



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS Y CLÍNICOS, EN CANINOS  
CON INFECCIÓN POR *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum*. ISLA DE  
MARGARITA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA  
(Modalidad: Tesis de Grado)

Karelys Del Valle Ortega Núñez y Anyoly Eugenia Espinoza Bermúdez

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2022

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS Y CLÍNICOS, EN CANINOS  
CON INFECCIÓN POR *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum*. ISLA DE  
MARGARITA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA.  
(Modalidad: Tesis de Grado)

APROBADO POR:



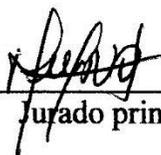
---

Dr. Gabriel González  
Asesor



---

Jurado principal



---

Jurado principal

# ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	vi
LISTA DE TABLAS .....	viii
RESUMEN .....	x
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	7
Muestra poblacional .....	7
Criterios de selección clínica de la muestra .....	7
Normas bioéticas .....	7
Evaluación clínica y recolección de la muestra .....	7
Parámetros hematológicos .....	8
Examen microscópico .....	8
Frotis de sangre periférica .....	8
Frotis de capa blanca .....	8
Volumen globular .....	8
Hemoglobina .....	9
Contaje de plaquetas .....	9
Contaje de leucocitos .....	9
Recuento diferencial de leucocitos .....	10
Parámetros bioquímicos .....	10
Determinación de la concentración de urea .....	10
Determinación de la concentración de creatinina .....	10
Fosfatasa alcalina .....	11
Determinación de Bilirrubina .....	11
Determinación de Transaminasas .....	11
Determinación de la concentración sérica de proteínas totales .....	12
Determinación de la concentración de albúmina .....	12
Análisis de datos .....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	14
<b>CONCLUSIONES</b> .....	44
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	46
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	47
APÉNDICES .....	56
HOJAS DE METADATOS .....	72

## DEDICATORIA

A

Mi Dios, por darme la vida y estar siempre conmigo, guiándome en mi camino.

Mis padres, el esfuerzo y las metas alcanzadas, refleja la dedicación, el amor que invierten sus padres en sus hijos. Gracias a ellos soy quien soy, orgullosamente y con la cara muy en alto agradezco a Yolis Bermúdez y Antonio Espinoza he concluido con mi mayor meta.

Mi hermana Anyoelys, por ser mi ejemplo a seguir, mi mayor inspiración, por estar en las buenas y no tan buenas, y que a pesar de la distancia siempre cuento con su apoyo.

Mi sobrino Ignacio José, por ser lo más lindo que me ha pasado en mi vida, siempre será mi más grande alegría.

Mi amiga María Jesús, por motivarme siempre a seguir adelante, por ser mi pañito de lágrimas cuando más lo necesitaba.

Demás familiares, quienes han puesto toda su confianza para lograr un objetivo más en mi vida, de corazón gracias.

Todos ustedes, ¡Muchísimas Gracias!

*Anyoly Eugenia Espinoza Bermúdez*

## **DEDICATORIA**

A

Mis padres Bestalida Núñez y Carlos Ortega por su apoyo constante, llenar mi vida con sus valiosos consejos, por confiar en mí y por los valores y principios que me han inculcado.

Mi hija Mairelys Marín por ser ese motor que me impulsó y motivó a culminar mi carrera, todo lo hago por ti hija te amo.

Mi hermano Jesús Ortega por su apoyo incondicional a pesar de la distancia sus palabras siempre han logrado animarme y motivarme a seguir adelante.

Muy especialmente, a mi hermano Carlos Ortega a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento sería tan especial para ti como lo es para mí.

Mayckerts Marín mi compañero de vida que, con su paciencia, consejo, su amor y apoyo me ayudo a concluir esta meta.

***Karelys del valle Ortega Núñez***

## AGRADECIMIENTOS

A

Mis padres, por ser mi pilar fundamental y apoyo incondicionalmente para cumplir este logro.

Mi compañera y amiga Karelys Ortega, por haberme acompañado en el recorrido laborioso de este trabajo y muchas de las cuales ha sido un soporte muy fuerte en momentos de angustias y desesperación.

Mis asesores Dr. Gabriel González y Lcdo. Meldis Salazar, que con sus amplias experiencias y conocimientos me orientaron al correcto desarrollo y culminación con éxito este trabajo para la obtención de la licenciatura en Bioanálisis.

Mi profe Del Valle, que con sus directrices pudo explicarme aquellos detalles para culminar mi tesis. Gracias a sus lecciones.

El laboratorio InsuLab, por abrirnos sus puertas y brindarnos las herramientas necesarias para la culminación de dicha tesis.

De igual manera mis agradecimientos a la Universidad de Oriente, a mis profesores quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada uno de ustedes por su paciencia y dedicación, apoyo y amistad.

Mis amigas Celimel y Roselin, por acompañarme a lo largo de este recorrido.

Demás familiares y amistades, que me permitieron permanecer con empeño, dedicación y cariño, contribuyendo con cada granito de arena para culminar con éxito la meta propuesta.

¡Gracias!

*Anyoly Eugenia Espinoza Bermúdez*

## AGRADECIMIENTOS

A

Dios todopoderoso y a la virgen Del Valle, quienes como guía estuvieron presentes en el caminar de mi vida, bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mi meta trazada sin desfallecer, gracias por haber puesto en mi camino a personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este periodo.

