

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

UNAN-LEON.



Tesis para optar al título de Licenciado en Medicina Veterinaria.

Título

Prevalencia de *Ehrlichia* y *Haemobartonella* en caninos domésticos de la comunidad de Puerto Sandino, municipio de Nagarote departamento de León. En el periodo abril-julio del 2014.

Autores:

- Denia Johana Mairena Leiva.
- Lilliam del Carmen Rojas Cano.

Tutor:

Erick Salazar.

León 01 de Diciembre del 2014

DEDICATORIA

A:

DIOS por derramar sus bendiciones sobre nosotras y llenarnos de su fuerza para vencer todos los obstáculos desde el principio de nuestras vidas.

Nuestras madres, por todo su esfuerzo y sacrificio para brindarnos todo su amor, la comprensión, su apoyo incondicional y la confianza en cada momento de nuestras vidas y sobre todo en nuestra preparación universitaria.

Nuestros padres, que a pesar de nuestra distancia física, han estado siempre con nosotras brindándonos su apoyo.

Nuestra familia en general, porque nos han brindado su apoyo incondicional y por compartir buenos y malos momentos.

Nuestros profesores, por enseñarnos, aconsejarnos e instruirnos en el camino del buen estudiante, por darnos su apoyo y su comprensión en los momentos difíciles, ellos siempre estaban dispuestos a ayudar en los momentos más duros sin pedir nada a cambio. Ellos son parte de este logro, ya que ustedes lo trabajaron y esperamos que su esfuerzo y empeño sea reflejado en esta tesis.

A todos los que nos apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debemos por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, por habernos dado la vida y permitirnos el haber llegado hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional.

Agradecemos también la confianza y el apoyo brindado por parte de Nuestras madres, que sin duda alguna en el trayecto de nuestras vidas nos ha demostrado su amor, corrigiendo nuestras faltas y celebrando los triunfos.

A nuestros padres por ser un apoyo importante en nuestra carrera, los logros, en todo, y aun estando lejos lo llevamos siempre el corazón y mente.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibido de nuestros , familiares y amigos.

Nos gustaría que estas líneas sirvieran para expresar nuestros más profundos y sinceros Agradecimientos a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial al **Dr. Erick Lenin Salazar**, Tutor de esta investigación; por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años.

A nuestros maestros por el apoyo, orientación y experiencia que nos brindaron día con día para culminar nuestra carrera muchas gracias ustedes nos enseñaron que si queremos ser alguien importante en la vida tenemos que triunfar como profesional, en la vida hay momentos fáciles y difíciles gracias a ustedes hemos logrado afrontar esos momentos difíciles con la frente en alto.

A todos ustedes gracias por estar siempre a nuestro lado.

INDICE

I.	RESUMEN-----	5
II.	INTRODUCCIÓN-----	6
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	8
IV.	OBJETIVOS-----	9
V.	MATERIAL Y METODOS-----	10
VI.	MARCO TEÓRICO	
	- Garrapata <i>R. Sanguineus</i> -----	19
	- Tincion Giemsa-----	22
	- <i>Ehrlichia Canis</i> -----	24
	- <i>Haemobartonella Canis</i> -----	40
	- Estimacion de Eritrocitos-----	48
	- Solidos Sanguineos-----	48
VII.	DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS-----	50
VIII.	CONCLUSIONES-----	60
IX.	RECOMENDACIONES-----	61
X.	BIBIOGRAFIA-----	62
XI.	ANEXOS-----	65

I. RESUMEN

La investigación realizada sobre “la prevalencia de *Ehrlichia* y *Haemobartonella*” en caninos domésticos en la comunidad de Puerto Sandino, municipio de Nagarote departamento de León, en el periodo mayo-julio del 2014; tuvo como objetivo determinar la prevalencia de hemoparasitos por medio del método de frotis directo en sangre, tinción Giemsa.

La población total de caninos en la comunidad de Puerto Sandino fue de 272 canes, para la investigación se trabajo una muestra de 47 canes la cual fue obtenida por medio del programa win episcopo 2.0 (con una prevalencia esperada de 3.75%, un error de 5% y un nivel del confianza del 95%), las cuales fueron tomadas al azar en perros mayores de 4 meses de edad. A estos canes se les extrajo 2ml de sangre de la vena cefálica, con la cual se realizaron BHC para identificar las alteraciones hematológicas que estos presentaran.

Según los resultados obtenidos el 36% fueron positivos a hemoparasitos y un 64% de los canes muestreados fueron negativos. Con una prevalencia de 32% para *Haemobartonella canis* seguido una asociación de y *Ehrlichia* de 4%. No se encontró *Ehrlichia* sola en los canes.

II. INTRODUCCIÓN.

Los perros son animales susceptibles a enfermedades de diferente origen etiológicos, entre estos se encuentran los hemoparasitos los cuales son organismos microscópicos que viven y se reproducen a nivel de vasos sanguíneos, por fuera o dentro de glóbulos rojos o blancos. Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en todo el mundo, al igual que las garrapatas que son los principales vectores de los agentes causales de los hemoparasitos, los cuales agrupan una gran cantidad de agentes etiológicos causantes de diversas enfermedades de importancia para la salud animal y publica.

Su presencia produce decaimiento y diversos cuadros hemáticos como anemia y trombocitopenia que afectan la salud del animal.

El diagnóstico de los agentes causales de los hemoparasitos en caninos debe ser seguro y definitivo, de manera que permita instaurar la terapéutica específica, según el agente etiológico garantizando la eficacia en el tratamiento y consecuentemente disminución de la mortalidad.

En Nicaragua se realizó un diagnóstico situacional de cuatro hemoparasitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. (2005), La prevalencia de hemoparasitos en los cinco barrios estudiados fue del 3.76 %. La prevalencia fue para *Haemobartonella canis* de 2.5%, *Babesia canis* con 0.77 % y *Ehrlichia canis* con 0.19%; mientras, que en *Hepatozoon canis* no se encontró ningún caso positivo. Además se presentó una asociación hemoparasitaria (*Babesia-Haemobartonella*) con una prevalencia de 0.29 %.

Otro estudio fue el hallazgo de *Ehrlichiosis* canina causada por *E. canis* en una Comunidad del Municipio de León, Nicaragua. (2010). De un total de 27 muestras se encontró un 70%, este estudio fue realizado por la Escuela de Medicina Veterinaria de la Unan-León.

En la ciudad de Cuenca” Ecuador se realizó un estudio de Prevalencia e identificación de hemoparásitos (*ehrlichia canis*, *babesia canis* y *anaplasma phagocytophilum*) en perros, el cual de un total de 560 canes muestreados el 11,43% de las muestras tomadas fueron positivas a hemoparásitos. Consecuentemente, la mayor prevalencia se presenta en *Ehrlichia canis* (56,25%), seguido por *Babesia canis* (40,63%) y finalmente *Anaplasma phagocytophilum* (3,13%).

Por esta razón es que se realizó este estudio en la comunidad de Puerto Sandino Municipio de Nagarote Departamento de León, para determinar la prevalencia de hemoparásitos (*Haemobartonella* y *Ehrlichia*) en caninos e identificar las alteraciones hematológicas causadas por los hemoparásitos que afectan la integridad del perro y como médicos veterinarios saber diagnosticarlos y aplicar las técnicas terapéuticas indicadas.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la prevalencia de *Ehrlichia* y *Haemobartonella* en caninos domésticos en la comunidad de Puerto Sandino, municipio de Nagarote departamento de León?

IV. OBJETIVOS

General:

- Determinar la prevalencia de *Ehrlichia* y *Haemobartonella canis* en caninos domésticos en la comunidad de Puerto Sandino, municipio de Nagarote departamento de León por medio del método tinción Giemsa en el periodo de mayo-julio del 2014.

Específicos:

- Conocer la prevalencia de *Haemobartonellosis* canina.
- Conocer la prevalencia de *Ehrlichiosis* canina.
- Identificar las alteraciones hematológicas en los caninos domésticos afectados por hemoparasitos mediante la realización de BHC
- Realizar frotis sanguíneo para comparar los resultados hematológicos en los caninos afectados.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio para determinar la prevalencia de *Ehrlichia* y *Haemobartonella* en caninos de la comunidad de Puerto Sandino municipio de Nagarote en el departamento de León-Nicaragua.

Tipo de estudio

Nuestro estudio es descriptivo de Corte Transversal.

Universo, Población y Muestra

Nagarote	4664
----------	------

Para la determinación del tamaño de muestra, se utilizó el programa Win Episcopo 2.0, determinación de porcentajes, con una población de 272 canes, una prevalencia esperada de 3.75%, un error aceptado de 5% y un nivel de confianza del 95%, dando como resultado una muestra de 47 caninos.

Tipo de muestra

Nuestro muestreo fue aleatorio

Unidad de análisis

Fueron todos aquellos caninos mayores de 4 meses de edad, que viven en la zona seleccionada entre machos y hembras.

Definición y operacionalización de las variables.

Variable	Concepto	Indicador	Valor	Unidad de medida
Garrapata	Ectoparásito,	Presencia o ausencia	Visual	Abundante Poca

Variable	concepto	Indicador	Valor	Rango	Unidad de medida
Pruebas hematológicas	Pruebas diagnosticas para identificar hemoparasitos	Mayor de 4 meses	Extendido periférico, Tinción giemsa, Hematocrito	Anémico (- 37) Normal (37- 55	Canes mayor de 4 meses

Variable	Concepto	Indicador	Valor	Rango	Unidad de medida
temperatura	Unidad de medida del estado funcional calórico del organismo	Mayor de 4 meses	Dado por el termómetro.	Hipotérmicos 37.5 °C) Normal (37.5-39.5°C) Hipertérmicos (>39.5)	°C

Recolección de datos

La recolección de datos se dio en Puerto Sandino, para esto se realizaron hojas de datos las cuales se llenaron cuando se extrajeron las muestras por canino, un frotis fino de sangre periférica, obtenida por una punción en el pabellón auricular y 2 ml de sangre extraída de la vena cefálica.

Una vez obtenidas las muestras y los datos de cada animal estos fueron llevados inmediatamente al laboratorio de biopatología de la UNAN-LEON.

Los datos de cada uno de los animales muestreados fueron recolectados en unas hojas con la siguiente información:

N°	Nombre	Sexo	Edad	Raza	T ° (C)	Pres. garra	observaciones	Propietario	Telf.
1									
2									
3									

Para la recolección de los datos en las hojas se llevo el siguiente procedimiento:

1. Cuando el can fue atendido, se le asigno un número, el cual correspondía con la información obtenida de este.
2. Luego se le pregunto al propietario el nombre del can, domicilio, nombre del propietario, teléfono al que se le pudiera contactar y aun más importante la edad del can.
4. Luego se observo el sexo y raza del can, para luego ser anotada.
5. Se tomo la temperatura corporal del paciente, para luego ser anotada.
6. Se observo cuidadosamente la presencia de garrapatas en el can, apuntando en la hoja de datos, si se presentaron o no garrapatas en el can.
8. En observaciones se anoto la presencia de edema, actitud del animal, rinorragia, presencia de otras enfermedades como sarna, pulgas, estado corporal entre otras.

Materiales.

1. Jeringas desechables de 5 ml y 3 ml.
2. Agujas desechables calibre 21.
3. Tubos de ensayo de 5ml con anticoagulante
4. Alcohol al 70%
5. Algodón.
6. Gradillas.
7. Guantes de látex.
8. Hojas de datos.
9. Termo contenedor de muestras.
10. Pipeta.
11. Puntas de Pipeta.
12. Papel Toalla.
13. Porta Objeto.
14. Afeitadoras.
15. Capilares.
16. Material de laboratorio. (microscopio, cámara de new bauber, aceite de inmersión, tinción giemsa, centrifuga, etc.)
17. Yodo.

Pasos para la toma de sangre: (BHC) (Jardon Herrera, 2003)

1. Se depilo y luego se limpio con un algodón empapado de alcohol o yodo, el área donde se tomo la muestra (vena cefálica).
2. Se aplico presión próximamente a la vena, al punto donde se procedió a la toma de la muestra, lo cual se realizo mediante una liga de hule ajustada con una pinza mosquito.
3. Se introdujo la aguja tomando con fijación la vena, y luego se halo del embolo de la jeringa.
4. Antes de pasar la sangre de la jeringa hacia el tubo de ensayo, se quito la aguja, pues al forzar a la sangre a pasar por la aguja se podrían lisar los eritrocitos. Se inclino el tubo de ensayo y se puso en contacto la boquilla de la jeringa con el vidrio del tubo de ensayo, liberando suavemente la sangre para evitar hemólisis, por la presión ejercida por el embolo.
5. Se tapo el tubo de ensayo, y luego se agito suavemente, con el fin de que se mezclen adecuadamente la sangre y el EDTA (ácido edético).
6. Luego el tubo de ensayo con la muestra se introdujeron al termo. Para ser llevado al laboratorio de Medicina Veterinaria de la UNAN.LEON.

Pasos para la obtención del frotis: (Jardon Herrera 2003)

1. Se utilizaran portaobjetos nuevos, los cuales para su limpieza se sumergirán en alcohol al 95 % y se secaran con una hoja de papel-toalla.
2. Una gota de sangre, será obtenida por una punción en el pabellón auricular mediante un capilar sin anticoagulante. Previa depilación y desinfección del pabellón auricular con un algodón empapado en alcohol y yodo.
3. Se depositara la primera gota de sangre, en un lado del portaobjeto bien limpio.
4. Seguidamente, con el empleo de un portaobjeto de borde esmerilado se realizara un frotis o extensión de sangre. Para lo cual utilizaremos otro portaobjeto el cual deberá posicionarse en un ángulo entre 30 a 45°, , la extensión debe deslizarse suave y rápidamente para extender la gota de sangre. Sólo se debe pasar el portaobjeto una vez, de forma continua e ininterrumpida.
5. Los frotis se secaron al aire lo más rápidamente posible. El secado rápido se facilito con movimiento en forma de abanico, nunca soplando o por calor. La rápida desecación evita la deformación de los glóbulos sanguíneos

Tinción Giemsa en frotis de sangre (Jardon Herrera 2003)

1. Se colocó el portaobjeto con la extensión de sangre encima del soporte de tinciones y éste sobre la lava manos.
2. Se dejó caer sobre la extensión unas gotas de metanol cubriendo todo el frotis sin derramar y luego se dejó reposar por 3 minutos, con lo que se consigue el fijado.
3. Se escurrió el metanol y se dejó secar la lámina en posición vertical.
4. Una vez seca la lámina, se aplicó tinción Giemsa, sobre todo el extendido sanguíneo, se dejó actuar el colorante por unos diez minutos, evitando la desecación. La solución para la tinción fue 8 ml de agua destilada más 3 ml de tinción Giemsa previamente filtrada en papel filtro.
5. Se lavó la preparación con agua del chorro, hasta que arrastro todo el colorante.
6. Se tomó el portaobjeto por los bordes, dejándolo reclinado hasta que este estuviera completamente seco.
7. Se colocó el portaobjeto con la extensión de sangre encima del soporte de tinciones y éste sobre la lava manos.
8. Se dejó caer sobre la extensión unas gotas de metanol cubriendo todo el frotis sin derramar y luego se dejó reposar por 3 minutos, con lo que se consigue el fijado.
9. Se escurrió el metanol y se dejó secar la lámina en posición vertical.
10. Una vez seca la lámina, se aplicó tinción Giemsa, sobre todo el extendido sanguíneo, se dejó actuar el colorante por unos diez minutos, evitando la desecación. La solución para la tinción fue 8 ml de agua destilada más 3 ml de tinción Giemsa previamente filtrada en papel filtro.
11. Se lavó la preparación con agua del chorro, hasta que arrastro todo el colorante.
12. Se tomó el portaobjeto por los bordes, dejándolo reclinado hasta que este estuviera completamente seco.

