



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**“VALOR DIAGNÓSTICO DEL HEMOGRAMA EN *Canis familiaris* CON
EHRlichiosis DIAGNOSTICADOS MEDIANTE EL TEST DE ELISA, EN
LA PROVINCIA DE TRUJILLO 2015.”**

ORBEGOSO HORNA, SHANTI DAN

Trujillo, 2016

i DEDICATORIA

Dedicado a quienes tribulan rumbo a sus objetivos, y sin embargo no los pierden de vista.

ii AGRADECIMIENTO

Al amoroso recuerdo de mi madre, mis logros son tus logros.

Con especial gratitud a mi esposa y familia, por su aliento, su felicidad es mi motivo de superación.

A mis asesores, quienes me brindaron su sincera amistad y acertados consejos.

iii RESUMEN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad infecciosa cuyo agente etiológico son las bacterias gram negativas del género Ehrlichia. Es transmitida por la picadura de la garrapata Rhipicephalus sanguineus, produciendo una enfermedad crónica con diversas alteraciones orgánicas y hematológicas, como: anemia no regenerativa, trombocitopenia y tendencia a la pancitopenia. Estos hallazgos solo pueden verificarse haciendo un conteo sanguíneo completo (hemograma completo) como prueba inespecífica, y el uso de la técnica de ELISA como estándar de oro y prueba específica. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el valor diagnóstico del hemograma completo en Canis familiaris infectados por ehrlichiosis canina con diagnóstico previo a través de la técnica de ELISA con Snap 4DX. En la presente investigación se emplearon 66 muestras sanguíneas de canes con signos clínicos compatibles a ehrlichiosis canina y antecedentes de contacto con garrapatas, obtenidos de consultorios en el distrito de Trujillo, a los cuales se realizó tanto el hemograma completo así como, el Snap 4DX. Mediante la prueba estadística de independencia de criterios chi cuadrado con un intervalo de confianza del 95% y valor de $p < 0.05$, se determinó la relación estadística entre el grado de anemia, trombocitopenia, leucocitosis y leucopenia con la presencia de ehrlichiosis canina. Además, se determinó que la anemia no tiene relación significativa con la enfermedad, pero la trombocitopenia y leucopenia si presentan relación significativa con la enfermedad. No se encontró relación significativa para la edad, sexo con la enfermedad; sin embargo, se encontró que 37 casos (56.1%) fueron positivos al Snap 4DX para ehrlichiosis canina, de los cuales: 20 (54,1%) son machos, 23 (62,2%) tienen menos de 5 años, 18 (48,6%) son de raza mediana, de los cuales 13 son de la raza mestiza.

Palabras claves:

Ehrlichia canis, anemia, Snap 4Dx, trombocitopenia, Rhipicephalus sanguineus, hemograma completo, leucopenia.

iv. ABSTRACT

Canine ehrlichiosis is an infectious disease which etiologic agent are the gram negative bacteria of ehrlichia genre. It is transmitted by bites of the tick *Rhipicephalussanguineus*, producing a chronic disease with diverse organic and hematologic alterations, as: not regenerative anaemia, thrombocytopenia and tendency to pancytopenia. This findings can just be verified doing a complet blood count (CBC) as nonspecific test, and using the ELISA technique as gold standar and specific test. The present research aims to determinate the diagnostic value of the complete blood count in *Canis familiaris* infected by canine ehrlichiosis with previous diagnosis through ELISA test. In this research, they were used 66 blood samples from dogs with clinical signs of canine ehrlichiosis and prior contact with ticks, obtained from veterinary consultories in the district of Trujillo. With these samples was performed the CBC and the Snap 4DX too. By using statistical test chi square for independence criteria with a confidence interval of 95% and $p < 0.05$, was found the statistical relationship between the degree of anemia, thrombocytopenia, leukocytosis and leukopenia with the presence of canine ehrlichiosis. In other hand, was determined that anemia has no significant relationship with the disease, but the thrombocytopenia and leukopenia has. No significant relationship was found for age and sex with the disease; however itself found that 37 cases (56.1%) were positive to Snap 4DX for canine ehrlichiosis, of which 20 (54.1%) are male, 23 (62.2%) have less than 5 years old, 18 (48.6%) are medium sized breed, of which 13 are mixed breed.

Key words:

Canine ehrlichiosis, anemia, Snap 4Dx, thrombocytopenia, *Rhipicephalussanguineus*, complet blood count (CBC), leukopenia.

INDICE

	Página
DEDICATORIA	1
AGRADECIMIENTO	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
I. INTRODUCCIÓN	5
II. MARCO TEÓRICO	6
MARCO CONCEPTUAL	6
VARIABLES	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
ESPACIO Y TIEMPO	20
POBLACIÓN Y MUESTRA	20
Criterios de inclusión.	20
Determinación de tamaño muestral.	20
Diseño de la investigación.	22
Equipos y procedimientos.	23
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	40
VI. CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	46
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	50

I. INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad zoonótica, producida por bacterias gram negativas del género Ehrlichia, que desde su detección en 1935, ha alcanzado distribución mundial, incluyendo a países sudamericanos. (Pérez et al., 1996; López et al., 1999; Aguirre et al., 2004; Rodríguez-Vivas et al., 2005).

La distribución de la enfermedad está directamente relacionada con la presencia y distribución global del vector transmisor, la garrapata parda del perro, Rhipicephalus sanguineus, sobretodo en zonas de clima tropical.

Estudios previos, evidencian una creciente incidencia y prevalencia de ésta enfermedad en nuestro país (Hoyos 2005, Adrianzén 2002). Con esto, la enfermedad requiere especial atención considerando que el Perú tiene las condiciones medioambientales necesarias para la presencia del vector y por lo tanto, de esta enfermedad en caninos, pero que además es zoonótica, y representa elevado riesgo para el ser humano.

Cobra especial importancia el método de diagnóstico a escoger en la detección de la enfermedad, para a continuación realizar: el tratamiento, control y erradicación del vector, prevención de la misma. En éste sentido, el presente trabajo de investigación pretende determinar el valor diagnóstico del hemograma completo como método de diagnóstico de primera elección, mediante pruebas estadísticas de correlación de las alteraciones hematológicas con la presencia o ausencia de ehrlichiosis canina en Canis familiaris del distrito de Trujillo.

II. MARCO TEÓRICO. MARCO CONCEPTUAL

2.1. Ehrlichiosis: historia y distribución geográfica.

El primer agente ehrlichial fue observado en Argelia por Donatien y Lestoquard en 1935, quienes identificaron un microorganismo rickettsial en monocitos de caninos que cursaban con una enfermedad que ocasionaba pancitopenia severa, el cual fue denominado *Rickettsia canis*, para luego ser renombrado en 1945 como *Ehrlichia canis*, en honor al bacteriólogo Paul Ehrlich.⁴

Posteriormente, se identificó que en humanos también se producía la infección ehrlichial. En 1955, se produjo en Japón un síndrome aparentemente producido por un agente ehrlichial, conocido como "Fiebre del Sennetsu", semejante a la mononucleosis. Al agente causal se le asignó posteriormente el nombre científico de *Ehrlichia sennetsu* (actualmente *Neorickettsiasennetsu*).^{4, 5}

En los Estados Unidos fue reconocida por primera vez *Ehrlichia canis* en 1962 y a finales de la década de los 60, se definió el rol patogénico significativo de esta especie, cuando se pudo establecer su participación etiológica en la enfermedad llamada Pancitopenia Tropical Canina (PTC).^{1, 6}

En los EE.UU. se diagnosticó por primera vez la Ehrlichiosis Monocítica Humana (EMH) en 1986, mientras que en 1994 se descubrió la Ehrlichiosis Granulocítica Humana (EGH). Las especies que ocasionaban estas dos enfermedades eran inéditas, no reportadas anteriormente. Sólo en Asia se habían diagnosticado los

casos de Ehrlichiosis en humanos. La EMH es causada por *Ehrlichia chaffeensis* (*E. chaffeensis*) y la EGH es provocada por un agente similar o idéntico a *Ehrlichia equi* (*E. equi*), causante de Ehrlichiosis granulocítica equina y *Ehrlichia phagocytophilum* (*E. phagocytophilum*), que produce la enfermedad en bovinos y ovinos. Este agente se distribuye actualmente en Estados Unidos, Europa, África, Centro y Sudamérica. Investigaciones recientes indican que el agente etiológico de la EGH, *E. equi* y *E. phagocytophilum* son una misma especie, denominándola actualmente como *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*).^{4, 7}

A nivel local, Chaviera et al. (1982), realizaron el primer estudio de Ehrlichiosis canina en el Perú. Más adelante Adrianzén determinaría la seroprevalencia de la ehrlichiosis canina en algunos distritos de la capital.^{8, 9}

2.2. Enfermedades ehrlichiales en caninos.

Inicialmente las especies ehrlichiales se dividían en tres clases, basándose en las células blanco que infectaban, teniendo especies monocíticas, granulocíticas y trombocíticas. Algunas de ellas pueden infectar más de un tipo celular.¹⁰

2.2.1. Ehrlichiosis monocítica canina (EMC)

La ehrlichiosis monocítica Canina (EMC), es una enfermedad infecciosa causada principalmente por *Ehrlichia canis*, la cual infecta con mayor afinidad células mononucleares (monocitos, linfocitos), y macrófagos. El agente causal es un microorganismo intracelular obligado, perteneciente a la familia *Rickettsiales*, Genero *Ehrlichia*. El vector principal es *Rhipicephalus sanguineus* o garrapata marrón del perro, demostrándose

también la transmisión experimental de la enfermedad por *Dermacentorvariabilis*. Por lo que la enfermedad podría presentarse donde quiera que el vector se encuentre, principalmente en zonas de clima tropical o en las estaciones calurosas de los climas mediterráneos.^{6, 7,8, 30}

Ehrlichia canis puede afectar a múltiples especies, entre ellas cualquiera de la familia *Canidae*, sosteniéndose que especies como el zorro, coyote y chacal son reservorios. La ehrlichiosis es una enfermedad que no presenta ninguna afinidad por sexo pero si se ha descrito mayor sensibilidad en edades medias.^{4,6}

