; Harrus, Waner y Neer, 2007), seguido por tres etapas consecutivas: aguda, subclínica y crónica. La fase aguda puede durar de 1 a 4 semanas. La mayoría de los perros se recuperan de la enfermedad aguda con tratamiento adecuado. Los perros no tratados inadecuadamente pueden recuperarse clínicamente pero luego pueden entrar en la fase subclínica, donde solo el recuento de plaquetas puede ser inferior a la normal. Los perros en esta fase pueden estar “clínicamente sanos” durante meses e incluso años (Neer, 2000; Harrus, Waner y Neer, 2007).

La infección del hospedero ocurre después que una garrapata ha ingerido sangre de un animal infectado, de esta forma las secreciones salivales de la garrapata contaminan el área de alimentación en el hospedero susceptible, ocasionando el pasaje del microorganismo vía mecánica. Además, el microorganismo también se transfiere por transfusiones sanguíneas de donadores infectados, siendo ésta última una vía muy poco frecuente (Neer, 2000). La infección de las garrapatas se transmite a las etapas posteriores, pero no en los huevos maternos de la siguiente generación. Las garrapatas adquieren *E. canis*, ya sea como larvas o ninfas al alimentarse de perros contaminados y transmiten la infección durante al menos 155 días a partir de entonces a los perros susceptibles (Harrus, Waner y Neer, 2007). Esta capacidad permite al patógeno pasar el invierno en la garrapata y, cuando sea la siguiente primavera permite que la garrapata pueda infectar y afectar a los perros susceptibles. La mayoría de los casos de ehrlichiosis se producen durante la temporada de verano, sin embargo, la enfermedad puede ocurrir durante todo el año como resultado del periodo subclínico prolongado en animales infectados crónicamente. Los perros que viven o viajan a regiones endémicas son candidatos para la enfermedad (Harrus, Waner y Neer, 2007).

Posterior al período de incubación, se observa la fase aguda, la cual tiene una duración de 2 a 4 semanas. En esta fase se multiplican los microorganismos en células mononucleares (macrófagos y linfocitos) por fisión binaria y se diseminan a la totalidad del cuerpo. Según Harrus, Waner y Neer (2007), se cree que Ehrlichia se propaga entre las células a través de la salida y absorción de proyecciones citoplasmáticas adyacentes; la replicación en el huésped tiene lugar en vacuolas unidas a la membrana aisladas y protegidas por el sistema inmune del huésped, lisosomas y reactivos intermediados por el oxígeno. La Ehrlichia puede ser liberada para infectar nuevas células, por ruptura de la membrana de

la célula huésped en una etapa posterior de la formación de mórula. Existe una replicación inicial, la misma que se da en leucocitos mononucleares circulantes, los que luego, colonizan los órganos conformados por células de tipo mononuclear, tales como el bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos donde provocan una hiperplasia con infiltración de células plasmáticas (Neer, 2000).

Los signos clínicos durante la fase aguda de la enfermedad variaran desde depresión, anorexia y fiebre a pérdida intensa de resistencia, pérdida de peso, secreciones oculares y nasales, disnea, linfadenopatías y edema de las extremidades y escroto. Los signos clínicos de la fase aguda son transitorios y generalmente se resuelven en 1 a 2 semanas sin tratamiento. Habitualmente aparecen trombocitopenia y leucopenia 10 a 20 días después de la infección (Breitschwerdt, 2007).

La fase subclínica se establece cuando el animal sobrevive a la fase aguda y se presenta de manera espontánea o por un tratamiento inefectivo. Se caracteriza por la persistencia del microorganismo y el alza en los títulos de anticuerpos. Tiene una duración promedio de 6 a 9 semanas pudiendo permanecer por varios meses o años (Neer, 2000; Harrus, Waner y Neer, 2007).

La persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema inmune. Los títulos de anticuerpos se elevan grandemente en esta fase y los animales inmunocompetentes por lo general eliminan al microorganismo en esta etapa. Los pacientes que no eliminan la infección progresan hasta la fase crónica. Los signos clínicos están ausentes pero persisten los cambios hematológicos, principalmente la trombocitopenia. Esto indica que los cambios patológicos continúan, sólo que no son observados clínicamente. Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmune humoral importante que a

menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno (Sainz y otros, 2000).

Sin embargo Harrus, Waner y Neer (2007), reportan que al igual que otras ehrlichias, *E. chaffeensis* carece de enzimas para la biosíntesis de peptidoglicano y lipopolisacaridos (LPS), que proporcionan resistencia a la membrana externa. La ausencia de LPS y peptidoglicano también tienen implicaciones importantes para la infección y la supervivencia de los organismos de ehrlichia tanto en las garrapatas como en los huéspedes mamíferos. El sistema inmune de la garrapata es competente para responder a la presencia de LPS, y por lo tanto la ausencia de LPS en los organismos de ehrlichia les da un beneficio de supervivencia. En el huésped mamífero, macrófagos o neutrófilos utilizan receptores de reconocimiento de patrones, como los receptores tipo Toll-like, para unir moléculas con patrones moleculares asociados a patógenos conservados como LPS o peptidoglicano. Esta reacción provoca una intensa respuesta inmune innata destinada a eliminar a los microorganismos; por lo tanto, la ausencia de LPS y peptidoglicanos da a la *E. chaffeensis*, y otros organismos estrechamente relacionados a las rickettsias, una ventaja en la supervivencia intraleucocítica.

Se ha demostrado que el bazo y la médula ósea son los órganos blancos más importantes para *E. canis* en esta etapa de la enfermedad (Harrus y otros, 1999).

La fase crónica de la enfermedad ocurre en los perros que no logran montar una respuesta inmune eficiente contra el microorganismo (Sainz y otros, 2000). En esta etapa de la enfermedad se pueden presentar cuadros leves, manifestando una enfermedad vaga con pérdida de peso y con alteraciones hematológicas moderadas. La forma grave se caracteriza por deterioro de la producción medular de elementos

sanguíneos que da por resultado pancitopenia. La gravedad de la enfermedad es mayor con ciertas cepas del microorganismo, cuando hay una enfermedad concomitante en algunas razas como el pastor alemán y en los animales jóvenes (Neer, 2000).

Los signos clínicos a la fase crónica presentan tendencia a la hemorragia, palidez debida a la anemia, perdida intensa de peso, debilidad, dolor a la exploración abdominal, uveítis anterior, hemorragias retinianas y signos neurológicos compatibles con meningoencefalitis tipifican los perros que desarrollan las manifestaciones de la enfermedad durante la infección crónica, así mismo existen infecciones bacterianas coexistentes, especialmente en perros con neutropenia, donde pueden aparecer numerosos patrones de hemorragias (Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007).

La pancitopenia severa, que se produce como resultado de la hipoplasia de la medula ósea, siendo un hallazgo típico de la enfermedad crónica, significativamente se encontrara los leucocitos y las plaquetas más bajo del recuento normal. La leucopenia grave, anemia grave, prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y la hipocalcemia, cada uno puede producir la mortalidad con una probabilidad del 100%. La muerte puede ocurrir a consecuencia de hemorragias y/o infecciones secundarias (Harrus, Waner y Neer, 2007).

Según Harrus, Waner y Neer (2007), mencionan que la trombocitopenia, es la anormalidad hematológica más común de los perros infectados con *E. canis*, se produce en todas las fases de la enfermedad. Cuanto mayor es la magnitud de la trombocitopenia, mayor es la posibilidad para la detección de *E. canis*. Varios mecanismos están involucrados en la patogénesis de la trombocitopenia, que incluyen el aumento de consumo de las plaquetas y disminución de su vida,

probablemente como resultado de secuestro esplénico y destrucción inmunomediada. Se han detectado anticuerpos circulantes unidos a plaquetas y anticuerpos antiplaquetarios en la sangre entera y suero, respectivamente, de perros en la fase aguda después de las infecciones naturales y artificiales siguientes con *E. canis*., además de una citoquina sérica que se comporta como factor de migración de inhibición de plaquetas (FMIP).

La disminución de la producción de plaquetas se da como resultado de la medula ósea hipoplásica y se considera que es el mecanismo responsable de la trombocitopenia en la fase crónica. La disfunción plaquetaria, junto con el bajo recuento de plaquetas, contribuye a las hemorragias observadas en EMC (Harrus, Waner y Neer, 2007)

Además de las alteraciones hematológicas que serían compatibles con *E. canis*, como anemia, neutropenia, trombocitopenia, linfocitosis, monocitosis y eosinofilia, la infección puede provocar disfunción neurológica y cojera que afecta a una o más extremidades, rigidez muscular, una marcha afectada, renuencia a levantarse, espalda arqueada e hinchazón y dolor articular. A menudo se notifican poliartritis o meningoencefalitis, caracterizadas por una respuesta inflamatoria predominantemente neutrofilia y, generalmente, acompañadas de fiebre (Breitschwerdt, 2007).

2.5. Diagnóstico de ehrlichiosis

El diagnóstico de la ehrlichiosis canina suele establecerse basándose en la anamnesis e historia de exposición previa a garrapatas vectores, una combinación de signos clínicos, anomalías hematológicas, trombocitopatías, alteraciones bioquímicas hemáticas y datos serológicos (Harrus, Waner y Neer, 2007).

2.5.1. Diagnóstico clínico

La infección por *E. canis* puede causar un amplia gama de signos clínicos, que varían incluso dentro y entre distintas localidades geográficas, esto depende tanto de la dosis infectante, raza del perro infectado, el estado inmunológico al momento de la infección, como de otras enfermedades concomitantes (Sainz y otros, 2000).

Harrus, Waner y Neer (2007) menciona que *E. canis* no es la única causa de una enfermedad clínica y normalmente perros con aberraciones inmunitarias pueden llegar a ser secundariamente afectados con enfermedades bacterianas, micóticas, o por protozoos oportunistas.

La sintomatología durante la fase aguda de la enfermedad variará desde la depresión, anorexia y fiebre a la pérdida seria de la condición, secreción oculonasal, disnea, linfadenopatía y edema de las extremidades y escroto. A pesar de la trombocitopenia moderada a intensa, rara vez se observan las hemorragias. Pueden ocurrir una variedad de signos del SNC, incluyendo hiperestesia, espasmos musculares y deficiencia de pares craneanos. En ocasiones los pacientes pueden presentar cojera con marcha rígida secundaria a poliartropatía. La enfermedad articular puede ocurrir por hemartrosis o depósitos de complejos inmunitarios con la consiguiente artritis y derrame neutrofílico en la articulación (Harrus, Waner y Neer, 2007)

Los signos oculares, pueden mostrar cambios en el color o aspecto de los ojos y presentar ceguera, los datos más comunes son uveítis anterior y afección de la retina (Harrus, Waner y Neer, 2007).