Pasos para la realización del hematocrito: (JARDON HERRERA 2003)

1. Se introdujo un capilar en el tubo de ensayo previamente homogenizado, el cual se llenó de sangre y se selló.
2. Se colocó el capilar, en la centrifuga con la parte sellada hacia la periferia por 5 minutos a 3,500 r.p.m.
3. Luego se leyeron los valores en la tabla de hematocrito.
4. Se observó el plasma sanguíneo ubicando en capilar sobre una superficie blanca.
5. Luego para leer la proteína se procedió a quebrar con los dedos el capilar separando la sangre del plasma, se colocó una gota de plasma en el refractómetro y se procedió a leer Se introdujo un capilar en el tubo de ensayo previamente homogenizado, el cual se llenó de sangre y se selló.
6. Se colocó el capilar, en la centrifuga con la parte sellada hacia la periferia por 5 minutos a 3,500 r.p.m.
7. Luego se leyeron los valores en la tabla de hematocrito.
8. Se observó el plasma sanguíneo ubicando en capilar sobre una superficie blanca.
9. Luego para leer la proteína se procedió a quebrar con los dedos el capilar separando la sangre del plasma, se colocó una gota de plasma en el refractómetro y se procedió a leer.

Pasos para el conteo de glóbulos rojos y blancos. (JARDON HERRERA, 2003)

1. Primero se tomo el tubo de ensayo con sangre y se homogenizo.
2. En un tubo limpio se depositaron con ayuda de una pipeta 380mcr de solución de turck para los glóbulos blancos y 3980 mcr de SSF para los glóbulos rojos.
3. Luego se obtuvieron del tubo de ensayo previamente homogenizado, con una pipeta 20 mcr de sangre para los glóbulos rojos y 20 mcr para los blancos.
4. Se tomo la cámara de new Bauer limpia y seca, se coloco en la meseta central un cubre objeto, la cámara está diseñada de tal forma que deja un espacio de 0.1 mm entre la cámara y el cubre objeto. A continuación la punta de la pipeta toca uno de los extremos del cubre objeto, por capilaridad el espacio es ocupado con la dilución. Luego, la cámara es colocada sobre la platina del microscopio, de tal forma que la cuadrícula pueda ser visible utilizando el objetivo de bajo poder y reduciendo la intensidad de luz
5. Se observaron en el microscopio los glóbulos blancos con lente objetivo de 10x y los rojos con lente objetivo de 40x.

VI. MARCO TEORICO.

6.1. GARRAPATA PARDA DEL PERRO (*Rhipicephalus Sanguineus*)

Las garrapatas son ácaros y se parecen a los insectos solo superficialmente ya que se distinguen por presentar la cabeza el tórax y el abdomen fusionado formando un cuerpo no segmentado. Todas las garrapatas son succionadoras de sangre obligadas y por et parásitos de los animales domésticos silvestres y el hombre, estas son los parásitos más comunes en los perros generándoles muchas enfermedades. La presencia de una sola garrapata es sinónimo de posibilidad de transmisión de enfermedades graves para el perro; ya que produce lesiones en el hospedador por medio de diferentes mecanismos como son:

- Mecánicos: Producidos por la acción de las piezas bucales del acaro sobre la piel del huésped.
- Tóxicos: Producidos por los componentes enzimáticos de la saliva de la garrapata y determinadas neurotóxinas.
- Expoliativas: pueden causar anemia y debilitamiento.
- Inoculativas: Ya que son vectores de enfermedades como protozoos, bacterias y virus.

Las especies que parasitan con mayor frecuencia a los carnívoros domésticos, son principalmente ixódidos (garrapatas duras). . (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999)

6.1.1. Taxonomía.

PHYLUM:	Artrophoda
CLASE:	Arachnida
ORDEN:	Aracnida
FAMILIA:	Ixodida
GENERO:	Rhipicephalus
	Rhipicephalus sanguineus

(DOMINGUES ALVARES, 2011)

Ciertos ixódidos tienen un carácter antropófilo o doméstico, como ocurre con la garrapata del perro *Rhipicephalus sanguineus*, perfectamente adaptada a cerrar su ciclo tanto en las perreras como en la viviendas humanas. La alimentación conlleva una etapa de alimentación lenta y progresiva y otra de alimentación rápida, es en esta etapa donde los agentes patógenos son inoculados, debidos en parte a que en este momento las glándulas salivales están muy activas. (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999)

6.1.2. Distribución y estacionalidad

R. sanguineus es una garrapata dura, que invade perreras y el entorno doméstico. (DOMÍNGUEZ ALVARES 2011)

Es una de las garrapatas más distribuidas en el mundo. Su actividad en zonas templadas es estacional, desde la primavera hasta el otoño. En invierno es menor la presencia de esta especie, pero en zonas tropicales y subtropicales, puede hallarse durante todo el año. Esta garrapata es incapaz de vivir en climas fríos, pero puede sobrevivir gracias al cobijo que el hombre proporciona a sus perros, hospedadores principales de esta especie. (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999)

Las picaduras de esta garrapata pueden ser muy irritantes para el perro. En las infestaciones graves puede observarse una pérdida sanguínea importante. (DOMÍNGUEZ ALVARES 2011)(HOSKIN 1991)

6.1.3. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *R. sanguineus* es de tres hospedadores. Las hembras repletas realizan su puesta aproximadamente de unos 4000 huevos, tras un periodo de pre oviposición variable de 3-83 días, en lugares protegidos de la luz y de la desecación. Las larvas eclosionan entre los 8-67 días (periodo de incubación) y después de un periodo de maduración, están capacitadas para fijarse a un primer hospedador; esta fase presenta un periodo de supervivencia que, en condiciones favorables, puede sobrepasar los 253 días. Entre los 3 y los 7 días pos fijación, la larva se suelta una vez repleta o alimentada, y busca un lugar resguardado donde realiza su primer muda. (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999)

Las ninfas aparecen entre los 6 y los 23 días después de la caída de la larva repleta y, casi de forma inmediata, están preparadas para subir a un segundo hospedador con el fin de volver a alimentarse. Aunque esta fase no es tan resistente como la de larva, puede llegar a sobrevivir más de 183 días en ayuna. El tiempo que necesita para alcanzar la repleción varía entre 4-9 días, pasados los cuales la ninfa repleta se suelta de su hospedador, cae al suelo y busca un sitio resguardado para realizar la segunda muda a partir de la cual emergerán los adultos entre los 12-129 días después de la caída de la ninfa repleta; pueden sobrevivir más de 568 días en espera de un hospedador. Tanto los machos como las hembras se fijan en un tercer hospedador para realizar la ingestión de sangre. Las hembras solo se fijan y succionan sangre a su vez mientras que los machos se alimentan de forma intermitente y persisten más tiempo sobre el hospedador, para que la mayoría de las hembras queden fecundas. Estas, unas veces alimentadas (6-50 días) caen al suelo y buscan un refugio donde realizar la puesta. (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999)

En condiciones favorables, el ciclo de *R. sanguineus* puede completarse en 63 días. En zonas cálidas pueden darse varias generaciones por años, mientras que en las templadas es más frecuente la prolongación del ciclo y una marcada estacionalidad. (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999) (HOSKIN 1991)

6.2. TINCIÓN GIEMSA.

La tinción de Giemsa es un método habitual para el examen de frotis sanguíneos. Se pueden usar en frotis delgados y frotis de gota gruesa omitiendo el paso de fijación con alcohol metílico.

Es una tinción diferencial que es capaz de distinguir distintas estructuras celulares según su afinidad por colorantes básicos, ácidos o mezcla de ellos. Con esta tinción los eritrocitos aparecen de color naranja rosado, los núcleos de los leucocitos de azul púrpura. El citoplasma marfil o azul claro, las granulaciones neutrófilas pardo claro o violeta claro, las granulaciones eosinófilas rojo naranja, las granulaciones basófilas azul oscuro a púrpura y las plaquetas lila oscuro.

6.2.1. Fundamento.

Se basa en la distinta afinidad que demuestran las células y sus componentes a los distintos colorantes incluidos en el colorante de Giemsa. Estas tinciones hematológicas utilizan azul de metileno y sus productos de oxidación, (azur A; B; y C) como colorantes básicos que tiñen el núcleo, combinándolo con la eosina un colorante ácido para la tinción citoplasmática.

De este modo obtenemos una tinción diferencial, es decir una tinción que es capaz de discriminar entre las distintas estructuras celulares según se tiñan estas con el colorante ácido, con el básico o con ambos. Utilizamos como colorante la mezcla de metileno y eosina propuesta por GIEMSA.

6.2.2. Especificidad y sensibilidad.

La coloración con giemsa es la más sensitiva de las técnicas, lo importante es estandarizar para dar lugar a la diferenciación de los tonos del colorante, esto requiere de tiempo y reposo. Este es un método confiable barato y capaz de detectar parasitemia de 0.1-0.2% ósea solo puede detectar niveles mayores a 106 eritrocitos infectados por ml de sangre.

Cuando el animal está en fase crónica o en estadio de portador no expresa un elevado nivel de parasitemía como para ser detectado por la tinción, esto no significa que no presente la parasitemía, ya que esta se expresa en fase aguda.

6.3. *EHRLICHIA CANIS*.

La Ehrlichiosis canina, es una enfermedad rickettsial, causada por *Ehrlichia spp.* transmitida por garrapatas.(WANER Y HARRUS, 2000)

La ehrlichiosis canina es también conocida como rickettsiosis canina, fiebre hemorrágica canina, enfermedad del perro rastreador, tifus de la garrapata canina, desorden hemorrágico de Nairobi y pancitopenia tropical canina, nombres que representan diferentes aspectos de una misma enfermedad (WANER Y HARRUS, 2000).

6.3.1. Historia.

. *Ehrlichia canis* fue identificada por primera vez en 1935 en el Instituto Pasteur de Argelia por Donatien y Lestoquard tras observar que algunos perros alojados en sus instalaciones e infestados por garrapatas desarrollaban ocasionalmente un proceso febril agudo que cursaba con anemia. Inicialmente, este microorganismo recibió el nombre de *Rickettsia Canis*. Moshlcovskii sustituyó en 1945 ese nombre por el actual de *Ehrlichia cani*.(DOMINGUES ALVARES, 20011)(WANER Y HARRUS,2000)

La enfermedad gana prominencia a partir de la década de 1960 debido a la epizootia que afectó a perros procedentes de U.S.A. y utilizados con fines militares en la guerra del Vietnam (CORDERO DEL CAMPILLO, 1999). Pero esta enfermedad recibió mayor atención en 1987, cuando otro tipo de *Ehrlichia*, *E. Chaffeensis* fue identificada como la causa de la *Ehrlichiosis* monocítica humana, en 1996, se demostró que *E. Chaffeensis* provocaba las mismas manifestaciones clínicas que *E. Canis* en los cánidos.(RODRIGUES Y ANGULO,2005) (HARRUS (1999); SAINZ *et. al*, 2000)

La primera especie de *Ehrlichia* que se descubrió fue *E. canis* en un perro pastor alemán en Argelia como se menciona anteriormente. En 1971 se describió una *Ehrlichia* granulocítica en perros que años más tarde se denominó *E. ewingii*. Pocos años

después se describió un organismo similar a *E. canis*, que parasitaba plaquetas de perros y se denominó *E. platys*. Del mismo modo la infección con *E. equi* (actualmente englobada como *A. phagocytophilum*) en los perros inicialmente se reconoció como una forma inusual de la *E. canis*.

6.3.2. Taxonomía

Reino: *Monera*

Phylum: *Ciliophora*

Clase: *Rickettsiae*

Orden: *Rickettsiales*

Familia: *Rickettsiaceae*

Género: *Ehrlichia*

Especie: *E. canis*

(RODRIGUES ANGULO, 2005)

6.3.3. Etiología y ciclo biológico.

Es causada por un grupo de microorganismos gran negativos intracelulares obligatorios y pleomórficos, que parasitan las células sanguíneas circulantes de hospedadores mamíferos susceptibles, incluido el hombre.(WANER Y HARRUS, 2000)

Todas las *Ehrlichia spp.* Son microorganismos intracelulares que infectan leucocitos, salvo *Ehrlichia platys*, que se encuentra en plaquetas.

FRISBY (2004) establece que el género *Ehrlichia*, son microorganismos llamados rickettsiales, los cuales, en la escala evolutiva están entre las bacterias y los virus.

Son varias las especies de *Ehrlichia* capaces de infectar al perro, aunque desde un punto de vista clínico la *Ehrlichia canis* es la que más importancia tiene. Las células

diana de *E. canis* son las células del sistema mononuclear fagocitario y más concretamente los monocitos y algunos tipos de linfocitos circulantes. (HARRUS, 1999)

Es en el interior de estas células donde se desarrolla su ciclo vital a partir de unas formas cocoides o elipsoides que tienen un diámetro aproximado entre 0,5 y 0,9 micras y que reciben el nombre de cuerpos elementales. (DOMÍNGUEZ ALVARES, 2011). Se introducen en ella por endocitosis mediada por un receptor o por fagocitosis.

En las células infectadas la replicación se produce por fisión binaria; a los 3-5 días de post-infección, aparece un pequeño número de cuerpos elementales agrupados, en forma de inclusiones pleomórficas con un tamaño aproximado de 1,4 a 2 micras y que reciben el nombre de cuerpos iniciales. Durante los 7-12 días siguientes continúa el crecimiento y la replicación de estos microorganismos dando lugar a las mórulas (mayores de 2 micras), denominadas así por su típica forma

Las mórulas se encuentran rodeadas por una membrana que engloba un número variable de cuerpos elementales (incluso hasta 40). La destrucción de la célula hospedadora parece que tiene lugar cuando el citoplasma celular se encuentra repleto de microorganismos, lo que trae consigo una liberación de cuerpos elementales que invaden nuevas células. El ciclo de infección completo, desde la invasión de la célula hospedadora hasta la salida de ella, se completa en 12-28 días (DOMÍNGUEZ ALVARES, 2011)

6.3.4. Distribución.

La enfermedad se presenta en los países templados, tropicales y subtropicales del mundo. Su distribución guarda relación con la del vector *R. sanguineus*, la garrapata marrón del perro. Debido a la infección subclínica crónica un perro puede ser transportado de una región endémica a otra no endémica y luego desarrollar las manifestaciones patológicas de la enfermedad.

6.3.5. Transmisión

Ehrlichia canis se transmite por la picadura de un único vector conocido: *Rhipicephalus sanguineus*.) La garrapata, al alimentarse de un perro con *ehrlichiosis*, puede ingerir glóbulos blancos con *Ehrlichia* en su citoplasma. Este hecho es mucho más frecuente si la garrapata se fija a perros en fase aguda de la enfermedad, ya que es en esta fase cuando se encuentran un mayor número de leucocitos infectados en sangre. (HARRUS (1999); WANER & HARRUS (2000); SAINZ *et al.* (2000); VARELA (2003); FRISBY (2004))

Cuando las garrapatas se están alimentando en su hospedero, inyectan una secreción de las glándulas salivales, la cual está contaminada con *Ehrlichia canis*. La transmisión en la garrapata *R. sanguineus* ocurre entre estados de desarrollo (larva, ninfa, adulto), y no trans ováricamente.