La sintomatología inicialmente es inaparente y es probable confundirla con otras infecciones (leptospirosis, babesiosis y anemias deficitarias). Posterior a esta etapa deviene la fase subclínica asintomática de duración variable. Es en esta fase que el sistema inmune del animal juega un papel muy importante en la eliminación del agente. De no ser así, ésta progresa a una etapa crónica caracterizada por pancitopenia debido a aplasia medular.^{6, 8}

Esta enfermedad cursa con diversas alteraciones hematológicas, tales como trombocitopenia, anemia y leucopenia de intensidades variables, dependiendo de la patogenicidad del agente y la susceptibilidad del hospedero. Respecto a la bioquímica sanguínea, la hiperproteinemia (hipergammaglobulinemia) es la alteración típica de los animales infectados.^{6, 10, 11}

La detección directa del microorganismo se realiza mediante el examen de un frotis de sangre periférica del animal con sintomatología clínica teñido,

siendo éste poco sensible por el bajo porcentaje de pacientes con detección de formaciones morularesintracitoplasmáticas (4%). La detección serológica se realiza mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta para anticuerpos (IFA) o por la técnica indirecta de ELISA.⁶

2.2.2. Ehrlichiosis trombocítica canina (ETC)

La Ehrlichiosis Trombocítica Canina (ETC) o trombocitopenia cíclica infecciosa canina, es producida por la *Ehrlichia platys* (actualmente *Anaplasma platys*). La *que* fue reportada inicialmente en perros de Florida en los Estados Unidos.^{7,12}

2.2.3. Ehrlichiosis granulocítica canina (EGC).

La especie ehrlichial que infecta a los granulocitos de caninos de manera natural es *Ehrlichia ewingii*, que sólo ha sido detectada en los Estados Unidos. Esta es una enfermedad clínicamente importante cuyos principales signos son la cojera y la tumefacción articular con marcha rígida. Los cuadros crónicos de la enfermedad con afección articular (poliartritis) son ocasionadas en un 8,1 % de infecciones por cepas granulocíticas, como *Ehrlichia ewingii*.^{7,10}

2.3. Características del agente patógeno

Desde hace muchos años existía la controversia acerca de la clasificación correcta de los microorganismos rickettsiales, siendo colocados como un grupo intermedio

entre las bacterias y los virus. Actualmente este concepto ha cambiado y son consideradas como bacterias, debido a la similitud genéticas con ellas.⁷

2.4. Generalidades de los agentes rickettsiales

Los microorganismos rickettsiales pertenecen al *Reino Proteobacteria*, clasificados como alfa-proteobacterias, gram negativas, grupo que incluye un gran número de agentes oligotrofos (capaces de crecer en niveles bajos de nutrientes). Dentro de este Reino se encuentran también los géneros *Escherichia*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* y *Vibrio*. Esta clasificación ha sido tomada del libro de Microbiología y Parasitología Médica, que actualmente se encuentra en su novena edición, el cual ordena a los microorganismos basándose en las secuencias de oligonucleótidos firma del gen ARNr 16s.^{2, 13}

Estos microorganismos se presentan en formas bacilares, cocoides o pleomórficas, presentando paredes típicas de bacterias gram negativas con ausencia de flagelos. Las formas bacilares son cortas, mientras que las cocoides se presentan aisladas, en pares, cadenas cortas o en filamentos. Estas bacterias tienden a ser muy pequeñas, teniendo un diámetro de 0.3 a 0.5 μm ., y una longitud de 0.8 a 2.0 μm . Estos agentes teñidos son fáciles de visualizar con el microscopio de luz. Con la tinción de Giemsa muestran color azul, con la de Macchiavello color rojo en contraste con el citoplasma teñido de azul que las rodea.^{10, 14}

2.5. Patogénesis de la ehrlichiosis canina (por *Ehrlichia canis*)

La enfermedad posee un período de incubación (PI) de aproximadamente 8 a 20 días, seguido por una fase aguda o temprana, para posteriormente alcanzar una

etapa subclínica asintomática y finalmente llegar a una fase crónica, que es la etapa final de la enfermedad.^{4, 10}

2.5.1. Ingreso del agente causal seguido de la fase aguda.

La infección del hospedero vertebrado ocurre después que una garrapata ha ingerido sangre de un animal infectado, de esta forma las secreciones salivales de la garrapata contaminan el área de alimentación en el hospedero susceptible, ocasionando el pasaje del microorganismo vía mecánica. Además, el microorganismo también se transfiere por transfusiones sanguíneas de donadores infectados, siendo ésta última una vía muy poco frecuente.¹⁰

Posterior al período de incubación, se observa la fase aguda, la cual tiene una duración de 2 a 4 semanas. En esta fase se multiplican los microorganismos en células mononucleares (macrófagos y linfocitos) por fisión binaria y se diseminan a la totalidad del cuerpo. La replicación inicialmente se da en leucocitos mononucleares circulantes, los que luego, colonizan los órganos conformados por células de tipo mononuclear, tales como el bazo, hígado, médula ósea y nódulos linfáticos donde provocan una hiperplasia con infiltración de células plasmáticas.^{6, 10}

2.5.2. Fase subclínica o silenciosa.

La fase subclínica se establece cuando el animal sobrevive a la fase aguda y se presenta de manera espontánea o por un tratamiento inefectivo. Se caracteriza por la persistencia del microorganismo y el alza en los títulos de

anticuerpos. Tiene una duración promedio de 6 a 9 semanas pudiendo permanecer por varios años.¹⁰

La persistencia del antígeno en las células infectadas obra como estímulo para el sistema inmune. Los títulos de anticuerpos se elevan grandemente en esta fase y los animales inmunocompetentes por lo general eliminan al microorganismo en esta etapa. Los pacientes que no eliminan la infección progresan hasta la fase crónica. Los signos clínicos están ausentes pero persisten los cambios hematológicos, principalmente la trombocitopenia. Esto indica que los cambios patológicos continúan, sólo que no son observados clínicamente. Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmune humoral importante que a menudo no es capaz de eliminar el agente patógeno.^{6, 15, 16}

Se ha demostrado que el bazo es el órgano más importante para la *Ehrlichia canis* en esta etapa de la enfermedad, así como la médula ósea.²

2.5.3. Fase crónica.

La ehrlichiosis crónica ocurre en los perros que no logran montar una respuesta inmune eficiente contra el microorganismo. En esta etapa de la enfermedad se pueden presentar cuadros leves, manifestando una enfermedad vaga con pérdida de peso y con alteraciones hematológicas moderadas. La forma grave se caracteriza por deterioro de la producción medular de elementos sanguíneos que da por resultado pancitopenia. La gravedad de la enfermedad es mayor con ciertas cepas del microorganismo, cuando hay una enfermedad concomitante en algunas razas (Pastor alemán) y en los animales jóvenes.^{10, 17}

2.6. Respuesta inmune a la ehrlichiosis.

2.6.1. Respuesta inmune contra agentes intracelulares.

Actualmente, la concepción que la respuesta mediada por anticuerpos protege contra patógenos extracelulares y que la respuesta inmune celular protege contra patógenos intracelulares ha sido modificada y extendida por el paradigma Th_1 / Th_2 , lo cual indica la división de labores de los linfocitos T. Por lo tanto para patógenos intracelulares se desencadena la respuesta Th_1 que promueve la inflamación granulomatosa, mientras que para patógenos extracelulares se inicia una respuesta Th_2 la cual resulta en la producción de anticuerpos para el control de patógenos extracelulares y parásitos.^{9, 18}

2.6.2. Respuesta inmune en fase aguda.

Muchos hallazgos sostienen la idea que la respuesta inmune juega un papel muy importante en la patogénesis de la Ehrlichiosis monocítica canina aguda (EMC). Estos hallazgos incluyen una fuerte infiltración de células plasmáticas en el parénquima de diversos órganos, la hipergammaglobulinemiapoliclonal (no correlacionada con los títulos de anticuerpos específicos contra *Ehrlichia canis*), Test de Coombs positivos, Test de autoaglutinación positivos y la producción de anticuerpos antiplaquetarios (AAP) resultantes de la infección experimental de perros con *Ehrlichia canis*.^{17, 19}

La fiebre y algunos signos clínicos inespecíficos (depresión, anorexia y fiebre) observados en los perros infectados son causados por el incremento

en la producción de interleucina-1 (IL-1) por células presentadoras de antígeno, células B o por productos pirógenos exógenos de la bacteria.²⁰

2.6.3. Respuesta inmune en fase subclínica.

Para *Ehrlichia canis* la inmunidad protectora es mantenida primariamente vía la respuesta inmune celular antes que la respuesta inmune humoral, siendo la respuesta humoral la que predomina en esta etapa. La etapa subclínica puede ocurrir en perros infectados con *Ehrlichia canis* de manera natural o en animales infectados después de un corto período de tratamiento antibiótico insuficiente (oxitetraciclina y/o doxiciclina).¹⁵

2.7. Diagnóstico de la ehrlichiosis.

El diagnóstico de la ehrlichiosis canina suele establecerse basándose en una combinación de signos clínicos, anormalidades hematológicas, trombocitopenias y datos serológicos.¹

2.7.1. Diagnóstico clínico.

La infección por *Ehrlichia canis* puede causar un amplia gama de signos clínicos, que varían entre organismos, localizaciones geográficas, esto depende tanto de la dosis infectante, el estado inmunológico al momento de la infección, como de otras enfermedades concomitantes.⁵

2.7.1.1. Signos clínicos en fase aguda.

La sintomatología durante la fase aguda de la enfermedad variará desde la depresión, anorexia y fiebre a la pérdida seria de la condición, secreción oculonasal, disnea, linfadenopatía y edema de las extremidades y escroto. A pesar de la trombocitopenia moderada a intensa, rara vez se observan las hemorragias. Pueden ocurrir una variedad de signos del SNC, incluyendo hiperestesia, espasmos musculares y deficiencia de pares craneanos. En ocasiones los pacientes pueden presentar cojera con marcha rígida secundaria a poliartropatía. La enfermedad articular puede ocurrir por hemartrosis o depósitos de complejos inmunitarios con la consiguiente artritis y derrame neutrofílico en la articulación. Los signos oculares, pueden mostrar cambios en el color o aspecto de los ojos y presentar ceguera, los datos más comunes son uveítis anterior y afección de la retina.^{1, 10}.