Los signos de fase aguda suelen desaparecer sin tratamiento dentro de una a 4 semanas dando lugar a la fase subclínica. Los perros

inmunocompetentes tienden a eliminar el agente en la etapa aguda, en caso de no eliminarlo, la enfermedad progresa a una fase crónica. No se conocen muy bien los mecanismos o factores que transforman infecciones subclínicas en un estado crónico (Harrus, Waner y Neer, 2007).

La forma crónica se caracteriza por pérdida progresiva de peso, anorexia, mucosas pálidas, hemorragias de retina, mucosas y piel. La epistaxis se observa hasta en un 50% de los casos en esta fase y es considerada como distintivo de la enfermedad. También puede observarse signos neurológicos consistentes con meningoencefalitis (Beaufils, 1997).

La EMC produce signos clínicos comunes como son la depresión, letargo, anorexia, pérdida de peso, y las tendencias hemorrágicas. El sangrado por lo general se exhibió por petequias o equimosis dérmicas, o ambos. La epistaxis se nota con frecuencia en EMC. El examen físico también puede revelar linfadenomegalia y esplenomegalia en el 20% y el 25% de los pacientes, respectivamente. Debido a que el organismo se transite por medio de la garrapata (*R. sanguineus*), la enfermedad puede complicarse por infecciones de distintos agentes patógenos (Harrus, Waner y Neer, 2007).

2.6. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de la ehrlichiosis generalmente se basa en una combinación de anamnesis (considera a pacientes que viven en el área endémica, historia de viajes, infestación por garrapatas), los signos clínicos, alteraciones hematológicas, y los resultados serológicos. Debido a que *E. canis* se transmite por *R. sanguineus*, la coinfección con otros

patógenos transmitidos por la misma garrapata deben ser investigados (Lappin y Turnwald, 2004; Harrus, Waner y Neer, 2007).

El diagnóstico de infección por *E. canis* puede establecerse mediante hallazgos de mórulas en células mononucleares, cultivos, PCR y ELISA; así mismo las especies de ehrlichia pueden aislarse de cultivos tisulares de sangre canina heparinizada infectada o de muestras de aspirados de medula ósea, pero el cultivo tiene disponibilidad limitada, es costoso y tiene baja rentabilidad diagnóstica (Lappin y Turnwald, 2004; Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007; Lewis, 2012).

2.7. Hematología

Además de los signos clínicos que podrían sugerir ehrlichiosis canina, las marcadas anomalías de laboratorio pueden contribuir a la sospecha de la enfermedad. Las anomalías hematológicas, dentro de las anormalidades más importantes compatibles con ehrlichiosis canina se encuentran la trombocitopenia; que es la alteración hematológica más constante en ambos estadios, agudo y crónico. Sin embargo, tras la infección, los recuentos de plaquetas se encuentran a menudo en la zona baja del intervalo de referencia del laboratorio. Se documenta pancitopenia en menos del 25% de los perros en estudios clínicos retrospectivos. Se ha asociado a ehrlichiosis canina una linfocitosis profunda, acompañada de linfocitos anormales y reactivos. Dado que *E. canis* da lugar a una función defectuosa de las plaquetas, en los perros con recuentos de plaquetas normales, aumentadas o moderadamente reducidos pueden detectarse hemorragias (Waner y Harrus, 2000; Breitschwerdt, 2007; Harrus, Waner y Neer, 2007, Villanueva, 2014).

Harrus, Waner y Neer (2007), reportan que la anemia que aparece en la fase aguda de la EMC se considera como “anemia inflamatoria de

enfermedad” y es un clásico de leve a moderada normocítica, normocrómica y no regenerativa. La ehrlichiosis en el hemograma evidencia anemias arregenerativas, en la fase aguda puede causar pancitopenias, sin embargo en la fase crónica, solo podemos encontrar una ligera trombocitopenia en el hemograma (Sodikoff, 2004; Brockus y Andrasen, 2005). La gravedad de los cambios hematológicos depende de las diferentes especies de ehrlichia. Durante la infección con *E. canis* los anticuerpos antiplaquetarios son hallados constantes y algunos perros tienen prueba de Coombs directa positiva. La ehrlichiosis crónica puede causar anemia no regenerativa, trombocitopenia y leucopenia. La discrasia hematológica puede deberse a supresión de la medula ósea y destrucción de celular sanguíneas (Weiss y Tvedten, 2004; Harrus, Waner y Neer, 2007). Las petequias cutáneas producto de la hemolisis intravascular y alteración plaquetaria son sin lugar a duda un signo característico en el diagnóstico de ehrlichiosis. Para Villers, (2012), la anemia hemolítica inmunomediada da lugar a una anemia regenerativa; sin embargo la anemia no regenerativa puede ser “pre-regenerativa” debido a una pérdida aguda de eritrocitos antes que se haya establecido la respuesta regenerativa. Contrariamente la anemia no regenerativa verdadera se desarrolla de forma gradual durante semanas a meses. Dependiendo de la causa los eritrocitos pueden destruirse intravascularmente, extravascularmente o ambas. En la hemolisis extravascular los eritrocitos dañados son fagocitados por los macrófagos, la mayoría en el bazo y hasta cierto punto en el hígado y la medula ósea. En la hemolisis intravascular los eritrocitos son lisados en la circulación como consecuencia de un daño directo a la membrana; por lo tanto la hemoglobina intravascular libre de los eritrocitos forma inmediatamente complejos con la haptoglobina (Villers, 2012).

En la ehrlichiosis suele presentarse anemia hemolítica inmunomediada (AHIM) que es una de las causas de anemia más común

en pequeños animales y es también una de las enfermedades inmunomediadas con más prevalencia. La AHIM puede subdividirse en dos tipos principales: anemia hemolítica primaria, idiopática o autoinmune (AHPI), y AHIM secundaria. La AHIM es una alteración autoinmune clásica sin causa subyacente reconocida. Es la forma más frecuente de AHIM en perros y también aparece en gatos, pero es menos común. Para que el tratamiento sea más efectivo es importante distinguir entre la AHIM primaria y la secundaria. El mecanismo típico fundamental de los casos de AHIM es una destrucción citotóxica de los eritrocitos circulantes, mediada por anticuerpos (hipersensibilidad de tipo II). Aunque la mayoría de los casos comparten este mecanismo, la enfermedad es heterogénea: en la AIHA, la forma más estudiada de AHIM, el modelo de inmunoglobulinas y complementos implicados en la destrucción de eritrocitos (GR), como el lugar de la unión del anticuerpo a las membranas de GR varía ampliamente entre los pacientes. En la AHIM, la unión de los anticuerpos a la membrana de los eritrocitos induce su destrucción mediante varios mecanismos diferentes, la IgM es mejor que la IgG para la fijación del complemento, la hemólisis intravascular más típica en la AHIMs es mediada por IgM. En los casos menos graves de anemia, la unión de anticuerpos y la subsiguiente lesión de membrana celular conducen a un grado acelerado de destrucción de los eritrocitos afectados, por parte de los macrófagos tisulares del sistema mononuclear fagocitario, un proceso que se produce fuera de la circulación. La destrucción de los eritrocitos por el MPS está mediada por receptores de Fc de la superficie de los macrófagos, en los que se une el componente Fc de los anticuerpos junto a las membranas de los glóbulos rojos (Harrus, Waner y Neer, 2007).

Los cambios hematológicos están mejor documentados en infecciones por *E. canis*, los mismos que incluyen trombocitopenia (82%), anemia (82%), la que, en general, es no regenerativa, y leucopenia (32%

de la cual el 20% presentaba neutropenia), la trombocitopenia es un hallazgo consistente en todas las etapas de la infección por *E. canis*; es posible que esta proporción sea exagerada, así mismo en la fase aguda de la enfermedad es común la leucopenia y la anemia moderada (usualmente normocítica, normocrómica, no regenerativa). Puede haber un descenso en el número de los neutrófilos. Los parámetros eritrocíticos no son afectados normalmente en esta etapa de la enfermedad. La trombocitopenia severa, leucopenia y anemia se presentan más comúnmente durante la fase crónica de la EMC. La pancitopenia severa es la característica de la fase crónica grave y que ocurre como resultado de una médula ósea hipocelular suprimida (Waner y Harrus, 2000).

Según Harrus, Waner y Neer (2007), mencionan que dentro de otros parámetros hematológicos estadísticamente significativas incluyen una disminución en el recuento total de leucocitos en 7 de 9 perros, una disminución en el recuento absoluto de neutrófilos en 5 de 9 perros, una disminución en la concentración de hematocrito y hemoglobina en 3 de 9 perros, una disminución en el volumen corpuscular medio en 5 de 9 perros, y un aumento en la concentración media de hemoglobina corpuscular en 4 de los perros probados; además la fase crónica severa de la EMC se caracteriza por hipoplasia y el deterioro de todas las células de la médula ósea, lo que resulta en pancitopenia. Las alteraciones de la química del suero más frecuentes incluyen hiperproteinemia, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, y las actividades de la fosfatasa alcalina y alanina aminotransferasa elevados, los perros infectados con pancitopenia tienen generalmente los niveles de globulina sérica en bajas concentraciones a comparación con los perros que no tienen pancitopenia (Harrus, Waner y Neer, 2007, Villanueva, 2014).

Otros hallazgos clínico patológicos incluyen sangrado por tiempos prologados, radiopacidad intersticial pulmonar que van desde un patrón

lineal leve a infiltraciones intersticiales marcadas con opacidades peribronquiales, hematuria y proteinuria (Harrus, Waner y Neer, 2007).

2.8. Pruebas inmunológicas

Las pruebas inmunológicas constituyen una base importante para el diagnóstico de la enfermedad, puesto que pueden determinar cualitativamente o cuantitativamente niveles de anticuerpos (IgG o IgM) en los animales afectados por la ehrlichiosis canina (López y otros, 2003).

2.8.1. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

El diagnóstico de Ehrlichiosis suele basarse en resultados positivos a la prueba de anticuerpos fluorescentes (IFA) (Neer, 2000). Esta fue desarrollada en 1971, siendo utilizada actualmente para el diagnóstico ehrlichial en caninos y el hombre (Greene, 1997). Esta prueba es la más habitual en el serodiagnóstico (Parnell, 2004). La IFA detecta anticuerpos tempranamente (7 días post infección), siendo posible que algunos casos no manifiesten positividad hasta los 28 días post infección (Neer, 2000; Parnell, 2004). Experimentalmente, se demostró que durante los 7 primeros días de la infección inicial los títulos de anticuerpos son principalmente de IgA e IgM, siendo alrededor de los 20 días post infección mayormente un título de IgG. (Neer, 2000; Mc Bride, Corstvet, Breitschwerdt y Walter, 2001). La inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos (IFA) es la prueba más utilizada a nivel mundial para el diagnóstico de infecciones por *E. Chaffeensis* y *E. canis* (Knowles, Allegan, Sorenson, Marciano, Breitschwerdt, Aarhus, Barbet y Bélanger, 2003).