Mi madre Bestalida por ser el pilar más importante y demostrarme siempre su cariño, mi padre Carlos por su amor y comprensión. Gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, es un orgullo y privilegio ser su hija son los mejores padres.

El Dr. Gabriel González y el Licdo. Meldis Salazar quienes con su experiencia, conocimiento y motivación me orientaron al correcto desarrollo y culminación de este trabajo.

Miguel Marín quien con su esfuerzo y dedicación me impulso a culminar mi carrera universitaria y me dio su apoyo para no decaer cuanto todo parecía complicado he imposible.

Mayckerts Marín por ser parte fundamental en mi vida, por estar siempre presente, acompañarme, darme ánimos e impulsarme a seguir adelante gracias amor.

Anyoly Espinoza mi amiga y compañera de tesis, a pesar de nuestras diferencias, hoy podemos decir lo logramos.

El laboratorio InsuLab por permitirme utilizar sus instalaciones para el desarrollo y culminación de mi proyecto.

El laboratorio Sanax y su personal, por haberme abierto sus puertas y haber confiado en mí, gracias por su paciencia y preocupación para que se hiciera posible la culminación de este trabajo

Todas aquellas personas que me apoyaron y aportaron su granito de arena e hicieron posible que este trabajo se realizara con éxito.

*Karelys del valle Ortega Núñez*

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia de hemoparásitos en caninos provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	14
Tabla 2. Prevalencia de especies parásitarias del género <i>Anaplasma</i> en caninos provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	16
Tabla 3. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de hemoglobina (g/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	18
Tabla 4. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de hematocrito (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	19
Tabla 5. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de leucocitos ( $\mu$ l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	21
Tabla 6. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados neutrófilos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	22
Tabla 7. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de linfocitos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	23
Tabla 8. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados eosinófilos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	25
Tabla 9. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de plaquetas ( $\mu$ l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	26
Tabla 10. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de urea (mg/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis	

del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	28
Tabla 11. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de creatinina (mg/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	30
Tabla 12. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de proteínas totales (g/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	31
Tabla 13. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de albúmina (g/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	32
Tabla 14. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de globulina (g/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	34
Tabla 15. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación transaminasa glutámico oxalacética (TGO u/l) y transaminasa glutámico-pirúvica (TGP u/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	36
Tabla 16. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación bilirrubina total (BT); bilirrubina directa (BD) y bilirrubina indirecta (BI), (mg/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	38
Tabla 17. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación fosfatasa Alcalina (FAL) (u/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. ....	40
Tabla 18. Asociación de la debilidad en caninos con sospecha de hemoparásitos del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	41
Tabla 19. Asociación de la fiebre en caninos con sospecha de hemoparásitos del género <i>Anaplasma</i> , provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.....	42

## RESUMEN

Se evaluaron los parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos, en caninos con infección por *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum* Isla de Margarita, del estado Nueva Esparta. Se analizaron muestras de 200 perros, sin distinción de edad, raza o sexo. Para el diagnóstico se utilizó: examen directo, extendido sanguíneo coloreado con Giemsa y frotis de capa blanca teñido con colorante de Wright. Del total de muestras analizadas por técnicas parasitológicas para *Anaplasma*, 60 caninos resultaron positivos al hemoparásito para una prevalencia del 30,00 %, además se observó una tasa de infección para *Anaplasma platys* del 73,34%, *Anaplasma phagocytophilum* 18,33 %, y *Anaplasma*+ hemoparásitos (hem) 8,33%; representando este el primer registro realizado para el estado Nueva Esparta. A los caninos que resultaron positivos (60), así como a los caninos controles (40), se le realizó un hemograma y una química sanguínea, lo que permitió evaluar las diferencias entre los parámetros hematológicos, bioquímicos en los caninos evaluados. Estadísticamente existe diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con una menor concentración de hemoglobina (10,20 g/dl), hematocritos (31,95%), plaquetas (245.017  $\mu$ l) y niveles más elevados de urea (59,05mg/dl) en los caninos parásitados, además se presentó una alta asociación a las manifestaciones clínicas: debilidad (62,35%) y fiebre (55,06%). Se evidenció una alta incidencia de anemia (60,00%), leucocitosis (43,33%), neutropenia (36,67%), neutrofilia (35,00%); linfocitosis (43,33%); eosinopenia (80,00%), lo que coloca en grave riesgo a los caninos positivos a anaplasmosis.

## INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis es una enfermedad zoonótica, febril, infecciosa, no contagiosa, inmunosupresora, anemizante y con tendencia hemorrágica, causada por microorganismos de la familia Anaplasmaceae (Peñaloza, 2015).

La familia Anaplasmaceae, pertenece al orden Rickettsiales y grupo Alphaproteobacteria. Dentro del orden Rickettsiales inicialmente eran incluidas las familias Anaplasmaceae, Rickettsiaceae y Bartonellaceae, no obstante, gracias al uso de marcadores moleculares como el gen 16S rRNA, en el año 2001 esta última familia fue reclasificada, quedando las dos primeras como miembros actuales del orden (Dumler *et al.*, 2001; Rikihisa, 2010). Desde entonces el orden Rickettsiales incluye solo a la familia Anaplasmaceae que agrupa los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Wolbachia* y *Neorickettsia*, y también, a la familia Rickettsiaceae que abarca los géneros *Rickettsia* y *Orientia*. Una diferencia biológica entre ambas familias consiste en que las bacterias de la familia Anaplasmaceae se multiplican dentro de vacuolas, rodeadas de membranas, y los miembros de la familia Rickettsiaceae lo hacen libres en el citoplasma de la célula hospedadora (Rikihisa, 2010).