2.7.1.2. Signos clínicos en fase subclínica.

Los signos de fase aguda suelen desaparecer sin tratamiento dentro de una a cuatro semanas dando lugar a la fase subclínica. Los perros inmunocompetentes tienden a eliminar el agente en la etapa aguda, en caso de no eliminarlo, la enfermedad progresa a una fase crónica. No se conocen muy bien los mecanismos o factores que transforman infecciones subclínicas en un estado crónico.⁶

2.7.1.3. Signos clínicos en fase crónica.

La forma crónica se caracteriza por pérdida progresiva de peso, anorexia, mucosas pálidas, hemorragias de retina, mucosas y piel. La epistaxis se observa hasta en un 50% de los casos en esta fase y es considerada como distintivo de la enfermedad. También puede observarse signos neurológicos consistentes con meningoencefalitis.^{10, 21}

2.7.2. Diagnóstico de laboratorio.

2.7.2.1. Hematología.

Sodikoff, propone como principales alteraciones sanguíneas en el hemograma de un perro afectado con ehrlichiosis: recuento bajo de la serie blanca, con neutropenia, linfopenia, eosinopenia, mientras podemos hallar valores normales de neutrófilos en banda, monocitos y basófilos; en tanto, la serie roja mostrará un recuento bajo de hematíes, la hemoglobina y hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM) y reticulocitos disminuidos, compatible con una marcada anemia hemolítica. Por último es muy frecuente la trombocitopenia.³

Las alteraciones hematológicas se comprueban mejor en infecciones por *Ehrlichia canis* e incluyen anemia (82.1%) que suele ser no regenerativa, trombocitopenia (82%) y leucopenia (32%, de la cual el 20% tuvo neutropenia). 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) y con mayor frecuencia en

perros pastor alemán. Un dato que se ha publicado constantemente es la trombocitopenia en todas las etapas de ehrlichiosis por *Ehrlichia canis*; sin embargo, debido a que con frecuencia es una prueba de selección para Ehrlichiosis, es posible que se haya estimado en exceso esta proporción.^{1, 22}

Los valores hematológicos normales del perro usados para el presente estudio, son los referenciados por el Laboratorio Escalabs®, y presentados en el anexo N° 01.²³

2.8. Pruebas hematológicas.

Las pruebas hematológicas constituyen una base importante para el diagnóstico de la enfermedad, determinando cualitativamente o cuantitativamente niveles de anticuerpos (IgG o IgM) en los animales afectados por la ehrlichiosis canina.^{4, 24}

2.8.1 Inmunofluorescencia indirecta (ifa).

El diagnóstico de Ehrlichiosis suele basarse en resultados positivos a la prueba de anticuerpos fluorescentes (IFA). Esta fue desarrollada en 1971, siendo utilizada actualmente para el diagnóstico ehrlichial en caninos y el hombre. Esta prueba es la más habitual en el serodiagnóstico. La IFA detecta anticuerpos tempranamente (7 días post infección), siendo posible que algunos casos no manifiesten positividad hasta los 28 días post infección. Experimentalmente, se demostró que durante los 7 primeros días de la infección inicial los títulos de anticuerpos son principalmente de IgA e IgM,

siendo alrededor de los 20 días post infección mayormente un título de IgG.^{10, 15, 20}

2.8.2 Inmunoelectrotransferencia (EITB).

Esta técnica ha sido de gran utilidad en el diagnóstico de diversos antígenos de importancia diagnóstica en Ehrlichiosis canina, determinaron mediante esta técnica que los perros infectados experimentalmente con *Ehrlichia canis*, después de 2 a 3 semanas post infección reaccionan fuertemente contra la proteína de superficie externa p30 (30 kDa.) y levemente contra las proteínas de 64, 47, 31 y 29 kDa.^{11, 25}

2.8.3 Inmunoabsorbancia ligada a enzimas (ELISA).

Además de la técnica indirecta para detectar anticuerpos fluorescentes (IFA), la técnica indirecta de ELISA es muy utilizada para detectar anticuerpos contra *Ehrlichia canis*. En un estudio para calcular la seroprevalencia de *Ehrlichia Canis* en la ciudad de Yucatán (México) se trabajó con la técnica indirecta de ELISA, en el cual se indica que la prueba posee un 71% de sensibilidad y un 100% de especificidad, sin embargo el test Snap 4DX® provee de una sensibilidad del 96.2 % y una especificidad del 100 %.^{10,11, 26}

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

de la aparición de anticuerpos circulantes. Para estos casos debe repetirse la prueba 14 a 21 días después de la primera prueba para su descarte o confirmación.⁵

2.9. Datos histopatológicos.

Los hallazgos histopatológicos a simple vista en perros infectados con *Ehrlichia canis* incluyen hemorragias petequiales y equimóticas en las superficies serosas y mucosas de la mayor parte de los órganos, incluso cavidad nasal, pulmones, riñones, vejiga urinaria, tubo gastrointestinal y tejido sub cutáneo. Durante la fase aguda se encuentran con mayor frecuencia linfadenomegalia, esplenomegalia y hepatomegalia generalizadas. Es posible que hayan crecido todos los ganglios linfáticos y tengan un color parduzco. Un dato adicional en casos crónicos es emaciación con pérdida del estado corporal total. La médula ósea es hipercelular y de color rojo en la fase aguda pero, en la enfermedad crónica se torna hipoplásica y pálida por coloración adiposa.¹

VARIABLES

Variable independiente:

- Test de ELISA SNAP 4 DX®.
- Hemograma completo.

Variable dependiente

- Ehrlichiosis canina

III.MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 ESPACIO Y TIEMPO

La presente investigación se desarrolló en el Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento y Región La Libertad, durante los meses de octubre a diciembre del 2015 e incluyó seis consultorios veterinarios (Anexo N° 01)

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

En el presente estudio se emplearon muestras de 66 canes de diferente edad, sexo y raza con sospecha clínica de ehrlichiosis canina que cumplirán con los criterios de inclusión.

3.2.1 Criterios de inclusión:

Canis familiaris con signos clínicos compatibles con ehrlichiosis canina, y con antecedente de contacto con garrapatas.

3.2.2 Determinación del tamaño muestral:

El tamaño muestral se determinó realizando los siguientes cálculos:

Muestra preliminar:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 P * (1 - P)}{E^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; que es un coeficiente de confianza del 95%

$P = 0.165^{(9)}$

$E = 0.06$

$N = 120$ exámenes de Elisa en perros en 2 meses aproximadamente

Luego reemplazando

$$n = 147.021$$

Muestra Final o Corregida:

$$n_f = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}}$$

Luego reemplazando:

$$n_f = 66.4 = 66$$

Es decir, se necesitaron 66 muestras.

Apoyados en la data proporcionada por SENASA La Libertad (Anexo N° 02), informa que en Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad, actualmente existen 36 consultorios veterinarios registrados.

Por lo tanto para determinar el número de consultorios que participaron de la investigación, se aplicó el estadígrafo para calcular el tamaño muestral en una población conocida²⁹, siendo el siguiente cálculo:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Dónde:

- N = Total de la población
- Z_{α} = 1.96 al cuadrado (si la seguridad es del 95%)
- p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)
- q = 1 – p (en este caso 1-0.05 = 0.95)
- d = precisión (en esta investigación de 5%).

Luego:

$$n = 6.21 = 6 \text{ consultorios}$$

Por lo tanto para la presente investigación participaron 6 consultorios, cada uno con 11 muestras de pacientes, a fin de completar el tamaño muestral requerido.

3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

Para la presente investigación se utilizaron tablas de distribución de frecuencias unidimensionales y bidimensionales con sus valores absolutos y relativos; así mismo, se utilizaran gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación.

Se utilizó el análisis de pruebas diagnósticas mediante la obtención de la sensibilidad y especificidad, para evaluar la capacidad diagnóstica del hemograma completo, usando la

distribución normal estándar, considerando un nivel de significancia de 0.05. Además se usó la prueba de independencia de criterios chi cuadrado para encontrar la relación estadística entre las alteraciones hematológicas: anemia, leucopenia, leucocitosis y trombocitopenia con la presencia de la enfermedad.

Se contó con el apoyo de hojas de cálculo de Microsoft Excel y el programa Statistica versión 8.

3.4 EQUIPOS Y PROCEDIMIENTOS

Biológicos:

- *Canis familiaris*.

Reactivos

- Test de ELISA Snap 4 Dx. (Anexo N° 03).
- Analizador hematológico automatizado Mindray BC 2800 vet®

METODOS

Las muestras sanguíneas fueron tomadas mediante punción venosa en *Canis familiaris* que mostraron signos clínicos compatibles con la enfermedad, y con antecedente de contacto con garrapatas: *Rhipicephalus sanguineus* o garrapata marrón del perro.

Para obtener la muestra sanguínea se procedió siguiendo el protocolo que se describe a continuación:

- Identificación de paciente (Anexo N° 04) correspondiente a la ficha de identificación del paciente.
- Al paciente se le realizó la sujeción correspondiente en la mesa de examen, para luego realizar la hemostasia y punción venosa de la vena cefálica o safena, usando material estéril para extracción de muestras sanguíneas al vacío y tubos con EDTA.

Una vez extraída la muestra sanguínea y correctamente identificada, una pequeña cantidad fue usada para realizar la prueba SNAP 4 DX según el procedimiento indicado en el Anexo N° 03. Así mismo se procedió a la realización del hemograma completo usando el contador hematológico automatizado Mindray BC 2800 vet® (Ver Anexo N° 05).

Los datos recogidos de la realización de los análisis, serán contenidos en Hojas de Resultado – Resumen del paciente (Anexo 06), y a continuación trasladados a Hojas de cálculo de Excel para el análisis estadístico.