El potencial de la garrapata como vector y reservorio de esta enfermedad, es muy alto. (WANER & HARRUS (2000); SAINZ *et al.* (2000) FRISBY (2004)

Cuando la transmisión de *Ehrlichia* es mecánica y no biológica (WANER Y HARRUS, 2000), y aunque no es la forma natural de transmisión de la enfermedad, se debe considerar que el empleo de sangre de perros donantes positivos a *ehrlichiosis* para ser transfundidas, puede provocar su transmisión a los perros receptores (SAINZ *et al.*, 2000). Existe un estudio que indica que la transfusión con sangre de perros con infección crónica, que habían contraído la infección 5 años antes, provocó enfermedad a los perros receptores. Por ello, es recomendable confirmar que los perros empleados como donantes sean negativos a *ehrlichiosis*. (WANER Y HARRUS, 2000) SAINZ *et al.* (2000)

6.3.6. Susceptibilidad

Afecta esencialmente al perro pero también ha sido descrita ocasionalmente y de forma natural en otros cánidos salvajes: lobo (*canis lupus*), coyote (*canis latrans*), perro salvaje (*lycaon pictus*).

En principio no hay predisposición de raza, edad o sexo a presentar esta enfermedad (SAINZ et al., 2000). No existe una raza que muestre una mayor o menor inmunidad a la enfermedad y hay una gran variedad de razas, incluyendo razas mixtas, que han contraído *ehrlichiosis* (CONTRERAS, 2006).

Los canes de la raza pastor alemán, tienden a desarrollar una fase crónica severa ó un cuadro clínico más grave de esta enfermedad, más a menudo que otras razas; también los Doberman Pinschers y Springer Spaniels, tienden a padecer esta forma severa de la enfermedad; Además los cachorros y perros jóvenes son los más susceptibles a padecer la enfermedad. (WANER Y HARRUS, 2000; FRISBY, 2004)

FRISBY (2004) los anticuerpos contra *Ehrlichia* pueden permanecer activos por un año o más, pero ellos no hacen inmune al can a la *Ehrlichiosis*, el can puede volver a padecer la enfermedad.

6.3.7. Patogenia.

La *E.canis* ocasiona tres fases: Aguda, subclínica y crónica. El periodo de incubación de la enfermedad es de 8-20 días. (SAINZ et al. 2000, HARRUS 1999 y WANER & HARRUS, 2000).

- Fase aguda:

Después de un periodo de 8 a 20 días, el perro infectado ingresa en la fase aguda que dura de dos a cuatro semanas, durante este lapso, el organismo se multiplica dentro de

las células mono nucleares circulantes donde, los parásito entran en el torrente sanguíneo y linfático y parasitan a los macrófagos del sistema retículo-endotelial en el bazo, hígado y ganglios linfáticos, donde se replican por fisión binaria, al entrar *E. canis*, a estos órganos, causa una hiperplasia, manifestándose clínicamente, con un aumento del tamaño de estos órganos. (SAINZ, *et al.* 2000; WANER Y HARRUS, 2000).

Las células infectadas son transportadas por sangre a otros órganos corporales en especial pulmón, riñón y meninges donde se adhieren al endotelio vascular. El secuestro y destrucción de las plaquetas contribuyen a la trombocitopenia en la fase aguda. (WANER Y HARRUS, 2000)

Los recuentos leucocitarios son variables y la anemia posiblemente relacionada con la supresión de la eritrogenesis y destrucción eritrocítica acelerada se desarrolla en forma progresiva durante la fase aguda. (SAINZ, *et al.* 2000). Cuentas variables de leucocitos y anemia pueden también desarrollar progresivamente durante este estado (CONTRERAS, 2006).

- Fase subclínica:

Ocurre a la 6-9 semanas pos inoculación y se caracteriza por la persistencia de la trombocitopenia, leucopenia variable y anemia sin signos clínicos. Como consecuencia de la infección, se produce una respuesta inmunitaria humoral importante, que a menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno. Este fenómeno suele presentarse en esta fase de la enfermedad, en la que sólo se detectan alteraciones en la analítica unidos a títulos de anticuerpos positivos. Los perros con inmunocompetencia adecuada erradican el parásito y no ingresan en la etapa crónica. (SAINZ, *et al.* 2000). (WANER Y HARRUS, 2000)

WANER & HARRUS (2000) demostraron la presencia de ADN *ehrlichial*, tomados de cuatro muestras de aspirado basal de 4 canes portadores, luego de haber

sido experimentalmente infectados por *E. canis*, 34 meses antes de dicha prueba, lo cual sugiere, que el bazo, es el órgano que alberga la *ricketsia* en los casos subclínicos.

HARRUS (1999) refiere que en canes a los cuales se les ha extraído el bazo y que están infectados con *E. Canis*, los efectos o síntomas son menos severos que en los canes intactos, lo que sugiere, que el bazo juega un papel fundamental en la patogénesis de la *ehrlichiosis*.

- Fase crónica.

Los ejemplares que son incapaces de montar una repuesta inmune eficiente padecen infección crónica. La hiperglobulinemia no relacionada con repuesta inmune humoral específica es típica de la enfermedad crónica. (SAINZ, *et al.* 2000)

Existe evidencia creciente, como una extensiva infiltración de órganos parenquimatosos por células plasmáticas, la ocurrencia de hipergammaglobulinemia policlonal que no está correlacionada con títulos de anticuerpos específicos de *E. canis*, pruebas de Coombs y autoaglutinación positivas que soporta la hipótesis de que mecanismos inmunes están involucrados en la patogénesis de la EMC aguda. También fueron demostradas nuevas evidencias sobre la intervención de mecanismos inmunopatológicos en la patogénesis de la EMC en infecciones experimentales realizadas en perros esplenectomizados. Estos presentaron una forma menos severa de la enfermedad aguda en comparación con los perros enteros (WANER Y HARRUS, 2000). La esplenomegalia causa un aumento del secuestro y destrucción plaquetaria por los macrófagos del bazo.

Esto disminuye el número de trombocitos circulantes (CONTRERAS, 2006)

6.3.8. Presentación clínica

El curso de la ehrlichiosis se ha dividido en tres fases: aguda, subclínica y crónica, basándose en los signos clínicos y en las anomalías clinicopatológicas (CONTRERAS2006)(FRISBY, 2004)

Los signos de la fase aguda de la enfermedad generalmente se desarrollan de 1-3 semanas posteriores a la mordida de la garrapata infectada, y generalmente dura de 2-4 semanas (CONTRERAS, 2006). En esta fase los signos clínicos pueden ser leves y no específicos, aunque en algunos casos pueden ser severos y comprometer la vida del animal (WANER Y HARRUS, 2000). ESTA FASE Se caracteriza por alteraciones hematológicas: trombocitopenia, leucopenia y anemia leve variable. Otras alteraciones que se pueden presentar son pérdida de peso, anorexia, letargia, hipertermia, (41º C), linfadenomegalia, exudado óculo-nasal seroso o purulento, hemorragias, disnea (ARCHILA, 2007). Los signos oculares son frecuentes e incluyen uveítis anterior, opacidad corneal, hifema, tortuosidad de vasos retínicos y lesiones corio-retínicas focales. Puede haber desprendimiento de retina y ceguera debido a hemorragias subretínicas (WANER Y HARRUS, 2000).

Ocasionalmente aparecen signos locomotores, especialmente cojeras intermitentes, debido a la existencia de poliartritis que suele ser causada por un depósito de inmunocomplejos a nivel articular (SAINZ et al., 2000).

Debido al corto periodo de incubación se puede encontrar en algunos de estos animales una infestación evidente de garrapatas, si no han sido eliminadas todavía. En la mayoría de los casos se resuelve esta fase de forma espontánea y se inicia la siguiente fase (ARCHILA, 2007).

Seguida a la fase aguda de la enfermedad, la infección por *E. canis* puede persistir, y tales animales pueden entrar en el estado sub clínico , durante la cual la persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema

inmune (CONTRERAS, 2006) Ésta fase aparece de 6-9 semanas después de la infección inicial y su duración suele ser de uno a cuatro meses). En esta fase el animal recupera el peso perdido y resuelve la hipertermia llegando a tener temperatura corporal normal. Hay ausencia de signos clínicos pero persisten los cambios hematológicos consistentes con trombocitopenia, anemia arregenerativa y respuestas celulares variables de leucopenia a linfocitosis y monocitosis (WANER Y HARRUS, 2000) En algunos animales puede ser eliminado el parásito, (si su estado inmune es competente). Aunque en la mayoría persiste, instaurándose así la fase crónica (ARCHILA, 2007).

La fase crónica generalmente se desarrolla de 1-4 meses luego de la mordida de la garrapata y puede ser, ya sea leve o severa (CONTRERAS, 2006). Los signos más comunes en la enfermedad crónica son debilidad, depresión, anorexia, pérdida crónica de peso, palidez de mucosas, fiebre y edema periférico, especialmente en miembros posteriores y escroto (Waner y Harrus, 2000). De todos los signos hemorrágicos observados en la fase crónica (petequias, equimosis, hematuria, melena, hemorragias oculares) la epistaxis es el más frecuente (Sainz et al., 2000). . También puede haber Infecciones secundarias, neumonía intersticial, falla renal, artritis y signos neurológicos (Waner y Harrus, 2000).(FRISBY,2004).

Alteraciones biopatológicas.

La ehrlichiosis canina es una enfermedad que cursa con alteraciones en la analítica muy variadas. Debido a que esta enfermedad puede cursar de un modo sub clínico o con sintomatología poco específica durante largos periodos de tiempo, son muchas veces los hallazgos en la analítica los que nos hacen sospechar de esta enfermedad (DOMINGUES ALVARES, 2011).

Las alteraciones hematológicas se comprueban mejor en infecciones por *E. canis* e incluyen anemia (82%) que suele ser arregenerativa, trombocitopenia (82%) y leucopenia (32%, de la cual 20% tuvo neutropenia). La trombocitopenia es considerada como la anormalidad hematológica más común y consistente de perros, natural y experimentalmente infectados con *E. canis* y está atribuida a múltiples mecanismos en los diferentes estados de la enfermedad. En la fase aguda incluye aumento de consumo de plaquetas debido a cambios inflamatorios en el endotelio de vasos sanguíneos, aumento de secuestro de plaquetas por parte del bazo, y destrucción inmunológica o daño resultando en un descenso significativo del tiempo de vida plaquetario (HARRUS et al., 1999). La trombocitopenia parece estar asociada con la producción de anticuerpos plaquetarios y un factor inhibitorio de la migración plaquetaria, cuya función sería exacerbar el secuestro y éstasis plaquetario (SAINZ *et al.* 2000).

La trombocitopenia moderada es un hallazgo común en la fase sub clínica de la enfermedad. La trombocitopenia severa, leucopenia y anemia se presentan más comúnmente durante la fase crónica de la EMC (WANER Y HARRUS, 2000). La pancitopenia suele resultar de hipoplasia de todas las células precursoras en la médula ósea y ocurre en la fase crónica grave (18 % de los casos) (CONTRERAS, 2011)

Las anormalidades químicas séricas más frecuentes han incluido hiperproteinemia (33%), hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%) (CONTRERAS, 2011). La hiperglobulinemia puede ser consecuencia de daño e inflamación tisular, puesto que la síntesis de globulina por el hígado es estimulada por mediadores endógenos de leucocitos en respuesta a inflamación y daño tisular. La hipergammaglobulinemia en EMC es usualmente policlonal. Las concentraciones de gammaglobulina aumentan durante la fase febril de la enfermedad y persisten durante las fases subclínica y crónica.

Existe poca relación entre las concentraciones de gammaglobulinas y títulos de anticuerpos *E. canis* específicos (HARRUS et al., 1999). La hipoalbuminemia vista en EMC puede ser consecuencia de una pérdida periférica de albúmina a fluidos

inflamatorios edematosos como resultado del aumento de la permeabilidad vascular, pérdida de sangre, o menor producción de proteínas debido a una leve enfermedad hepática conjunta, o a cambios mínimos de glomerulopatía (HARRUS et al., 1999).

Ocasionalmente, el análisis sanguíneo puede poner de manifiesto alteraciones motivadas por la existencia de una insuficiencia renal y/o hepática. Un aumento transitorio moderado en la actividad de la alanina aminotransferasa y de la fosfatasa alcalina puede presentarse (WANER Y HARRUS, 2000). En el uroanálisis, las dos alteraciones más frecuentes son proteinuria y hematuria (Sainz et al., 2000).

6.3.9. Diagnostico.

El diagnóstico se basa en la anamnesis, presentación clínica, hallazgos patológicos al examen clínico y se confirma con las pruebas de laboratorio (WANER Y HARRUS, 2000). La hematología y bioquímica sanguínea son de gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad (CONTRERAS, 2011)

6.3.9.1. Diagnostico directo. (Etiológico)

Se basa en la detección u observación del agente etiológico a partir de muestras obtenidas del animal sospechoso. La identificación de las mórulas, los cuerpos elementales y/o iniciales de *E. canis* en el interior de los linfocitos y/o monocitos sanguíneos de un perro constituyen una prueba inequívoca de su infección. Los frotis se tiñen con los colorantes habitualmente empleados para la observación de citologías y leucocitos, como Giemsa o Romanowsky. (DOMINGUES ALVARES, 2011)

Las mórulas son cuerpos eosinofílicos o basofílicos, de redondos a ovales y bien definidos, que se encuentran en vacuolas dentro del citoplasma de leucocitos y plaquetas. (WANER Y HARRUS, 2000).

Sin embargo, como ya se mencionó, la mórula se puede visualizar sólo en la fase aguda de la enfermedad y el porcentaje de células infectadas es usualmente menor de 1%; por lo tanto, la ausencia de ésta en frotis sanguíneos no excluye la posibilidad de infección (CONTRERAS, 2011).

6.3.9.2. Diagnósticos indirectos.

Una alternativa a la observación directa, que como anteriormente ha quedado de manifiesto no es siempre eficaz, es la detección de la presencia de un agente infeccioso por medio de la valoración de la respuesta inmunitaria del hospedador. El organismo, ante la presencia del parásito producirá anticuerpos, y éstos son fácilmente detectados por medio de técnicas analíticas, como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) o el ELISA (enzimo inmuno ensayo). Ambas técnicas se basan en el mismo principio, la diferencia es que los anticuerpos se revelan de distinta forma, y con instrumentos analíticos diferentes (DOMINGUES ALVARES, 2011).

Según FRISBY (2004), los anticuerpos contra *Ehrlichia* pueden permanecer activos por un año o más, pero ellos no hacen inmune al can a la Ehrlichiosis, el can puede volver a padecer la enfermedad. Otros métodos, usados principalmente en investigación, son el cultivo de la bacteria, PCR y Western immunoblotting (WANER Y HARRUS, 2000). Estos dos últimos son especialmente útiles en casos dudosos y a la hora de distinguir infecciones por diferentes especies de *Ehrlichia* (SAINZ et al., 2000).

6.3.9.3. Diagnostico diferencial

La sintomatología clínica de la ehrlichiosis canina es muy variada e inespecífica por lo que puede ser confundida con un gran número de patologías. No obstante, fundamentalmente debe diferenciarse del mieloma múltiple, linfoma, leucemia linfocítica crónica y lupus eritematoso sistémico. En un perro con un cuadro crónico de pérdida de peso, esplenomegalia, linfadenopatía generalizada, pancitopenia, plasmocitosis en médula ósea y gammopatía monoclonal, el único modo para diferenciar ehrlichiosis canina de mieloma múltiple es obtener una serología positiva para *E.* Esta también es la única forma de distinguir ehrlichiosis de leucemia linfocítica crónica en un animal con pérdida de peso, linfadenopatía leve, hepatoesplenomegalia, linfocitosis y gammopatía monoclonal (SAINZ, 2000).