El género *Anaplasma* contiene dos especies que causan la anaplasmosis canina: *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) y *Anaplasma platys* (*A. platys*) (Troncoso *et al.*, 2014). Estas especies pertenecían antes al género *Ehrlichia*; por lo que se les conocía como *Ehrlichia equi* o *Ehrlichia phagocytophila* y *Ehrlichia platys*, respectivamente (Ettinger y Feldman, 2010; Gyles *et al.*, 2010; Greene, 2012). Dicha reclasificación, pudo lograrse debido al uso del gen 16S rRNA, donde estas dos especies separadas de *Ehrlichia* resultaron ser filogénicamente más estrechamente relacionadas con las especies del género *Anaplasma* (Dumler *et al.*, 2001; Alleman y Wamsley, 2008; Ettinger y Feldman, 2010; Greene, 2012).

Las especies *A. phagocytophilum* y *A. platys* son patógenos intracelulares obligados de células hematopoyéticas, que se replican dentro de una vacuola derivada de la membrana

de la célula eucariota madura o inmadura del hospedador mamífero. Estas especies infectan diferentes células hematopoyéticas, nombrándose las enfermedades según las células sanguíneas infectadas; *A. phagocytophilum* tiene especial tropismo por granulocitos (neutrófilos), produciendo anaplasmosis granulocítica o granulocitotrópica y es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, mientras que *A. platys* tiene predilección por las plaquetas, produciendo la anaplasmosis trombocitotrópica, que suele acompañarse de trombocitopenia clínica infecciosa canina, esta infección es transmitida principalmente por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* (Troncoso *et al.*, 2014).

Las especies *A. phagocytophilum* y *A. platys* se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo, principalmente en regiones tropicales, subtropicales y templadas, y dependen mucho de la distribución de sus vectores, así como las condiciones que permitan que estos se desarrollen (Woldehiwet, 2010).

El ciclo biológico de estos microorganismos implica un hospedador intermediario donde madura, generalmente vectores artrópodos como garrapatas infectadas, que adquieren la infección durante su alimentación en las fases de larvas o ninfas. La infección de *Anaplasma* sp. se produce a través de las secreciones salivales de las garrapatas que pican a los animales o al hombre durante una nueva alimentación (Ayllón, 2010). Una vez que el agente se encuentra dentro del hospedador, éste busca las células blanco e ingresa por medio de endocitosis (Gyles *et al.*, 2010; Rikihisa, 2011). Allí, los agentes envían señales para inhibir la apoptosis celular y facilitar su replicación en las células; posteriormente, las anaplasmas se replican por fisión binaria, pudiendo llegar a formar entre quince a veinte organismos en cada célula y estos agentes se aglomeran en el citoplasma de las células dentro de una vacuola formando mórulas, las cuales son comúnmente observadas en las muestras de sangre periférica; hasta que finalmente, las bacterias son liberadas mediante lisis celular e infectan otras células. El período de incubación de *A. phagocytophilum* y *A. platys* en caninos es de ocho a quince días (Taylor *et al.*, 2007; Carrade *et al.*, 2009; Forbes *et al.*, 2009; Woldehiwet, 2010; Greene, 2012).

Los signos clínicos más comunes que presentan los caninos, una vez infectados con *A. phagocytophilum*, son: fiebre, letargia, depresión, anorexia, debilidad, rigidez, cojera, hepatomegalia y esplenomegalia (Lillini *et al.*, 2006; Rikihisa, 2011; Greene, 2012). Mientras, que en los caninos infectados por *A. platys* la forma asintomática es la más común, aunque podrían presentarse algunos síntomas en animales inmunocomprometidos, como fiebre leve, petequias, mucosas pálidas, inapetencia, letargia, pérdida de peso, entre otros (Morgan *et al.*, 2004; Mc Gavin y Zachary, 2006; Ábrego, 2008; Ettinger y Feldman, 2010; De Farías *et al.*, 2012; Greene, 2012).

El diagnóstico de anaplasmosis se determina a través de los signos clínicos presentados en conjunto con las alteraciones hematológicas y bioquímicas encontradas; además de la identificación de mórulas en extendidos de sangre periférica o líquido sinovial entre la primera semana y la décima semana post infección, la sensibilidad de esta prueba incrementa si la muestra es tomada en el periodo de bacteremia (Miller y Hurley, 2009; Alleman, 2017).

Las alteraciones laboratoriales en la especie *A. phagocytophilum* son reportadas durante la fase de bacteremia. Las mas frecuente, una leve a severa trombocitopenia, aunque pueden ocurrir otras citopenias, incluyendo neutropenia, linfopenia, eosinopenia, monocitosis y anemia. Pocas alteraciones bioquímicas han sido descritas, entre ellas, proteínuria, hipoalbuminemia, hiperbilirrubinemia, elevación de transaminasas y moderado aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina (Dinitz y Breitschwerdt, 2012; Greene, 2012). En el caso de *A. platys*, la trombocitopenia deriva en una bacteremia, anemia normocítica normocrómica no regenerativa, además desarrollan leucopenia, hipoalbuminemia y aumento de proteínas e inmunoglobulinas (Harvey, 2012). A diferencia de las manifestaciones asociadas con *A. platys*, en infección por *A. phagocytophilum* no muestra signos de trastornos hemorrágicos (Rubio *et al.*, 2011).