IV.RESULTADOS

Tabla 1 Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRLICHIOSIS				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	Desv.Std	Prom	Desv.Std	
G.R	4.23	2.08	4.89	1.51	
Hb	8.80	4.45	9.98	3.61	
Hto	29.32	14.94	34.12	12.40	
VCM	75.17	17.62	68.58	8.15	
CHCM	28.51	5.57	29.95	5.11	
PLAQUETAS	92.68	134.79	188.55	198.41	
LEUCOCITOS	10094.59	13776.55	14165.52	7697.69	
NEUTRÓFILOS	7987.73	11354.75	9949.28	5883.75	
LINFOCITOS	2283.16	3342.91	3078.34	1925.36	
MONOCITOS	391.05	489.27	547.41	372.09	
ESOSINÓFILOS	428.11	801.87	495.14	493.23	
BASÓFILOS	93.59	165.28	95.34	100.85	
Total	37	56.1%	29	43.9%	66

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 2. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris menores de 5 años diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.28	1.74	4.90	1.36	
Hb	8.77	3.84	9.94	3.27	
Hto	29.68	12.42	33.71	11.11	
VCM	77.90	12.68	68.15	5.39	
CHCM	29.34	2.57	30.75	4.60	
PLAQUETAS	102.91	161.99	188.53	224.60	
LEUCOCITOS	7773.91	5684.53	13726.67	9063.62	
NEUTRÓFILOS	6966.91	9267.44	9629.20	6806.65	
LINFOCITOS	1841.87	1298.72	2939.67	2022.50	
MONOCITOS	324.87	302.02	570.67	440.70	
ESOSINÓFILOS	298.61	437.02	479.60	513.61	
BASÓFILOS	60.13	75.28	107.53	113.38	
Total	23	60.5%	15	39.5%	38

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 3. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* con edades entre 5 a 9 años diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.10	2.50	5.20	2.13	
Hb	8.71	5.16	10.60	5.20	
Hto	28.10	16.97	37.70	17.95	
VCM	76.30	13.60	69.01	15.45	
CHCM	30.04	3.45	28.29	7.97	
PLAQUETAS	70.75	57.30	266.00	209.79	
LEUCOCITOS	19225.00	27061.98	17114.29	5290.69	
NEUTRÓFILOS	13717.88	18074.41	11668.71	4344.14	
LINFOCITOS	3634.75	6709.04	4001.14	1423.84	
MONOCITOS	560.88	805.14	652.29	317.68	
ESOSINÓFILOS	1044.13	1457.24	717.57	620.75	
BASÓFILOS	224.88	301.57	74.57	98.71	
Total	8	53.3%	7	46.7%	15

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 4. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris mayores de 10 años diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

Test de Elisa: EHRlichiosis					
ITEM	Positivo		Negativo		Total
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.18	2.99	4.53	1.26	
Hb	9.05	6.33	9.43	2.81	
Hto	29.55	22.83	31.41	9.16	
VCM	63.20	32.56	69.06	1.44	
CHCM	23.30	11.74	29.91	2.05	
PLAQUETAS	82.67	96.90	111.14	89.52	
LEUCOCITOS	6816.67	5290.53	12145.14	6443.31	
NEUTRÓFILOS	4075.67	4166.22	8915.71	5442.93	
LINFOCITOS	2172.67	2487.95	2452.71	2056.55	
MONOCITOS	418.33	589.49	392.71	223.41	
ESOSINÓFILOS	103.17	72.29	306.00	185.39	
BASÓFILOS	46.83	95.22	90.00	82.57	
Total	6	46.2%	7	53.8%	13

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 5. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* machos diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

Test de Elisa: EHRlichiosis					
ITEM	Positivo		Negativo		Total
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.00	1.92	4.75	1.53	
Hb	8.17	4.19	9.64	3.65	
Hto	27.886	13.96	33.17	12.48	
VCM	78.16	12.89	68.29	9.83	
CHCM	29.01	2.82	29.79	5.90	
PLAQUETAS	97.95	104.22	179.18	197.05	
LEUCOCITOS	8330.00	7249.04	16123.53	8909.16	
NEUTRÓFILOS	7781.25	10296.48	11826.41	6938.40	
LINFOCITOS	1769.30	1824.99	3081.88	1923.18	
MONOCITOS	338.85	412.11	615.12	417.17	
ESOSINÓFILOS	295.25	508.17	474.41	443.87	
BASÓFILOS	114.30	118.64	125.71	113.58	
Total	20	54.1%	17	45.9%	37

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 6. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* hembras diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

Test de Elisa: EHRlichiosis					
ITEM	Positivo		Negativo		Total
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.49	2.27	5.07	1.54	
Hb	9.55	4.75	10.45	3.65	
Hto	31.04	16.27	35.46	12.72	
VCM	71.66	21.84	68.98	5.28	
CHCM	27.93	7.72	30.18	3.98	
PLAQUETAS	86.47	167.05	201.83	208.33	
LEUCOCITOS	12170.59	18872.26	11391.67	4589.01	
NEUTRÓFILOS	8165.35	12810.65	7290.00	2221.68	
LINFOCITOS	2887.71	4524.42	3073.33	2014.00	
MONOCITOS	452.47	574.04	451.50	286.66	
ESOSINÓFILOS	584.41	1045.02	524.50	575.38	
BASÓFILOS	68.93	161.26	52.33	60.70	
Total	17	58.6%	12	41.4%	29

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 7. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris de raza tamaño pequeño diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.24	1.86	4.32	1.72	
Hb	8.61	3.89	8.17	4.03	
Hto	28.78	12.60	29.39	13.87	
VCM	72.94	9.96	64.77	13.87	
CHCM	29.27	1.24	26.27	5.39	
PLAQUETAS	150.80	211.13	185.57	187.42	
LEUCOCITOS	9080.00	9220.12	10271.43	3927.13	
NEUTRÓFILOS	6725.60	7594.08	7225.43	2455.87	
LINFOCITOS	1554.10	1071.15	2316.86	1300.11	
MONOCITOS	237.20	171.40	479.43	279.16	
ESOSINÓFILOS	405.70	672.16	229.43	94.19	
BASÓFILOS	109.90	161.76	20.29	35.33	
Total	10	58.8%	7	41.2%	17

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 8. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris de raza tamaño mediano diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	3.89	2.28	5.14	1.44	
Hb	8.13	4.86	10.85	3.20	
Hto	27.03	16.35	35.69	10.98	
VCM	74.47	22.99	69.20	5.93	
CHCM	27.93	7.83	32.57	4.85	
PLAQUETAS	82.67	106.37	176.64	182.35	
LEUCOCITOS	12255.56	18472.50	15271.43	7301.57	
NEUTRÓFILOS	10404.72	15048.02	10968.64	5526.40	
LINFOCITOS	2909.22	4650.08	3155.57	2097.87	
MONOCITOS	528.61	647.84	509.50	369.10	
ESOSINÓFILOS	497.94	982.44	513.43	454.71	
BASÓFILOS	118.39	200.74	124.29	92.36	
Total	18	56.3%	14	43.8%	32

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 9. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en Canis familiaris de raza tamaño grande diferenciado por resultado de SNAP4Dx.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis				Total
	Positivo		Negativo		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.89	1.94	4.93	1.53	
Hb	10.34	4.25	10.03	3.78	
Hto	34.49	14.65	35.50	14.05	
VCM	79.07	11.73	70.83	6.59	
CHCM	28.84	2.38	28.59	2.58	
PLAQUETAS	48.11	29.73	212.00	254.34	
LEUCOCITOS	6900.00	3168.20	15637.50	10232.43	
NEUTRÓFILOS	4432.78	2183.62	10548.75	8165.60	
LINFOCITOS	1841.11	1131.95	3609.63	2071.63	
MONOCITOS	286.89	260.66	673.25	456.51	
ESOSINÓFILOS	313.33	554.77	695.63	681.40	
BASÓFILOS	25.89	31.39	110.38	127.30	
Total	9	52.9%	8	47.1%	17

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 10. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* positivos a la prueba de Snap4Dx, diferenciado por edad.

ITEM	EDAD						Total
	< 5 años		5 a 9 años		≥ 10 años		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.28	1.74	4.10	2.50	4.18	2.99	
Hb	8.77	3.84	8.71	5.16	9.05	6.33	
Hto	29.68	12.42	28.10	16.97	29.55	22.83	
VCM	77.90	12.68	76.30	13.60	63.20	32.56	
CHCM	29.34	2.57	30.04	3.45	23.30	11.74	
PLAQUETAS	102.91	161.99	70.75	57.30	82.67	96.90	
LEUCOCITOS	7773.91	5684.53	19225.00	27061.98	6816.67	5290.53	
NEUTRÓFILOS	6966.91	9267.44	13717.88	18074.41	4075.67	4166.22	
LINFOCITOS	1841.87	1298.72	3634.75	6709.04	2172.67	2487.95	
MONOCITOS	324.87	302.02	560.88	805.14	418.33	589.49	
ESOSINÓFILOS	298.61	437.02	1044.13	1457.24	103.17	72.29	
BASÓFILOS	60.13	75.28	224.88	301.57	46.83	95.22	
Total	23	62.2%	8	21.6%	6	16.2%	37

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 11. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* positivos a la prueba de Snap4Dx, diferenciado por sexo.

ITEM	Test de Elisa: EHRlichiosis (Positivo)				Total
	Macho		Hembra		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.00	1.92	4.49	2.27	
Hb	8.17	4.19	9.55	16.27	
Hto	27.86	13.96	31.04	16.27	
VCM	78.16	12.89	71.66	21.84	
CHCM	29.01	2.82	27.93	7.72	
PLAQUETAS	97.95	104.22	86.47	167.05	
LEUCOCITOS	8330.00	7249.04	12170.59	18872.26	
NEUTRÓFILOS	7781.25	10296.48	8165.35	12810.65	
LINFOCITOS	1769.30	1824.99	2887.71	4524.42	
MONOCITOS	338.85	412.11	452.47	574.04	
ESOSINÓFILOS	295.25	508.17	584.41	1045.02	
BASÓFILOS	114.30	118.64	68.93	161.26	
Total	20	54.1%	17	45.9%	37

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 12. Media y desviación estándar del recuento eritrocitario, valores corpusculares, recuento plaquetario y leucocitario en *Canis familiaris* positivos a la prueba de Snap4Dx, diferenciado por Tamaño.