No obstante, la que con más frecuencia se puede confundir con Ehrlichiosis, es la leishmaniosis canina, debido a la similitud de muchos de sus síntomas (hemorragias, apatía, linfadenopatía, pérdida de peso, uveítis, etc.), especialmente en animales con hiperproteinemia.

Enfermedades como la babesiosis, hepatozoonosis y hemobartonelosis, por la similitud de sus vectores y, a veces, de su sintomatología, también deben ser descartadas (SAINZ, 2000). Por último, el curso crónico de la ehrlichiosis canina hace posible la concurrencia con cualquier otro proceso patológico, lo que puede despistar en gran medida a la hora de efectuar un diagnóstico. En este sentido la ehrlichiosis canina puede presentarse asociada a un gran número de patologías esporádicas, infecciosas y/o parasitarias.

6.3.10. Tratamiento

Los fármacos más empleados, en el tratamiento de la Ehrlichiosis canina son: doxiciclina y dipropionato de imidocarb. SAINZ *et al.* (2000); WANER & HARRUS (2000) y VARELA, (2003) (ARCHILA, 2007). La doxiciclina es menos nefrotóxica que las tetraciclinas y es la droga de elección en las infecciones crónicas con evidencia de falla renal a dosis de 5 mg/Kg cada 12 h. o como una sola dosis de 10 mg/Kg cada 24 h. durante periodos de 28 a 30 días (ARCHILA, 2007; SAINZ *et al.* (2000); WANER & HARRUS (2000); VARELA (2003) y FRISBY (2004)

El dipropionato de imidocarb, es el otro gran antirickettsial. Tiene muy buena tolerancia y es una buena alternativa, para cuando se produzcan recidivas o poca respuesta con las tetraciclinas. El dipropionato de imidocarb se puede emplear, administrando dos inyecciones de 5 mg/kg, vía SC, con un intervalo de dos semanas entre ambas. Se recomienda administrar atropina, antes, a dosis de 0,025mg/Kg a fin de evitar o minimizar los efectos indeseables del imidocarb, como son la excesiva salivación, diarrea, disnea, exudado nasal seroso (ARCHILA, 2007). Una ventaja del uso del Imidocarb en los perros es que elimina otras enfermedades transmitidas por garrapatas, como la babesiosis, que puede ser concurrente a la EMC (WANER Y HARRUS, 2000). (SAINZ *et al* 2000)

Para FRISBY (2004) generalmente, el pronóstico durante la fase aguda es favorable, siempre y cuando, el can este bajo un tratamiento adecuado, mientras que los pacientes que se encuentran en la fase crónica de la enfermedad, su pronóstico es desfavorable FRISBY (2004)

Existen otras drogas que son eficaces contra *E. canis* como son: tetraciclina (22 mg/kg, cada 8 horas), oxitetraciclina Las tetraciclinas son eficientes en el tratamiento de la fase aguda de la ehrlichiosis. La oxitetraciclina y la doxiciclina corrigen frecuentemente la pirexia y otros signos clínicos asociados con la ehrlichiosis canina. La

tetraciclina (22 mg/kg cada 8 horas) o la oxitetraciclina (25 mg/kg, cada 8 horas), horas durante 14 a 21 días elimina la *E. canis* en casi el 75% de los perros.

Las tetraciclinas están contraindicadas en los canes menores de 6 meses, debido a que ocasiona daños en el esmalte dental (manchado dental) A fin de evitar la coloración amarillenta de los dientes en erupción debido al tratamiento con tetraciclinas (excepto doxiciclina), se ha recomendado el uso de cloranfenicol para cachorros menores de cinco meses. Se recomienda una dosis de 50 mg/kg cada 8 horas WANER & HARRUS (2000)

Cuando hay trombocitopenia grave o que pone en peligro la vida del animal, es útil el tratamiento a corto plazo (dos a siete días) con glucocorticoides al inicio del periodo terapéutico. Se puede administrar prednisona a una dosis de 5mg/kg/día durante 3 a 5 días. No obstante, como no se han realizado estudios clínicos que prueben la eficacia de los esteroides en el tratamiento de la EMC, deberían ser usados con precaución (WANER Y HARRUS, 2000). También son útiles cuando hay poliartritis y meningitis (ARCHILA, 2007).

En un gran número de casos, principalmente en la fase crónica severa, se precisa la instauración de una terapia coadyuvante. La fluidoterapia en animales deshidratados o con insuficiencia renal, transfusión de sangre en animales con anemia grave, el uso de antibióticos bactericidas de amplio espectro en animales sépticos puede ser necesario. Igualmente importante es el control de garrapatas. Los animales que no se encuentran gravemente afectados suelen presentar una respuesta favorable a las 48-72 horas. Los animales en la fase sub clínica pueden necesitar un tratamiento más prolongado en comparación con los perros que sufren la etapa aguda (WANER Y HARRUS, 2000). Los animales con infección crónica grave tienden a responder, pero el tratamiento y su pronóstico es malo (WANER Y HARRUS, 2000).

No olvidar de controlar las alteraciones hepáticas con la clásica terapéutica y otras manifestaciones como también la formación de radicales libres con Vitamina E 800 UI/Animal/Día, se recomienda la utilización de Vitamina C en dosis de 500mg/Animal al día (ARCHILA, 2007)

6.3.11. Profilaxis

Hasta la fecha, no se ha desarrollado ninguna vacuna eficaz contra *E. canis* y el control de las garrapatas sigue siendo la medida de prevención más eficaz contra la infección (WANER Y HARRUS, 2000). Debido a su gran especificidad de hospedador, *R. sanguineus* se ha adaptado perfectamente al medio que rodea al perro, por lo que es frecuente encontrarla en perreras y en los lugares en los que duermen durante todo el año. La inspección frecuente de los perros para la detección de garrapatas también es una sencilla técnica que puede reducir la presencia de futuras infestaciones.

Los productos que repelen y matan garrapatas son una buena opción. Los collarines anti garrapatas conteniendo como ingrediente activo amitraz también se pueden usar, algunas veces conjuntamente con los otros productos anti garrapatas, como soluciones externas, tanto en forma de baños como de pulverización sobre todo en aquellas áreas con infestación alta.

En relación con los perros donantes, éstos deben ser seronegativos en dos muestras separadas por 1 mes entre sí. La analítica se repetirá anualmente (SAINZ, 1996).

Las medidas profilácticas también deben aplicarse a aquellos animales diagnosticados de ehrlichiosis debido al riesgo de reinfecciones que estos animales tienen, ya que normalmente el medio en el que residen continúa siendo el mismo (ARCHILA, 2007).

6.4. HAEMOBARTONELOSIS CANINA

Los generos *Haemobartonella* que hasta hace poco tiempo se ubicaban dentro del orden *Rickettsiales*, se consideran hoy *Micoplasmas*; a esta especie de micoplasma hemotrópico se le ha dado colectivamente el nombre trivial "hemoplasmas".(TARTARA, PEREYRA et al, 2013)

Haemobartonellosis es transmitida por garrapatas (*R. sanguineus*) y esporádicamente por pulgas, es una enfermedad que afecta a los perros y a los gatos. *Haemobartonella* parasita las globulos rojos de la sangre que son los responsables de transportar el oxígeno. (FRISBY, HOLLY; DVM. 2004)

6.4.1. Taxonomía

Familia: *Anaplasmataceae*

Género: *Haemobartonella*

Especie: *H. Canis*

(ANGULO C.J.M. et al 2005).

6.4.2. Distribución

Se encuentra distribuida por todo el mundo. (ANGULO C.J.M. et al 2005).

La distribución es amplia y de tipo estacional. Sin embargo, se pierde esta estacionalidad, pudiendo aparecer a lo largo del año en aquellos lugares, cuyas condiciones de temperatura y humedad sean adecuadas para el vector.

(REYES VILLANUEVA, 2003).

6.4.3. Etiología

Haemobartonelosis es causada por *Haemobartonella canis*.

Según CABAZAS (2008). Se clasifica como *Rickettsiae* tomando como base sus características morfológicas y respuestas a tratamientos con antibióticos.

Son organismos hemotrópicos que se diferencian sobre la base de su rango de hospederos e incluyen *H. muris* (ratas), *H. felis* (gatos) y *H. canis* (perros).

Se relaciona con el patógeno felino *Haemobartonella felis*, y de acuerdo con esto se nombró *Haemobartonella canis*.

En línea con esto, *H. canis* ha sido renombrada *Mycoplasma haemocanis*. A esta especie de micoplasma hemotrópico se le ha dado colectivamente el nombre trivial "hemoplasmas". (Cabazas, 2008).

Segun FRISBY (2004) Haemobartonellosis es causada por *Mycoplasma haemocanis*, formalmente conocida como *Haemobartonella canis*. *Mycoplasma haemocanis* no es una bacteria típica, esta pertenece a un grupo de microorganismos llamados *Mycoplasma*, los cuales son los microorganismo de vida libre más pequeños.

Haemobartonella canis se multiplica por fisión binaria, se tiñen con Giemsa en un color púrpura intenso, no es efectiva la tinción de Gram (no se tiñen) son inmóviles y no tienen pared celular (ANGULO C.J.M. et al 2005).

6.4.4. Transmisión

Puede ser natural (garrapatas) y mecánica (agujas, inyecciones).

FRYSBY (2004), (CABAZAS, 2008) concuerdan en que la garrapata del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) es el principal vector de la *Haemobartonella canis*, aunque también, agregan que, las pulgas, son un vector secundario de *Haemobartonella*.

FRISBY (2004) las garrapatas pueden estar infectadas y transmitir más de un hemoparásito, pudiendo coexistir con *Haemobartonella*, *Ehrlichia*, *Babesia*, etc. Es decir, que no es raro encontrar canes infectados con más de un hemoparásito.

La transmisión por garrapata, puede ser transstadial y transovárica, lo que permite que mantenga su capacidad infectante por largos meses.

Existen evidencias de que las perras pueden también transmitir micoplasma a sus cachorros pero esto no ha sido probado, pudiendo ser vía transplacentaria o por vía de la leche. Otra forma de transmisión debido a que *haemobartonella* parasita los hematíes sanguíneos es por transfusión de sangre procedente de un animal infectado a uno no infectado.

Vector mecánico de forma iatrogénica por uso de jeringas reusadas (CABAZAS, 2008)

6.4.5. Patogenia

Al penetrar los cuerpos elementales a los eritrocitos del animal, comienzan a multiplicarse por fisión binaria, hasta romper el eritrocito, buscando nuevos globulos rojos que infectar, de este modo causan una anemia hemolitica en el hospedador definitivo. (REYES VILLANUEVA, 2003).

Según CABAZAS (2008). La haemobartonelosis afecta las células de la serie roja, adosándose a la superficie de estos donde se multiplica por fisión binaria produciendo una hemólisis intra y extravascular, causando un cuadro de anemia regenerativa.

6.4.6. Factores de riesgo y susceptibilidad

- Según CABEZAS 2008, Anemia, ausencia de vacunaciones, antecedentes de abscesos por mordeduras, cachorros y menores de 4 años y comportamiento de vagabundeo.
- La inmunosupresión relacionada con VileF, esplenectomía o cortico terapia potencia la visualización del agente en los extendidos sanguíneos.

Del animal:

- Esplenectomizado: está sometido a situaciones de estrés.
- Drogas inmunosupresoras: desarrollan una clínica manifiesta de la enfermedad que en algunos casos puede conducir a la muerte.

Del ambiente:

- Alta prevalencia de pulgas y garrapatas, y además haya mezclas de animales, aumenta la persistencia y diseminación de la enfermedad.

Del Patógeno:

- Un animal infectado por *Haemobartonella canis*, puede estar Infectado además por *Babesia canis* y/o *Ehrlichia canis*. No es poco común ver perros infectados con más de una enfermedad al mismo tiempo. (CABAZAS, 2008) (FOSTER et al, 2003)

6.4.7. Signos clínicos

Según ANGULO C.J.M (2005) produce anemia, fiebre, adelgazamiento, depresión, ictericia, anorexia y esplenomegalia.

Según FOSTER et. al (2003) y FRISBY (2004) la enfermedad generalmente no es evidente a menos que el perro se halla sometido previamente a una esplenectomía, tiene un sistema inmune suprimido, o está infectado con otros organismos tales como Ehrlichia etc. El bazo es responsable de la filtración de la sangre y su trabajo consiste en retirar y destruir los glóbulos rojos dañados, que es lo que se observan en haemobartonellosis. Es por ello que un perro sin el bazo es más susceptible - no hay nada para eliminar las células infectadas desde el torrente sanguíneo.

En la enfermedad aguda, el perro suele mostrar depresión, pérdida de apetito, pérdida de peso y fiebre. En casos severos, puede ocurrir la muerte.

Una forma crónica de la enfermedad ha sido reportada raramente y puede causar debilidad, aumento de apetito, y pica. La sintomatología clínica es parecida a *Babesia* aunque menos severa.

Etapas (CABAZAS 2008),

1) **Preparasitémica** (2 a 21 días):

No muestran signos ni parásitos.

2) Fase **aguda** con signos y parasitemia:

Depresión, debilidad, anorexia, pérdida de peso, palidez de las mucosas, esplenomegalia, fiebre de 40°C, orina de color amarillo amorronada y mucosas ictéricas
En casos severos puede ocurrir la muerte.

En la forma **crónica** puede haber incremento del apetito y pica.

3) Fase de **recuperación**: anemias leves y signos clínicos inaparentes.

4) Fase de **portador** (dura hasta 2 años): son clínicamente normales, con recidivas poco frecuentes.

6.4.8. Epizootia

Distribución mundial: Se presenta con mayor frecuencia en las regiones tropicales y sin embargo se encuentra sub diagnosticada.

Mayor incidencia y gravedad en gatos infectados por virus de leucemia felina, inmunodeficiencia felina o sometida a situaciones de estrés.

Morbilidad puede variar entre un 20 y un 40% y la mortalidad entre un 30 y un 40%.

Se presenta en menor cuantía en comparación con las hemoparasitosis más frecuente (babesiosis y la ehrlichiosis). (CABAZAS, 2008)

6.4.9. Diagnostico

- Clínico
- Hematológico
- Diagnóstico directo (PCR)
- Diagnóstico indirecto (INMUNOFLUORESCENCIA)

En el diagnóstico diferencial se hace todavía más difícil cuando se presentan simultáneamente con otras enfermedades, en la fase aguda con Ehrlichiosis y Babesiosis.

En el caso de Ehrlichiosis cuando se realiza un frotis sanguíneo por observación del agente, en linfocitos y monocitos, además de las pruebas serológicas

Se diferencia de la babesiosis cuando se realiza un frotis sanguíneo por observación del agente dentro del glóbulo rojo. (CABAZAS, 2008)

6.4.10. Tratamiento

Según FOSTER et al (2003) y FRISBY (2004) los antibióticos como tetraciclina, oxitetraciclina ó doxicilina son usados contra *haemobartonella* durante tres semanas de tratamiento.

Tetraciclina: 20 mg/kg., cada 8 ó 12 horas, vía oral, por tres semanas. (Es beneficioso para alcanzar la recuperación pero no elimina el estado portador).

Doxiciclina: 5-10 mg/kg., cada 8 horas, vía oral, por dos semanas.

Oxitetraciclina: 40 mg/kg, cada 12 horas, vía oral, por dos semanas.

Clorhidrato de Oxofenarsina: 4,5 mg/Kg., vía intravenosa, dosis única.