Para el año 2019, se estimó la prevalencia general de *Anaplasma* spp., así como la prevalencia específica de *A. platys* y *A. phagocytophilum* en 18 472 caninos, mediante

estudios publicados entre 2000 y 2018. La prevalencia (basada en PCR) hallada de *Anaplasma* spp., en América fue de 11,90%, frente a África con 5,50%, Asia 4,10% y Europa 3,50%. Obteniendo una prevalencia de *A. platys* en caninos evaluados con PCR heterogénea con estudios que reportaron prevalencias entre 5,50% y 33,30%; para una prevalencia global de 16,10% (n=1 581); ésta resultó mayor a la prevalencia obtenida de *A. phagocytophilum* que fue 3,70% (n= 1 706) (Cardona *et al.*, 2019).

El primer caso reportado de un perro infectado con *A. phagocytophilum* se dio en Vancouver en el año 2005 y se comprobó mediante serología y estudios moleculares (Greene, 2012). La prevalencia de *A. phagocytophilum* a nivel mundial es variada, en regiones de América del Norte ocupan el 55,00%; Europa 50,00%; Estados Unidos más del 40,00%; New York 9,40%; Suiza 7,50%; Europa 50,10%; Alemania 43,20%; Italia Central 8,80%; Portugal 55,00%, España 11,50%; Israel 9,00% y Suecia 17,70% (Manna *et al.*, 2004; Barutzk *et al.*, 2006; De La Fuente *et al.*, 2006; Gary *et al.*, 2006; Solano *et al.*, 2006; Foley *et al.*, 2007; Amusatogui *et al.*, 2008; Beall *et al.*, 2008; Kemperman *et al.*, 2008; Campos, 2011). También, se detectó evidencia de exposición e infección por *A. phagocytophilum* en perros en Túnez, y se detectó una bacteria estrechamente relacionada con *A. phagocytophilum* en perros (Inokuma *et al.*, 2005; M'ghirbi *et al.*, 2009). Aunque se detectó evidencia molecular de infección por *A. phagocytophilum* en perros en Tailandia y Venezuela mediante PCR, posteriormente se determinó que de hecho, estos perros estaban infectados con *A. platys*, y se había producido un cebado falso de PCR como resultado de altas cargas de organismos en la sangre (Suksawat *et al.*, 2001; Suksawat *et al.*, 2002). Posiblemente debido a que los anticuerpos contra *A. phagocytophilum* reaccionan de forma cruzada con otras especies de *Anaplasma*, como *A. platys*, la seropositividad puede no reflejar necesariamente la exposición previa a *A. phagocytophilum* (Diniz *et al.*, 2009).

El primer reporte de *A. platys* (antes denominada *Ehrlichia platys*) se observó en Florida, Estados Unidos, encontrando inclusiones en las plaquetas de perros que sufrían trombocitopenia (Arraga *et al.*, 2003; Paulino, 2011). En el 2014, se realizó un estudio

en Costa Rica y se determinó que el 64,30% de los perros resultaron positivos por PCR a *A. platys*. En la República Bolivariana de Venezuela, los primeros casos reportados en caninos con *A. platys* datan de 1982, estos fueron observados en frotis sanguíneos coloreados encontrándose el 19,60% de prevalencia para este agente (Arraga, 1992). En un estudio para determinar la frecuencia de infecciones por microorganismos hemotrópicos caninos, en cuatro estados del país, se reportó una prevalencia general de *A. platys* de 39,13%, distribuyéndose el 20,00% en Carabobo, 14,29% Miranda y 11,11% Aragua, mientras que en Distrito Capital no se evidenció la presencia de esta especie en los caninos infectados (Quijada *et al.*, 2012).

En el estado Sucre, Brito *et al.* (2009), reportaron una prevalencia de 6,38% para *A. platys* en caninos infectados. Posteriormente en este mismo estado se llevó a cabo un estudio en cuatro comunidades del municipio Sucre, encontrando en los caninos evaluados una prevalencia de *A. platys* de 10,20%; 25,00% y 75,00%, en las parroquias de San Juan, Vega El Limón y Cancamure II, respectivamente, mientras que en Guaranache no se evidenció la presencia de este agente en ninguno de los caninos. En este mismo trabajo tampoco se evidenció la presencia de *A. phagocytophilum* en ninguno de los caninos infectados (Gómez *et al.*, 2015).

En la Isla de Margarita, ubicada en el estado Nueva Esparta, existen casos de anaplasmosis canina pero no hay un registro sobre esta enfermedad en la región, por parte de los entes competentes de salud y entes gubernamentales. Esta Isla es uno de los destinos turísticos preferidos por residentes y visitantes, especialmente en períodos vacacionales debido a sus atractivos naturales. En este estado, existe un creciente número de caninos callejeros y semidomésticos que deambulan por el área habitacional, de recreación y esparcimiento, sin control veterinario, aumentando el riesgo de transmisión de enfermedades como la anaplasmosis a otros caninos y a humanos, incluyendo a caninos domésticos que salen a realizar sus necesidades fuera del hogar o a recrearse. En este sentido, se consideró prudente evaluar los parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos asociados a la presencia de *Anaplasma platys* y *Anaplasma*

*phagocytophilum* en caninos, a fin de conocer cifras reales de la existencia de estas especies, y su comportamiento a nivel de laboratorio en esta entidad, para lo cual se hizo necesario, identificar la presencia de estructuras citoplasmáticas, presentes en células sanguíneas de caninos con sospecha clínica de enfermedades hemoparasitarias; con el fin de conocer la prevalencia de hemoparásitos pertenecientes a la familia Anaplasmaceae, estableciendo a la vez los aspectos clínicos (fiebre, debilidad), hematológicos (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas) y bioquímicos (urea, creatinina, fosfatasa alcalina, bilirrubina, transaminasas proteínas total y albúmina) en caninos con anaplasmosis y caninos de un grupo control.