Mc Bride, Corstvet, Breitschwerdt y Walter, 2003, trabajaron con inmunofluorescencia indirecta como prueba preliminar para utilizar proteínas recombinantes en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina por *E. canis*. De esta manera, los animales que presentaban títulos mayores o iguales a 40 eran considerados como positivos a *E. canis*.

2.8.2. Inmunoabsorbancia ligada a enzimas (ELISA)

Las pruebas de ELISA, han llegado a ser populares y ser el punto de atención a comparación de las demás pruebas para detectar los anticuerpos de *E. canis*. Los resultados obtenidos de estos kits son cualitativos y semicuantitativos; sin embargo, se pueden obtener rápidamente en el entorno clínico. Las pruebas utilizadas son sensibles y específicas, especialmente cuando los títulos de la fluorescencia son mayores que 320. Los kits tienen la ventaja de un bajo costo relativo y proporcionan evidencia de la exposición a *E. canis*, que luego se asisten con un diagnóstico precoz con un mínimo de equipo y personal (Harrus, Waner y Neer, 2007). Además de la técnica indirecta para detectar anticuerpos fluorescentes (IFA), la técnica indirecta de ELISA es muy utilizada para detectar anticuerpos contra *E. canis* (Neer, 2000). En un estudio para calcular la seroprevalencia de *E. canis* en la ciudad de Yucatán (México) se trabajó con la técnica indirecta de ELISA, en el cual se indica que la prueba posee un 71% de sensibilidad y un 100% de especificidad (Rodríguez-Vivas, Albornoz, y Bolio, 2004).

La técnica indirecta de ELISA es muy práctica y de fácil realización, la cual se ha convertido en un examen rutinario para el diagnóstico de la ehrlichiosis canina. En Brasil se realizó un estudio, donde se trabajó con esta técnica, indicando que la sensibilidad de la prueba era M 80%, con 100% de especificidad. Algunos casos agudos pueden presentar signos

clínicos antes de la aparición de anticuerpos circulantes. Para estos casos debe repetirse la prueba 14 a 21 días después de la primera prueba para su descarte o confirmación (De Moráis, Hoskins, Pereira y Labarthe, 2004).

Rikisha, Swing, Fox, Siregar, Pasariba y malote, 1992; realizaron un estudio para diferenciar infecciones por *E. canis* y *E. ewingii*. Para ello midió la respuesta de IgG contra ambas infecciones por ELISA indirecta. Se determinó que *E. canis* produce una respuesta alta de IgG en los caninos, a diferencia de la *E. ewingii*, que no indujo respuesta significativa de esta inmunoglobulina. Además, se concluyó por EITB, que los perros infectados con *E. canis* inicialmente reaccionan contra proteínas de bajo peso molecular (30, 24 y 21 kDa.) y posteriormente contra proteínas de alto peso molecular (160, 100, 78, 64, 47 y 40 kDa.). De la misma forma los perros infectados con *E. ewingii* presentaron reacciones contra proteínas de alto peso molecular únicamente, no reaccionando contra proteínas de bajo peso molecular. Estos resultados indican que ambas pruebas son de utilidad para diferenciar infecciones con *E. canis* y *E. ewingii*.

Existe reactividad cruzada entre especies ehrlichiales dependiente de los antígenos de superficie: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *Cowdria ruminantium*, tienen un complejo de antígenos mayores de superficie de 24 a 31 kDa de peso molecular; *E. sennetsu*, *E. risticii* y el Agente SF tienen antígenos mayores de superficie de 51 55 kDa; *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma marginale* poseen antígenos mayores de 43- 49 kDa.

No obstante, la diferencia entre grupos ehrlichiales, presentan una reacción cruzada baja. El antígeno mayor de superficie más común es el HSP60, y el tamaño de esta molécula varía dependiendo de la especie.

Esta molécula también tiene reacción con especies del género *Rickettsia* spp. (Dumler y otros. 2001). Actualmente, no se dispone de una prueba para *E. ewingii*, ya que esta especie no ha podido ser cultivada in vitro más allá del aislamiento en células primarias (Greene, 2000). *E. canis* y *E. sennetsu* reaccionan en forma cruzada intensa. Por otra parte, *E. risticii* presenta reacción cruzada potente con *E. sennetsu* y, en menor grado, con *E. canis*. *E. equi* y *E. senetsu* muestran reactividad cruzada antigénica importante y de hecho están muy relacionadas. Cabe resaltar que la reacción cruzada entre *E. canis* y otros patógenos no ehrlichiales es limitada (Greene, 1997).

2.9. Terapia antimicrobiana de ehrlichiosis canina.

Dentro de los fármacos eficaces se incluyen a las tetraciclinas. En general, si el tratamiento se antes de que los perros entren a la fase aguda, los resultados en el pronóstico serán más favorables. Los perros en la fase crónica generalmente no responden al tratamiento debido a los cambios multisistémicos y la mielosupresión severa de la enfermedad (Harrus, Waner y Neer, 2007)

La doxiciclina y la minociclina en algunos países, son considerados como el tratamiento de elección, debido a la penetración del fármaco en las células; mecanismo esencial en la eliminación de la infección, actualmente la doxiciclina tiene las ventajas añadidas de una vida media más larga y una mayor penetración del SNC en comparación con cualquiera de las tetraciclinas o la oxitetraciclina (Harrus, Waner y Neer, 2007). La doxiciclina (10 mg/kg/24 h.) durante 7 días fue eficaz en la eliminación de *E. canis* en 3 de 5 perros (Harrus, Waner y Neer, 2007).

En otros estudios, la doxiciclina (5mg/kg dos veces al día) usada por 10 o 14 días era completamente eficaz en la eliminación de la *E.*

canis, detectada por PCR. Sin embargo, otros estudios con infecciones experimentales ya sea 16 a 23 o 28 días de tratamiento con doxiciclina fueron suficientes para borrar los organismos de todos los perros infectados. Después del tratamiento de perros con infección crónica, los resultados de la PCR se mantuvieron positivos en la sangre de los perros y también en las garrapatas que se alimentaban de ellos (Harrus, Waner y Neer, 2007).

Por lo tanto con respecto al tratamiento con doxiciclina, el periodo estándar de la terapia de doxiciclina en infecciones naturales ha oscilado entre 21 a 28 días según la declaración del Consenso Ehrlichial del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria en 2002, recomienda un mínimo de 10 mg/kg al día durante 28 días.

Se produce una notable mejoría generalmente entre 24 a 48 horas después del inicio del tratamiento con tetraciclina en perros con la fase aguda o crónica leve de la enfermedad. El recuento de plaquetas correspondientemente comienza a aumentar durante este tiempo y es por lo general en el rango de referencia de 10 a 14 días después del tratamiento. No habrá inmunidad permanente, y los perros pueden llegar a ser infectados con *E. canis* después de un tratamiento anteriormente eficaz (Harrus, Waner y Neer, 2007).

La solución de la trombocitopenia puede ocurrir dentro de los 10 a 14 días después del tratamiento. Debido a que la infección puede reaparecer después de que el tratamiento haya culminado, los recuentos de plaquetas deben ser evaluados al menos 1 a 3 meses después de que el tratamiento haya culminado (Harrus, Waner y Neer, 2007).

2.9.1. Tetraciclinas y doxiciclina

Las tetraciclinas son un grupo de fármacos con actividad bacteriostática a dosis clínicas y bactericida a dosis mayores (Sumano y Ocampo, 2006), fueron aislados a partir de *Streptomyces aureofaciens* y descritas en 1948 por Benjamin Duggar (Duggar 1948). Se trata de un grupo de compuestos anfóteros con núcleo tetracíclico, de donde reciben su nombre (Riviere y Spoo, 2001; Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006; Chambers 2007). Desde su descubrimiento la molécula original ha sufrido numerosas modificaciones estructurales, dando lugar a otras tetraciclinas semisintéticas con propiedades farmacocinéticas y actividades antimicrobianas diferentes (Riviere y Spoo 2001). Una de las tetraciclinas de mayor relevancia en la actualidad es la doxiciclina, tetraciclina semisintética que es sintetizada a partir de la oxitetraciclina o la metaciclina y que presenta una mayor liposolubilidad que otros miembros de su familia, lo que le permite una mayor penetración dentro de las células, confiriéndole una mayor actividad frente a microorganismos intracelulares (Riviere y Spoo 2001; Sumano y Ocampo, 2006).

La doxiciclina, no altera la flora bacteriana tanto como las tetraciclinas de corta duración; es más eficaz que la tetraciclina para tratar la ehrlichiosis canina, ya que penetra adecuadamente en las células. Como no se elimina por vía renal, se puede recomendar en pacientes con insuficiencia renal; Es importante señalar que irrita el estómago, por lo que se debe administrar con el alimento (Sumano y Ocampo, 2006).

De forma general, son bacteriostáticos que poseen actividad contra una gran variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas, aerobias y anaerobias, intracelulares y extracelulares (Riviere y Spoo 2001; Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006; Chambers 2007; Rang y otros. 2008a).

Asimismo, son eficaces frente a algunos agentes patógenos resistentes a antimicrobianos activos contra la pared bacteriana, como ciertos agentes pertenecientes al Orden Rickettsiales (Chambers 2007; Rang y otros 2008a). Debido a su actividad antimicrobiana de amplio espectro, estos fármacos se encuentran entre los antibióticos más prescritos tanto en medicina humana como en veterinaria.

Ejercen su acción antibacteriana mediante la unión a la subunidad ribosomal 30S de los microorganismos sensibles y típica de los procariontes, con lo que impiden la unión del ARNt aminoacílico al sitio aceptor en el complejo ARNm-ribosoma e inhiben así la síntesis proteica y, por tanto, el crecimiento y multiplicación de los microorganismos (Riviere y Spoo 2001; Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006; Chambers 2007).

