

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



**EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL ÁCIDO TIÓCTICO EN**  
***Canis familiaris* CON EHRlichiosis CANINA TRATADOS**  
**CON DOXICICLINA EN EL DISTRITO DE TRUJILLO.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**ALVARO JAVIER OLAYA GUZMAN**

**TRUJILLO, PERÚ**

**2017**

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

-----  
M.V. M.Sc. Roberto Briones Cabellos  
PRESIDENTE

-----  
M.V. M.Sc. Vilma Patricia Guerrero Díaz  
SECRETARIO

-----  
M.V. Luis Abraham Ortiz Tenorio  
VOCAL

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

## **DEDICATORIA**

A Dios, quien me protege de todo lo malo y me bendice con todo lo bueno que encuentro en mi vida, que logra que me levante después de cada tropiezo y que me guía por el camino correcto de la vida.

A mis padres Hernán y Margarita, por su amor, su comprensión, sus consejos y enseñanzas; por apoyarme en todo lo que quiero lograr en la vida y me que nunca dejan que me apoyarme en cada uno de mis proyectos.

A mis hermanos: Carlos, Anita y Nando, por ser los mejores cómplices, mi apoyo incondicional, por cada decisión que tomaré y sé que ellos nunca me darán la espalda cuando me encuentre caído.

A mis grandes abuelitos Carlos y Victoria quienes hicieron de su pequeño jardín mi paraíso, donde las plantas y el pequeño zoológico pintado en la pared me acercaron a la naturaleza y al amor a los animales, sabiendo que siempre seré su campeón.

## **AGRADECIMIENTO**

A la facultad de Ciencias Agrarias, a la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a mis profesores en especial a Mery Lozano Ibáñez y el doctor Wilson Castillo Soto que nos supieron sobrellevar a pesar de los errores que he cometido y sobre todo a mi asesor y gran amigo José Luis Villena Suarez por su dedicación y entusiasmo en la elaboración de esta tesis, y a la Sra. Elena Santillán Díaz quien fue de gran apoyo para la elaboración de la misma y no puedo dejar de mencionar a mi colega y amigo Alain Suarez que con su ayuda este trabajo no hubiera podido ser logrado.

A los doctores, Francisco Carbajal, Oscar Centurión y José Villena, quienes me abrieron las puertas de su centro veterinario hace muchos años, para poder aprender a través de él, todo sobre esta hermosa profesión, y quienes a pesar de mis fallas siempre me brindaron la confianza y las oportunidades para poder crecer poco a poco en este largo camino y no renunciar pese a las adversidades que se presentarán.

A mis grandes amigos: José, Lisandro, Ernesto, Hernán, Néstor, por esta grandiosa amistad que ha ido creciendo por tantos años y que no tendrá fin y pido disculpas a mis grandes amigos que no alcance mencionar.

A los amigos y futuros colegas que esta profesión me permitió conocer: Gustavo, Diego, Rodrigo, Pamela, Joseph, Ricardo y sobre todo a mi hermano del alma Carlos Eduardo, con quienes hemos compartido muchos momentos memorables e imborrables en nuestra vida universitaria.

## ÍNDICE

	Pág.
CARATULA .....	i
APROBADO POR JURADO DE TESIS .....	ii
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
ÍNDICE .....	v
ÍNDICE CUADROS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Ehrlichiosis: historia y distribución geográfica .....	3
2.2 Diagnóstico de la ehrlichiosis .....	4
2.2.1. Diagnóstico clínico .....	4
2.2.2 Diagnóstico de laboratorio .....	5
2.2.3 Alteraciones de la bioquímica hepática. ....	7
2.3 Fisiopatología del daño hepático en ehrlichiosis canina. ....	8
2.4. Transaminasas marcadoras de lesión hepatocelular. ....	9
2.5. Terapéutica con doxiciclina en Canis familiaris .....	11
2.5.1. Ácido tióctico como antioxidante celular y efecto hepatoprotector .....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	13
3.1. Localización, espacio y tiempo .....	13
3.2. Materiales y equipos .....	13
3.2.1. Biológico .....	13
3.2.2. De campo: .....	14
3.3. Métodos .....	14
3.3.1. Método de ELISA Snap 4DX .....	14

3.3.2. Desarrollo de la técnica de ELISA indirecta.....	15
3.4.1 Recolección de la muestra de sangre.....	15
IV. RESULTADOS.....	18
V. DISCUSIÓN .....	22
VI. CONCLUSIONES .....	24
VII. RECOMENDACIONES .....	25
VIII. BIBLIOGRAFÍA .....	26
IX. ANEXOS.....	30

## ÍNDICE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Promedios de transaminasas hepáticas ALT y AST a los días 0, 7 y 14 en Canis familiaris con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico y doxiciclina.....	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Valores de transaminasas hepáticas Alanin amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST), de Canis familiaris con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico (Doxitioctico). ....	18
Figura 2. Valores de transaminasas hepáticas Alanin amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST), de Canis familiaris con ehrlichiosis tratados con doxiciclina (Doxi).....	19
Figura 3. Valores promedios de transaminasas hepáticas alanin amino transferasa (ALT) y aspartato amino transferasa (AST), de Canis familiaris con ehrlichiosis tratados con doxiciclina más ácido tióctico (Doxitioctico) y doxiciclina (Doxi) a los días 0, 7 y 14. ....	20



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Ficha clínica del paciente .....	31
Anexo 2. Transaminasas hepáticas de pacientes tratados con doxiciclina y ácido tióctico .....	32
Anexo 3. Transaminasas hepáticas de pacientes tratados con doxiciclina. ....	33
Anexo 4. Promedios de transaminasas hepáticas ALT y AST a los días 0, 7 y 14 en Canis familiaris con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico y doxiciclina. ....	34
Anexo 5. Imágenes ilustrativas obtenidas durante el Desarrollo del estudio .....	35

## RESUMEN

La investigación se realizó en el distrito de Trujillo, en 40 *Canis familiaris* con ehrlichiosis canina adultos de diferente raza y sexo diagnosticados mediante el test de ELISA, tratados con doxiciclina oral a dosis de 10mg/kg/día por un periodo de 14 días los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de 20 pacientes en el cual a uno se le coadministró ácido tióctico vía oral a dosis de 25mg/kg/día durante 14 días, con la finalidad de evaluar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico mediante la monitorización de las enzimas hepáticas alanin amino transferasa (ALT) y aspartato amino transferasa (AST), a los días 0,7 y 14. Las transaminasas de los pacientes del grupo tratado con doxiciclina y ácido tióctico mostraron una disminución con una diferencia significativa desde el día 7 hasta el final del tratamiento, sin embargo el grupo tratado con doxiciclina no mostró diferencia estadística hasta el final del tratamiento. La disminución de las transaminasas hepáticas observada en el grupo doxiciclina/ácido tióctico demuestra el efecto hepatoprotector del ácido tióctico en perros con ehrlichiosis canina tratados con doxiciclina.