ITEM	TAMAÑO DE RAZA						Total
	Pequeño		Mediano		Grande		
	Promedio	D.S	Prom	D.S	Prom	D.S	
G.R	4.24	1.86	3.89	2.28	4.89	1.94	
Hb	8.61	3.89	8.13	4.86	10.34	4.25	
Hto	28.78	12.60	27.03	16.35	34.49	14.65	
VCM	72.94	9.96	74.47	7.83	79.07	11.73	
CHCM	29.27	1.24	27.93	7.83	28.84	2.38	
PLAQUETAS	150.80	211.13	82.67	106.37	48.11	29.73	
LEUCOCITOS	9080.00	9220.12	12255.56	18472.50	6900.00	3168.20	
NEUTRÓFILOS	6725.60	7594.08	10404.72	15048.02	4432.78	2183.62	
LINFOCITOS	1554.10	1071.15	2909.22	4650.08	1841.11	1131.95	
MONOCITOS	237.20	171.40	528.61	647.84	286.89	260.66	
ESOSINÓFILOS	405.70	672.16	497.94	982.44	313.33	554.77	
BASÓFILOS	109.90	161.76	118.39	200.74	25.89	31.39	
Total	10	27.0%	18	48.6%	9	24.3%	37

Fuente: Propia (Datos obtenidos por el autor).

Tabla 13. Presencia de ehrlichiosis canina según Anemia en Canis familiaris del Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento y Región La Libertad. Marzo a Mayo del 2015.

ANEMIA	Test de Elisa: EHRLICHIOSIS				Total
	Si		No		
	ni	%	ni	%	
NO	5	35.7	9	64.3	14
A. leve	2	33.3	4	66.7	6
A. moderada	15	65.2	8	34.8	23
A. severa	15	65.2	8	34.8	23
Total	37	56.1	29	43.9	66

X² P
5.177 0.1593

Tabla 14. Presencia de EHRLICHIOSIS según Trombocitopenia en Canis familiaris del Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento y Región La Libertad. Marzo a Mayo del 2015.

TROMBOCITOPENIA	Test de Elisa: EHRLICHIOSIS				Total
	Si		No		
	ni	%	ni	%	
NO	5	35.7	9	64.3	14
LEVE	2	33.3	4	66.7	6
MODERADA	2	33.3	4	66.7	6
SEVERA	28	70.0	12	30.0	40
Total	37	56.1	29	43.9	66

X² P
8.024 0.0455

Tabla 15. Presencia de ehrlichiosis según Leucopenia en Canis familiaris del Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento y Región La Libertad. Marzo a Mayo del 2015

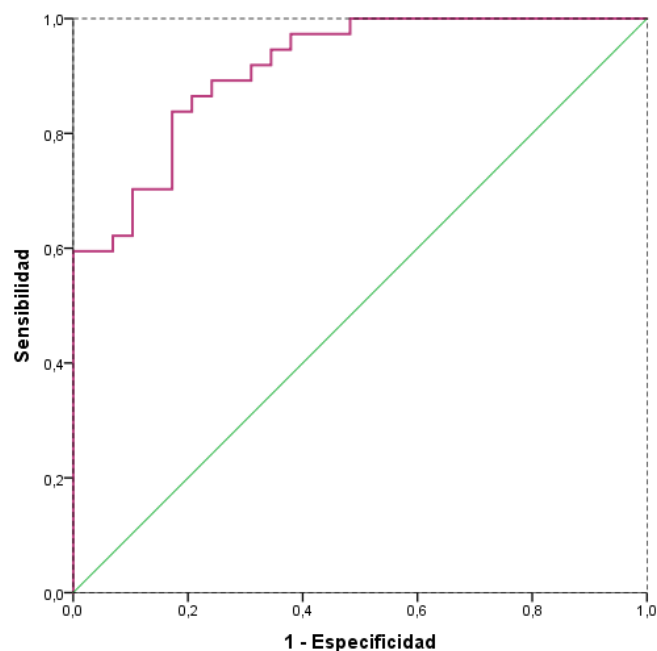
LEUCOPENIA	Test de Elisa: EHRLICHIOSIS				Total
	Si		No		
	Ni	%	ni	%	
L-PENIA LEVE	3	42.9	4	57.1	7
L-PENIA MODERADA	12	80.0	3	20.0	15
L-PENIA SEVERA	10	90.9	1	9.1	11
NO- LeucoCITOSIS	4	26.7	11	73.3	15
NO - NORMAL	8	44.4	10	55.6	18
Total	37	56.1	29	43.9	66

X² P
 12.983 0.0047

Tabla 16. Significación Conjunta de Variables de Hemograma en Canis familiaris del Distrito de Trujillo, Provincia de Trujillo, Departamento y Región La Libertad. Marzo a Mayo del 2015

Variables en la ecuación	B	DS	X²W	gl	P
Constante	-0.41702	4.12	0.01	1	0.919
Glóbulos rojos (G.R)	5.26462	2.54	4.31	1	0.038
Hemoglobina	2.71521	0.89	9.30	1	0.002
Hematocrito	-1.55934	0.55	8.03	1	0.005
VCM	0.35808	0.13	7.70	1	0.006
CHCM	-0.79229	0.27	8.78	1	0.003
Leucocitos	-0.00033	0.00	7.53	1	0.006
Eosinófilos	0.00312	0.00	4.65	1	0.031
Basófilos	0.01383	0.01	3.83	1	0.050

Fuente: Análisis estadístico * (Lic. Sergio Chafloque)



Fuente: Análisis estadístico * (Lic. Sergio Chafloque)

V. DISCUSIÓN

En la tabla 1, del total de casos, 37 *Canis familiaris* (56.1%) presentaron reacción positiva al SNAP 4Dx para *Ehrlichia canis*, con recuentos promedio en sus líneas eritrocitarias, plaquetarias y leucocitarias menores con respecto a los 29 casos negativos (43.9%). Los casos positivos presentaron en promedio anemia severa y trombocitopenia severa. Los casos negativos presentaron anemia leve, trombocitopenia leve.

En la tabla 2, del total de casos menores de 5 años, 23 *Canis familiaris* (60.5%) presentaron reacción positiva al SNAP 4Dx para *Ehrlichia canis*, con recuentos promedio en sus líneas eritrocitarias, plaquetarias y leucocitarias menores con respecto a los 15 casos negativos (39.5%). Los casos positivos presentaron en promedio anemia severa, trombocitopenia moderada y leucopenia moderada. Los casos negativos presentaron anemia leve, trombocitopenia leve.

En la tabla 3, del total de casos de pacientes entre 5 a 9 años, 8 *Canis familiaris* (53.3%) tuvieron reacción positiva al SNAP 4Dx para *Ehrlichia canis*, y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, y leucocitosis leve. Por otro lado, los 7 casos negativos (46.7%) presentaron en promedio anemia leve, recuento plaquetario sin alteraciones y leucocitosis leve.

En la tabla 4, para los pacientes mayores de 10 años, 6 casos (40.0%) resultaron positivos al SNAP 4Dx para *Ehrlichia canis*, y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, y leucopenia moderada; en comparación a los 7 casos

negativos (53.8%), los cuales presentaron: anemia moderada, trombocitopenia moderada, y recuento leucocitario conservado.

En la tabla 5, de los 37 pacientes machos, 20 casos (54.1%) resultaron positivos al SNAP 4Dx, y presentaron en promedio anemia severa, trombocitopenia severa y leucopenia leve; respecto a los 17 casos negativos (45.9%) que presentaron anemia moderada, trombocitopenia leve, y recuento leucocitario conservado.

En la tabla 6, de los 29 pacientes hembras, los 17 casos (58.6%) que resultaron positivos al SNAP 4Dx, presentaron en promedio anemia moderada, trombocitopenia severa y recuento leucocitario conservado. Por otro lado, los 12 casos negativos (41.4%) presentaron anemia leve, recuento plaquetario y leucocitario conservados.

En la tabla 7, para los pacientes de raza tamaño pequeño, tanto los 10 casos positivos (58.8%), así como los 7 casos negativos presentaron en promedio anemia severa, trombocitopenia leve, y recuento leucocitario conservado.

En la tabla 8, de los 32 pacientes de raza tamaño mediano, 18 resultaron positivos (56.3%) y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa; mientras los 14 casos que resultaron negativos presentaron anemia leve, trombocitopenia leve. Tanto los pacientes positivos y negativos presentaron recuento leucocitario conservado.

En la tabla 9, del total de pacientes de raza tamaño grande, 9 casos resultaron positivos (52.9%) y presentaron anemia moderada, trombocitopenia severa, leucopenia moderada. Por otro lado, los 8 casos negativos (47.1%) presentaron anemia moderada, recuento plaquetario y leucocitario conservados.

En la tabla 10, de los 37 casos positivos, 23 pacientes (62.2%) tienen menos de 5 años y presentaron anemia severa, trombocitopenia moderada, leucopenia leve. Otros 8 pacientes (21,6%) tienen entre 5 y 9 años y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, leucocitosis leve. Por último, los 6 pacientes (16.2%) que tuvieron más de 10 años presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, y leucopenia moderada.

En la tabla 11, de los 37 casos positivos, 20 pacientes (54.1%) son machos y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, leucopenia leve. Por otro lado, los 17 pacientes (45.9%) que son hembras presentaron anemia moderada, trombocitopenia severa, y recuento leucocitario conservado.

En la tabla 12, para los 37 casos positivos, 10 pacientes son de raza tamaño pequeño (27.0%) y presentaron, anemia severa, trombocitopenia leve, recuento leucocitario conservado; 18 pacientes son de raza tamaño mediano (48.6%) y presentaron anemia severa, trombocitopenia severa, y recuento leucocitario conservado; por último, los 9 pacientes de raza tamaño grande (24.3%) presentaron anemia moderada, trombocitopenia severa y leucopenia moderada.

Con los resultados obtenidos se realizó el análisis estadístico de las alteraciones hematológicas, y su relación con la presencia de la ehrlichiosis canina:

En la tabla 13, se muestra la relación entre la anemia y la presencia de ehrlichiosis canina, la prueba estadística de independencia de criterios muestra que no existe relación significativa ($p > 0.05$, $p = 0.1593$).

En la tabla 14, se muestra la relación entre la trombocitopenia y la presencia de ehrlichiosis canina, la prueba estadística de independencia de criterios muestra que si existe relación significativa ($p < 0.05$, $p = 0.0455$).