Como terapia de soporte se administran suero o transfusiones sanguíneas de acuerdo al grado de anemia, la anemia hemolítica es causada en parte por un mecanismo inmuno mediado, por lo cual se recomienda prednisolona (1 - 2 mg/kg, PO, cada 8 – 12 horas) cuando se presenta hemólisis o anemia severa. (CABAZAS, 2008)

6.4.11. Profilaxis.

Considerando que es transmitido al perro por garrapatas y pulgas, la base para la prevención es el control o erradicación de los vectores (garrapatas y pulgas)., dicho control radica en evitar su presencia y el contacto con los animales, utilizando productos específicos tanto para el animal, como para el medio ambiente donde este se encuentra. (REYES VILLANUEVA, 2003). Otra forma puede ser, mediante el baño con productos antipulgas y garrapaticidas.

Los productos que repelen o matan garrapatas son una excelente elección, como el Fipronil, o el uso de collares de amitraz, en áreas endémicas se deben de controlar, tanto los parásitos externos, como los donantes de sangre, a los que se les debe de realizar exámenes para determinar que estén libres de *Haemobartonella*.

7. Estimación de eritrocitos:

En la observación de un frotis adecuadamente realizado y teñido, es difícil estimar la cantidad de eritrocitos en la muestra, sin embargo, en muestras provenientes de pacientes anémicos, el fondo no se tiñe y las células se encuentran muy separadas entre ellas, dejando un amplio espacio. (JARDON, 2003). Los eritrocitos bicóncavos son característicos de las especies domésticas (perro, gato, vaca, caballo, oveja, y cabra),

Cuando se observaba una zona apta, se recubría con una GOTA de aceite de inmersión, ya que aplicando este, se facilita la visualización de ciertos parásitos sanguíneos (*Haemobartonella*) observando con el objetivo de 100 x.

En el campo del microscopio, se observa un dominio predominante los *glóbulos rojos o eritrocitos*, estos no tienen núcleo y son más delgados por el centro que por los bordes.

7.1. Estimación de sólidos

Los glóbulos blancos o leucocitos se identifican fácilmente por la presencia de núcleo. Al microscopio de luz pueden dividirse En:

- a. Leucocitos granulares
- b. Leucocitos no granulares

Entre los leucocitos granulares (polimorfo nucleares), se encuentran:

Los *neutrófilos* o polimorfo nucleares forman la primera línea celular de defensa contra las infecciones microbianas; son producidos en la médula ósea y son liberados a la sangre ya maduros; normalmente este proceso se completa en pocos días; después de una breve estancia dentro de la circulación, entran en los tejidos y cavidades corporales para realizar sus funciones fisiológicas.

Los *neutrófilos segmentados* o *polinucleares*, tienen su núcleo segmentado, cromatina condensada y lóbulos nucleares unidos por filamentos delgados de cromatina; presenta gránulos específicos en el citoplasma. Las formas juveniles o bandas se caracterizan por presentar condensación de la cromatina nuclear y por la transformación de la forma del núcleo al de una banda (herradura). (1% a 2% de los leucocitos circulantes).

Los *eosinófilos*, con granulaciones abundantes de color rojizo y el núcleo teñido de color azul marino. Su citoplasma se caracteriza por la presencia de grandes gránulos refractarios de un color rojo púrpura. El mecanismo de la *eosinofilia* está asociada con los parásitos y con las enfermedades alérgicas, la regulación de su producción y su inmunobiología, así como su papel en el control de los parásitos helmintos.

Los *basófilos* presentan un núcleo teñido de rojo y las granulaciones del citoplasma de color muy oscuro. Su núcleo es bilobulado más está oscurecido por los abundantes gránulos azul oscuro de su citoplasma. Estos polimorfo nucleares son escasos en la sangre periférica y en médula ósea.

Entre los leucocitos no agranulares (mononucleares), están:

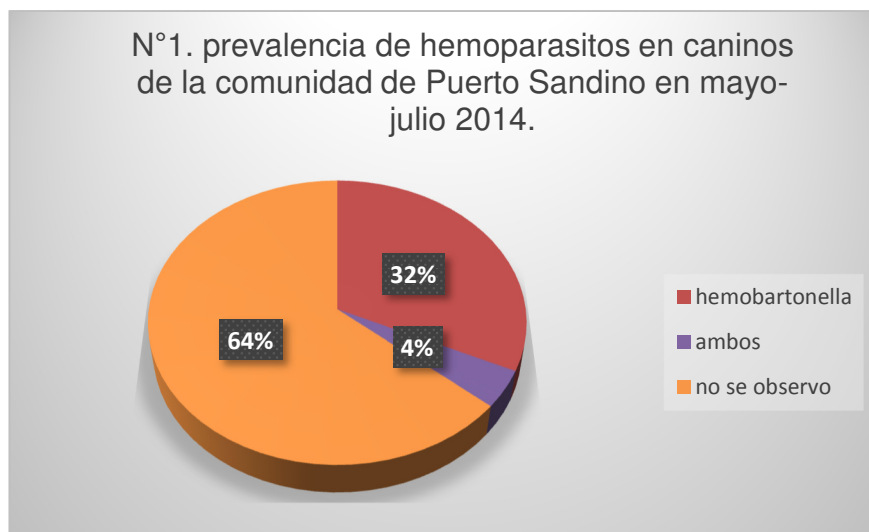
Los *linfocitos*, algo mayores que los glóbulos rojos, con un núcleo celular único y muy voluminoso que ocupa casi todo el glóbulo, aparecen fuertemente teñido en color violeta oscuro. El núcleo en los linfocitos contiene cromatina compacta, su forma es redonda, aunque puede ser oval, el nucléolo no es visto por lo general. Los representan un grupo heterogéneo de células encargadas de iniciar y ejecutar la respuesta inmune

Los *monocitos* son los leucocitos mayores, poco frecuentes normalmente, hay que desplazarse por la preparación para encontrar alguno. Tienen un núcleo celular único, muy grande y redondeado que aparece teñido en color violeta. (Es bueno que se recuerde su función que es la de fagocitosis).

VII- DISCUSIÓN Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Prevalencia de Hemoparasitos en caninos de la comunidad de Puerto Sandino.

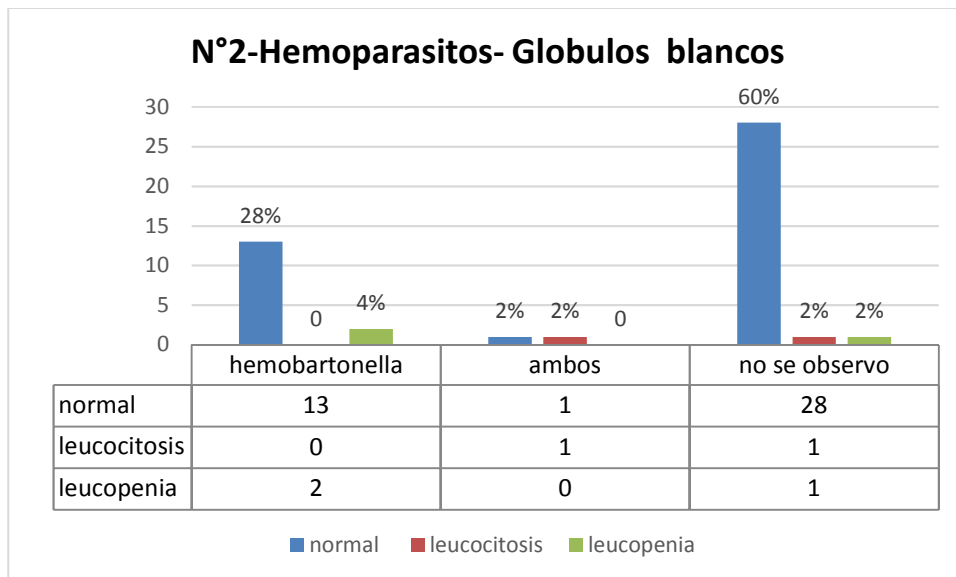
Hemoparasitos	N° Canes	% Canes
<i>Haemobartonella</i>	15	32
Ambos	2	4
No se observo	30	64
Total	47	100



De los 47 canes muestreados, 36% (17) fueron positivos a hemoparasitos del genero *Haemobartonella* y *Ehrlichia*

De los canes hemoparasitados, la mayor proporción de ellos fue afectado por *Haemobartonella canis* 32 % (15) seguido, una asociación de *Haemobartonella* y *Ehrlichia* (2) (4%).

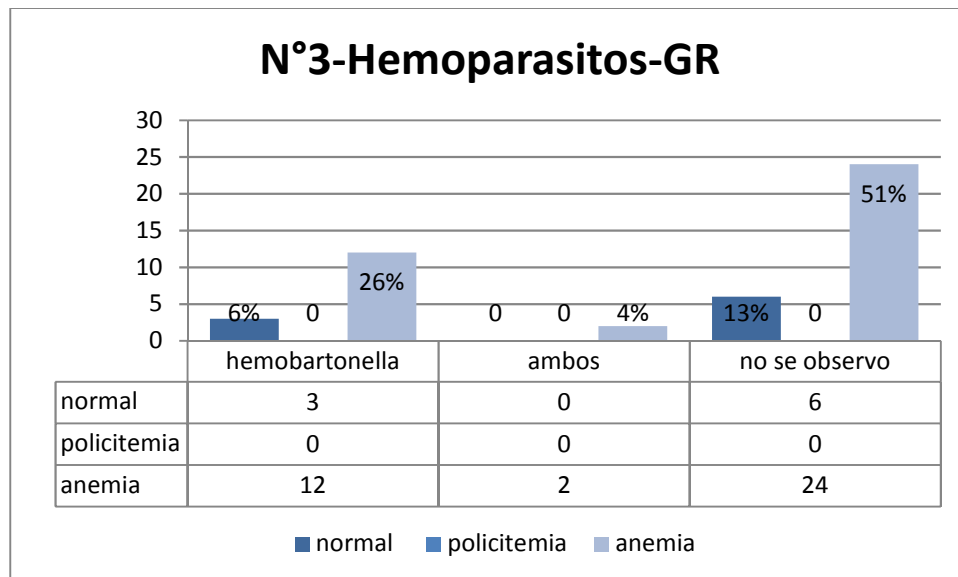
Glóbulos blancos



En el grafico (N°2) se observa que los caninos con presencia de hemoparasitos y sin hemoparasitos (42) en su mayoría se encuentran en los rangos normales (90%) de glóbulos blancos no así a los que presentan ambos hemoparasitos (2%).

Solo se encontró un 10% (5) de animales con alteraciones en los glóbulos blancos de estos el 4% eran negativos a hemoparasitos (2).

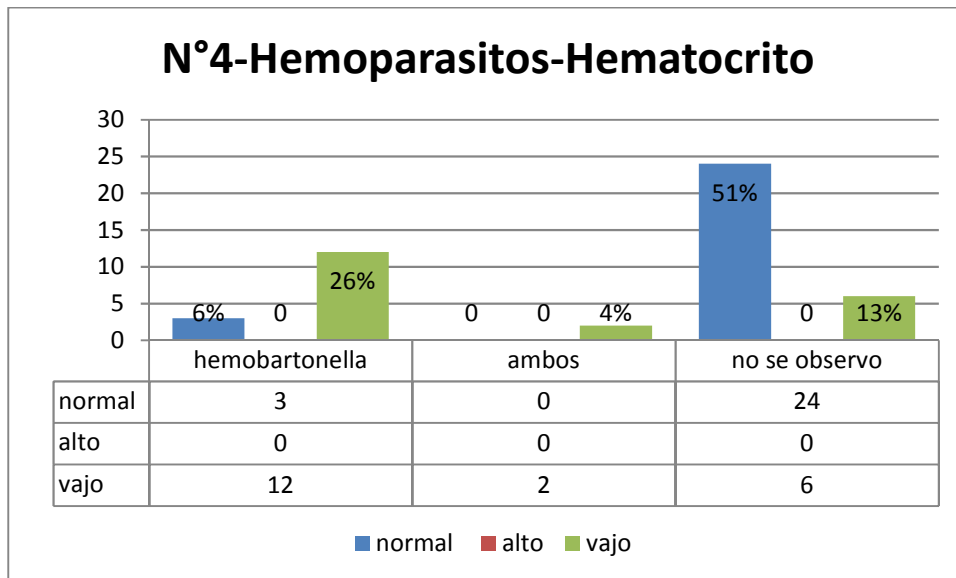
Glóbulos Rojos



En el grafico(N° 3) observamos que la anemia no es un dato indicativo de presencia de hemoparasitos, pero también demuestra que los caninos que presentaban hemoparasitos la mayoría tenían anemia.

De los canes hemoparasitados, el 30% (14) presentaba anemia y de los negativos un 13% (6). Un 57% (27) de canes no presentaron anemia, de los cuales el 51% (24) eran negativos a hemoparasitos.

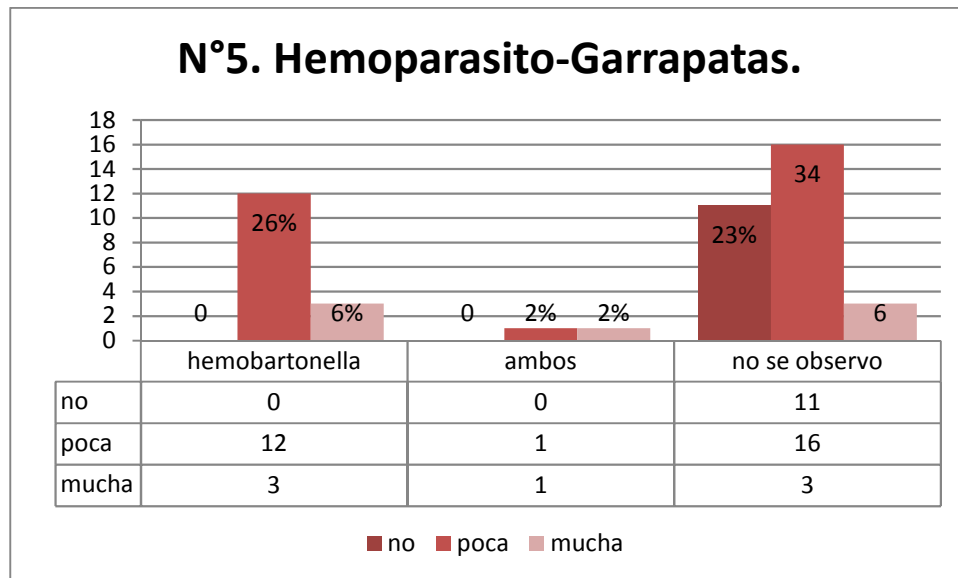
Hematocrito



En el grafico (N°4) se observa que hay una relación hemoparasitos-hematocrito; debido a que en los canes que presentaron hemoparasitos se observo un hematocrito bajo (30%) y los canes a los cuales no se le observo hemoparasitos la mayoría tenían un hematocrito normal (51%).

De los canes hemoparasitados un 6% presento hematocrito normal,(Ht:37-55) y de los canes no hemoparasitados un 13% presento anemia.