## **ABSTRACT**

The research was conducted in the district of Trujillo in 40 *Canis familiaris* with canine ehrlichiosis adults of different race and sex diagnosed by the Elisa test, treated with oral doxycycline at a dose of 10mg / kg / day for a period of 14 days which were randomly divided into two groups of 20 patients in which one was coadministered with oral thioctic acid at a dose of 25mg / kg / day for 14 days in order to evaluate the hepatoprotective effect of thioctic acid by monitoring the enzymes Hepatic alanine amino transferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST) at days 0.7 and 14. The transaminases of the patients treated with doxycycline and thioctic acid showed a decrease with a significant difference from day 7 until the end of treatment, however, the doxycycline group did not show statistical difference until the end of the treatment. The decrease in hepatic transaminases observed in the doxycycline / thioctic acid group demonstrates the hepatoprotective effect of thioctic acid in dogs with canine ehrlichiosis treated with doxycycline.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones bacterianas intracelulares obligadas tienen gran importancia dentro del grupo de las enfermedades clínicas de pequeños animales, encontrándose dentro de éstas la ehrlichiosis canina; considerándose como una infección altamente prevalente, fácilmente transmisible y difícil de controlar. Los signos clínicos son inespecíficos, pero anormalidades de laboratorio son frecuentes, especialmente los cambios en la hematología y la bioquímica sérica (De Padua y otros, 2015).

La ehrlichiosis canina es una de las diversas enfermedades que han surgido como producto del importante crecimiento de la población canina, induciendo a los médicos veterinarios a estudiar y conocer esta enfermedad, implementando los métodos de diagnóstico que permitan obtener resultados confiables que conduzcan al éxito clínico en su resolución (Chavera y otros, 1982).

El agente etiológico es *Ehrlichia canis* (*E. canis*), bacteria gram negativa, que es transmitida por picadura de la garrapata parda del perro *Rhipicephalus sanguineus* (Mc Bride y otros, 2004).

El diagnóstico clínico de esta enfermedad, es sumamente importante, el mismo que incluye la anamnesis; las manifestaciones clínicas, síntomas y signos clínicos de los pacientes sospechosos. Los medios auxiliares más usados para el diagnóstico definitivo incluyen los exámenes de laboratorio, considerándose principalmente al hemograma completo, la bioquímica hepática, el uroanálisis y pruebas inmunológicas que incluyen la inmunocromatografía (Wen y otros, 1996).

Pocos profesionales se apoyan en los hallazgos o alteraciones orgánicas producidas por esta enfermedad, las mismas que se pueden evidenciar mediante la ecografía abdominal, que muestra principalmente alteraciones como la esplenomegalia y hepatomegalia, que han sido referidas por diversos autores (Sodikoff, 2001; Greene, 2007; Lockett y otros, 2009).

Por lo anteriormente mencionado, es importante tener en cuenta que la ehrlichiosis canina es una infección crónica enzoótica que tiene uno de sus blancos al hígado, adicionalmente la terapia de primera elección con doxiciclina se concentra y tiene metabolismo hepático, hecho que producen lesión de éste órgano; todos éstos motivos han impulsado a evaluar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico durante el tratamiento de la ehrlichiosis canina con doxiciclina, mediante la monitorización de las enzimas hepáticas ALT y AST semanal durante 14 días.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Ehrlichiosis: historia y distribución geográfica

Donatien y Lestoquard (1935), citado por Almosny (1998), describió por primera vez la ehrlichiosis canina en perrera de Argelia. Desde entonces algunas descripciones y hallazgos se reportaron en perros de África (Hildebrant y otros, 1972).

En 1945, se cambió el nombre de microorganismo a *E. canis* en homenaje a Paul Ehrlich. Posteriormente, fue reconocido en 1957 en Aruba, en la región de las Antillas Holandesas, asociada con *Babesia canis* y descrito en Oklahoma, EE.UU. (Mc Dade, 1990).

La enfermedad fue descrita en todos los continentes (Waner y otros, 1996) y la ehrlichiosis canina ha sido reconocida en ehrlichiosis monocítica canina (Harrus y otros, 1997)

De acuerdo con varios autores (De Morais y otros, 2004), los reportes de la enfermedad en Brasil consideran a la ehrlichiosis como enzoótica, según estimaciones y los datos recientemente obtenidos. De Morais y otros (2004), estimaron la prevalencia de ehrlichiosis canina en aproximadamente el 20% en varios estados como Paraná, Bahía, Río de Janeiro, Santa Catarina, Sao Paulo, Río Grande do Sul, Minas Gerais, Ceará, Alagoas, Pernambuco, Mato Grosso do Sul y el Distrito Federal. En un estudio retrospectivo realizado por Bulla y otros (2004), en Sao Paulo con 246 muestras, se encontró que 30.9% de las muestras tenían presencia de *E. canis*; considerándose como una enfermedad enzoótica en la ciudad de Botucatu, ya que las condiciones climáticas han favorecido la propagación de la garrapata *R. sanguineus*.

La incidencia de la ehrlichiosis es mayor en el verano (Keysary y otros, 2001 y Harrus y otros, 1997). Así mismo, Keefe y otros. (1982), mencionan que el estrés por calor aumenta la probabilidad de la aparición de enfermedades como la anaplasmosis y la ehrlichiosis.

## **2.2 Diagnóstico de la ehrlichiosis**

El diagnóstico de la ehrlichiosis canina suele establecerse basándose en una combinación de signos clínicos, anormalidades hematológicas, trombocitopatías, alteraciones bioquímicas hemáticas y datos serológicos (Greene, 2007).

### **2.2.1. Diagnóstico clínico**

La infección por *E. canis* puede causar un amplia gamma 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).

#### **2.2.1.1 Signos clínicos en fase aguda**

La sintomatología durante la fase aguda de la enfermedad variará desde la depresión, anorexia y fiebre a la pérdida sérica 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 (Greene, 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 (Greene, 2007).

### **2.2.1.2 Signos clínicos en fase subclínica**

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 (Greene, 2007).

### **2.2.1.3 Signos clínicos en fase crónica**

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 (Harrus y otros, 1997).

## **2.2.2 Diagnóstico de laboratorio.**

La evaluación serológica para ehrlichiosis se indica para perros que viven en áreas endémicas y con presencia de garrapatas del género *Rhipicephalus*, con presencia de signos clínicos, para lo cual en la actualidad hay diversas formas, donde se incluyen los frotices sanguíneos periféricos, la inmunocromatografía y las pruebas de ELISA, estas últimas han ganado popularidad debido a su alta especificidad y sensibilidad para detectar animales en diferentes fases de la enfermedad, actualmente son



las pruebas gold standart para el diagnóstico de la enfermedad (Lappin y Turnwald, 2004).