La tabla 15, muestra la relación entre la leucopenia, y la presencia de ehrlichiosis canina, la prueba estadística de independencia de criterios muestra que si existe relación significativa ($p < 0.05$, $p = 0.0047$).

En la tabla 16, se realizó un estudio de la significación conjunta de las variables del hemograma en el pronóstico del riesgo de presentar ehrlichiosis canina; obteniéndose un modelo estadístico para el valor diagnóstico del hemograma con una sensibilidad de 83.78% y especificidad de 82.76%.

Por lo cual, de manera conjunta, son significativas las variables del hemograma: Glóbulos rojos (G.R), Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hto), Volumen corpuscular medio (VCM), Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), Leucocitos, Eosinófilos y Basófilos, para pronosticar el riesgo de presentar EHRlichiosis, con los siguientes parámetros de valor diagnóstico:

Sensibilidad:	83.78%
Especificidad:	82.76%

La seroprevalencia en el presente estudio fue de 56,1%, lo cual evidencia un marcado incremento respecto a los estudios de Adrianzen (2002) que fueron del 16.5% para *E. canis* en tres distritos de Lima. Este notable incremento puede deberse al crecimiento poblacional canino, al limitado control de infestaciones por garrapatas en zonas urbanas, incluso a la resistencia de las mismas a diversos productos disponibles para su control.

Los casos positivos presentaron recuentos hematológicos celulares menores con respecto a los casos negativos; evidenciando anemia severa y trombocitopenia severa, como rasgos compatibles con una anemia hemolítica inmunomediada (AHAI) producida por *Ehrlichia canis*. Las alteraciones hematológicas provocadas por *Ehrlichia canis* pueden variar dependiendo de acuerdo a la etapa de la infección (aguda, subclínica, crónica) o a la co-infección con presencia de otra(s) variedad(es) del género *Rickettsiae* (*E. platys*, *E. budgorfeni*, *E. Chafferensis*, etc) no detectados por el test rápido SNAP 4Dx.

Los resultados positivos demuestran mayor incidencia de Ehrlichiosis canina según sexo en machos (54.1%); según edad en pacientes menores de 5 años (62.2%), según tamaño en las razas medianas (48.6%) y dentro de ellas, la raza mestiza (72.2%).

La desviación estándar elevada, es evidencia de que existe una gran variación sobre todo en los recuentos leucocitarios, esto debido a factores como estado inmunológico del paciente, cronicidad de la enfermedad, o concomitancia con otras afecciones (insuficiencia renal, septicemia, neoplasias, etc).

VI. CONCLUSIONES

Se determinó que el hemograma completo es una prueba significativa en el diagnóstico para la detección de ehrlichiosis canina en *Canis familiaris* clínicamente sospechosos, presentado estadísticamente una sensibilidad de 83.78% y una especificidad de 82.76%.

Se determinó que la asociación estadística independiente, de las alteraciones hematológicas: anemia y leucocitosis, no tienen relación significativa con la presencia de ehrlichiosis canina.

Así mismo, la asociación estadística independiente, de las alteraciones hematológicas: leucopenia y trombocitopenia, tienen relación significativa con la presencia de ehrlichiosis canina.

Para utilizar el resultado del hemograma completo en el diagnóstico de ehrlichiosis canina, es necesario valorar de manera conjunta las alteraciones en las variables: glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, VCM, CHCM, leucocitos, eosinófilos y basófilos.

En los casos sospechosos de Ehrlichiosis canina, y con resultado negativo al SNAP 4Dx para *Ehrlichia canis*, es necesario realizar un descarte de otras patologías capaces de producir alteraciones en los recuentos de las líneas eritrocitarias, plaquetarias y leucocitarias; tanto infecciosas (Borreliosis, anaplasmosis, etc.) así como anemias deficitarias, secundarias a intoxicaciones o alteraciones hepáticas, renales y/o hematológicas.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones a mayor escala poblacional y muestral, y aplicar el modelo estadístico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina.

Realizar investigaciones respecto a las alteraciones hematológicas en pacientes que presentan ehrlichiosis canina y co-infecciones detectadas mediante la prueba SNAP4Dx.

Se recomienda investigar la presencia de otras variedades del género Ehrlichia tales como *E. platyss*, *E. chafferensis*, etc., en pacientes con sospecha clínica y con resultado serológico negativo a *E. canis*.

Se recomienda instar a los órganos competentes en salud pública, tales como SENASA, las Municipalidades, Colegio Médico Veterinario de la Libertad, a realizar estudios poblacionales caninos exhaustivos, promover la investigación de incidencia, control y prevención de enfermedades zoonóticas, mantener datos actualizados de consultorios veterinarios en funcionamiento. Así mismo, realizar actividades educativas de proyección social.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Greene, C. Infectious Diseases in the dog and Cat. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 2004. Cuarta Edición. Pp 1383.
2. Latimer, K., Mahaffey, E. y Prasse, K. Patología Clínica Veterinaria de Duncan, Editorial Multimédica, Cuarta Edición Española, Barcelona – España. 2005. pp 550.
3. Sodikoff, H. Pruebas Diagnósticas y de Laboratorio en las Enfermedades de Pequeños Animales. Editorial Mosby/Doyma Libros. S.A. Segunda Edición. España. 1996. pp 435.
4. López, J., Rivera, M., Concha, J., Gatica, S., Loeffholz, M., Barriga, O. Serologic Evidence For Human Ehrlichiosis in Chile. Revista Médica. Chile, 2003. Pp 67-70.
5. De Morais, H., Hoskins, J., Pereira, N., Labarthe, N. Guidelines for Diagnosis and Management of Dogs Infected with *Ehrlichia spp.* Clínica Veterinaria 2004. Vol. 48:28-30.
6. Ettinger, S. Tratado de Medicina Interna. Enfermedades del Perro y del Gato. Editorial Intermédica. Ciudad de México. México. 1992. pp. 297 – 299.
7. Dumler, J., Barbet, A., Bekker, C., Dasch, G., Palmer, G., Ray, S., Rikisha, Y. and Rurangirwa, F. Reorganization of Genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *rickettsiales*. Unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six New Species Combinations; and Designation of *Ehrlichia equi* and “HGE agent” as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophilum*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. Pp 2145-2165.
8. Chavera A., Viera, F. y Samamé, H. Ehrlichiosis canina en el Perú. Anales del VII congreso Nacional de Ciencias Veterinarias, Ica – Perú. 1982.
9. Adrianzen, J. Seroprevalencia de Ehrlichiosis canina en los distritos de Chorrillos, La Molina, y San Juan de Miraflores. (Tesis Bachiller). Facultad de Medicina Veterinaria: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2002. p. 68.
10. Neer, T. Ehrlichiosis Monocítica y Granulocítica Canina. En: Greene, C. (ed) Enfermedades Infecciosas en perros. McGraw-Hill Interamericana. México. 2000. p. 153 – 163.

11. Rodriguez-Vivas, R., Albornoz, R., Bolio, G. *Ehrlichia canis* in Dogs. Seroprevalence, Prevalence of Infection and Associated factors. Veterinary Parasitology. Yucatán, México. 2004.
12. Woody, B. and Hoskins, J. Ehrlichial Disease of Dogs. Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract. 1991. Vol. 21:75-98.
13. Llop, A.; Valdés Dapena, M.; Zuazo, J. Microbiología y Parasitología Médicas Tomos I y II. Editorial Ciencias Médicas, Ciudad de La Habana. Cuba. 2001. Pp.300.
14. Dagone, A., De Morais, H., Vidotto, M., Jojima, F., Vidotto, O. Ehrlichiosis in Anemia, Thrombocytopenic, or Tick-infested Dogs from a Hospital Population in South Brazil. Journal of Veterinary Internal Medicine 2003. pp. 422.
15. Parnell, N. Ehrlichiosis Canina. En: Morgan, R. (ed). Clínica de Pequeños Animales. Editorial El Servier. España. 2004. p: 1122-1124
16. Hoyos, S. Evaluación del Examen Hematológico y la Técnica Indirecta de ELISA en el Diagnóstico Clínico Laboratorial de Ehrlichiosis Canina. (Tesis). Facultad de Ciencias Veterinarias: Universidad Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2005. p. 104.
17. McBride, J., Corstvet, R., Breitschwerdt, E. and Walter, D. Immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* Infection with Recombinant Proteins. Journal of Clinical Microbiology, United Kingdom 2001. Vol. 39:315-322.
18. Casadevall A. Antibody-Mediated Immunity Against Intracellular Pathogens: Two Dimensional Thinking Comes full Circle. Journal Infection and Immunity. 2003. Vol. 71:4225-4228.
19. Botelho de Castro, M., Machado, R.; Tomas de Aquino. L.; Alessi, A and Costa, M. Experimental Acute Canine Monocytic Ehrlichiosis: Clinicopathological Findings. Veterinary Parasitology. 2004. p. 73-86.
20. Tizard, I. Inmunología Veterinaria. Editorial McGraw-Hill Interamericana Quinta Edición. México. 2002. 233-253.
21. Feng, H., And D. Walker. Mechanism of Immunity to *Ehrlichia muris*. A model of monocytotropic ehrlichiosis. En: Journal infection and Immunity. 2004. p. 966 – 971.
22. Paredes J. Hemoparásitos encontrados en caninos infectados por garrapatas. (tesis Bachiller) Facultad de Ciencias Veterinarias: Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú. 1994. pp. 45.