La administración de la doxiciclina y demás tetraciclinas puede realizarse por vía intravenosa, pero, en general, la administración por vía oral es la ruta preferida en la mayoría de los animales (Riviere y Spoo 2001). La absorción en el tracto gastrointestinal puede variar dependiendo de la especie animal y del tipo de formulación empleada, si bien en el caso de la doxiciclina y la minociclina la absorción es prácticamente total (Chambers 2007). Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos compuestos quelan con facilidad los cationes bivalentes, por lo que su absorción disminuye si se administran junto con productos lácteos, sales de calcio, magnesio, hierro o zinc, geles de hidróxido de aluminio, subsalicilato de bismuto, antiácidos e general, etc. (Riviere y Spoo, 2001; Sumano y Ocampo, 2006; Chambers 2007).

La vida media de la doxiciclina varía en las diferentes especies animales, habiéndose descrito en la especie canina una vida media de 16 a 18 horas (Wilson y otros., 1988; y Sumano y Ocampo, 2006), algo

inferior a la descrita en el hombre (de 12 a 14 horas) (Chambers 2007) y muy superior a la del ratón, de tan solo 4 horas (Bellahsene y Forsgren, 1985).

Una vez absorbidas, las diferentes tetraciclinas se unen a las proteínas plasmáticas y se distribuyen extensamente en la mayoría de los tejidos, acumulándose en las células reticuloendoteliales de hígado, bazo, médula ósea, riñones y en los huesos y dentina y esmalte de los dientes en crecimiento (Riviere y Spoo, 2001; Sumano y Ocampo, 2006; Chambers 2007; Rang y otros. 2008). A pesar de la buena distribución descrita para las tetraciclinas, existen diferencias entre los distintos compuestos de este grupo de antimicrobianos y la distribución de cada una de estas sustancias en concreto dependerá de su solubilidad lipídica, lo que provoca que algunas tetraciclinas penetren mejor en ciertos tejidos que otras. Este es el caso de la doxiciclina y de la minociclina, que poseen una liposolubilidad cinco a diez veces mayor que el resto de tetraciclinas y por tanto, penetran mejor en los tejidos (como cerebro, líquido cefalorraquídeo y próstata) y poseen un mayor volumen de distribución y mejores propiedades antimicrobianas globales (Riviere y Spoo 2001; Lemos, 2002).

La excreción de la doxiciclina se efectúa en su mayor parte con las heces en una forma inactiva, a diferencia de lo que se observa en otras tetraciclinas, en las que aproximadamente el 60% de la dosis es eliminada por filtración glomerular (Riviere y Spoo 2001; Chambers, 2007). Esta característica es la responsable de que la doxiciclina ejerza un menor número de efectos adversos, o que produzca efectos secundarios menos marcados que otros miembros de su familia. En concreto, se ha observado que este fármaco induce menos efectos gastrointestinales que otras tetraciclinas, siendo el efecto secundario más comúnmente descrito para esta familia antimicrobiana tanto en animales como en el hombre la

aparición de una irritación gástrica e intestinal. No obstante, se ha descrito que, en ocasiones, la doxiciclina puede provocar náuseas y vómitos en perros y gatos, por lo que se recomienda su administración junto con alimento, lo que reduce este efecto adverso. Por otra parte, el uso de la mayoría de las tetraciclinas está desaconsejado en animales con insuficiencia renal, precisamente por esa eliminación por filtración glomerular descrita previamente y que no comparte la doxiciclina. La eliminación de la doxiciclina en forma de conjugado inactivo con las heces hace que pueda ser empleada incluso en perros con una afectación renal (Riviere y Spoo 2001; Lemos, 2002). Otros efectos adversos de las tetraciclinas que cabe destacar son la aparición de decoloración de los dientes en crecimiento si son administradas durante el embarazo o durante los primeros meses de vida, debido a la quelación del calcio en la dentina o el esmalte, y el retardo del desarrollo óseo, aunque la doxiciclina parece ejercer estos efectos de forma mucho menos probable que otras tetraciclinas (Riviere y Spoo 2001). También se ha descrito si son administradas por vía intravenosa rápida, el colapso circulatorio (Riviere & Spoo 2001).

Como se ha comentado, estas sustancias poseen unas excelentes propiedades antimicrobianas para un amplio espectro de agentes infecciosos y, sin embargo, como ocurre en el caso de otros antibióticos, algunas bacterias han sido capaces de desarrollar mecanismos de resistencia frente a ellas, que se transmiten generalmente a través de plásmidos o transposones (Roberts 1996; Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001; Lemos, 2002). Entre los diferentes mecanismos de resistencia a la acción de las tetraciclinas desarrollados destacan el eflujo dependiente de energía del fármaco, que es mediado por proteínas transmembrana, la protección del ribosoma de la actuación de la tetraciclina, en la que participan diferentes tipos de proteínas, y la inactivación enzimática de las

tetraciclinas (Speer y otros. 1992; Roberts, 1996; Taylor y Chau 1996; Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001).

La principal diferencia de la doxiciclina y la minociclina con la oxitetraciclina radica en su elevada liposolubilidad (5 – 10 veces mayor), lo cual permite que su solubilidad y penetrabilidad intracelular sean superiores. Ambas logran volúmenes de distribución elevados y tienen notable actividad antimicrobiana. Presentan más afinidad por las proteínas plasmáticas (Riviere y Spoo 2001; Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

La doxiciclina se distribuye de modo eficaz en el tubo gastrointestinal, logrando valores terapéuticos contra bacterias patógenas a este nivel. La distribución de la doxiciclina en aparato genital es especialmente buena, así como en humor acuoso, próstata y aparato respiratorio. Este comportamiento se debe a su alta liposolubilidad. Su unión a proteínas plasmáticas en la mayoría de las especies es superior al 90%, lo que permite vidas medias prolongadas u muy superiores a las otras tetraciclinas. La doxiciclina no es eliminada por vía renal; este proceso se realiza por el tubo digestivo (Sumano y Ocampo, 2006).

Al parecer, la doxiciclina actúa en la mucosa y al llegar a la luz intestinal pierde su eficacia, quizá por la formación de complejos con proteínas y secreciones intestinales. El mecanismo de eliminación para la doxiciclina difiere del de otras tetraciclinas en que aquella ingresa al intestino a través de la excreción biliar, para eliminarse posteriormente en las heces en forma de metabolito inactivo. La vía renal no es la principal vía de eliminación (Sumano y Ocampo, 2006).

Debido a su amplio espectro, son especialmente útiles para el tratamiento de infecciones bacterianas mixtas. Actualmente están especialmente indicadas para el tratamiento de infecciones causadas por rickettsias, chlamidias, ehrlichia y algunos micoplasmas, así como para el tratamiento de brucelosis en combinación con otros antibióticos como las rifampicinas o la estreptomina. En todas estas infecciones causadas por patógenos intracelulares, la doxiciclina y la minociclina suelen ser más efectivas que las tetraciclinas clásicas por su carácter más lipófilo, lo que les permite alcanzar concentraciones intracelulares superiores, así como llegar más fácilmente a tejidos con un alto contenido lipídico (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

Las tetraciclinas son también antibióticos de primera elección en el tratamiento de las infecciones causadas por *E. canis* y *Rickettsia rickettsi* en perros, así como de la leptospirosis y la borreliosis. La doxiciclina administrada oralmente en dosis de 5mg/kg 2 veces diarias durante 2 semanas, es efectiva para el tratamiento de las infecciones agudas. En los canidos, el clorhidrato de tetraciclina esta también indicado para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario por *Pseudomonas aeruginosa*. (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006)

2.9.2. Amoxicilina

La amoxicilina es una aminopenicilina que se encuentra comercialmente disponible en forma trihidratada para administrar VO, y de sal sódica para aplicación parenteral. Prácticamente no tiene olor, es un polvo cristalino, como base es poco soluble en agua, pero soluble como sal (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

Las aminopenicilinas se han convertido con los años en fármacos de uso popular en medicina veterinaria debido a su mayor espectro de

actividad, que incluyen gérmenes grampositivos y gramnegativos, a su facilidad para la administración oral, bajo costo y ausencia prácticamente de toxicidad. En este grupo de fármacos se incluyen la amoxicilina, ampilina y los ésteres profármaco hetaclina, pivampicilina, bacampicilina y talampicilina (Lemos, 2002).

Todos tienen similar espectro de actividad, pero la amoxicilina se absorbe mejor por vía oral en mayoría de las especies, pueden atravesar la capa externa de las bacterias gramnegativas mejor que lo hace la bencilpenicilina. Por ello, su espectro no solo incluye a grampositivos, como estreptococos, estafilococos, bacilos y clostridios, sino que también es eficaz frente a *Escherichia coli*, y algunas especies del género Salmonella. Estos fármacos son igualmente eficaces frente a la mayoría de los microorganismos anaerobios, con la excepción de bacteroides productores de β -lactamasa. En las últimas décadas, el uso frecuente de estos fármacos ha llevado al desarrollo de resistencias en particular debido a la síntesis de β -lactamasas por parte de microorganismos bacterianos. Por este hecho, su combinación con fármacos inhibidores de las β -lactamasas, como el ácido clavulánico, da lugar a un aumento considerado de su eficacia (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

Existen diversas formulaciones de estos productos para administración oral y parenteral. La administración por vía parenteral es rápida, y la biodisponibilidad es alta, en torno al 100%, las aminopenicilinas son estables en el medio ácido gástrico. La amoxicilina se absorbe mejor que la ampilina en canidos, con una biodisponibilidad de 60-80%. La biodisponibilidad oral de ambas se reduce en presencia de alimento (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

En perros, cuando se administra por VO se une en gran porcentaje a proteínas plasmáticas. La combinación de amoxicilina con ácido

clavulánico se absorbe en 34 – 36% (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

Su actividad es muy similar a la propia de la ampicilina, pero se absorbe mejor y la concentración sérica es mayor, así que las indicaciones son similares (Sumano y Ocampo, 2006).

En perros en forma de sal trihidratada la dosis varía de 10 – 22 mg/kg/8 h por VO o SC, para la amoxicilina sódica inyectable 5.5 – 11 mg/kg/8 h por vía IM o SC (Sumano y Ocampo, 2006).

Las principales aplicaciones clínicas son similares a las de la bencilpenicilina, en particular infecciones urinarias, infecciones gastrointestinales por órganos sensibles e infecciones dérmicas en animales de compañía. En el caso de infecciones urinarias, estos antibióticos son particularmente útiles debido a que la gran mayoría de los gérmenes implicados en estos procesos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella*) es sensible a las concentraciones que el antibiótico alcanza en la orina. La combinación de estos fármacos con inhibidores de las β -lactamasas les proporciona un mayor espectro de acción frente a gérmenes gramnegativos y es, por tanto, recomendable en infecciones causadas por *E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus*. El espectro de acción de estos fármacos no incluyen las especies del género *Pseudomonas* (Lemos, 2002; Sumano y Ocampo, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución y duración del estudio

La toma de muestras, diagnóstico, procesamiento y tratamiento se desarrolló en 4 consultorios veterinarios del distrito del distrito de Trujillo; durante el período comprendido entre junio del año 2015 y enero del año 2016.