El diagnóstico de infección por *E. canis* puede establecerse mediante hallazgos de mórulas en células mononucleares, cultivos o mediante PCR, así mismo las especies de *E. canis* 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. La ehrlichiosis produce infecciones multisistémicas, afectando principalmente al tejido sanguíneo, secundariamente a órganos hematopoyéticos como el bazo y el hígado, así mismo presenta afectaciones renales (Lappin y Turnwald, 2004; Lewis, 2012).

Los anticuerpos circulantes se detectan en suero mediante IFA; no tienen reacción cruzada con antígenos de *Rickettsia rickettsii* o *Ehrlichia platys*, *Anaplasma phagocyphilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia ewingii* también pueden causar enfermedad en perros. La reacción cruzada de los anticuerpos contra estos agentes con antígenos de *E. canis* es variable y los perros infectados pueden ser seronegativos. (Greene y otros, 1992).

Los anticuerpos contra *E. canis* son detectables a partir de los 7 días y casi siempre están presentes 28 días después de la inoculación (Neer y otros., 2000). Los títulos de anticuerpos continúan aumentando durante semanas a meses después de la inoculación en perros con infección experimental no tratados. Los títulos de *E. canis* inferiores a 1:80 son sospechosos y se deben reevaluar al cabo de 14 a 21 días; un título de 1:80 o mayor es diagnóstico positivo. Los resultados positivos iniciales obtenidos con una prueba para usar en el punto de atención comercializada en fecha reciente (Snap 4Dx plus, IDEXX Laboratories) corresponden a títulos de 1:100. Los títulos positivos se negativizan 3 a 9 meses después

de la resolución de la infección; la persistencia de títulos durante un periodo de 9 meses o más sugiere estado portador. Sin embargo, los títulos positivos se mantuvieron durante meses después de un tratamiento aparentemente satisfactorio en algunos perros con infección natural (Wen y otros, 1996).

Los perros seropositivos con enfermedad clínica deben recibir tratamiento durante un periodo mínimo de 28 días y hasta la resolución de las anomalías clínicas y de laboratorio. La conveniencia de tratar a los perros sanos seropositivos es tema de controversia (Neer y otros, 2000).

### **2.2.3 Alteraciones de la bioquímica hepática.**

Harrus y otros (1997), reporto en su estudio que, dentro de las anomalías químicas de suero más frecuentes han incluido hiperproteinemia (33%), hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%), y actividades elevadas de ALT y AST (43 y 31% respectivamente). La hiperproteinemia es el resultado de niveles elevados de globulina, pero no existe ninguna correlación directa entre los niveles de globulinas séricas y anticuerpos séricos a *E. canis*.

Las principales anomalías bioquímicas vistas en los perros infectados con ehrlichiosis son la hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergammaglobulinemia. La electroforesis proteica sérica usualmente revela gammapatía policlonal, sin embargo, en raras ocasiones los perros infectados pueden presentar gammapatía monoclonal la cual puede ser mal diagnosticada como paraproteinemia. Los perros con pancitopenia presentan una significativa baja concentración de proteínas totales, globulinas totales y concentración de gammaglobulina en comparación con perros sin esta anomalía. La baja concentración de gammaglobulinas asociada a la pancitopenia sugiere que el estado inmune del animal

pancitopénico infectado con *E. canis* está más comprometido y, por lo tanto, las infecciones secundarias pueden ocurrir más frecuentemente en estos perros. Un aumento transitorio moderado en la actividad de la aminotransferasa y de la fosfatasa alcalina puede presentarse (De Morais y otros, 2004).

### **2.3 Fisiopatología del daño hepático en ehrlichiosis canina.**

Pacientes infectados con ehrlichiosis canina, al examen físico pueden mostrar incremento del volumen abdominal principalmente debido a una hepatomegalia y esplenomegalia. Las principales lesiones hepáticas son la congestión, la misma que produce un incremento de las lesiones de las membranas celulares y daño citoplasmático de los hepatocitos, consiguientemente la elevación de transaminasas es frecuente, pero la ictericia es rara. La biopsia hepática puede mostrar hepatitis y granulomas rodeados de un anillo fibrinoide y, en ocasiones, centrados sobre una vacuola grasa (lipogranuloma), dándoles el característico aspecto de donut. El diagnóstico suele hacerse mediante serología o PCR. El tratamiento de elección es doxiciclina. Otras rickettsiosis en las que el hígado se afecta con relativa frecuencia son la ehrlichiosis (en la que puede darse una hepatitis granulomatosa) y la fiebre botonosa mediterránea (Greene, 2007).

Las lesiones hepáticas son producidas principalmente por la replicación del microorganismo en la fase aguda, ocurre dentro de mononucleares infectados, entonces el microbio se disemina a órganos que contienen fagocitos mononucleares tales como el bazo, el hígado y los ganglios linfáticos. La hiperplasia linforreticular resultante es la responsable de la hiperplasia y por ende la hepatomegalia. Las células enfermas en apariencia, atacan la microvasculatura o migran a las superficies subendoteliales de los órganos blanco y se produce la vasculitis o inflamación (Greene, 2007).

#### **2.4. Transaminasas marcadoras de lesión hepatocelular.**

Para detectar enfermedad hepática a menudo resulta útil recurrir a las alteraciones en los parámetros de química sérica. Estas alteraciones pueden incluir la actividad alterada de las enzimas hepáticas por daño hepatocelular o por inducción de las enzimas, aumento de la concentración de sustancias que el hígado eliminaría normalmente, o alteraciones en la concentración de sustancias producidas o síntesis hepática. Estas alteraciones en la química sérica no tienen por qué ser específicas de enfermedad hepática y puede que no indique una causa específica de la disfunción hepática (Latimer, 2005).

La alanina aminotransferasa (ALT), antiguamente denominada transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), es una enzima presente mayoritariamente en los hepatocitos, aunque también se encuentra en bajas concentraciones en el músculo y los eritrocitos. La aspartato aminotransferasa (AST), también llamada transaminasa glutámico-oxalacética (GOT), está presente tanto en los hepatocitos como en el músculo y eritrocitos. Ambas enzimas se emplean en medicina de pequeños animales como marcadores de lesión hepatocelular (Latimer, 2005).

La totalidad de la ALT plasmática procede de los hepatocitos, teniendo la característica de ser específica. Es un marcador plasmático de lisis o lesión hepatocelular subletal, debido a que se encuentra en grandes cantidades en el citosol, aunque también está presente, en bajas concentraciones, en las mitocondrias de los hepatocitos. Una lesión reversible en las membranas plasmáticas que cause un aumento en su permeabilidad, puede originar elevaciones significativas en la actividad plasmática de la ALT por “escape” de la enzima (Latimer, 2005).