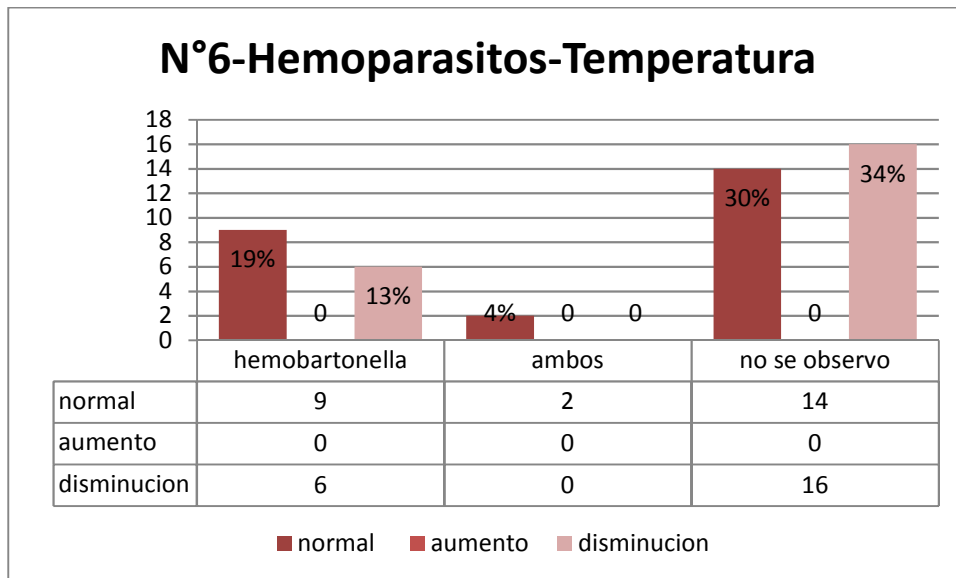
Garrapatas



En el grafico (N°5) se observa que todos los canes que no presentan garrapatas no tenían hemoparasitos y los canes que presentaban garrapatas podían tener o no hemoparasitos es decir que la presencia de garrapata no es indicativa de hemoparasitos.

Todos los canes heoparasitados presentaron garrapatas, de esto un 28% (13) tuvieron poca presencia y un 8 % (4) presentaron muchas garrapatas, mientras los canes negativos a hemoparasitos un 23% (11) no presentaron garrapatas, el 34% (16) tuvieron poca presencia y el 6% (3) tuvieron muchas garrapatas.

Temperatura

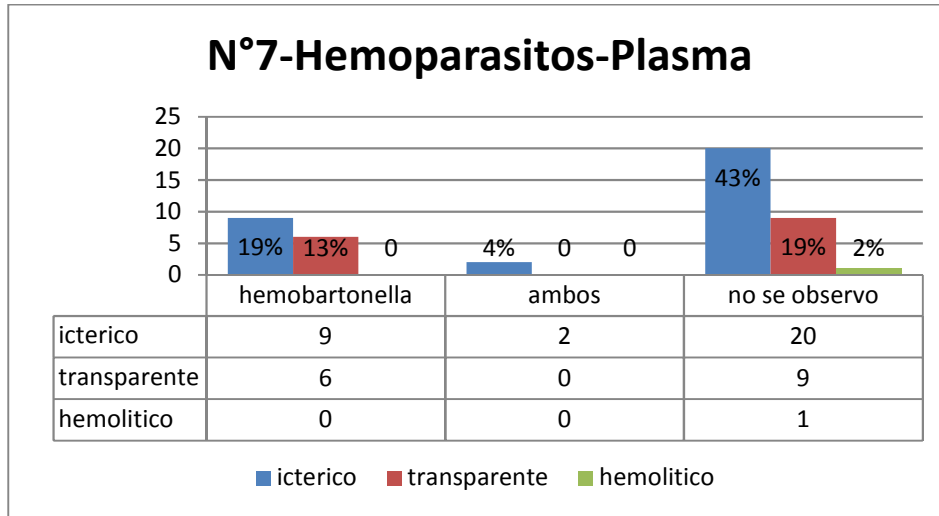


Los rangos para temperatura corporal reflejados en el estudio fueron, para hipotérmico (disminuido) 37.4°C o menores, normal de 38:00 a 39 °C y para hipertérmico (aumentado) de 39° C o más de eso.

En el grafico N° (6), logramos observar que la temperatura no es un dato indicativo de la presencia de hemoparasitos debido a que los canes con presencia de hemoparasitos tenían una temperatura normal o disminuida al igual que los canes sin presencia de hemoparasitos.

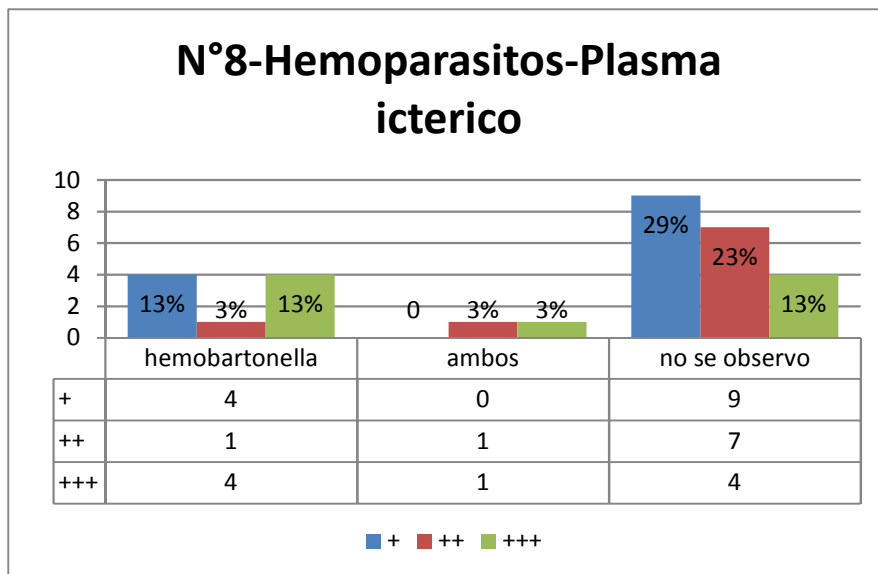
De los canes hemoparasitados el 13% (6) presentaban una disminución de temperatura, y el 23% se encontraba en rangos normales. Los canes negativos, el 34% presento disminución (16) y el 30% (14) se encontró en su rango normal.

Plasma



En el grafico (N°7) logramos observar que los canes con presencia de hemoparasitos al igual que los que no presentaron hemoparasitos tuvieron un número elevado de animales con plasma ictérico (66%) (31).

El 23% (11) de canes positivos presento plasma ictérico y un 13% (6) obtuvo el plasma transparente; mientras en los animales negativos un 2% (1) obtuvo plasma hemolítico, el 43% (20) ictérico. y un 19%(9) obtuvo plasma transparente.



De los animales ictericos la mayoría presentaron +; es decir una ictericia leve (42%). ++ (6%) y +++ (29%); de este 29% de animales con +++ el 16% fueron positivos a hemoparasitos

Los canes positivos a *Ehrlichia* y *Haemobartonella*, se encontraron con un estado anémico, 30 % (14 / 17), lo cual también es demostrado por PEREIRA (1998), SAINZ (2000), FRISBY (2004), WARNER Y HARRUS (2000) ARCHILA (2007) quienes determinan que en los casos de Ehrlichiosis y Haemobartolellosis (CABAZAS; 2008) siempre se presentan cuadros anémicos aunque muchas veces sean sin signos clínicos. Esto puede deberse a la influencia de diferentes factores como: desnutrición, altas cargas de parásitos externos e internos, mal manejo higiénico sanitario, y los mismos hemoparasitos. Todo esto afecta negativa en los niveles de hematocrito.

Las enfermedades transmitidas principalmente por garrapatas son muy frecuentes en las regiones tropicales y sin embargo se encuentran sub diagnosticadas (CABAZAS, 2008) (REYES VILLA NUEVA, (2003). En Nicaragua no existen publicaciones epidemiológicas, que muestren la prevalencia de las mismas, la mayoría de los casos de canes hemoparasitados son tratados a nivel de clínicas veterinarias privadas, la cuales llevan un registro propio.

En el presente estudio se obtuvo una prevalencia de 36% (17/47) canes positivos a hemoparasitos, cuya mayor proporción de ellos fue *Haemobartonella canis* 32 % (15/47), seguido, una asociación de *Haemobartonella* y *Ehrlichia* (2/47) (4%). esto puede deberse a las condiciones de la comunidad, la cual sigue siendo una zona rural en desarrollo, la mayoría de las calles son de tierra y adoquinadas y las familias tienen en sus hogares más de un can, también influye las cargas parasitarias y el control de las mismas, hay pocos alcantarillados, no existe el servicio de aguas negras, muchas familias tienen ganado viviendo en el patio de sus casas, es una comarca rodeada de mucha vegetación y donde se usa mucho a los canes para salir a casar.

Según CABAZAS, (2008) en hogares donde hay más de un can la presencia de hemoparasitos solos o asociados es más frecuente.

La prevalencia de *Haemobartonella* es la más destacada en el estudio, sin embargo se observó que los canes afectados por *H. canis* no presentaron síntomas clínicos, lo que indica que no es tan patógeno; esto concuerda con CABAZAS (2008), FRISBY (2004) FOSTER et al (2003) quienes confirman que *Haemobartonella* no presenta síntomas evidentes y específicos de la enfermedad; solo en algunos casos que se presenta en asociación con otras enfermedades, (*Babesia*, *Ehrlichia* etc.) causando anemia de leve a grave, leucopenia variable, trombocitopenia etc. las cuales son evidentes al realizar exámenes hematológicos.

En el estudio se observó que los canes con presencia de garrapatas podían ser positivos o negativos a hemoparasitos, no siendo necesario la presencia de garrapatas en el can para que estos presentaran la enfermedad, concordando con SAINZ et al (1996) el cual no encontró diferencia significativa, entre la presencia de Ehrlichiosis y la infestación de garrapatas. Estamos de acuerdo con lo dicho por SAINZ (1996); WANER & HARRUS (2000); VARELA (2003); ARCHILA (2007) FRISBY (2004) y CORDERO DEL CAMPILLO (1999) que la garrapata es su principal vector.

FRISBY (2004) CABAZAS, (2008) concuerdan en que la garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) es el vector principal de *Haemobartonella canis* y que la pulga (*Ctenocephalidae spp.*) Es un vector secundario de *Haemobartonella canis*; aunque en el estudio no se observó ningún canino con presencia de pulgas, por lo cual concluimos que las pulgas no juegan en esta comunidad un papel como vector secundario para *Haemobartonella canis*.

ARCHILA(2007); FRISBY (2004) y IRWIN (2004) concuerdan en que los hemoparasitosis que se presentaron en este estudio (*Haemobartonellosis*, *Ehrlichiosis*) presentan fiebre en ciertos estadios o tipo de presentaciones de dichas enfermedades, en el presente estudio no se observó ningún canino con presencia de

fiebre en el momento del muestreo; un 23% de canes positivos presentaron temperatura normal y un 13% presento una temperatura baja (- 37.5), por lo cual se difiere con lo antes mencionado; esto puede deberse a que la fiebre puede ser intermitente o al menos no se presento fiebre en el estadio que se encontraban en ese momento.

Según WARNER Y HARRUS, (2000), ZAINS et al (2000), ARCHILA, 2000, Foster et al (2003) FRISBY (2004) y CABAZAS (2008) CONTRERAS (2006) DOMINGUES ALVARES 2011) en las hemoparasitosis mencionadas en este estudio (*Haemobartonella* y *Ehrlichia*,) los canes no presentan sintomatología clínica específica, pero en la BHC se observan alteraciones analíticas tales como trombocitopenia, anemia, leucopenia linfocitosis de leve-moderada a grave según la fase de la enfermedad; en el presente estudio se observo que las alteraciones de glóbulos rojos, blancos y hematocrito no son un dato indicativo de hemoparasitos pero si se destaca que todos los canes hemoparasitados presentaron alteraciones analíticas en los parámetros mencionados.

VIII - CONCLUSION

- 1- La prevalencia de Hemoparasitos en los canes muestreados fue del 36%. Estos fueron positivos a hemoparasitos del genero *Haemobartonella* y *Ehrlichia*. De estos el más frecuente fue *Haemobartonella canis* (32 %) seguido una asociación de *Haemobartonella* y *Ehrlichia* (4%).No se observó *Ehrlichia* sin asociación en los canes.
- 2- Los caninos con hemoparasitos pueden presentar una variación en los glóbulos rojos, así como también estos pueden mantenerse en sus parámetros normales dependiendo del curso en que se encuentre.
- 3- La anemia se presento tanto en animales negativos como positivos debido a que muchos de estos presentaban problemas nutricionales, presencia de garrapatas y múltiples factores asociado a la anemia.
- 4- La alteración del hematocrito fue indicativo de presencia de hemoparasitos debido a que todos los animales positivos presentaron niveles bajo de hematocrito.
- 5- La presencia de garrapata no es indicativa de que el animal presente o no hemoparasitos.
- 6- Los canes con presencia de hemoparasitos al igual que los que no presentaron hemoparasitos tuvieron un mayor número de animales con plasma icterico y de estos canes ictericos la mayoría presentaron un nivel bajo de ictericia (+).
- 7- La temperatura corporal no fue un dato indicativo de presencia de hemoparasitos en los canes muestreados ya que la mayoría tanto negativos como positivos presentaron un rango bajo (-38.5).

IX- RECOMENDACIONES

A la Universidad:

- 1- Realizar otros estudio con métodos diagnostico de mayor sensibilidad y especificidad a *Ehrlichia canis* y *Haemobartonella canis*, tales como métodos serológicos, inmunoaglutinación, inmuno fluorescencia indirecta (IFI), ELISA y reacción en cadena polimerasa (PCR).
- 2- Si se realizan otros estudios; tomar un número mayor de muestra.

A los propietarios de los canes:

- 3- Ejercer un control sistemático de ectoparásitos, con el fin de prevenir las hemoparasitosis.
- 4- Debido a la baja sensibilidad y especificidad de la tinción Giensa; recomendamos que a los animales negativos con síntomas se le realicen pruebas más sensibles para descartar posibles falsos negativos.
- 5- A los animales de nuestro estudio que salieron positivos se recomienda los propietarios realizar controles hematológicos, así como pruebas de detección del parásito, (IFA o PCR), después de finalizar el tratamiento y anuales.
- 6- Para los animales que salieron negativos con presencia de algunos síntomas, realizar nuevamente la prueba cuando el animal presente temperatura, de salir negativa recurrir a pruebas diagnosticas (PCR, IFA Y ELISA); de no tener recursos económicas proporcionarle al can un tratamiento profiláctico.

X- BIBLIOGRAFIA.

1. Angulo C.J.M. et al 2005. Diagnostico situacional de cuatro hemoparasitos en canes menores de 1 año en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. Tesis MV. Managua, Universidad Nacional Agraria de Nicaragua, fac. cien Animal. 117p
2. Cabazas Zubieta Isabel. "Hemobartonelosis canina".REDVET [en línea], 2008, vol. IX N2 p 6. [consulta: 3 de julio 2014], ISSN 1695-7504.Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revista/redvet/n020208.html>
3. Corona Belkis, Rodríguez Marcela et.al. *Métodos empleados en diagnósticos*. apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. [consultado: 6 julio 2014] disponible en: www.monografias.com
4. Contreras Samanez Ana María Giovanna. 2006. *Estudio retrospectivo de caso control de ehrlichiosis canina en la Facultad de medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos, periodo 2002-2005*. Tesis M.V. Lima-Perú. universidad nacional mayor de san marcos, facultad medicina veterinaria. 45 p. [en línea].Consultado el 7 de julio del 2014.Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/683/1/contreras_sa.pdf
5. Chávez Archila Moisés. *Ehrlichiosis. Enfermedades parasitarias*. [en línea]. Madred-España. 2007. [consulta: 20 junio 2014]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos43/erlichiosis/erlichiosis2.shtml>
6. Domínguez Álvarez Gina Gabriela.2011. Prevalencia e identificación de hemoparasitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) en perros de la ciudad de Cuenca. Tesis mvz. Cuenca-Ecuador. Universidad de Cuenca, facultad de ciencias agropecuarias. 164 p. [en línea] consultado el 6 de junio del 2014. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3024/1/tv199.pdf>.