## **METODOLOGÍA**

### **Muestra poblacional**

En el siguiente trabajo, se evaluaron muestras sanguíneas de caninos domésticos, sin distinción de edad, raza y sexo, provenientes de distintas clínicas de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela, durante un periodo de 3 meses, agosto, septiembre, y octubre. Para el mismo, se tomaron 200 caninos con sospecha clínica de enfermedades hemoparásitarias, aquellos que resultaron positivos a la presencia de hemoparásitos pertenecientes a la familia Anaplasmaceae, fueron considerados como casos, y los restantes fueron descartados de este estudio. Se tomaron 40 caninos como controles de la consulta de caninos sanos (sin sospecha clínica alguna de la enfermedad).

### **Criterios de selección clínica de la muestra**

Se tomaron todos los caninos con signos y manifestación clínica de la enfermedad, decaimiento, inapetencia, debilidad, anemia, vómitos, palidez de mucosas, fiebre, hemorragias, anorexia, pérdida de peso, agrandamiento del bazo, ictericia, trastornos hepáticos, trastornos renales entre otros.

### **Normas bioéticas**

A los representantes de los caninos que formaron parte del estudio, se les solicitó por escrito su consentimiento (apéndice A), para cumplir con las normas de ética internacionales para las investigaciones biomédicas (OPS, 2000), y su declaración voluntaria (apéndice B); así mismo se le realizó una encuesta al veterinario, para obtener los datos clínicos (apéndice C), luego se valoraron según los objetivos propuestos.

### **Evaluación clínica y recolección de la muestra**

A los caninos que presentaron sintomatología de anaplasmosis se procedió a tomar una muestra sanguínea la cual se obtuvo con ayuda del médico veterinario, por punción venosa en los miembros anteriores de los caninos, utilizando jeringas con agujas estériles y descartables, previa asepsia del sitio de la punción, se obtuvo una cantidad suficiente de sangre. Las muestras obtenidas se colocaron en tubos de vidrios estériles

sin anticoagulante (para la química), y tubos de vidrios estériles con anticoagulante EDTA- $\text{Na}_2$  (Etilendiaminotetracetato disódico) en una proporción anticoagulante/sangre 1:4 (para la hematología), se asignó un número y fecha de extracción (Vale, 2007). Posteriormente, se envió al laboratorio Insulab, en el municipio García, del estado Nueva Esparta, donde se realizaron los respectivos estudios hematológicos y bioquímicos para la confirmación diagnóstica.

### **Parámetros hematológicos**

#### Examen microscópico

Se elaboró un frotis de sangre periférica (rotulado “A”) y se procedió a hacer frotis de capa blanca concentrada (rotulado “B”).

#### Frotis de sangre periférica

Se realizó una extensión de sangre en una placa porta objeto se dejó secar la muestra unos minutos a temperatura ambiente, se fijó con alcohol metílico durante tres minutos; posteriormente, se sumergió la extensión en una solución diluida al 1:90 de colorante Giemsa y agua destilada durante 20 minutos, aproximadamente; finalmente, se aclaró y se dejó secar, se aplicó una gota de aceite de inmersión y se observó al microscopio utilizando el objetivo de 100X (Morales, 2014).

#### Frotis de capa blanca

Para obtener la capa blanca se centrifugó una muestra de sangre con EDTA en un capilar para microhematocrito, con el propósito de concentrar a través de este método los leucocitos y las plaquetas. Posteriormente, con este concentrado se realizó un frotis y se tiñeron con colorante de Wright, y se evaluaron minuciosamente al microscopio óptico, utilizando objetivo de inmersión (Gutiérrez *et al.*, 2016).

#### Volumen globular

La determinación de los glóbulos rojos empaquetados o volumen globular se realizó por el método del hematocrito. Para realizar esta técnica, se empleó tubos capilares de 7 cm

de largo por 1 mm de grosor, se llenó las 3/4 partes del capilar con sangre venosa bien homogeneizada, luego se cerró la punta del tubo capilar con plastilina, posteriormente, se centrifugó por 5 min a 10 000 rpm, y se leyó el resultado en escalas comerciales valores de referencia: 37,00-62,00% (Cambero, 2012).

### Hemoglobina

El valor de la hemoglobina se determinó en el equipo Mindray, un analizador automático de sobremesa para hematología, que combina tecnología de dispersión de láser semiconductor, citometría de flujo y citoquímica, proporcionando resultados confiables y precisos. Valores de referencia: 12-18 g/dl (Bauer, 1986).