Sin embargo, la AST se encuentra en concentraciones elevadas en el hígado y en el músculo, tanto estriado como cardíaco. Los eritrocitos también contienen cantidades significativas de AST. La AST, al igual que la ALT, está presente en el citosol de los hepatocitos, aunque aproximadamente un 20% se halla contenida en las mitocondrias. Al igual que la ALT, se pueden producir aumentos en la actividad plasmática ante lesiones potencialmente reversibles en la membrana plasmática hepatocitaria (Latimer, 2005).

Aunque la procedencia de la mayor parte de ALT plasmática sea de origen hepático, el evento causante de la lesión hepatocelular puede tener una causa extra hepática. Por ejemplo, una hipoxia tisular como consecuencia de una insuficiencia cardíaca puede ocasionar una lesión en las membranas plasmáticas de los hepatocitos, causando un aumento significativo en la actividad sérica de ALT. De forma similar, en un estado de shock séptico también se produce una situación de hipoxia tisular con un incremento en la ALT sérica; y además, los productos tóxicos generados contribuyen en gran medida a la lesión hepatocelular. La ALT, la AST de origen hepático puede incrementarse por causas extra hepáticas, aunque debido a su mayor presencia en las mitocondrias, la magnitud en su incremento suele ser menor. La imposibilidad de diferenciar las lesiones reversibles de las lesiones letales en los hepatocitos limita el valor diagnóstico de ambas enzimas, aunque se estima que la magnitud del incremento plasmático de ambas enzimas se correlaciona con la extensión de la lesión hepática (Latimer, 2005).

La distribución de ambas enzimas en los hepatocitos es diferente dependiendo de su localización en el lobulillo hepático. La ALT se encuentra en mayores concentraciones en los hepatocitos periportales (zona 1 del lobulillo hepático), por lo que una lesión en los hepatocitos producida por una toxina de origen intestinal ocasionará, teóricamente un

mayor “escape” de ALT que de AST. La AST presenta concentraciones más elevadas en los hepatocitos periacinares (zona 3 del lobulillo hepático) (Latimer, 2005).

El tiempo de vida medio para el aclaramiento sérico de ALT y AST es controvertido y fluctúa desde 3 horas hasta varios días en el perro. Se estima que el tiempo de vida medio para la AST en el gato es de 77 minutos. Estos tiempos de vida medio pueden incrementarse significativamente en patologías hepáticas con pérdida de función, debido a una disminución en la recaptación y aclaramiento hepático de ambas enzimas. Ante un evento causante de lisis hepatocelular, la regresión de ambos valores a la normalidad se efectúa aproximadamente a las 2 semanas, una vez que cesa el agente causal (Latimer, 2005).

## **2.5. Terapéutica con doxiciclina en *Canis familiaris***

El tratamiento con doxiciclina (5 mg/kg cada 12 horas PO durante 4 semanas), 24 horas después de la visualización de mórulas en frotis de impresión (día 7). La fiebre disminuye en 12 horas y la resolución clínica de todos los signos clínicos se produce dentro de las 48 horas después de haber iniciado el tratamiento con doxiciclina. Los análisis bioquímicos muestran hipoalbuminemia (intervalo de referencia 2.5 a 3.5 g/dL), hiperbilirrubinemia (intervalo de referencia 0,3 hasta 0,8 mg/dL), el aumento de fosfatasa alcalina (ALP; intervalo de referencia < 250 U/L) y alanin aminotransferasa (ALT; rango de referencia < 40 UI/dL), aspartato aminotransferasa (AST; rango de referencia < 65 UI/dL). Post tratamiento todas las anomalías bioquímicas se resuelven después del día 20 post tratamiento. Resultados de hemogramas se normalizan en los días 20 y 40 (Sodikoff, 2001).

### **2.5.1. Ácido tióctico como antioxidante celular y efecto hepatoprotector**

El ácido  $\alpha$  lipoico, que desempeña un papel esencial en las reacciones de deshidrogenasa mitocondrial, recientemente ha ganado considerable atención como un antioxidante. Lipoato, o su forma reducida, dihidrolipoato, reacciona con especies de oxígeno reactivas tales como radicales superóxido, radicales hidroxilo, ácido hipocloroso, radicales peróxilo, y el oxígeno singlete. También protege las membranas mediante la interacción con la vitamina C y el glutatión, que a su vez puede reciclar la vitamina E. Además de sus actividades antioxidantes, dihidrolipoato puede ejercer acciones prooxidantes través de la reducción de hierro. La administración de ácido  $\alpha$ -lipoico ha demostrado ser beneficioso en un número de modelos de estrés oxidativo, tales como la lesión por isquemia-reperfusión, diabetes (tanto el ácido  $\alpha$ -lipoico y ácido dihidrolipoico exhiben hidrófobo de unión a proteínas tales como albúmina, que puede prevenir las reacciones de glicación) formación de cataratas, la neurodegeneración, y lesión por radiación. Además, lipoato puede funcionar como un regulador de redox de proteínas como la mioglobina, la prolactina, la tiorredoxina y factor de transcripción NF- $\kappa$ B. Se revisan las propiedades de lipoato en términos de reacciones con especies reactivas del oxígeno; las interacciones con otros antioxidantes; los efectos beneficiosos en los modelos de estrés oxidativo o condiciones clínicas (Packer y otros, 1995)

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1. Localización, espacio y tiempo.**

La presente investigación se realizó en los centros veterinarios Mi Mascota y CANES de la ciudad de Trujillo, lugares donde se evaluaron y diagnosticaron los pacientes enfermos.

La captación de casos fueron tomados en los consultorios veterinarios Mi Mascota y CANES, en donde se tomaron muestras sanguíneas en *canis familiaris* para realizar la prueba de ELISA y confirmar la ehrlichiosis canina, luego las muestras sanguíneas de plasma fueron remitidas a Dx Vet laboratorio clínico e imagenología veterinaria, donde se realizó las mediciones de las enzimas hepáticas, teniendo como inicio el mes de octubre y finalizó el mes de noviembre del año 2016.

#### **3.2. Materiales y equipos**

##### **3.2.1. Biológico**

En el presente estudio se trabajó con 40 especímenes de *Canis familiaris* de ambos sexos, adultos, con anamnesis y signos clínicos compatibles con la enfermedad; seropositivos a ehrlichiosis canina diagnosticados mediante la técnica de ELISA; a los que se les extrajo sangre para realizar las pruebas bioquímicas y medir las transaminasas ALT y AST y determinar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico al día siete y catorce del tratamiento con doxiciclina.



### 3.2.2. De campo:

- Sistema al vacío para extracción de muestras sanguíneas con anticoagulante y sin anticoagulante.
- Prueba de ELISA marca Snap 4 Dx plus ®.