3.2. Materiales

3.2.1. Grupos experimentales

Los pacientes fueron agrupados homogéneamente en dos grupos de 20 pacientes cada uno.

3.3. Metodología

3.3.1. Toma de muestra sanguínea.

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

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

- a) Identificación de tubos al vacío con datos del paciente.
- b) Sujeción adecuada.
- c) Disposición y uso adecuado del material para extracción sanguínea, en tubos al vacío con EDTA para sangre entera.

- d) Desinfección del área de toma de muestra y rasurado en caso de ser necesario.
- e) Identificación de las venas cefálica y/o safena.
- f) Aplicación del hemostato.
- g) Extracción de la muestra.

3.4. Desarrollo de la técnica de ELISA indirecta.

Muestra: Sangre entera, suero o plasma, pueden ser usadas en esta prueba.

- a. Se homogenizó la muestra sangre entera.
- b. Luego se agregó 3 gotas de la muestra al tubo para muestras.
- c. Manteniendo el frasco en posición vertical, se agregó 4 gotas de conjugado proporcionado por el fabricante de la prueba de ELISA (Snap 4 Dx), al tubo para muestras.
- d. Luego de tapar el tubo se mezcló bien invirtiéndolo de 3 a 5 veces.
- e. Después se colocó el dispositivo SNAP sobre una superficie plana y se agregó el contenido completo del tubo al pozo para muestras, y se dejó fluir por la ventanilla de resultados.
- f. Después de esperar que la muestra llegue al círculo de activación se presionó el activador hasta quedar al nivel con el cuerpo del dispositivo.
- g. El dispositivo se mantuvo en posición horizontal
- h. Luego de 8 minutos se procedió a leer el resultado

3.5. Hemograma.

Se realizó utilizando el hemocitómetro automatizado de uso veterinario marca Mindray, modelo BC 2800 Vet®, el mismo que utiliza la impedancia eléctrica como método de conteo automatizado, usando los reactivos Mindray V28.

Los resultados obtenidos incluyen recuento de hematíes, hematocrito, hemoglobina, volúmenes corpusculares medios, recuento de plaquetas, recuento de leucocitos y recuento diferencial relativo y absoluto de los leucocitos.

3.6. Tratamiento farmacológico

Presentaciones farmacéuticas de los antimicrobianos

Doxiciclina : tabletas, conteniendo 100 mg de Doxiciclina hiclato.

Amoxicilina : tabletas, conteniendo 500 mg de Amoxicilina base.

Tratamiento con Doxiciclina

Doxiciclina por vía oral a dosis de 10 mg/kg., cada 24 horas durante 21 días.

Tratamiento con Doxiciclina más Amoxicilina

Doxiciclina por vía oral a dosis de 10 mg/kg., cada 24 horas durante 21 días.

Amoxicilina por vía oral a dosis de 10 mg/kg, cada 12 horas durante 21 días.

3.7. Análisis de Datos

Se procesaron los datos por estimación interválica utilizando la prueba de Tukey, considerando un nivel de confianza del 95% y se contó con el apoyo del programa estadístico Info Stat.

IV. RESULTADOS

4.1. Serie roja post tratamientos a los días 7, 14 y 21.

Los valores promedios de la series rojas en ambos tratamientos permitieron observar que al momento de la toma de muestra (día 0), todos los pacientes presentaban anemia. Los pacientes tratados con doxiciclina la anemia fue leve, y para el tratamiento doxiciclina - amoxicilina la anemia fue moderada, luego de los 21 días de tratamiento todos los pacientes lograron recuperarse.

En Cuadro 1, se describen los promedios de la serie roja para el tratamiento con Doxiciclina; permitiendo observar que los pacientes se recuperan de la anemia a los 14 días posteriores al tratamiento.

El Cuadro 2, nos permite evaluar los promedios de la serie roja para el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina; permitiendo observar que los pacientes se recuperaron de la anemia a los 7 días posteriores al inicio del tratamiento.

Evaluando ambos tratamientos, se puede determinar que el tratamiento de Doxiciclina – Amoxicilina permitió la recuperación anticipada de la anemia en 7 días.

Cuadro 1. Promedios de la serie roja de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de Evaluación	Serie Roja ^{1, 2}		
	GR (m/ul)	Hb (g/dL)	Hcto (%)
21	6.89 ± 0.24 a	14.63 ± 0.57 a	45.32 ± 1.53 a
14	6.31 ± 0.24 a	14.74 ± 0.57 a	43.58 ± 0.57 a
7	5.62 ± 0.24 b	13.41 ± 0.57 b	39.65 ± 0.57 b
0	5.26 ± 0.24 b	12.22 ± 0.57 b	35.98 ± 0.57 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

² Serie roja: GR = Glóbulos rojos, Hb = Hemoglobina, Hcto = hematocrito.

Cuadro 2. Promedios de la serie roja de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Serie Roja ^{1, 2}		
	GR (m/ul)	Hb (g/dL)	Hcto (%)
21	6.93 ± 0.34 a	13.53 ± 0.60 a	42.22 ± 1.77 a
14	5.51 ± 0.34 a	12.08 ± 0.60 a	37.67 ± 1.77 a
7	5.24 ± 0.34 a	12.04 ± 0.60 a	36.63 ± 1.77 a
0	4.24 ± 0.34 b	9.49 ± 0.60 b	28.58 ± 1.77 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

² Serie roja: GR = Glóbulos rojos, Hb = Hemoglobina, Hcto = hematocrito.

4.2. Índices eritrocitarios evaluados post tratamientos a los días 0, 7, 14 y 21.

Los índices eritrocitarios promedios (volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)); permitieron observar que en el día cero las anemias fueron normocíticas y normocrómicas.

Las variaciones promedio de los índices eritrocitarios para el tratamiento Doxiciclina se recuperan totalmente a los 21 días, como se observa en el Cuadro 3. Para el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina; los índices eritrocitarios estuvieron siempre en rangos de referencia, como se observa en el Cuadro 4.

Cuadro 3. Promedios de los índices eritrocíticos de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Índices Eritrocitarios ^{1, 2}		
	VCM (FL)	HCM (PG)	CHCM (g/dL)
21	69.03 ± 0.90 a	27.78 ± 0.66 a	30.02 ± 0.75 a
14	70.48 ± 0.90 a	24.14 ± 0.66 b	33.94 ± 0.75 b
7	69.12 ± 0.90 a	23.59 ± 0.66 b	32.39 ± 0.75 b
0	68.36 ± 0.90 a	22.99 ± 0.66 b	33.75 ± 0.75 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

² Índices eritrocitarios: VCM = Volumen corpuscular medio,
HCM = Hemoglobina corpuscular media,
CHCM = Concentración de hemoglobina corpuscular media.

Cuadro 4. Promedios de los índices eritrocíticos de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Índices Eritrocitarios ^{1, 2}		
	VCM (FL)	HCM (PG)	CHCM (g/dL)
21	66.79 ± 1.45 a	23.96 ± 1.47 a	30.91 ± 0.83 a
14	62.67 ± 1.45 a	25.88 ± 1.47 a	32.24 ± 0.83 a
7	68.21 ± 1.45 a	25.28 ± 1.47 a	30.41 ± 0.83 a
0	65.38 ± 1.45 b	21.51 ± 1.47 a	32.93 ± 0.83 a

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

² Índices eritrocitarios: VCM = Volumen corpuscular medio,
 HCM = Hemoglobina corpuscular media,
 CHCM = Concentración de hemoglobina corpuscular media

4.3. Recuento plaquetarios evaluados post tratamientos a los días 0, 7, 14 y 21.

Los recuentos plaquetarios de ambos tratamientos permitieron determinar que a partir del día 7 todos los pacientes se recuperaron de la trombocitopenia, llegando a valores considerados dentro de los rangos de referencia.

Cuadro 5. Promedios del recuento plaquetario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Serie Plaquetar ¹ Plaquetas (k/ul)
21	323.85 ± 21.17 a
14	266.65 ± 21.17 a
7	270.60 ± 21.17 a
0	83.20 ± 21.17 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

Cuadro 6. Promedios del recuento plaquetario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Serie Plaquetar ¹ Plaquetas (k/ul)
21	259.60 ± 18.01 a
14	260.35 ± 18.01 a
7	254.90 ± 18.01 a
0	48.55 ± 18.01 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

4.4. Recuento leucocitario.

Los principales hallazgos para el recuento leucocitario, determinaron que los pacientes en el día cero mostraron un 65 % leucopenia, un 32.5% neutropenia y un importante 52.5 % evidenciaron panleucopenia como se observa en los Anexos 4 y 5.

Los promedios de leucocitos para el tratamiento Doxiciclina, permitió determinar que la leucopenia se recupera al día 21; como se observa en el cuadro 7.

Los valores promedios de leucocitos del tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina en la primera semana mostraron leucopenia, la misma que se recupera a los 7 días manteniéndose hasta el fin del tratamiento.

Comparando los recuentos leucocitarios de ambos tratamientos, se determinó el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina permitió la recuperación de los recuentos leucocitarios en menor tiempo, considerándose a este tratamiento que presenta un mejor perfil terapéutico.

Cuadro 7. Promedios del recuento leucocitario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Serie leucocitaria ¹ Leucocitos (k/ul)
21	13335 ± 817.64 a
14	9280 ± 817.64 b
7	11370 ± 817.64 a
0	105330 ± 817.64 a

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

Cuadro 8. Promedios del recuento leucocitario de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de evaluación	Serie leucocitaria ¹ Leucocitos (k/ul)
21	11315 ± 942.88 a
14	9805 ± 942.88 a
7	11895 ± 942.88 a
0	7730 ± 942.88 b

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

Los promedios del recuento leucocitario diferencial en ambos tratamientos, los linfocitos, Eosinófilo y basófilos, como se observa en los Cuadros 9 y 10; no mostraron diferencias estadísticas significativas durante la duración de los tratamientos.

Los promedios de los neutrófilos abastionados en el tratamiento Doxiciclina, como se observa en el Cuadro 9; disminuyen a los 14 días pero luego se recuperan a valores normales a los 21 días. Respecto a los neutrófilos segmentados no mostraron durante el tratamiento.

Los promedios de neutrófilos en el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina; llegan a valores referenciales desde el día 7 post tratamiento como se observa en el Cuadro 10.