### Contaje de plaquetas

La determinación de plaquetas se realizó en la cámara de Neubauer usando un Unopette que contiene oxalato de amonio, se hizo una dilución 1:100, luego se mezcló la dilución por completo y se cargó la cámara, se puso el hemocitómetro cargado en una cámara húmeda durante 15 minutos para permitir que las plaquetas sedimentaran, las plaquetas se contaron con el objetivo 40X en los 25 cuadros pequeños del cuadrado del centro del retículo y se calculó el número de plaquetas por litro usando la ecuación. Por ejemplo, si se contaron 200 plaquetas en todo el cuadrado central =  $200\ 000/\text{mm}^3$  ó  $200 \times 10^9/\text{L}$ . Valores de referencia: 150 000,0 a 450 000,0 por  $\mu\text{l}$  (Rodak, 2004).

### Contaje de leucocitos

Para realizar el contaje de leucocitos se pipeteo sangre, evitando la formación de burbujas, esta fue limpiada para eliminar el exceso de sangre, luego se aspiró reactivo de Turck, y se agitó vigorosamente, posteriormente, se preparó la cámara de Neubauer, eliminando las 3 primeras gotas de la dilución, y la gota siguiente se colocó en la cámara, se dejó reposar, para que se asentaran los leucocitos, y luego se observó al microscopio con objetivo de 10x y el contador celular, solo en los 4 cuadros grandes de la cámara de Neubauer, se realizaron los cálculos correspondientes. El total de células en estos  $4\ \text{mm}^3$ , se multiplicó por 50 (factor obtenido entre la dilución de la sangre y la profundidad de la cámara). Valores de referencia:  $9,00-16,00 \times 10^2\ \text{ml}$  (Cambero, 2012).

### Recuento diferencial de leucocitos

Para realizar el recuento diferencial de leucocitos se realizó un frotis, empleando un aplicador de madera, se depositó una pequeña gota de sangre en el extremo de un portaobjetos totalmente limpio, Con el borde de otro portaobjetos a 20 o 30 grados, se tocó la gota, se esperó a que la sangre se distribuyera por capilaridad en el extremo del portaobjetos extensor y se deslizó suavemente sobre el otro portaobjetos, en sentido longitudinal hasta que la gota quedó bien extendida sobre la superficie del primer portaobjetos se dejó secar el frotis, luego se tiñó con la tinción correspondiente como se explica a continuación: se fijó la extensión en metanol absoluto aproximadamente 30 segundos, una vez fijada la muestra se procedió a realizar la tinción con solución de azul de policromo durante 30 segundos, luego se enjuagó con agua potable, se dejó escurrir el agua y se dejó secar al aire libre, posteriormente, se colocó una gota de aceite de inmersión y se observó al microscopio con el objetivo de 100X, se hizo un recuento de 100 células blancas en total, diferenciando cada una de ellas. Valores de referencia: monocito: 0,00-8,00%; linfocito: 13,00-30,00%, eosinófilo: 0,00-6,00%, basófilo: 0,00-1,00%, neutrófilo: 60,00-77,00% (Cambero, 2012).

### **Parámetros bioquímicos**

#### Determinación de la concentración de urea

La determinación de la concentración de urea se realizó mediante el método de Benedict, en el cual la enzima ureasa transformó la urea en dióxido de carbono e ión amonio. En presencia de este último y por acción del hipoclorito de sodio en medio alcalino, se produjo la oxidación del fenol con formación de indofenol (reacción de Berthelot) de intenso color azul, cuya intensidad medida fotométricamente es proporcional a la concentración de amoníaco y, por lo tanto, a la de urea presente en la muestra. Valores de referencia urea (suero o plasma): 0,20-0,40 g/l (Sampson, 1980).

#### Determinación de la concentración de creatinina

La cuantificación de este parámetro se utilizó mediante el método de Jaffe, en el cual la creatinina existente en un filtrado libre de proteínas reacciona con el ácido pícrico en

solución alcalina (hidróxido de sodio), formando un tautómero color rojo de picrato de creatinina. La intensidad de color de la reacción es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra y medió a una longitud de onda de 510 nm. Valores de referencia suero: 0,60-1,40 mg/dl (Ratliff y Hall, 1973; Kaplan y Pesce, 1991).

#### Fosfatasa alcalina

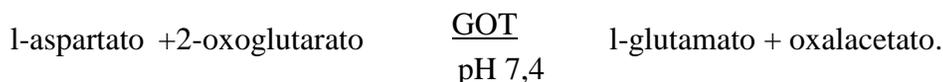
Para su identificación se utilizó el método cinético optimizado (DGKC y SSCC) en el cual la fosfatasa alcalina desdobra al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determinó por reacción con 4-aminoantipirina y ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se midió a 520 nm (Tietz, 1972).

#### Determinación de Bilirrubina

La determinación de bilirrubina total y directa se realizó por el método colorimétrico (punto final) en el cual el ácido sulfanílicodiazotado transforma la bilirrubina en azobilirrubina coloreada que se determinó fotométricamente. De las dos fracciones de bilirrubina presentes en suero, glucuronato de bilirrubina y bilirrubina libre asociada a albúmina, sólo reaccionó directamente la primera, mientras que la bilirrubina libre preciso ser disociada de la proteína por un acelerador para que reaccionara. La bilirrubina indirecta se calculó por diferencia entre la bilirrubina total (con acelerador) y la directa (sin acelerador). El color formado en las reacciones fue medido fotométricamente a 540 nm (Walters y Gerarde, 1970).