### 3.3. Métodos

#### 3.3.1. Método de ELISA Snap 4DX

Esta es una prueba ELISA que detecta antígeno de *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*), anticuerpos para *Borrelia burgdorferi* (*B. burgdorferi*), *Anaplasma platys* (*A. platys*) y anticuerpos para *Ehrlichia canis* (*E. canis*), en muestras de plasma, suero o sangre completa de canino. 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 *D. immitis* y anticuerpos para *B. burgdorferi*, *E. canis* y *A. platys*. Estos puntos son áreas donde se han depositado y secado los anticuerpos para antígeno de *D. immitis* y los antígenos para *E. canis* y *B. burgdorferi*, de tal manera que se unirán a las antígenos de *D. immitis* y anticuerpos de *E. canis* y *B. burgdorferi* contenidos en la muestra.

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.

Especificidad 100%

Sensibilidad 99%

### **3.3.2. Desarrollo de la técnica de ELISA indirecta.**

Las muestras: sangre entera, suero o plasma canino pueden ser usados en esta prueba. En este estudio se usó sangre completa heparinizada.

Especies a las que se destina: caninos

Procedimiento:

- Las muestras fueron obtenidas de la vena cefálica mediante extracción por punción.
- Se homogenizó la muestra de suero sanguíneo, el mismo que se obtuvo por centrifugación de la sangre completa sin anticoagulante mediante centrifugación a 5000 rpm por cinco minutos.
- Utilizando la pipeta proporcionada, se agregó 3 gotas de la muestra al tubo para muestras.
- Manteniendo el frasco en posición vertical, se agregó 4 gotas de conjugado al tubo para muestras.
- Luego se tapó el tubo y se mezcló bien invirtiéndolo de 3 a 5 veces.
- Después se colocó el dispositivo SNAP sobre una superficie plana. Y se agregó el contenido completo del tubo al pozo para muestras, se dejará fluir por la ventanilla de resultados.
- Después de esperar que la muestra llegue al círculo de activación se presionó el activador hasta quedar al nivel con el cuerpo del dispositivo
- El dispositivo se mantuvo en posición horizontal.
- Luego de 8 minutos se procedió a leer el resultado.

#### **3.4.1 Recolección de la muestra de sangre**

La toma de muestras sanguínea se realizó mediante el sistema al vacío; parte de cada muestra fue enviada a Dx Vet Laboratorio Clínico e

Imagenología Veterinaria, para la realización del hemograma completo y la bioquímica hepática correspondiente conformada por las transaminasas ALT, AST.

Para realizar una correcta toma de muestras sanguíneas en los pacientes incluidos en el presente trabajo de investigación se siguió la siguiente secuencia:

- a) Identificación del paciente según el Anexo 1.
- b) Identificación de tubos al vacío con datos del paciente.
- c) Sujeción adecuada.
- d) Disposición y uso adecuado del material para extracción sanguínea, en tubos al vacío con EDTA para sangre entera y tubos al vacío sin EDTA para obtener suero.
- e) Desinfección del área de toma de muestra y rasurado en caso de ser necesario.
- f) Identificación de las venas cefálica y/o safena.
- g) Aplicación del hemostato.
- h) Extracción de la muestra.
- i) Envío de muestras al laboratorio dentro de la primera hora de haber sido obtenidas.

#### **3.4.2 Procedimiento para la realización de la bioquímica hepática**

Todas las muestras sanguíneas fueron obtenidas mediante punción venosa, en un tubo sin EDTA, para luego reposar y obtener el suero por centrifugación a 5000 rpm por 5 minutos.

El suero fue procesado en el analizador de bioquímica veterinaria automatizado Mindray BC 1200.

### **3.4.3 Población y muestra**

La muestra es no probabilístico y es condicional a perros diagnosticados con ehrlichiosis canina.

La población lo conforman 40 *Canis familiaris* con ehrlichiosis canina tratados con doxiciclina durante 14 días.

Los pacientes fueron agrupados homogéneamente en dos grupos de 20 pacientes cada uno, de los cuales a un grupo se le administró adicionalmente 0.5 mg/kg de ácido tióctico por vía oral por un periodo de 14 días, el otro grupo fue el testigo.

En ambos grupos se tomaron muestras sanguíneas a los cero, siete y catorce y se evaluaron los cambios en las transaminasas hepáticas ALT y AST para poder determinar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico.

### **3.5 Análisis estadístico**

Para la determinación del efecto hepatoprotector del ácido tióctico se usaron correlaciones estadísticas, el análisis de varianza y el Test de Tukey.

#### IV. RESULTADOS

El presente estudio se realizó en el Distrito de Trujillo, en 40 *Canis familiaris*, con ehrlichiosis canina, adultos de diferentes sexos, razas y edades, diagnosticados mediante el Test de Elisa, tratados con doxiciclina oral a dosis de 10 mg/kg/día por un periodo de 14 días, los cuales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de 20 pacientes cada uno. A un grupo se le coadministró ácido tióctico vía oral a dosis de 25 mg/kg/día/14 días (Grupo Doxitiótico), con la finalidad de evaluar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico mediante la monitorización de la transaminasas hepáticas alanin amino transferasa (ALT) y aspartato amino transferasa (AST), a los días 0, 7 y 14.

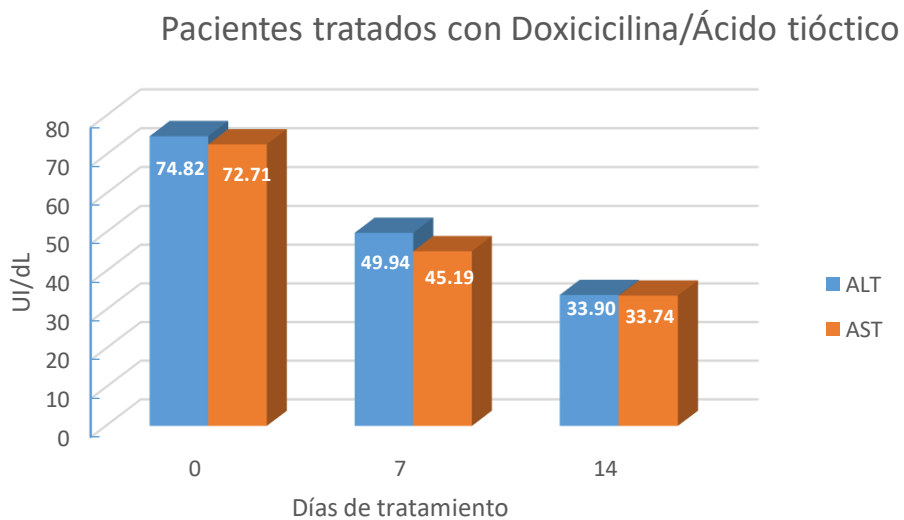


Figura 1. Valores de transaminasas hepáticas Alanin amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST), de *Canis familiaris* con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico (Doxitiótico).