7. Foster and Smith. Haemobartonellosis (Hemotropic Mycoplasmosis) in dogs. *Pet education.com* [en línea]. [consulta: 10 de junio 2014]. Disponible en: <http://www.peteducation.com/article.cfm?c=2+2102&aid=293>
8. Frisby, Holly; DVM. (2004) Haemobartonellosis. Veterinary Services Department, Drs. Foster & Smith, Inc. USA. <http://www.peteducation.com> consulta el 05 de mayo del 2014.
9. Frisby, Holly. *Ehrlichiosis.veterinary*.2004 Services deparment,drs, Foster y Smith, Inc.USA. disponible en: <http://www.peteducacion.com>
10. Gine Jordi. Actualización en diagnostico y control de enfermedades infecciosas en el perro y gato. España: 2012. [consulta: 10 de junio 2014]. Disponible en: <http://www.avepa.org/pdf/proceedings/MEDICINA INTERNA PROCEEDING2012.pdf>
11. Harrus S. Waner. Canine Monocytic Ehrlichiosis – From Pathology to Clinical Manifestations. Jerusalem. Koret School of Veterinary Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel 1999. PDF. 2 de Julio del 2014. Disponible en: http://www.ijvm.org.il/sites/default/files/canine_mononocytic_ehrlichiosis.pdf
12. Hoskins JD.1991. Ixodid and argasid ticks. Keys to their identification. [En línea]. Tick-borne diseases in the United States. 10/1993. [consulta: 10 de junio del 2014]. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/21140633_Ixodid_and_argasid_ticks.Keys_to_their_identification
13. Jordan Herrera Genaro. *Hematología en medicina veterinaria. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México, edición electrónica, 2003.*
14. M. Cordero del campillo. *Parasitología veterinaria. Primera ed. Madrid, 1991. P 711-713.*
15. Reyes Villanueva Paulina 2003. Determinación de hemoparasitos de canidos en la zona conurbada Veracruz-Boca del rio, durante el periodo 1999-2002. Tesis MVZ. Veracruz, Ver. Universidad Veracruzana facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 36 p. [en línea] consultado el 5 de julio 2014. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/78/1/PaulinaReyesVillanueva.pdf>

16. Rodríguez Fernando, Tesouro Miguel A. et.al. *La ehrlichiosis en el perro: presente y futuro*. [en línea]. Madrid-España. Organización Colegial Veterinaria. Dpto. Patología Animal. Facultad de veterinaria de León. [consulta: 25 junio 2014]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/106020803/Las-Ehrlichiosis-en-El-Perro>
17. Robin W Allison. Hemotropic mycoplasma. [en línea]. The Merck veterinary manual. Lost full review/ revisión July 2011 [consulta: 25 de Junio 2014]. Disponible en: http://www.merckmanuals.com/vet/circulatory_system/blood_parasites/hemotropic_mycoplasmas.html
18. Tartara, Pereyra et. Al. Identificación de estructuras compatibles con micoplasmas hemotróficos en extendidos sanguíneos de perros de la ciudad de Rosario. Veterinaria Argentina [en línea] 2013. XXX. (299), p 2 [consulta: 10 Julio 2014] ISSN 1852- 317X. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/wp284/wp-content/uploads>
19. Varela A: S. Tick-Borne ehrlichiae and rickettsiae of dogs. 2003. Department of medical microbiology y parasitology, college of veterinary, medicine, university of Georgia. CA, USA. [consultado: 6 julio 2014]. Disponible en: <http://www.ivis.org>.
20. Warner T, Harrus S. *Ehrlichiosis monocitica canina* [en línea]. Argentina. A Pedraza Henry, 2000. [consulta: 5 de junio del 2014]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/136917679/Ehrlichiosis-Monocitica-Canina>

XI. ANEXOS

11.1. Glosario.

A

Agentes: es cualquier sustancia viva o inanimada, o fuerza muchas veces intangible, cuya presencia o ausencia es la causa inmediata o próxima a una enfermedad en particular. Son un conjunto de factores que están presentes en el medio ambiente y que pueden provocar enfermedades al huésped.

Anticoagulante: Que impide la coagulación de la sangre

Antropofilia: Apetencia selectiva de ciertos artrópodos por la sangre humana. (Ej.: *Pediculus capitis*).

Arácnido: Artrópodo con 4 pares de patas.

Artrópodos: Invertebrado con patas articuladas y esqueleto quitinoso

Apatía: falta de sentimiento o emoción; indiferencia

Auricular: el pabellón auricular forma parte del oído externo.

B

Bilobulado: Que tiene dos lóbulos.

BHC: Biometría hemática completa

C

Coadyuvante: Sustancia, especialmente un fármaco, añadida a una prescripción para ayudar a la acción del componente principal.

Capilaridad: Propiedad en virtud de la cual la superficie libre de un líquido puesto en contacto con un sólido sube o baja en las proximidades de este, según que el líquido lo moje o no; sus efectos son especialmente aparentes en el interior de los tubos capilares o entre dos láminas muy próximas

Cromatina: Sustancia que se encuentra en el núcleo de la célula formando el material cromosómico durante la interfase; está compuesto de ADN unido a proteínas

E

Etiológicos: Parte de la medicina que se ocupa de las causas de las enfermedades

Edema: Presencia de un exceso de líquido en algún órgano o tejido del cuerpo que, en ocasiones, puede ofrecer el aspecto de una hinchazón blanda.

Eosinofilia: es la presencia de una cantidad anormalmente alta de eosinófilos en la sangre.

Enfermedad: Conjunto de fenómenos que se producen en un organismo a consecuencia de la acción de una causa patógena, reaccionando contra ella

Ectoparásito: Parásito que vive en la superficie externa del hospedero.

Epizootia: Es una enfermedad contagiosa que ataca a un número inusual de animales al mismo tiempo y lugar y se propaga con rapidez. Su término equivalente en medicina es epidemia.

Eritrogenesis: Producción de eritrocitos.

Endocitosis: La endocitosis es el movimiento de materiales hacia adentro de la célula, por la vía de vesículas de membrana

Eosinófilo: Es un leucocito de tipo granulocito pequeño derivado de la médula ósea

Equimosis: Lesión subcutánea caracterizada por depósitos de sangre extravasada debajo de la piel intacta.

Estupor: Pérdida parcial o casi completa de la conciencia

Esplenomegalia: Aumento de volumen o hipertrofia del bazo.

Esplenectomía: Extirpación quirúrgica del bazo.

F

Frotis: Método de exploración microscópica de un fragmento de tejido o secreción que consiste en realizar una extensión sobre un portaobjetos y examinarla con el microscopio.

Fusión binaria: División directa de una célula o un núcleo en dos partes iguales. Es la forma común de reproducción asexual de las bacterias, protozoos y otras formas de vida inferiores.

Filamentos: Cuerpo que tiene forma de hilo muy fino.

Fagocitosis: Proceso por el cual ciertas células y organismos unicelulares capturan y digieren partículas nocivas o alimento.

Forma infectante: Fase del parásito capaz de infectar el huésped

G

Gammapatía monoclonal: La **gammapatía monoclonal** o **paraproteinemia** es una discrasia sanguínea, que cursa con una producción anormal de inmunoglobulinas y la aparición de un tumor de plasmocitos.

H

Gammaglobulina: Proteína del suero sanguíneo que es portadora de los anticuerpos y desempeña un papel fundamental en el sistema inmunológico.

Hemoparásitos: Son parásitos que están en el torrente sanguíneo y órganos hematopoyéticos

Hemólisis: Destrucción de los hematíes o glóbulos rojos de la sangre que va acompañada de liberación de hemoglobina.

Huésped definitivo: Hospedero en el cual el parásito alcanza su madurez sexual.

Huésped intermediario: Hospedero en el cual el parásito desarrolla parte de su ciclo evolutivo, sin alcanzar su madurez sexual.

Hemocitos: Célula sanguíneas

Hipergammaglobulinemia: Aumento de la tasa de las gammaglobulinas del suero sanguíneo.

Hifema: Hemorragia en la cámara anterior del ojo, generalmente causada por algún tipo de traumatismo.

Hepatoesplenomegalia: Es la inflamación del hígado más allá de su tamaño normal

Hiperproteinemia: concentración elevada de alguna (albumina o globulina) de las proteínas plasmáticas, mas no indica alteraciones de las cantidades absolutas de proteínas sanguíneas

Hematuria: signo inespecífico de enfermedad, que se caracteriza por la presencia de hematíes en la orina

I

Ixodidos: son una superfamilia de ácaros, conocidos vulgarmente como garrapatas. Son ectoparásitos hematófagos y son vectores de numerosas enfermedades infecciosas.

Inmunobiología: Parte de la medicina que estudia los mecanismos fisiológicos de respuesta del organismo frente a la presencia de microorganismos, toxinas o antígenos.

Inclusiones: Sustancia inerte, elaborada o almacenada en la célula y que se encuentra en su citoplasma en forma de gránulo u otra.

Inmunocomplejos: complejo formado por moléculas de anticuerpo unidas a un antígeno.

Iatrogénica: Toda alteración del estado del paciente producido por el médico

Instaurar: Establecer

L

Linfoma: tumor maligno originado en el tejido linfoide

Linfadenopatía generalizada: Tumefacción e incremento de tamaño de los ganglios linfáticos en diversas regiones.

Lisar: disolución de las células.

Leucocitos: son un conjunto heterogéneo de células sanguíneas que son los efectores celulares de la respuesta inmunitaria, interviniendo así en la defensa del organismo contra sustancias extrañas o agentes infecciosos. Se originan en la médula ósea y en el tejido linfático.

Leucocitos granulares: Son los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos.

Leucocitos no granulares: son los monocitos y los linfocitos.

Linfocito: es una célula linfática (se fabrican por células linfoides presentes en la médula ósea y que posteriormente migran a órganos linfoides como el timo, ganglios linfáticos y bazo, constituyen el 99% de las células linfáticas), que es un tipo de leucocito (glóbulo blanco) comprendido dentro de los agranulocitos. Son los leucocitos de menor tamaño (entre 7 y 15 μm), y representan aproximadamente el 30% (del 24 a 32%) del total en la sangre periférica.

Larva: Forma inmadura en el ciclo evolutivo de helmintos y artrópodos.

Letargia: Estado patológico caracterizado por la **relajación** muscular, la anulación de la sensibilidad y el dominio de un sueño profundo

Linfoadenomegalia: Aumento anormal de los ganglios del tejido linfático

Leucopenia: Reducción del número de glóbulos blancos en la sangre

Linfocitosis: Aumento en el porcentaje de linfocitos.

Linfadenopatía: tumefacción de uno o más ganglios linfáticos.

M

Morbilidad: El número de enfermos en una población y período determinados.

Mortalidad: Es el 'número de muertos en una población y período determinados.

Monocitos: Son un tipo de glóbulos blancos agranulocitos. Es el leucocito de mayor tamaño.

Monocitosis: Aumento en el porcentaje de monocitos.

Melena: excremento oscuro conteniendo sangre; vómitos negros

Mieloma múltiple: Tumor maligno de las células plasmáticas en la médula ósea

Muda: (ECDISIS): Vaina o tegumento que envuelve a artrópodos y a algunos gusanos (nematodos) y que en las etapas juveniles, de crecimiento, se desprende dando lugar a una nueva envoltura que puede desprenderse a su vez o ser definitiva.

N

Neutrófilos: Son células fagocíticas que proporcionan la primera línea de defensa contra los organismos y agentes patógenos externos y desempeñan un papel importante en la activación del sistema inmune contra los agentes patógenos.

Neurotóxinas: Son una clase extensa de sustancias químicas exógenas neurológicamente dañinas que pueden causar efectos adversos en la función tanto del tejido nervioso en desarrollo como en el maduro.

Ninfa: Estadios juveniles tanto de insectos con metamorfosis incompleta como de ácaros y garrapatas

O

Opacidad corneal: La opacidad corneal es un trastorno de la córnea, la estructura transparente ubicada al frente del globo ocular, que puede causar problemas visuales graves.

P

Pica: Trastorno del apetito consistente en comer cosas o sustancias no comestibles como hielo, tierra, pelos, etcétera

Polinucleares: Célula que parece contener varios núcleos, como los leucocitos de la sangre.

Polimorfo nucleares: varios núcleos pegados entre si

Preo vi posición: Entendido como el tiempo transcurrido desde la emergencia al estado adulto hasta la deposición del primer huevo

Prevalencia: Número de casos de una infección o enfermedad que existe en un grupo específico de población en un momento determinado.

Profilaxis: Conjunto de medidas que sirven para prevenir o atenuar enfermedades o dolencias, o sus complicaciones o secuelas

Pleomórficas: Que tiene la capacidad de adquirir distintas formas.

Policlonal: relativo, perteneciente a o que designa varios grupos de células u organismos idénticos (clones) obtenidos a partir de una sola célula.

Petequias: Lesiones pequeñas de color rojo, formadas por extravasación de un número pequeño de eritrocitos cuando se daña un capilar.

Poliartritis: Inflamación de varias articulaciones simultáneamente.

Paraparesia: Ligera dificultad en los movimientos de ambas extremidades inferiores.

Perivascular: Situado alrededor de un vaso

Pancitopenia: Deficiencia de cualquier tipo de células sanguíneas.

Plasmocitosis: Presencia de abundantes células plasmáticas en algún tejido del organismo o en la sangre

Pirexia: Fiebre.

R

Rinorragia: Hemorragia nasal

S

Sensibilidad (de una reacción inmunodiagnóstica): Porcentaje de resultados positivos encontrados en individuos afectados por una determinada infección.

Serología (reacción): Reacción inmunodiagnóstica de laboratorio que se practica en el suero de un sujeto sospechoso con el objeto de detectar anticuerpos y/o antígenos producidos frente a una determinada infección.

Susceptible: Persona o animal que carece de resistencia contra un agente patógeno y que en consecuencia puede contraer la enfermedad si se expone a la infección por dicho agente.

Sub retinal: superficie externa de la retina

T

Trombocitopenia: es cualquier situación de disminución de la cantidad de plaquetas circulantes en el torrente sanguíneo por debajo de los niveles normales

Terapéutica: Parte de la medicina que tiene por objetivo el tratamiento de las enfermedades.

Tortuosidad: Es una característica que representa lo tortuoso de una curva, es decir, el grado de vueltas o rodeos que tiene

Tetraparesia: Es un trastorno en el que los músculos de las cuatro extremidades se debilitan.

U

Uveítis anterior: Inflamación localizada en la cámara anterior del globo ocular.

Uveítis: Inflamación de la úvea.

V

Vector: organismo animal, generalmente artrópodo, que puede transportar activamente un agente desde la fuente infectante hasta un susceptible.

Vector mecánico: Es el vector que lleva en el exterior de su cuerpo o en interior agentes patógenos.

Vacuolas: son compartimentos cerrados o limitados por la membrana plasmática ya que contienen diferentes fluidos, como agua o enzimas, aunque en algunos casos puede contener sólidos.