Cuadro 9. Promedios del recuento leucocitario diferencial de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de Evaluación	Serie Blanca ¹					
	ABASTONADOS	SEGMENTADOS	LINFOCITOS	EOSINOFILOS	MONOCITOS	BASOFILOS
21	133.35 ± 8.18 a	9062.10 ± 594.88 a	3239.10 ± 322.43 a	487.45 ± 169.81 a	413.00 ± 51.78 a	0.00
14	92.80 ± 8.18 b	5870.15 ± 594.88 b	2272.75 ± 322.43 a	529.60 ± 169.81 a	514.70 ± 51.78 a	0.00
7	113.70 ± 8.18 a	7280.50 ± 594.88 b	2801.15 ± 322.43 a	620.25 ± 169.81 a	554.40 ± 51.78 a	0.00
0	105.30 ± 8.18 a	7435.90 ± 594.88 b	2103.95 ± 322.43 a	537.30 ± 169.81 a	347.55 ± 51.78 b	0.00

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

Cuadro 10. Promedios del recuento leucocitario diferencial de Canis familiaris post tratamiento con Doxiciclina - Amoxicilina, evaluados a los días 7, 14, 21.

Días de Evaluación	Serie Blanca ¹					
	ABASTONADOS	SEGMENTADOS	LINFOCITOS	EOSINOFILOS	MONOCITOS	BASOFILOS
21	113.15 ± 9.43 a	7608.05 ± 9.43 a	2541.75 ± 307.99 a	652.40 ± 120.35 a	422.15 ± 48.28 a	0.00
14	98.05 ± 9.43 a	6120.30 ± 9.43 a	2607.95 ± 307.99 a	547.90 ± 120.35 a	430.80 ± 48.28 a	0.00
7	118.95 ± 9.43 a	7870.20 ± 9.43 a	3023.85 ± 307.99 a	439.35 ± 120.35 a	442.65 ± 48.28 a	0.00
0	77.30 ± 9.43 b	5593.80 ± 9.43 a	1382.95 ± 307.99 b	381.75 ± 120.35 a	294.20 ± 48.28 a	0.00

¹ Medias con una letra común en cada columna y en cada periodo evaluado no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) para la prueba de Tukey.

V. DISCUSIÓN

Los periodos post infección de ehrlichiosis promedio para ambos tratamientos fue de 3.05 meses, y con promedios individuales de 2.9 y 3.2 meses para los tratamientos de Doxiciclina y Doxiciclina - Amoxicilina respectivamente (Anexos 8), datos que concuerdan con Sainz y otros (2000) quien reporta que los perros infectados más de tres meses pasan a la fase crónica mostrando signos hematológicos moderados debido a la respuesta inmune insuficiente para eliminar la enfermedad.

Los signos clínicos más importantes fueron la depresión, hiporexia, fiebre, petequias, abdomen incrementado, linfadenomegalia, epítasis, uveítis, entre otros (Anexo 3); hallazgos que coinciden con los reportes de Breitschwerdt (2007); Greene (2007); y Harrus, Waner y Neer (2007), coincidiendo también que la epistaxis se produce en el 50 % de afectados según Beaufils (1997). En el estudio no reportamos perros con afecciones neurológicas, datos que coinciden con los reportes de Harrus, Waner y Neer (2007).

La raza mestiza fue la más afectada, con un promedio total 37.5 %, seguido de los shih tzú con un 10 % y poodle y labrador con un 7.5% (Anexo 6 y 7). Se asume que la población de perros mestizos es más afectada debido al número de perros mestizos y adicionalmente éstos no tienen las condiciones de vida adecuadas para la prevención a la exposición de las garrapatas. Este hallazgo coincide con lo reportado por Chavera (1982) y Villanueva (2014); sin embargo no coincide con los reportes de Harrus, Waner y Neer (2007); Greene (2007), donde reportan que los perros más afectados fueron perros de razas puras. Estas diferencias se deben probablemente a la preferencia de criar perros de pura raza, al tipo de clima y medio ambiente de las investigaciones, sin embargo los hallazgos similares comparten condiciones

medioambientales.

El hecho de que la enfermedad involucra a un número importante de razas, sexos y edades (Anexos 6 y 7); se demuestra que no existe predisposición y condición alguna para la infección por la ehrlichiosis canina; datos que coinciden con los reportes de Waner y Harrus (2000); Lapin y Tumwald (2004); Greene (2007) y Villanueva (2014).

Las alteraciones patológicas encontradas en los hemogramas permitieron establecer que las principales alteraciones fueron: anemia en un 61%, la trombocitopenia en un 95% y la leucopenia, neutropenia, linfopenia en un 44% (Anexo 4 y 5), datos que coinciden con lo reportado por Ettinger (1992); Hoyos (2005); Hoyos y otros., (2007); Greene (2007); Walker (2009) y Villanueva (2014); quienes afirman que aquellos animales que tienen signos clínicos de la enfermedad, manifiestan trombocitopenia, leucopenia, anemia. Esto se debe a que el microorganismo invade a las células mononucleares y a las células circulares como los glóbulos rojos provocando aplasia medular produciendo las alteraciones patológicas.

En la presente investigación, los índices eritrocitarios promedio fueron para el VCM 66.58 fL, HCM 22.09 pg y CHCM 34.87 g/dL, permitiendo determinar y clasificar como principal alteración a la anemia como normocítica normocrómica, datos que coinciden con los reportes de Greene (2007); Villanueva (2014); quienes reportan que la principal anemia es la normocítica, normocrómica, regenerativa.

La anemia fue el principal hallazgo patológico de la serie roja, predominando la anemia normocítica – normocrómica con un 61 %; seguida de la normocitosis e hipocromía con un 19%; datos que coinciden con lo reportado por Moreira y otros (2005); Harrus y otros

(1997) y Villanueva (2014); autores que afirman este hallazgo debido al daño en la médula ósea originado por una supresión en la producción de eritrocitos y la destrucción de estos.

La trombocitopenia representó el principal hallazgo patológico en todos los hemogramas; alcanzando un 95 %, datos que coinciden con lo reportado por Sainz y otros, (2000) Dumler y otros, (2001), Bulla y otros, (2004), Lappin y Turnwald, (2004), Brockus y Andreasen, (2005); Walker (2009) y Villanueva (2014). Todos ellos, afirman que la trombocitopenia es considerada como la anormalidad hematológica más común y consistente de perros, infectados con *E. canis* y está atribuida a múltiples mecanismos en los diferentes estados de la enfermedad tanto aguda, subclínica y crónica; convirtiéndose en el signo más consistente en los perros infectados. Así mismo coincide con Greene (2007), quien afirma que la anormalidad hematológica más común es la trombocitopenia en perros infectados con *E. canis*, y se produce en todas las fases de la enfermedad. Mientras mayor sea la magnitud de la trombocitopenia, mayor será la posibilidad para la detección de *E. canis*.

En la serie blanca y el recuento diferencial, se evidenció que la principal alteración fue la leucopenia, seguida de la neutropenia y linfopenia, representando un 44 %; datos que coinciden con lo reportado por Greene (2000); Adrianzén (2003); Sodikoff (2001) y Villanueva (2014). Quienes afirman como principales hallazgos en la serie blanca son: leucopenia, neutropenia y linfopenia esto debido a que la replicación del microorganismo infectado ocurre dentro de las células mononucleares.

El tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina permitió la recuperación más pronta y eficaz en todos los valores del hemograma, mostrando diferencias estadísticas respecto al tratamiento Doxiciclina. El hecho de que el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina haya mostrado mejor actividad

clínica, se evidenciada en las respuestas clínicas y en las variaciones en el hemograma completo, confirmando que la polifarmacia es más eficaz que la monofarmacia, teniendo en cuenta que la población bacteriana y las infecciones multisistémicas en ehrlichiosis incluyen bacterias gram negativas y gram positivas oportunistas y secundarias. Por lo tanto doxiciclina mostró una actividad eficaz contra gram negativas, sumado a la actividad antimicrobiana de amoxicilina que es específica a las gram positivas. Esto permitió comprobar que pacientes tratados con el tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina mostraron mejores respuestas clínicas y mejores resultados en los hemogramas completos.

VI. CONCLUSIONES

- El tratamiento de ehrlichiosis canina con Doxiciclina - Amoxicilina mostró recuperación de los valores hematológicos en el día 7 post-tratamiento, mientras que utilizando el tratamiento Doxiciclina la recuperación ocurrió al día 14.
- La polifarmacia, asociando doxiciclina con amoxicilina, mejora la respuesta clínica y favorece la recuperación del paciente con ehrlichiosis.

VII. RECOMENDACIONES

- Considerar el Test de Elisa como prueba principal en el diagnóstico de ehrlichiosis canina.
- Realizar exámenes complementarios como hemogramas, uroanálisis, bioquímica renal y hepática.
- Utilizar en la práctica terapéutica la asociación de doxiciclina más amoxicilina, por su mejor respuesta clínica, bajo costo, fácil absorción, distribución y tolerancia, escasos efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Adriánzén, J., Chávez, V., Casas, E., y Li, O. 2003. Seroprevalencia de la Dirofilariosis y Ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. SCIELO, Lima. 14(1):43-47.

Beaufils, J. 1997. Ehrlichiosis clinical aspects in dogs and cats. internacional forum on ticks and tick – borne disease, compedium on continuing education for the practicing veterinarian. p. 57-61.

Botelho De Castro, M., Machado, R.; Tomas De Aquino. L.; Alessi, A. y Costa, M. 2004. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological findings. Veterinary Parasitol.119 (1):73-86.

Breitschwerdt, E. 2007. Patógenos bacterianos intracelulares obligados. En Tratado de Medicina Interna Veterinaria, capítulo 166, sexta edición, Editorial Elsevier Saunders, capítulo 166, p. 633 – 634.

Brockus, C., Andreasen, C. 2005. Eritrocitos *in*: Patología Clínica Veterinaria. Ed. Multimedia Ediciones Veterinarias. Barcelona, España, p. 1 – 52.

Buller, R., Arens, M., Hmiel, S., Paddock, C., Sumner, J., Rikihisa, Y., Unver, A., Gandreault-keener, M., Manian, F., Liddell, A., Sehmulewitz, N., and Storch G. 1999. *Ehrlichia ewingii*, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. New england journal of medicine, England. 34(1):148-155.

Casadeval A. 2003. Antibody-Mediated immunity against intracellular pathogens: Two dimensional thinking comes full circle. Journal infection and immunity. 71(1):4225-4228.

Congreso Nacional De Ciencias Veterinarias VII, 1982. Ehrlichiosis canina en el Perú. Ed. por Chavera A., Viera, F. y Samamé, H. Ica, Perú.