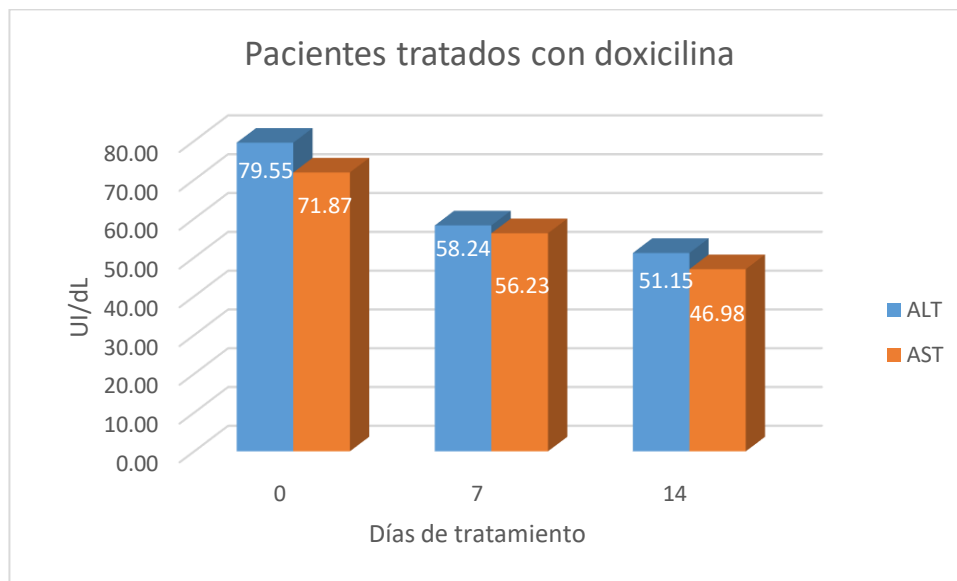


Figura 2. Valores de transaminasas hepáticas Alanin amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST), de *Canis familiaris* con ehrlichiosis tratados con doxiciclina (Doxi).

En las Figuras 1 y 2; el análisis de varianza y el Test de Tukey, permiten observar diferencias altamente significativas en cuanto a la actividad sérica de las transaminasas ALT y AST entre los tratamientos doxiciclina más ácido tióctico (Doxitioctico) versus el tratamiento con doxiciclina (Doxi). Estos resultados permiten evidenciar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico en el tratamiento de ehrlichiosis canina, donde se observa que la actividad sérica de las transaminasas ALT y AST fue menor en el tratamiento doxiciclina con ácido tióctico.

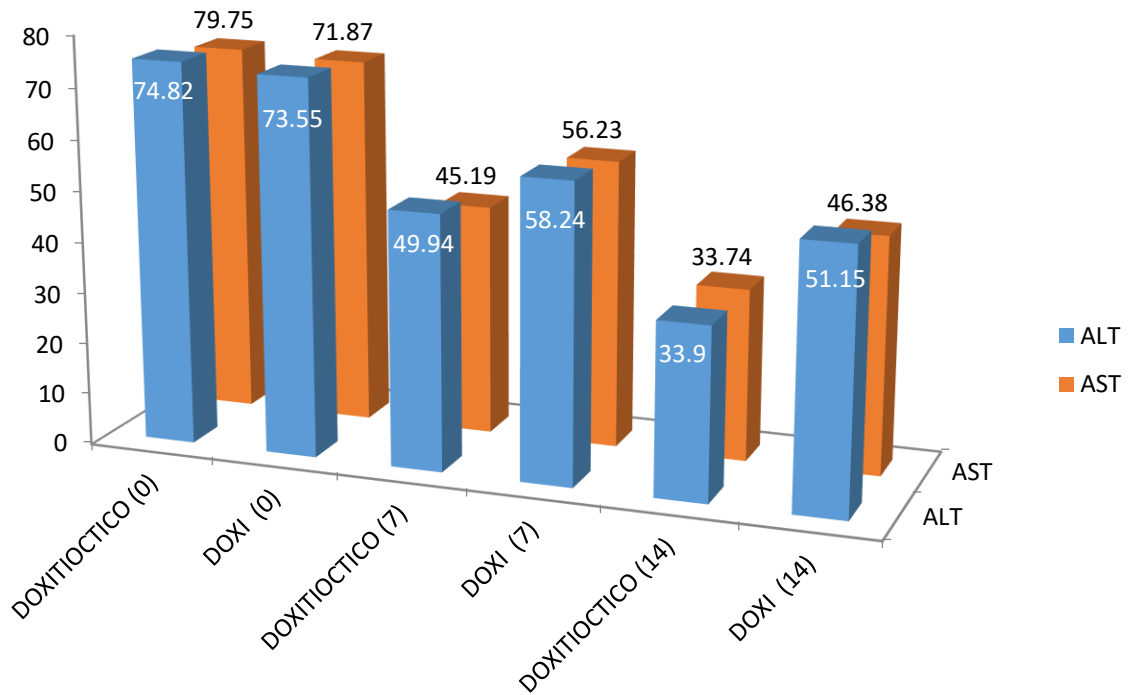


Figura 3. Valores promedios de transaminasas hepáticas alanin amino transferasa (ALT) y aspartato amino transferasa (AST), de *Canis familiaris* con ehrlichiosis tratados con doxiciclina más ácido tióctico (Doxitioctico) y doxiciclina (Doxi) a los días 0, 7 y 14.

En este cuadro del análisis de la varianza se muestra una diferencia altamente significativa en cuanto a la actividad sérica entre la aplicación de la doxiciclina+ ácido tióctico y la aplicación sólo de la doxiciclina. También se puede observar una diferencia altamente significativa en cuanto al tiempo de evaluación, mientras que en lo referido a la transaminasa hepática y la AST sérica no muestra diferencia estadística.

Cuadro 1. Promedios de transaminasas hepáticas ALT y AST a los días 0, 7 y 14 en *Canis familiaris* con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico y doxiciclina.

	PROMEDIOS						PROMEDIO
	ALT 0	ALT 7	ALT 14	AST 0	AST 7	AST 14	FINAL
Doxitioctico	74.82	49.94	33.90 a	72.71	45.19 a	33.74 a	51.72 a
Doxi	79.75	58.24	51.15 b	71.87	56.23 b	46.28 b	60.67 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.005$ ) según la prueba de Tukey

El Cuadro 1; permite observar con una confianza del 95%; que existe una diferencia estadística altamente significativa en la actividad sérica de las transaminasas hepáticas ALT y AST en los pacientes del grupo doxiciclina y ácido tióctico versus el grupo doxiciclina, siendo menor en los pacientes a los cuales solo se les coadministró ácido tióctico.

Adicionalmente, el análisis de la varianza se muestra una diferencia altamente significativa en cuanto a la actividad sérica entere la aplicación de la doxiciclina y ácido tióctico y la aplicación solo de la doxiciclina. También se puede observar una diferencia altamente significativa en cuanto al tiempo de evaluación para la enzima ALT, mientras que la AST no muestra diferencia estadística.