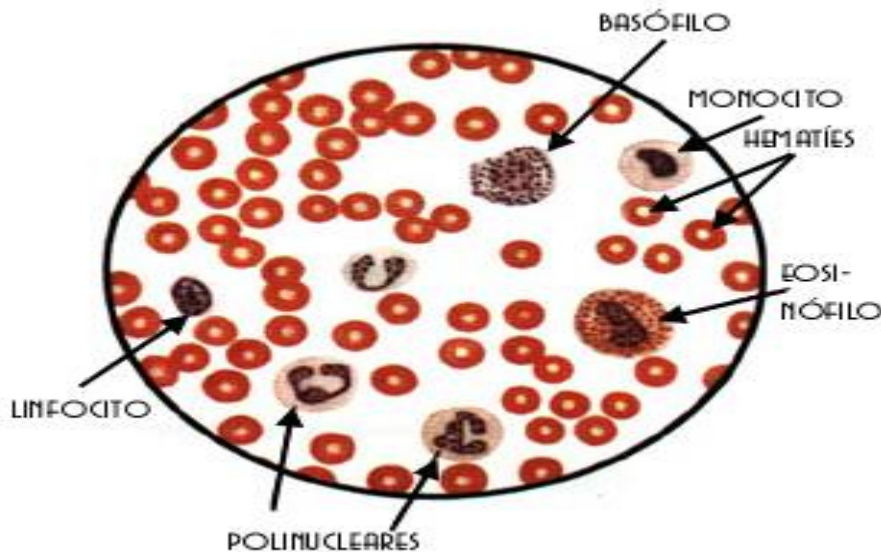
W

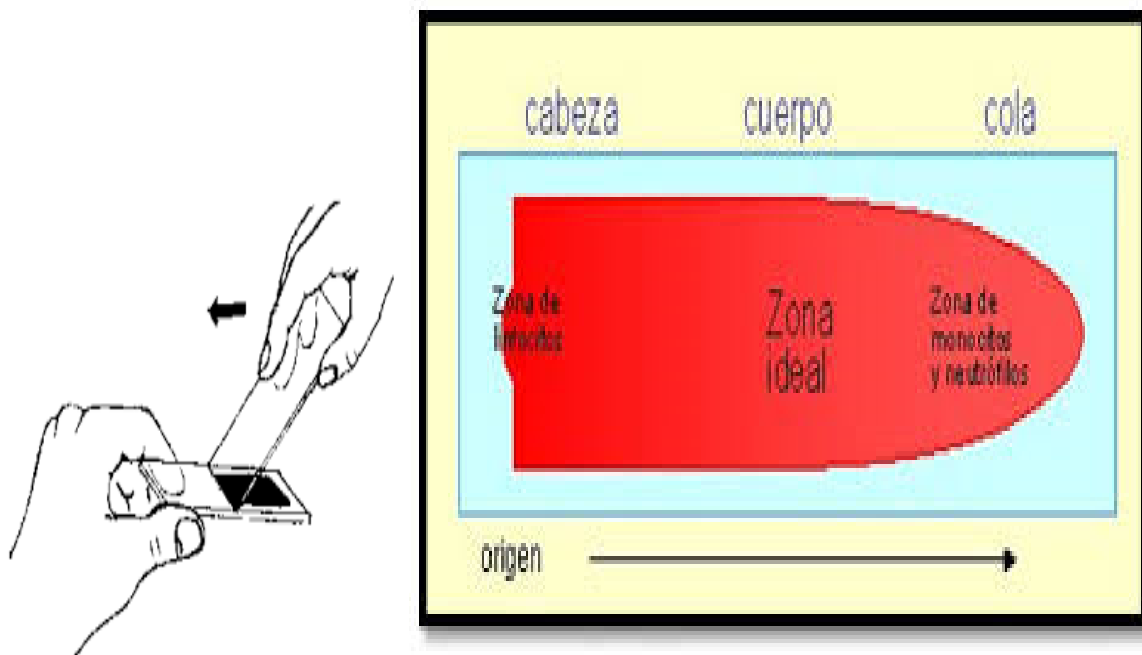
Wright rutinarias: es un tipo de tinción usada en histología para facilitar la diferenciación de los tipos de células de la sangre. Se usa principalmente para teñir frotis de sangre y punciones medulares, para ser examinadas al microscopio.

11.2. Imágenes.

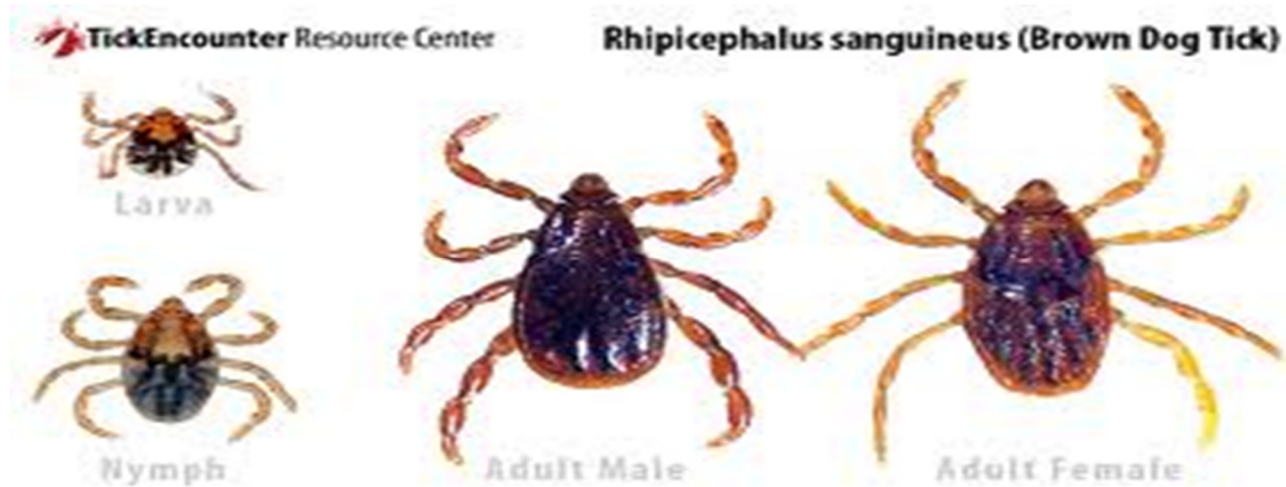
Frotis

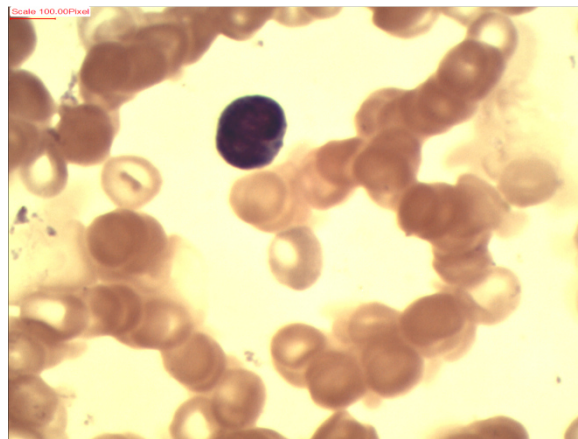
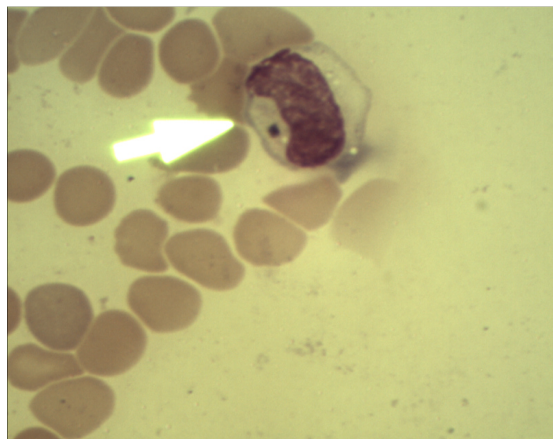
sanguíneo.



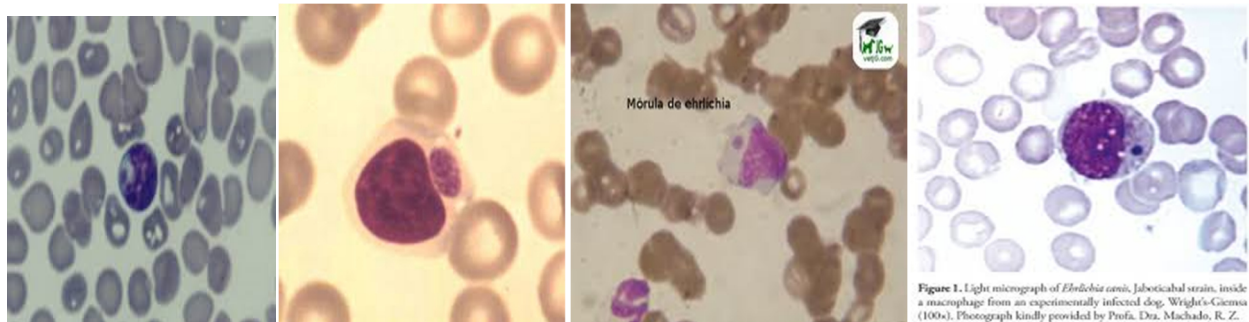


RHIPICEPHALUS SANGUINEUS

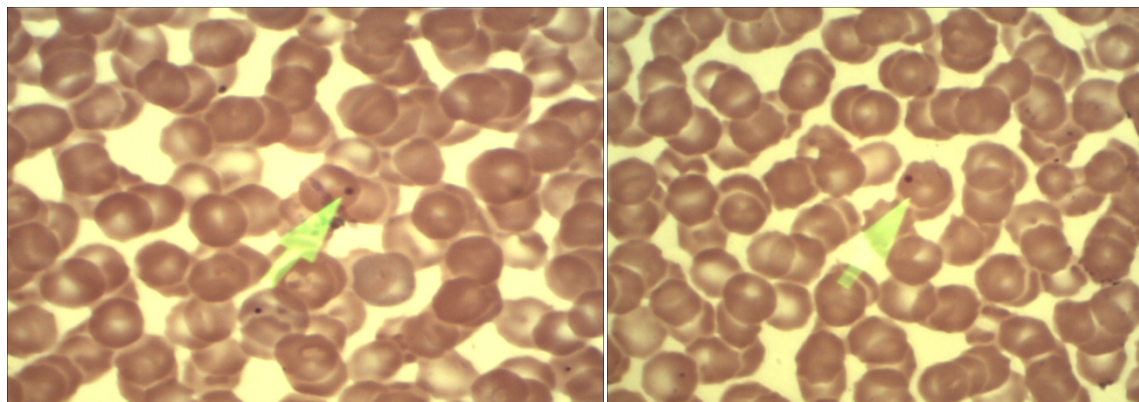


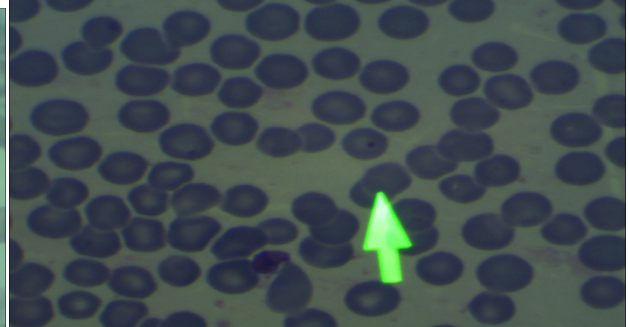
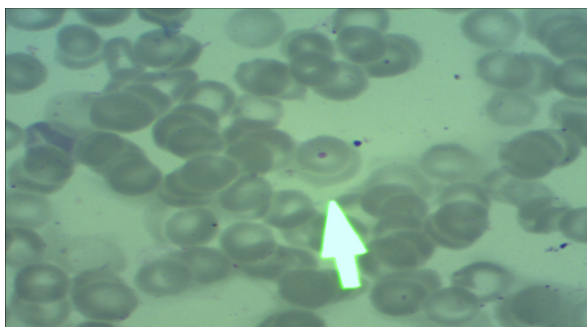
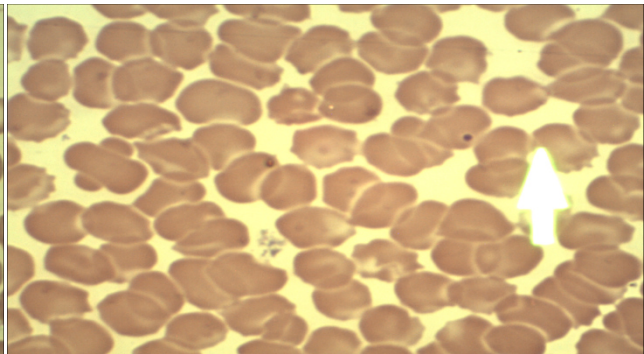
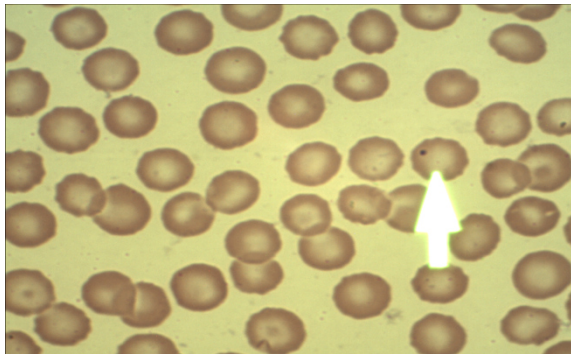
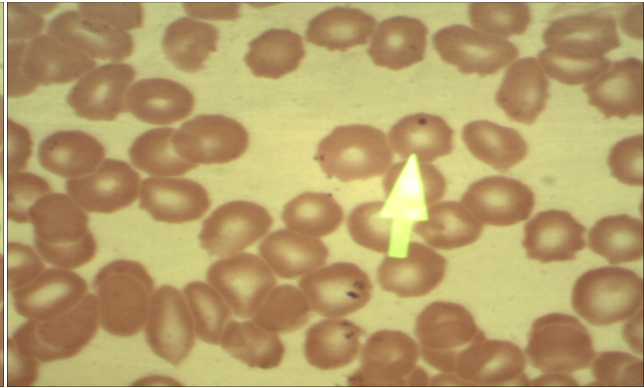
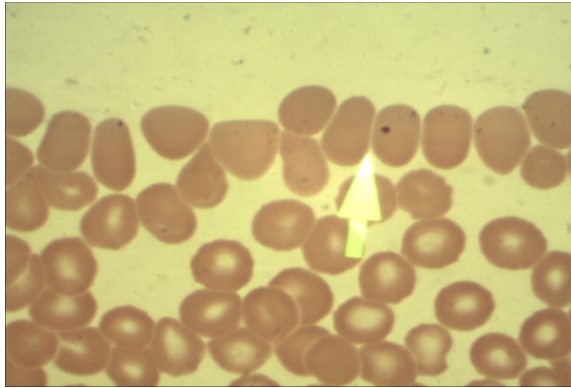


Mórula de *Ehrlichia*. Imagen captada; estudio prevalencia de hemoparasitos en caninos de Puerto Sandino, Mayo-Julio 2014.



Mórulas de Haemobartonella en caninos de Puerto Sandino, estudio de prevalencia de hemoparasitos, mayo-julio del 2014.



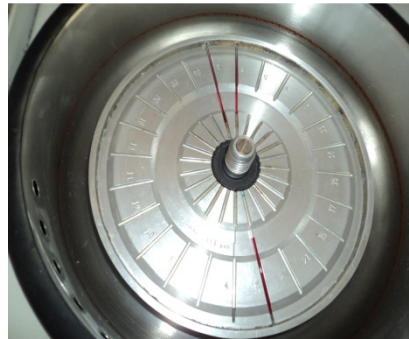


Lector de Hematocrito



Centrifuga

Materiales; laboratorio de biopatologia.





Mapa de Puerto Sandino.