Dagone, A., De Morais, H., Vidotto, M., Jojima, F., Vidotto, O. 2003. Ehrlichiosis in anemia, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. *Vet. Parasitol.* 117(4):285-90.

D`anjou, M. 2010. Hígado *in*: Atlas de ecografía en pequeños animales. Trad. Por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedia Ediciones Veterinarias. p. 205 – 247.

D`anjou, M. 2010. Riñones y uretères *in*: Atlas de ecografía en pequeños animales. Trad. Por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedia Ediciones Veterinarias. p. 323 – 347.

De Morais, H., Hoskins, J., Pereira, N., Labarthe, N. 2004. Guidelines for diagnosis and management of dogs infected with *Ehrlichia spp.* *Clínica veterinaria.* 48(2):28-30.

Dumler, J., Barbet, A., Bekker, C., Dasch, G., Palmer, G., Ray, S., Rikisha, Y. Y Rurangirwa, F. 2001. Reorganization of genera in the family *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *rickettsiales*. Unificating of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description 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 Microbiol.* 51(6):2145-2165.

Dun, J. 2012. Alteraciones en el número de leucocitos *in*: manual de hematología y transfusión en pequeños animales. Trad. por Merchan M. Barcelona España, Ediciones S p. 129 – 155.

Excebio, C. 2001. Estadística aplicada a la investigación científica en ciencias de la Salud. Editorial Exlon p. 12 – 20.

Ettinger, S.1992. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del Perro y del Gato, México, Inter. Medica. p. 297 – 299.

Feng, H., and D. Walker. 2004. Mechanism of Immunity to *Ehrlichia muris*. A model of monocytotropic ehrlichiosis. American Society for Microbiology. 72(2):966-971.

Fernandez, P. 2003. Garrapatas que parasitan a las personas en Castilla y León, determinación por serología de su parasitismo y detección molecular de los patógenos que albergan. Tesis doctoral. Castilla y León, España. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad de Salamanca. 196 p.

Fermin, L. 2008. Citología del frotis sanguíneo. In: Atlas de citología clínica del perro y el gato. Ed. Diseño y Comunicación Servet S.L. Navarra, España. SERVET, p. 322 – 362.

Greene, R. 1997. Ehrlichiosis canina implicaciones de factores Humorales 317–320. En Kira ed. Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales. 12va Ed. McGraw-Hill. Interamericana. México.

Greene, C. 2000. Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos. Segunda edición McGraw-Hill Interamericana. México.

Hecht, S. 2010. Bazo *in*: Atlas de Ecografía en Pequeños animales. Trad. Por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedia Ediciones Veterinarias. p. 249 – 265.

Harrus, S., Waner, T., Weiss, D., Keysary, A., y Bark, H. 1996. Kinetics of Serum Antiplatelet Antibodies in Experimental Acute Canine Ehrlichiosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 51(1-2):13-20.

Harrus, S., Waner, T., Eldor, A., Zwang, E., y Bark, H. 1996. Platelet Dysfunction Associated with Experimental Acute Canine Ehrlichiosis. *Vet. Rec.* 139(10):290-293.

Harrus, S., Waner, T., Avidar, Y., Bogin, E., Huo-Cheng, P. y Bark, H. 1996. Serum Protein Alterations in Canine Ehrlichiosis. *Veterinary Parasitology*. 66(3-4):241-249.

Harrus, S., Waner, T. y Bark, H. 1997. Canine monocytic Ehrlichiosis Update. *Com. Cont. Ed. Pac. Vet.* p. 431-444.

Harrus, S., Kass P., Klement, E. y Waner, T. 1997. Canine Monocytic Ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. *Vet. Rec.* 141(10-11):360-363.

Harrus, S., Waner, T. y Neer, M. 2007. Ehrlichia and Anaplasma infections, capítulo 26. En: *Infectious diseases of the dog and cat*. Editorial ELSEVIER, Cuarta edición, Georgia, EE. UU., p. 227 – 238.

Hoyos, L., Li, O., Alvarado, A., Suarez, F., Diaz, D. 2007. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. *Rev. Inv. Vet, Peru.* 18(2):129-135.

Hoyos, S. 2005. Evaluación del Examen Hematológico y la Técnica Indirecta de ELISA en el Diagnóstico Clínico Laboratorial de Ehrlichiosis

Canina. Tesis de pre grado. Lima, Perú. Facultad de Ciencias Veterinarias: Universidad Mayor de San Marcos, 104 P.

Knowles, T., Allegan, A., Sorenson, H., Marciano, D., Breitschwerdt, E., Aarhus, S., Barbet, A., and Bélanger, M. 2003. Characterization of the Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia chaffeensis* and its Application for Serodiagnosis of Ehrlichiosis. American Society for Microbiology. 10(4):520-524.

Lappin, M., Turnwald, G. 2004. Microbiología y enfermedades infecciosas. *In: Diagnostico Clinicopatológico Practico en Pequeños Animales*. Ed. por M. Willard, H. Tvedten. Cuarta Edición. Buenos Aires, Argentina, Intermedica. p. 333-357.

Lemos, M. 2002. Antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas, capítulo 36. En *Farmacología y terapéutica Veterinaria*. Editorial Mc Graw-Hill, Segunda edición, Madrid, España., p. 468 – 472.

Lewis, D. 2012. Trombocitopenia Inmunomediada. *In: Manual de Hematología y transfusión en pequeños animales*. Trad. por Merchan M. Barcelona España, Ediciones S. p 303 – 312.

López, J., Rivera, M., Concha, J., Gatica, S., Loeffeholz, M., Barriga, O. 2003. Serologic Evidence for Human Ehrlichiosis in Chile. *Rev. Med. Chile*. 13(1):67-70.

Martin-Jimenez, T. 2002. Antimicrobianos que actúan en la pared bacteriana, Capítulo 35, en *Farmacología y terapéutica Veterinaria*, Editoria Mc Graw-Hill, Segunda edicion, p. 459 - 463

Mackin, A., 2012. Anemia Hemolítica Inmunomediada in: Manual de Hematología y Trasfusión en pequeños animales. Trad. por Merchan M. Barcelona España, Ediciones S. p. 91 – 105.

Mcbride, J., Corstvet, R., Breitschwerdt, E. and Walter, D. 2001. Inmunodiagnosis of *Ehrlichia canis* Injection with Recombinant Proteins. Journal of Clinical Microbiology. 39(4):315-322.

Medi-Test Combi 10®SGL. 2011. Reliable urinalysis at the point of care. [En línea]: Mancherey-nagel, (<http://www.mn-net.com/tabid/10385/default.aspx>, Documentos, 01 Nov. 2012).

Murphy, K., Pappasouliotis, K. 2012. Diagnóstico de enfermedades protozoarias y de enfermedades transmitidas por artrópodos. En: Manual de Diagnóstico de laboratorio en Pequeños Animales. Ed. por E. Villiers, L. Blackwood. Barcelona, España, Ediciones S. p. 597-608.

Neer, T. 2000. Ehrlichiosis Monocítica y Granulocítica Canina. En: Enfermedades Infecciosas en perros. Ed. por C. Greene. México, McGraw-Hill Interamericana.p. 153-163.

Nyland, T., Mattoon, J., Herrgesell, E., Wisner, E. 2004. Hígado En: Diagnóstico ecográfico en pequeños animales. Trad. por J. Pastor. 2 ed. Barcelona, España, Multimédica ediciones veterinarias. p. 98-132.

Nyland, T., Mattoon, J., Herrgesell, E., Wisner, E. 2004. Bazo. En: Diagnóstico ecográfico en pequeños animales. Trad. por J. Pastor. 2 ed. Barcelona, España, Multimédica ediciones veterinarias. p. 136-150.

Parnell, N. 2004. Ehrlichiosis Canina. p: 1122-1124, En Morgan, R. (ed). Clínica de Pequeños Animales. El Servier. España.

Penninck, D. 2010. Tracto Gastrointestinal. En: Atlas de Ecografía en pequeños animales. Trad. por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedia Ediciones Veterinarias. p. 267 – 301

Penninck, D. 2010. Páncreas en: Atlas de Ecografía en pequeños animales. Trad. por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedia Ediciones Veterinarias. p. 303 – 321

Prescott, L., Harley, J. and Klein, D. 1999. Microbiología. 4 Ed. España, McGraw-hill Interamericana. 475p.

Rikisha, Y., Ewing, S., Fox, J., Siregar, A., Pasariba, F. and Malole, M.. 1992. Analysis of *Ehrlichia canis* and canine granulocytic *Ehrlichia* infection. Journal of clinical Microbiology. 30:143-148.

Ristic, M. and Holland, C. **1993**. Canine Ehrlichiosis. *In*: Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic animals. Ed. Por Z. Woldchikow, M. Ristic. Pergamon Press, Oxford, United Kingdom. p. 169-186.

Riviere, J., Spoo, J. 2001. Tetracycline antibiotics. 8ed. Iowa State University Press. Iowa, USA. P 828-840

Rodríguez-Vivas, R., Albornoz, R., Bolio, G. 2004. *Ehrlichia canis* in Dogs in Yucatán, Mexico. Seroprevalence, Prevalence of Infection and Associated factors. Veterinary Parasitology. 127(1):75-9

Sainz, A., Amusatague, I., Rodríguez, F. y Tesouro, M. 2000. Las Ehrlichiosis en el Perro. Presente y futuro. Profesión Veterinaria. 12(47):22-28.

Stell, R., Torrie, J. 1985. Bioestadística; Principios y procedimientos. Trad. por Ricardo Martínez. 2ed. Bogotá, Colombia, Mc Graw-Hill. 622p

Sodikoff, H. 2001. Pruebas Diagnósticas y de Laboratorio en las Enfermedades de Pequeños Animales. 3 Ed. Mosby/Doyma Libros. S.A. España. 594 p.

SUMANO, H., y Ocampo, L. 2006. Farmacología Veterinaria. México D.F., México. 3 Ed. Mc Graw Hill. P. 170-189, p 235-248.

Sutherland, J., y Smith 2010. Vejiga y Uréteres. *In*: Atlas de Ecografía en pequeños animales. Trad. por Pastor, J. Barcelona, España, Multimedica Ediciones Veterinarias. p 349 – 365.

Topper, M., Welles, E., 2005. Hemostasia. *In*: Patología Clínica Veterinaria. Ed. Multimedica Ediciones Veterinarias. Barcelona, España. p. 121 – 165.

Villanueva, K. 2014. Tesis: Alteraciones patológicas en análisis clínicos de *Canis familiaris* con ehrlichiosis diagnosticados mediante inmunocromatografía, en el distrito de Trujillo-2014. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo – Perú.