## V. DISCUSIÓN

La ehrlichiosis produce infecciones multisistémicas, afectando principalmente al tejido sanguíneo y hematopoyético, secundariamente a órganos blandos como el hígado, en el cual produce una infección e inflamación crónica, la misma que se puede evidenciar mediante la monitorización de las enzimas hepáticas ALT y AST (Lappin y Turnwald, 2004; Lewis, 2012), motivo por el cual se probó el efecto hepatoprotector del ácido tióctico, con la finalidad de contrarrestar los daños hepáticos producidos por la *E. canis* y tratar de lograr una mayor evolución con su respectivo tratamiento con doxiciclina.

Harrus y otros (1997), reportó en su estudio que, dentro de las anomalías químicas de suero más frecuentes se han incluido el incremento de las actividades sobre los valores superiores promedio de ALT y AST en un 43 y 31% respectivamente, datos que concuerdan con nuestro estudio, donde los pacientes diagnosticados con ehrlichiosis tenían valores superiores en un promedio de 45% respecto al límite superior de referencia, valores compatibles con derrame enzimático hepatocelular asociados a inflamación y necrosis hepática.

El ácido tióctico o  $\alpha$  lipoico, desempeña un papel esencial en las reacciones de la deshidrogenasa mitocondrial, recientemente ha ganado considerable atención como un antioxidante, reaccionando con especies de oxígeno reactivas tales como radicales superóxido, radicales hidroxilo, ácido hipocloroso, radicales peróxido, y el oxígeno singlete, teniendo un efecto protector las membranas celulares especialmente en el hígado, disminuyendo la isquemia-reperfusión, mostrando un efecto hepatoprotector importante, evidenciado con la disminución de la actividad bioquímica del hígado (Packer y otros; 1995). Datos que coinciden con la

presente investigación, donde se evidencia una marcada disminución de la actividad de ALT y AST, mostrando una diferencia estadística significativa en el grupo doxiciclina más ácido tióctico, debido a efecto hepatoprotector del mencionado ácido.

En el tratamiento de la ehrlichiosis con doxiciclina (10 mg/kg cada 24 horas PO durante 4 semanas), post tratamiento todas las anomalías bioquímicas se resuelven después del día 20 post tratamiento (Sodikoff, 2001). Datos que coinciden con nuestra investigación ya que tanto en el grupo Doxiciclina y Doxiciclina más ácido tióctico mostraron valores dentro de la normalidad en el día 14, siendo menores en el grupo de doxiciclina y ácido tióctico.

## **VI. CONCLUSIONES**

- La ehrlichiosis canina produce una hepatitis incrementando las actividades séricas de las transaminasas ALT y AST.
- La coadministración de ácido tióctico asociado al tratamiento con doxiciclina, demostró un efecto hepatoprotector evidenciado con la disminución de las transaminasas hepáticas ALT y AST.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- En el tratamiento de ehrlichiosis canina debe considerarse la hepatoprotección, mediante la coadministración de doxiciclina con el ácido tióctico.
- Evaluar el efecto hepatoprotector del ácido tióctico incluyendo en la evaluación del panel de pruebas hepáticas a la albúmina sérica, gamma glutamil transaminasa, fosfatasa alcalina y bilirrubinas en pacientes con ehrlichiosis canina.
- Evaluar otras drogas hepatoprotectoras como son el ácido ursodexosicolico, ácido orótico y vitaminas del complejo B.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- BULLA C., KIOMI R., APARECIDA L., SOUZA R. Y CHARLES E. (2004).  
The relationship between the degree of thrombocytopenia and  
infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area
- CHAVERA A., VIERA F. y SAMAME H. (1982). Ehrlichiosis canina en el  
Perú. En: Anales VII Congreso nacional de ciencias  
veterinarias. Ica.
- DE MORÁIS 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.
- DE MORAIS S., TRAPP S., DAGNONE A., VIDOTTO O., FREIRE R. y  
AMUDE A. (2004). Seroepidemiology of canine babesiosis and  
ehrlichiosis in a hospital population. Vet parasitol.; 140 (3-4): 223.
- DE PADUA M., DOS SANTOS R., MORCATTI F., PINTO DA SILVA J.,  
LOPES P. y DE OLIVEIRA P. (2015). Bioquímica sérica de cães  
infectados por *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Leishmania*  
sp., Acta Scientiae Veterinarie, 43: 1261, recuperado de:  
<http://www.ufrgs.br/actavet/43/PUB%201261.pdf>
- LATIMER K., MAHAFFEY A. y KEITH W. (2005). Patología clínica  
veterinaria. Editorial Multimedica. España. Edicion 4º Higado pg.  
237 – 257.
- EDDLESTONE S., DINIZ P., NEER T., GAUNT S., CORSVET R., CHO D.,  
HOSGOOD G., NEGARTY B. y BREITSCHWERDT E. (2002).

Doxycycline clearance of experimentally induced chronic *Ehrlichia canis* infection in dogs. Journal Vet Intern med. Nov-Dec; 21(6):1237-42.

FREIRE M., AZEVEDO T., CUNHA M., GUERRA E., ROCHA A., MOURA S., PENELUC T. y CERQUEIRA R. (2009). 34th World Small Animal Veterinary Congress 2009 - São Paulo, Brazil, recuperado de:  
<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2009/lecture22/4.pdf?LA=1>

GREENE C., ANDERSON B., JONES D. y DWASON J. (2007). *Ehrlichia ewingii* sp. Nov., the etiologic agent of canine granulocytic ehrlichiosis. Int. J syst. Bacteriol.; 12(2): 299-302.

GREENE C. (1995). Canine ehrlichiosis: Clinical implications for humoral factors. En: BONAGURA, J.D.: Kirk's Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice XII. W.S. Saunders, Philadelphia, U.S.A. p. 589 – 612.

HARRUS S. y WANNER T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): Vet J. 2011 Mar; 187(3): 292-6.

HILDEBRANDT P., HUXSOLL, D., WALKER, J., NIMS, R., TAYLOR R. y ANDREWS M. (1972). Pathology of canine ehrlichiosis (tropical canine pancytopenia). Am J Vet Res.; 34(10): 1309-1320. recuperado de:  
<http://www.researchgate.net/publication/273341527>

KEYSARY A., WANER T., HARRUS S., JONGEJAN F. y HYLTON B. (2001). Significance of serological testing for ehrlichial diseases

in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*

KEEFE T., HOLLAND C., SALYER P. y RISTIC M. (1982). Distribution of *Ehrlichia canis* among military working dogs in the world and selected civilian dogs in the United States.

LAPPIN M. y TURNWALD, A. (2004). Molecular and serologic evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in cats in North America. J. Am. Vet. Med. Assoc. 226(6):893-896.

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.

LOCKETT J., WAKEEL A., KURIAKOSE J. y Mc BRIDE J. (2009). An *Ehrlichia chaffeensis* tandem repeat protein interacts with multiple host targets involved in cell signaling, transcriptional regulation, and vesicle trafficking.