#### Determinación de Transaminasas

La determinación de transaminasas se realizó mediante el método colorimétrico en el cual la Aspartato aminotransferasa (got) cataliza la transferencia del grupo amino del aspartato al oxoglutarato con la formación de glutamato y oxalacetato.



La alanina aminotransferasa (gpt) cataliza la transferencia del grupo amino de la alanina al oxoglutarato con la formación de glutamato y piruvato.



La actividad de las transaminasas es proporcional a la cantidad de oxalacetato o piruvato formados en un tiempo prefijado, medidos colorimétricamente por la acción de la 2,4-dinitrofenilhidracina (dnfh) en medio alcalino (Reitman y Frankel, 1957).

#### Determinación de la concentración sérica de proteínas totales

Este parámetro se determinó por el método de Biuret, cuyo principio se basa en la reacción que experimentan las proteínas, por sus uniones peptídicas, con los iones cúpricos presentes en el reactivo de Biuret, cada ión cobre se une a la cadena polipeptídica por 4 enlaces de coordinación aportados por pares electrónicos libres de átomos de nitrógeno para dar lugar a la formación de un complejo color violeta con un máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra. Valores de referencia: suero: 6,30 – 8,50 g/dl (Doumas *et al.*, 1981).

#### Determinación de la concentración de albúmina

Para la cuantificación de esta fracción proteica se aplicó el método del verde de bromocresol cuyo principio consiste en la reacción que experimenta la albúmina, cuando se une al indicador verde de bromocresol a un pH ácido adecuado, para formar un complejo coloreado, cuya intensidad a 540 nm, es proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra. Valores de referencia: suero: 3,50 – 5,10 g/dl (Kaplan y Pesce, 1991).

#### **Análisis de datos**

Los resultados obtenidos se presentan a través de estadística descriptiva (tablas y/o figura), se estimó la prevalencia mediante la fórmula (Blanco y Maya 1999):

$$P = \frac{\text{Número de perros con hemoparásitos de la familia Anaplasmaceae}}{\text{Número total de perros con sospecha de hemoparásitosis}} \times 100$$

Como medida de asociación analizando las variables clínicas con la presencia de *A. platys* y *A. phagocitophilum* en los caninos evaluados, se utilizó la prueba Chi-Cuadrado ( $\chi^2$ ), con un nivel de confiabilidad de 95,00%, considerando  $p < 0,05$  como significativo. Se aplicó además la prueba T de Student con 95,00% de confianza para evaluar las posibles diferencias entre los parámetros hematológicos, bioquímicos en los caninos evaluados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar los parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos, en caninos con infección por *Anaplasma* que asistieron a clínicas veterinarias de la Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela, se observó que del total de los 200 perros evaluados, 60 fueron positivos por las técnicas utilizadas, lo que representa una prevalencia del hemoparásito de 30,00% (Tabla 1). Así mismo, se estudiaron 40 caninos aparentemente sanos que sirvieron como grupo control.

Por análisis de las secuencias del gen ARNr 16S, se ha realizado una reorganización taxonómica de los miembros del orden Rickettsiales, de tal manera que *A. platys*, *A. phagocytophilum* y *A. bovis*, anteriormente reconocidos como miembros del género *Ehrlichia* (*E. platys*, *E. phagocytophila* y *E. bovis*), pasaron a formar parte del género *Anaplasma* por presentar similitudes de al menos 96,10% en la secuencia genética del gén (Ábrego, 2008; Combariza, 2016).

Tabla 1. Prevalencia de hemoparásitos en caninos provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

Caninos	n	Prevalencia (%)
Parásitados	60	30,00
No parásitados	140	70,00
Total	200	100

n: número de caninos; % porcentaje

Según la prevalencia de hemoparásitos en esta investigación, se puede observar, que aproximadamente un tercio de la población estudiada resultó infectada por algún agente infeccioso, lo que sugiere una mayor incidencia de vectores responsables de la transmisión de enfermedades hemoparásitarias, como de una alta prevalencia de agentes etiológicos en comunidades caninas de la Isla de Margarita. Por otra parte, es importante señalar, que al utilizar solo técnicas parásitarias, sin combinarlas con técnicas mas específicas, se pudiera pensar que la prevalencia en este estudio es realmente mas elevada, en comparación si se implementaran investigaciones con técnicas

parasitológicas combinada por lo menos una técnica mas precisa, como las serológicas y moleculares.

La prevalencia de parásitosis obtenida en la presente investigación es comparable con autores como: Quijada *et al.* (2012), que en su investigación referida a la frecuencia de infecciones por microorganismos hemotrópicos caninos, en cuatro estados de Venezuela (Distrito Capital, Miranda, Aragua y Carabobo), reportó una prevalencia del 39,13% y a la obtenida por Guaina (2015), en su estudio, en el cual encontró una prevalencia de 26,87% para hemoparásitos, pero en poblaciones caninas del municipio Montes, por otro lado, esta prevalencia se encuentra muy por debajo de los valores hallados para el municipio Sucre, del estado Sucre reportados por Villalba (2018), que encontró 57,50% y al reportarlo en los estudios de prevalencia realizados por Gómez *et al.* (2015) quienes reportaron 59,10 %.