23. Laboratorio Clínico Escalabs® Resultado de análisis clínico – Hemograma. [Internet]. Trujillo, Perú. Consultado Abril 2014. Disponible en: <http://www.escalabs.com/webpageprocess/resultados/AnalisisPacientes/contAnal1.php?IdSolicitud=480216&IdPaciente=207709>
24. Wittwer, F; Bömwad, H. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Chile 1986.
25. Knowles, T., Allegan, A., Sorenson, H., Marciano, D., Breitschwerdt, E., Aarhus, S., Barbet, A., and Bélanger, M. Characterization of the Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis* and *Ehrlichia chaffeensis* and its Application for Serodiagnosis of Ehrlichiosis. J. Clin. and Diagnostic Laboratory Immunology. 2003. Vol. 10, p. 520-524.
26. Laboratorio IDEXX. Kit Canino para la Prueba de Antígenos de *Dirofilaria immitis*, y Anticuerpos de *Borrelia burgdorferi* y de *Ehrlichia canis* [Internet] España 2002. Consultado Agosto 2014
Disponible en: <http://www.idex.es/smallanimal/inhouse/snap/4dx.html>.
27. Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Ltd. Auto Hematology Analyzer Operator's Manual. China. 2010 – 2012.
28. Ministerio de Agricultura y Riego SENASA Perú. Relación de consultorios veterinarios del distrito de Trujillo. Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal SIGSA. 2000.
29. Herrera, M. Fórmula para cálculo de la muestra en poblaciones finitas. Hospital Roosevelt. 2011. Consultado Diciembre 2014. Disponible en: http://www.bioestadistico.com/index.php?option=com_content&view=article&id=153:calculo-del-tamano-de-la-muestra-para-estimar-parametros-categoricos-en-poblaciones-finitas&catid=46:calculo-del-tamano-de-la-muestra&Itemid=213
30. P.J. Quinn et al., Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. 2002, Blackwell Science Ltd. Primera reimpresión 2008, Editorial Acribia, Zaragoza – España

ANEXOS

ANEXOS

Anexo N° 01: Consultorios veterinarios incluidos en la investigación.

Consultorio	Centro médico Veterinario	M.V Responsable
1	Mi Mascota	José Luis Villena Suárez
2	San Martín	Julio César Paredes Saldaña
3	Arca de Noé	Otto Lalopú Mancisidor
4	Orvet	Alex Jhon Gutiérrez Yopla
5	OASIS CAN	Dr. Fernando Portilla Cusma
6	Medivet	César Alberto Llaque Quiroz

Anexo N° 02: Consultorios veterinarios del distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, Departamento de la Libertad, según SENASA (2000)

	Razón Social	Médico Veterinario	Dirección
1	Acuario Veterinaria Triton	Galarreta Becerra, Corina M.	Jr. Ayacucho 539
2	Agroveterinaria Angelita	Huamán Salazar, Lleyner	Jr. Sinchi Roca 1208
3	Agroveterinaria de Pura Sangre E.		Av. Pablo Casals Mz. C Int. 103 Lt. 3A Urb. Los Cedros
4	Agroveterinaria Vanessa E.I.R.L.	Coronada Sánchez, Celia Cecilia	Jr. Sinchi Roca 1174 Urb. Palermo
5	Alvites Villegas, William Oswaldo		Av. Cesar Vallejo 242 Urb. Palermo
6	Animascotas Empresa Individual	Reyes Lumbre, Angélica María	Av. Cesar Vallejo 299 C Urb. Palermo
7	Animascotas Pet Shop S.A.C.	Galarreta Becerra, Corina M.	Jr. Ayacucho 564
8	Barrantes Sánchez, Benedicta D.	Paredes Saldaña, Julio César	Av. América Norte 664 Urb. PayPay
9	Cabellos Altamirano, Rafael	Cabellos Altamirano, Rafael	Av. Larco 1289 Urb. La Merced
10	Cacha Domínguez, Mauro Richard	Arangoitia Quiroz, Luis Armando	Jr. Feijó de Sosa 100 Urb. Palermo
11	Canylandy'a	Quito Calva, Luz	Ramón Castilla 825 Urb. Chicago
12	Centro Veterinario Medivet S.A.C	Llaque Quiroz, César	Av. Salvador Lara 751 Urb. Las Quintanas
13	Chávez Olano, Marisa		Cal. Filadelfia 497 Urb. Santa Isabel
14	Factori Veterinaria E.I.R.L	Arangoitia Quiroz, Luis A.	Franz Liszt 736 Urb. Primavera
15	Fernández Chafloque, Juana	Fernández Chafloque, Juana	Av. América Sur 1° Piso 4065 Int. A Urb. Los Pinos
16	Guerrero Martínez, Henry	Guerrero Martínez, Henry	Av. Cesar Vallejo 297 Urb. Palermo
17	Guerrero Martínez, Bartolomé	Uceda Benítez, Luis Eder	Cal. El Tunante 116 - A Urb. Palermo
18	Guerrero Martínez, Bartolomé	Urteaga Jara, Flor de María	Av. Cesar Vallejo 297B Urb. Palermo
19	Inversiones Agroveterinarias Trujillo	Serrano Valderrama, Walter	Av. Cesar Vallejo 349 Urb. Palermo
20	Invet E.I.R.L.		Av. Cesar Vallejo 320A Urb. Palermo
21	Jacoba Virgen Alayo Vásquez	Arangoitia Quiroz Luis Armando	Av. Cesar Vallejo 243 Urb. Palermo
22	Larco Pets E.I.R.L	Galarreta Becerra Corina M.	Mz. B Lt. 05 Urb. Covirt
23	Llaque Quiroz, César Alberto	Llaque Quiroz, Cesar Alberto	Av. 9 de Octubre 789
24	Portero Ramírez, Beatriz	Guerrero Martínez, Henry	Jr. El Tunante 116 Urb. Palermo
25	Portero Ramírez, Beatriz	Guerrero Martínez, Henry	Av. Cesar Vallejo 269 Urb. Palermo
26	Portero Ramírez, Beatriz	Guerrero Martínez Henry	Cal. Sinchi Roca 1188 Int. A Urb. Palermo
27	Lalopú Mancisidor, Otto	Lalopú Mancisidor, Otto	Cal. Federico Gerdes 210 Urb. Mochica
28	Serdisven S.R.L.	Aguilar García, Alindor	Mz. C Int. T - 6 Lt. 3 Urb Los Cedros
29	Serdisven S.R.L.	Aguilar García, Alindor	Mz. D Lt. 19 Urb. La Esmeralda

30	Soriano Aybar, Carlos Christian	Soriano Aybar, Carlos Christian	Av. 8 de Octubre Mz. D Lt. 10 Mercado la Hermelinda
31	Suárez Vásquez, Marco Antonio	Aguilar García, Alindor	Prolongación Vallejo Mz. 45 Lt. 7 Urb. La Rinconada
32	Top Veterinaria San Martin S.A.C	Hernández Vásquez, Luis	Av. Sinchi Roca 1270
33	Vera Vásquez, Roberto Carlos	Cabrera Llaque, Luis Vidal	Liverpool 426 Urb. San Salvador
34	Veterinaria Manuel Pardo E.I.R.L.	Vílchez Bazán, Gerardo	Av. América Norte 1970 Urb. Primavera
35	Veterinaria San Antonio	Vásquez Ramos, Lupita Vanessa	Av. Sinchi Roca 1270
36	Villena Arrobas, Elías	Villena Suarez José Luis	Av. América Norte 1106 Int. A Urb. Los Jardines

Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego SENASA Perú, Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal SIGSA, 2000

Anexo N°03: Folleto adjunto del Test de Elisa, Snap 4Dx.

Uso del Test de ELISA Snap 4dx Plus



SNAP* 4Dx* Plus

Diagnóstico in vitro para la detección de antígeno de la *Dirofilaria immitis*, anticuerpos frente a *Anaplasma phagocytophilum*, anticuerpos frente a *Anaplasma platys*, anticuerpos frente a *Borrelia burgdorferi*, anticuerpos frente a *Ehrlichia canis* y anticuerpos frente a *Ehrlichia ewingii* en suero, plasma o sangre total canina.

Precauciones y advertencias

- Todo desecho debe ser descontaminado apropiadamente antes de su eliminación.
- No mezclar componentes de kits con diferentes números de lote.
- No usar un dispositivo SNAP que haya sido activado antes de haber añadido de una muestra.
- Las infecciones en las que únicamente se presentan filarias machos suelen producir niveles de antígeno situados por debajo del nivel de detección de este kit antigénico.

Almacenamiento

- Almacenar a 2–8°C.
- Los dispositivos y reactivos SNAP pueden almacenarse a temperatura ambiente 18–25°C durante 90 días o hasta la fecha de caducidad impresa (de las dos, la fecha que se cumpla antes).
- Cuando los dispositivos y reactivos SNAP se retiran del lugar donde están a 2–8°C de temperatura **durante más de 24 horas**, la fecha de caducidad será de 90 días o la fecha de caducidad impresa (de las dos, la fecha que se cumpla antes). Si la fecha de caducidad de 90 días se cumple antes de la fecha de caducidad impresa, anote la nueva fecha en el espacio indicado en el kit.

Componentes del kit

Artículo	Reactivos	Cantidad
1	1 frasco de conjugado anti- <i>D.immitis</i> / <i>Anaplasma</i> spp./ <i>B. burgdorferi</i> / <i>E. canis</i> / <i>E. ewingii</i> :HRPO (Conservado con gentamicina y Kathon)	7,0 ml
2	Dispositivo SNAP	5, 15 ó 30
Reactivos contenidos en cada dispositivo:		
	Solución de lavado (Conservado con Kathon)	0,4 ml
	Solución sustrato	0,6 ml
Otros componentes: Pipetas de transferencia, tubos de muestra y rejilla de reactivos		

Información de muestras

- Las muestras deben estar a temperatura ambiente (18–25°C) antes de comenzar el procedimiento de análisis.
- Se puede usar suero, plasma o sangre total anticoagulada (p. ej., EDTA, heparina), ya sea fresco o almacenado a 2–8°C durante una semana como máximo.
- Para un almacenamiento más prolongado, el suero o el plasma puede congelarse (-20°C, o a temperatura más fría). Habrá que volver a centrifugarlo antes de usarlo.
- Las muestras hemolizadas o lipémicas no afectarán los resultados del análisis.