Villers, E. 2012. Alteraciones de los eritrocitos. *In*: Manual de Diagnóstico de laboratorio en Pequeños Animales. Ed. por E. Villiers, L. Blackwood. Barcelona, España, Ediciones S. p. 47-81.

Walker, D. 2009. Frotis de sangre periférica. *In*: Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato. Trad. por Montes S., Matellanes, R. y Soto A.. Tercera Edición. Barcelona España, ELSEVIER. p, 387 – 418.

Waner, T., Harrus, S. 2000. Ehrlichiosis monocítica canina. [En línea]: IVIS, (http://www.ivis.org/advances/infect_dis_carmichael/waner_es/ivis.pdf, journals, 28 Nov. 2012).

Weiss, D., Tvedten, H. 2004. Trastornos eritrocitarios. *In*: Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los Pequeños animales. Trad. por Hure, A..Cuarta Edición. Buenos Aires, Argentina, Intermedica. p. 39-63.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha clínica

Datos del paciente y constantes fisiológicas

Nombre:..... Temperatura:

Edad:..... Frecuencia cardiaca:.....

Raza:..... Frecuencia respiratoria:.....

Sexo:

Anamnesis:

.....
.....

Examen clínico

Signología:

.....
.....
.....
.....

Sintomatología:

.....
.....
.....
.....

Kit Sanp 4Dx: SEROPOSITIVO

Anexo 2. Hemograma.

Paciente :
 Médico :
 Veterinaria :
 Edad : Raza: Sexo:

ANÁLISIS RESULTADO	RANGO REFERENCIAL
Hematíes	(5.5 – 8.0) m/ul
Hemoglobina	(12.0 – 18.0) g/dl
Hematocrito	(37.0 – 50.0) %
VCM	(60.0 – 77.0) fL
HCM	(21) pg
CHCM	(32.0 – 36.0) g/dl
Plaquetas	(200 – 350) k/ul
Leucocitos	(9.0 – 13.0) k/ul
Formula diferencial	
Segmentados	(65 – 70) %
Abastionados	(0 – 1) %
Linfocitos	(15 – 30) %
Monocitos	(2 – 3) %
Eosinófilo	(2 – 5) %
Basófilos	(0 – 1) %
Neutrófilos	(65 – 70) %

Fuente referencial: Dx Vet – Laboratorio Clínico e Imagenología Veterinaria.

Anexo 3. Signos clínicos en Canis familiaris en el día cero para los tratamientos Doxiciclina y Doxiciclina - Amoxicilina.

Signos Clínicos	tratamientos			
	Doxiciclina	%	Doxiciclina - Amoxicilina	%
Depresión	20	100	20	100
Hiporexia	20	100	20	100
Fiebre	18	90	19	95
Petequias	17	85	18	90
Abdomen incrementado	16	80	14	70
Linfadenomegalia	14	70	16	80
Uveítis	13	65	15	75
Hemorragia nasal	11	55	8	40
Artritis	6	30	4	20
Ictericia	6	30	1	5

Anexo 4. Valores promedios absolutos de hemogramas del tratamiento Doxiciclina, a los días 0, 7, 14 y 21.

	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
Glóbulos Rojos	5.26	5.62	6.31	6.89
Hemoglobina	12.22	13.41	14.74	14.63
Hematocrito	35.98	39.65	43.58	45.32
VCM	68.36	69.12	70.48	69.03
HCM	22.99	23.59	24.14	27.78
CHCM	33.78	32.39	33.94	30.02
Plaquetas	83.20	271	266	324
Leucocitos	10530	11370	9280	13335
Abastionados	105.30	113.70	92.80	133.35
Segmentados	7435.90	7280.50	5870.15	9062.10
Linfocitos	2103.95	2801.15	2272.75	3239.10
Eosinófilo	537.30	620.25	529.60	487.45
Monocitos	347.55	554.40	514.70	413.00
Basófilos	0	0	0	0

Anexo 5. Valores promedios absolutos de hemogramas del tratamiento Doxiciclina - Amoxicilina, a los días 0, 7, 14 y 21.

	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
Glóbulos Rojos	4.31	5.24	5.51	6.93
Hemoglobina	9.49	12.08	12.04	13.53
Hematocrito	28.58	37.67	36.63	42.22
VCM	65.38	68.21	62.67	66.79
HCM	21.51	25.28	25.88	23.96
CHCM	32.93	30.41	32.24	30.91
Plaquetas	48.55	255	260	260
Leucocitos	7730	11895	9805	11315
Abastados	77.30	118.95	98.05	113.15
Segmentados	5593.8	7870.20	6120.30	7608.05
Linfocitos	1382.95	3023.85	2607.95	2541.75
Eosinófilo	381.75	439.40	547.90	652.40
Monocitos	294.20	442.65	430.80	422.15
Basófilos	0	0	0	0

Anexo 6. Canis familiaris según raza, sexo, edad y peso vivo tratados con Doxiciclina.

	NOMBRE	RAZA	SEXO	EDAD (años)	Peso vivo (kg)
1	PALOMA	MESTIZA	HEMBRA	6	9.80
2	PELUSA	PASTOR ALEMAN	HEMBRA	4	37.50
3	KEYSI	POODLE	HEMBRA	9	28.30
4	KOKA	MESTIZO	HEMBRA	4	6.30
5	KISSY	MESTIZO	HEMBRA	1	5.40
6	ZOE	COCKER SPANIEL	HEMBRA	3	14.70
7	SALMA	BULLDOG INGLES	HEMBRA	1	18.50
8	YANIRA	POODLE	HEMBRA	1	15.30
9	PRINCESA	MESTIZO	HEMBRA	3	18.20
10	JULIETA	SHIH TZU	HEMBRA	1	12.90
11	CANDY	MESTIZA	HEMBRA	2	20.30
12	TOTA	SCHNAUZER	HEMBRA	4	18.20
13	HERO	BASSET HOUND	MACHO	1	31.40
14	LUCAS	POODLE	MACHO	3	23.20
15	BENJAMIN	LABRADOR	MACHO	0.5	31.50
16	PELUCHIN	MESTIZO	MACHO	3	8.70
17	SEBASTIAN	LABRADOR	MACHO	2	45.20
18	MAYLO	COCKER SPANIEL	MACHO	2	23.40
19	RAMBO	BOXER	MACHO	5	35.10
20	LUCHIN	MESTIZO	MACHO	2	18.20

Anexo 7. Canis familiaris según raza, sexo, edad y peso vivo tratados con Doxiciclina - Amoxicilina.

	NOMBRE	RAZA	SEXO	EDAD (años)	Peso vivo (Kg)
1	MOTITA	SHIH TZU	HEMBRA	1	6.40
2	ROSS	LABRADOR	HEMBRA	3	45.5
3	LEYDI	POODLE	HEMBRA	0.5	7.20
4	OSA	MESTIZO	HEMBRA	1	10.00
5	LUNA	SCHNAUZER	HEMBRA	3	12.40
6	CAMILA	SHIH TZU	HEMBRA	0.5	1.20
7	LOBA	MESTIZO	HEMBRA	2	16.00
8	ESTRELLA	MESTIZO	HEMBRA	1	7.80
9	PEQUITA	MESTIZO	HEMBRA	2	15.00
10	TONY	PEQUINES	MACHO	1	7.50
11	RUSTY	MESTIZO	MACHO	9	10.20
12	YOSHI	MALTES	MACHO	0.5	3.20
13	BILY	MESTIZO	MACHO	2	12.20
14	REX	LABRADOR	MACHO	13	43.40
15	DOKY	MESTIZO	MACHO	1	8.20
16	PIOLIN	SHIH TZU	MACHO	4	10.00
17	BENJI	SHIH TZU	MACHO	1	5.70
18	ARGOS	ROTTWEILER	MACHO	3	45.30
19	BRANDO	LABRADOR	MACHO	2	43.50
20	TOBY	MESTIZO	MACHO	4	18.30

Anexo 8. Tiempo post presencia de garrapatas según historia clínica.

TRATAMIENTO				
Doxiciclina			Doxiciclina - Amoxicilina	
	Paciente	Tiempo (*)	Paciente	Tiempo (*)
1	HERO	3.00	TONY	5.00
2	PALOMA	2.00	RUSTY	4.00
3	PELUSA	3.00	YOSHI	3.00
4	KEYSI	5.00	MOTITA	4.00
5	LUCAS	1.00	BILY	1.00
6	BENJAMIN	5.00	REX	2.00
7	KOKA	7.00	ROSS	5.00
8	KISSY	2.00	LEYDI	6.00
9	PELUCHIN	1.00	DOKY	1.00
10	ZOE	3.00	OSA	4.00
11	SALMA	1.00	LUNA	2.00
12	SEBASTIAN	2.00	CAMILA	5.00
13	YANIRA	1.00	PIOLIN	1.00
14	PRINCESA	3.00	LOBA	6.00
15	MAYLO	5.00	ESTRELLA	3.00
16	RAMBO	2.00	BENJI	1.00
17	JULIETA	1.00	ARGOS	3.00
18	CANDY	3.00	BRANDO	2.00
19	TOTA	5.00	TOBY	3.00
20	LUCHIN	3.00	PEQUITA	3.00
	P R O M E D I O	2.90		3.20

**Anexo 9. Principales alteraciones leucocitarias en tratamientos
Doxiciclina y Doxiciclina - Amoxicilina al día cero.**

	TRATAMIENTO				
	Doxiciclina	%	Doxiciclina - Amoxicilina	%	%Total
Leucopenia	10	50	16	80	65
Neutropenia	5	25	8	40	32.5
Linfocitosis	2	10	3	15	12.5

Anexo 10. Principios de la técnica de ELISA para la detección de anticuerpos contra *E. canis*, mediante el Snap 4Dx®.

El Snap 4Dx ® es una prueba ELISA, que detecta antígeno de *Dirofilaria immitis*, anticuerpos para *Borrelia burgdorferi*, y anticuerpos para *E. canis* en muestras de plasma, suero o sangre completa de caninos. El dispositivo SNAP 4Dx, usa un formato propio de IDEXX, el color se desarrolla en puntos en la matriz de flujo para proveer los resultados del Test, los que se leen visualmente, método conocido como DOT ELISA. Los puntos separados son específicos para antígeno de *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma phagocytophilum* y anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* y *E. canis*. Luego de que los puntos han sido expuestos a la muestra y a otros reactivos durante la prueba, los puntos se volverán de color azul si la muestra es positiva, o permanecerán sin color si es negativa. El Snap 4Dx presenta las siguientes características para las pruebas antes mencionadas: Especificidad 100 %, Sensibilidad 99 %