Mc DADE J., NUTI M., AMADDEO D., CROVATTO M., GHIONNI A., POLATO D., LILLINI E., PIZUS E. y SANTINI G. (1990). Infections in an alpine environment: antibodies to hantaviruses, leptospira, rickettsiae, and borreia burgdorferi in defined Italian populations. Am J Trop Med Hyg. Jan; 48(1): 20-25

Mc BRIDE J., CORSTVET R., GAUNT S., BOUDREAUX C., GUEDRY T. y WALKER D. (2010). Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* immunoreactive proteins.

- NEER, T. (2000). Ehrlichiosis Monocítica y Granulocítica Canina. In: Enfermedades Infecciosas en perros. Ed. por C. Greene. México, Mc Graw-Hill Interamericana.p. 153-163.
- PACKER L., WITT E. y TRISCHLER. (1995). Alpha lipoic is a biological antioxidant. *Free radical biology and Medicine*, 19(2): 227 – 250.
- SAINZ A., AMUSATEGUIE I., RODRÍGUEZ F. y TESOURO, M. (2000). Las Ehrlichiosis en el perro. Presente y futuro. *Profesión Veterinaria*. 12(47):22-28.
- SODIKOFF C. (2001). Pruebas diagnósticas y de laboratorio en pequeños animales. Ed Harcourt, p. 399.
- WEN B., RIKIHISA Y., MOTT J., GREENE R., KIM H., ZHI N., COUTO G., UNVER A., BARTSCH R. y CLIN MICROBIOL. (1996). Comparison of nested PCR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated with doxycycline. *Jul; 35(7)1852-5. Bartsch y Greene.*



# **IX. ANEXOS**



**Anexo 2. Transaminasas hepáticas de pacientes tratados con  
doxiciclina y ácido tióctico**

<b>PACIENTE</b>	<b>ALT (días)</b>			<b>AST (días)</b>		
	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
<b>1</b>	62.60	53.50	37.90	56.14	47.25	33.03
<b>2</b>	51.00	32.50	29.40	48.75	35.53	28.69
<b>3</b>	47.10	21.10	37.20	43.31	30.10	34.74
<b>4</b>	55.70	41.20	43.10	49.34	33.44	34.24
<b>5</b>	133.90	50.50	26.70	267.58	34.79	25.15
<b>6</b>	100.70	51.30	24.10	47.52	47.90	28.77
<b>7</b>	82.55	52.30	35.40	74.14	47.52	22.46
<b>8</b>	62.20	46.50	36.00	58.87	39.50	32.90
<b>9</b>	64.80	56.60	32.00	69.19	39.68	32.95
<b>10</b>	71.60	43.60	28.20	57.03	39.50	33.23
<b>11</b>	77.70	60.10	27.30	69.54	52.44	42.50
<b>12</b>	67.50	31.70	28.60	63.84	32.04	31.05
<b>13</b>	66.90	29.00	30.20	64.18	34.00	20.62
<b>14</b>	56.00	42.40	36.00	46.74	41.60	34.18
<b>15</b>	66.00	48.40	33.60	61.85	33.25	32.48
<b>16</b>	107.00	65.66	40.26	87.45	55.59	45.59
<b>17</b>	80.70	72.13	38.15	68.46	69.53	40.25
<b>18</b>	119.20	88.80	37.52	88.61	72.31	38.59
<b>19</b>	61.15	56.25	39.86	69.30	58.59	40.12
<b>20</b>	62.10	55.20	36.54	62.30	59.25	43.25
<b>PROMEDIO</b>	<b>74.82</b>	<b>49.94</b>	<b>33.90</b>	<b>72.71</b>	<b>45.19</b>	<b>33.74</b>

**Anexo 3. Transaminasas hepáticas de pacientes tratados con doxiciclina.**

<b>PACIENTE</b>	<b>ALT (días)</b>			<b>AST (días)</b>		
	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
<b>1</b>	75.14	65.21	60.25	95.41	84.69	56.21
<b>2</b>	65.25	54.26	51.36	65.23	102.45	65.36
<b>3</b>	58.24	60.24	60.87	106.89	75.69	49.54
<b>4</b>	60.28	55.21	50.36	65.36	60.24	59.23
<b>5</b>	78.25	60.87	58.14	89.36	59.78	60.26
<b>6</b>	86.87	64.12	65.14	58.14	51.85	50.87
<b>7</b>	59.87	52.30	45.26	84.23	62.36	49.21
<b>8</b>	70.21	55.98	50.98	58.87	46.23	40.21
<b>9</b>	65.89	45.10	40.25	65.14	51.36	34.68
<b>10</b>	125.12	85.74	70.05	60.78	70.65	40.89
<b>11</b>	70.85	64.13	59.14	58.47	39.12	40.03
<b>12</b>	59.87	40.14	40.89	69.65	49.21	48.23
<b>13</b>	102.31	65.14	56.87	58.15	36.98	50.24
<b>14</b>	76.25	45.18	46.98	98.62	63.74	43.21
<b>15</b>	49.25	40.89	50.87	50.48	39.21	38.65
<b>16</b>	98.64	56.14	45.16	76.28	45.02	45.69
<b>17</b>	85.13	68.14	40.66	69.78	45.03	42.58
<b>18</b>	125.86	80.78	53.98	65.78	60.25	48.45
<b>19</b>	98.54	55.47	40.16	80.45	45.01	40.12
<b>20</b>	79.12	49.80	35.69	60.25	35.69	35.98
<b>PROMEDIO</b>	<b>79.55</b>	<b>58.24</b>	<b>51.15</b>	<b>71.87</b>	<b>56.23</b>	<b>46.98</b>

**Anexo 4. Promedios de transaminasas hepáticas ALT y AST a los días 0, 7 y 14 en *Canis familiaris* con ehrlichiosis tratados con doxiciclina y ácido tióctico y doxiciclina.**

	PROMEDIOS						PROMEDIO
	ALT 0	ALT 7	ALT 14	AST 0	AST 7	AST 14	FINAL
Doxitioctico	74.82	49.94	33.90 a	72.71	45.19 a	33.74 a	51.72 a
Doxi	79.75	58.24	51.15 b	71.87	56.23 b	46.28 b	60.67 b

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=4.92634

Error	378.1391. GL: 235		
Tratamiento	Medias	N	E.E.
DOXI ACITIOC	51.72	120	1.78 A
DOXICI	60.67	120	1.78

**Anexo 5.** Valores de referencia de transaminasas hepáticas en *Canis familiaris*.

ALT	< 45 UI/dL
AST	< 50 UI/dL

Fuente: DxVet Laboratorio Clínico e Imagenología Veterinaria

**Anexo 6.** Imágenes ilustrativas obtenidas durante el Desarrollo del estudio