Procedimiento de análisis

1. Si los componentes están almacenados refrigerados, esperar a que se equilibren a temperatura ambiente (18–25°C) durante 30 minutos. **No calentarlos.**

2. Con la pipeta del kit, verter **3 gotas de muestra** en un tubo de ensayo nuevo.

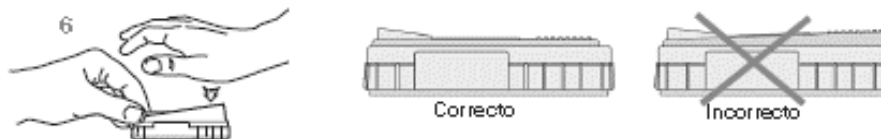
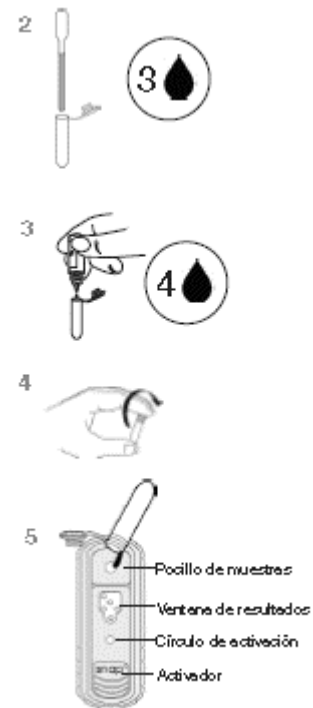
3. Agregar **4 gotas de conjugado** al tubo de ensayo sosteniendo la botella en posición vertical.

4. Tapar el tubo de ensayo y mezclarlo a fondo **invirtiéndolo entre 3 y 5 veces.**

5. Colocar el dispositivo sobre una superficie horizontal. Agregar todo el contenido del tubo de ensayo en el pocillo de muestras, teniendo cuidado de no verter el contenido fuera de dicho pocillo.

La muestra fluirá por la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en aproximadamente 30–60 segundos. Es posible que quede algún resto de la muestra en el pocillo.

6. En cuanto aparezca color en el círculo de activación, presionar el activador con firmeza hasta que quede al ras con el cuerpo del dispositivo.



Nota: es posible que alguna muestra no fluya hacia el círculo de activación dentro de los 60 segundos, y, por lo tanto, el círculo no se coloreará. En ese caso, presionar el activador después de que la muestra haya fluido por la ventana de resultados.

7. Leer los resultados del análisis cuando hayan pasado **8 minutos.**

Nota: Puede ocurrir que el punto del control positivo desarrolle antes el color; sin embargo, la prueba no se habrá completado hasta que no pasen los 8 minutos.

Interpretación de los resultados de los análisis

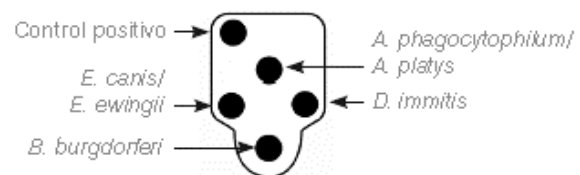
Resultado positivo

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

Notas:

El punto de muestra para *A. phagocytophilum*/*A. platys* no permite diferenciar entre las dos especies: un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos frente a *A. phagocytophilum* y/o *A. platys*.

El punto de muestra para *E. canis*/*E. ewingii* no permite diferenciar entre las dos especies: un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos frente a *E. canis* y/o *E. ewingii*.



Resultado negativo

Solamente se produce color en el punto del control positivo.

Resultados inválidos

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



Anexo N° 04: Ficha de Identificación del paciente.

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Datos del cliente:

Nombre :
Dirección :
Teléfono :

Datos del paciente:

Nombre : Temperatura :°C
Edad : Raza :
Sexo :

Anamnesis:

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

Examen clínico

Signología y sintomatología:

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

(Fuente: Elaboración Propia)

Anexo N° 05: Realización del hemograma completo.

Resumen: Realización del hemograma completo automatizado.

Las muestras hematológicas para el presente trabajo de investigación serán examinadas mediante el uso de esta técnica en el Mindray BC 2800 vet®, el mismo que presenta las siguientes características y metodologías de trabajo:

Los sistemas automatizados de hematología Mindray BC 2800 vet ®utilizan el poder de las tecnologías de citometría de flujofluorescente y enfoque hidrodinámico. La citometría de flujo de MindrayBC 2800 vet® proporciona la sensibilidad necesaria para medir y diferenciar tipos celulares en muestras de sangre total y de fluidos corporales.

La tecnología de citometría de flujo y enfoque hidrodinámico le permite a los analizadores Mindray BC 2800 vet®, clasificar consistentemente las poblaciones normales de leucocitos, eritrocitos y plaquetas de las anormales, y como consecuencia disminuye el número de intervenciones manuales.

Información clínicamente relevante:

El tamizaje efectivo de desórdenes de Glóbulos Rojos y monitoreo de la terapia

Los sistemas MindrayBC 2800 vet® proporcionan el panel de parámetros estándar para el tamizaje y monitoreo confiable de anemia.

Glóbulos Rojos y Plaquetas

Los glóbulos rojos y las plaquetas son contados en un canal exclusivo que utiliza como método de detección Impedancia o Corriente Directa (DC) combinada con una tecnología de enfoque hidrodinámico. Los desafíos en el conteo celular tales como coincidencia o recirculación son superados ya que discriminadores automáticos separan las dos poblaciones celulares.

Aún en muestras con concentraciones extremadamente bajas o inusualmente altas, los sistemas de Mindray BC 2800 vet® analizan los eritrocitos y las plaquetas con precisión y exactitud incomparables.

Análisis de Hemoglobina de alta calidad HGB

Los contadores hematológicos Mindray BC 2800 vet®, utilizan el reactivo SLS (lauril sulfato de sodio) libre de cianuro. El producto final es un compuesto coloreado que es medido por espectrofotometría.

Debido a que las determinaciones de hemoglobina se realizan a partir de una dilución y en una cámara separada, no existe alguna interferencia de los conteos altos de glóbulos blancos, lipemia o proteínas anormales.

Medición directa del Hematocrito HCT

El nivel de detección de altura por acumulación de pulsos de todos los conteos de eritrocitos da como resultado el hematocrito directo. Esto basado en el principio de que el nivel de los pulsos (cambio de voltaje) producido por las células que pasan a través de la apertura es proporcional al volumen celular.

Glóbulos Blancos, una clara diferenciación

La combinación de dispersión lateral (complejidad celular), dispersión frontal (tamaño), y fluorescencia (concentración de ADN y ARN) de las células nucleadas proporciona una imagen precisa y concisa de cada célula sanguínea periférica detectada.

Este análisis tridimensional de las células sanguíneas proporciona una precisión y exactitud únicas. El marcaje fluorescente de células sanguíneas periféricas es un logro fundamental para la rutina de diferenciación de leucocitos.

La tecnología de fluorescencia permite a los XT diferenciar confiablemente las poblaciones normales de las poblaciones anormales de glóbulos blancos.

La sensibilidad del uso de la citometría de flujo fluorescente le proporciona al laboratorio un alto nivel de confianza en el reporte exacto de diferenciales de glóbulos blancos, aún en muestras de pacientes críticos con conteos bajos de glóbulos blancos.

Parámetros clínicos avanzados Determinación de granulocitos inmaduros (IG)

- Las células incluidas en el conteo de IG son metamielocitos, mielocitos y promielocitos.
- El análisis en el canal del diferencial proporciona el parámetro de IG.
- El software de IG aplica un algoritmo flexible que se adapta a muestras individuales y por lo tanto proporciona conteos de IG confiables.

Conteo de plaquetas ópticas por fluorescencia

El contador hematológico MindrayBC 2800 vet® ofrece un conteo de plaquetas ópticas por fluorescencia (PLT-O) y el conteo tradicional por impedancia. La alarma asociada con plaquetas atípicas o anormales, debido a un incremento de tamaño o fragmentación, es minimizada por el uso del conteo óptico de plaquetas.

La exactitud en el resultado está soportada por la disponibilidad de ambas tecnologías.

Los analizadores MindrayBC 2800 vet® incluyen análisis para fluidos corporales. Estos analizadores proporcionan conteos reportables de eritrocitos y glóbulos blancos para todas las muestras de fluidos corporales comunes (LCR, sinovial y seroso).

Los analizadores aplican tecnologías probadas de impedancia y citometría de flujo fluorescente que aseguran un conteo exacto en fluidos corporales a partir del análisis de una sola muestra.

Análisis de fluidos corporales en analizadores MindrayBC 2800 vet®:

- No es necesario un pre tratamiento de las muestras.
- No requiere reactivos adicionales ni material de control de calidad adicional.
- Un chequeo automático de fondo antes de analizar una muestra.

Análisis de reticulocitos

Conocido como el “Estándar de Oro” en la evaluación de reticulocitos, el conteo de reticulocitos por fluorescencia está disponible en el contador hematológico MindrayBC 2800 vet[®].

Con el uso de la tecnología de fluorescencia, el canal de reticulocitos asegura:

- Recuento exacto de reticulocitos en porcentaje y número absoluto.
- Información mejorada de reticulocitos inmaduros para el diagnóstico temprano y tratamiento por parte de los médicos.
- Eliminación de las interferencias comunes con cuerpos de Howell-Jolly y cuerpos de Pappenheimer, para evitar conteos manuales.

Además, El RET-He es un parámetro que se mide en el canal de reticulocitos y es usado para medir la incorporación de hierro a la hemoglobina del eritrocito.

- Análisis rápido y directo en una etapa temprana del desarrollo de los glóbulos rojos para un permitir un seguimiento clínico temprano.
- Evaluación de anemia y además es un parámetro establecido usado en las iniciativas de calidad para el manejo de la enfermedad renal (KDOQI, por sus siglas en inglés) para evaluar el estado inicial de hierro en este tipo de pacientes.
- Exactitud y sensibilidad en la medición de la producción de glóbulos rojos lo cual permite el monitoreo efectivo de protocolos de uso de medicamentos costosos empleados para la estimulación celular.

Fuente:Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Ltd. Auto HematologyAnalyzerOperator’s Manual. China. 2010 – 2012.

Anexo 06: Hoja de Resultado – Resumen del paciente.

Nombre:	Raza:
Sexo:	Edad:
Consultorio:	Cod. Paciente:

Glóbulos Rojos		millones/ μ L
Hb		g/dL
Hto		%
	VCM	fL
	HCM	pg
	CHCM	g/dL
Plaquetas		mil/ μ L
Leucocitos		mil/ μ L
	RELATIVO	ABSOLUTO
	Granulocitos	
	Linfocitos	
	Monocitos	
	Eosinófilos	

SNAP 4DX:	¿Reactivo?	SI	NO
------------------	------------	----	----