Estudios realizados en Ecuador por Guerrero y Lazo (2019), encontraron que en los perros seleccionados para su investigación, la prevalencia de hemoparásitos fue de 30,00% similar al encontrado en este trabajo, mientras que las investigaciones de Alcivar (2018) en la Clínica Animalópolis de la ciudad de Guayaquil, obtuvo una prevalencia del 65,00%, Tutachá (2016) encontró 75,00%, McCown *et al.* (2015) mostraban 88,00%, estas prevalencias fueron muy superiores a los valores encontrados en este estudio, los investigadores señalados atribuyen los altos valores de prevalencia a las condiciones ambientales de esta zona de estudio, ya que Guayaquil presenta una temperatura promedio de 25 °C, además está ubicada sobre el nivel del mar, caso contrario a la Isla de Margarita donde las temperaturas son muy elevadas por encima de los 30°C y además se encuentra al nivel del mar, estos parámetros pueden ser factores fundamentales para que la prevalencia de estos hemoparásitos sea baja en comparación con las zonas donde las temperaturas son inferiores. Es esencial mantener un control sobre esta prevalencia, al existir hemoparásitos, estas enfermedades causan destrucción de los glóbulos rojos teniendo graves consecuencias para la población de caninos.

En la tabla 2 se puede observar que del 30,00% de hemoparásitos encontrado (60/200 muestras), en 44 muestra (73,34%) se identificó *Anaplama platys*, mientras que el 18,33% (11/200 muestras) pertenece a *Anaplasma phagocytophilum*, y en 8,33% (5/200 muestras) *Anaplasma+hemoparásitos* (hem).

Tabla 2. Prevalencia de especies parásitarias del género *Anaplasma* en caninos provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

Hemoparásito	n	Prevalencia (%)
<i>Anaplama platys</i>	44	73,34
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	11	18,33
<i>Anaplasma+hem</i>	5	8,33
Total	60	100

n: número de pacientes; %: porcentaje

Dumler *et al.* (2001), refieren que *A. phagocytophilum* y *A. platys* son causantes de la anaplasmosis canina enfermedad emergente con distribución mundial causada por la mordedura de garrapatas; mientras que Sainz *et al.* (2015) señala que la distribución y prevalencia de cada agente varía de acuerdo al género del vector que habita en un determinado territorio.

La prevalencia de *A. platys* obtenida en el presente trabajo de investigación es superior a las reportadas en Venezuela, en donde los estudios de estas especies parásitarias, están referidas específicamente en el centro y en el área costera, para el estado Sucre, Brito *et al.* (2009), señalado por Gómez *et al.*(2015) en su investigación, reportaron prevalencia de 6,38%, mencionando además que en el mismo estado se realizaron investigaciones en las localidades del municipio Sucre, específicamente en las parroquias de San Juan, Vega El Limón y Cancamure II, determinando en los caninos evaluados una prevalencia de *A. platys* de 10,20%; 25,00% y 75,00%, respectivamente, por otro lado, Guaina (2015) para el mismo estado determinó prevalencia de *Anaplasma platys* de 2,98% en la población de caninos evaluados en su trabajo en las parroquias Cumanacoa y San Fernando del municipio Montes, de igual manera Villalba (2018), obtuvo prevalencia de *Anaplasma platys* de 8,75 %.

Estudios realizados en Colombia por Badillo *et al.* (2017), señala que reportes de prevalencia por pruebas serológicas comerciales presentaron resultados en Barranquilla 53,20% caninos con *A. platys*, y 40,00% caninos con *A. phagocytophilum*, en Cartagena 51,00% y Medellín 11,00% caninos con *A. phagocytophilum*. Valores muy inferiores a los encontrados en esta investigación para *A. platys* 73,34% y superiores en Barranquilla y Cartagena a los hallados para *A. phagocytophilum* 18,33% en este estudio; los investigadores señalan que las notables diferencias en las frecuencias reportadas en cada región, pueden explicarse por dos factores tal como, por influencia de las condiciones climáticas de las regiones estudiadas, se ha demostrado mayor prevalencia en zonas húmedas tropicales y principalmente costeras como Barranquilla y Cartagena, condiciones que favorecen la proliferación y el ciclo de transmisión del vector. La isla de Margarita por su condición de insularidad y pertenecer al sistemas de la costa presenta condiciones muy similares a las señaladas por este autor para Barranquilla y Cartagena, aunque, la prevalencia de parásitosis fue baja, estas condiciones pudieran estar favoreciendo el mayor desarrollo de *Anaplama platys* 73,34%, que el de *Anaplasma phagocytophilum* 18,33%, lo que evidencia que las condiciones medioambientales puede ser un factor determinante en la prevalencia de un agente causal sobre otro en este tipo de enfermedades.

Además estos investigadores señalan que estos elevados valores de anaplasmosis encontrados en este estudio podría ser un referente peligro para la salud pública de las personas que adoptan como mascotas a estos perros, pues en un momento determinado podrían producirse casos de esta enfermedad en humanos dado el vínculo directo entre la mascotas y las personas puesto que la penetración del microorganismo en el individuo se origina a través de la saliva de la garrapata infectada, tomando en consideración además que Rojas (2009) detectó la presencia en humanos de anaplasmosis en 6,60 % de las muestras analizadas en su trabajo de investigación.

La tabla 3 presenta los valores promedios de la concentración sanguínea de hemoglobina, se puede observar que los caninos controles obtuvieron un valor promedio de 14,17 g/dl, valor que se encuentra dentro de los parámetros recomendados por el Laboratorio clínico InsuLab (11,8 - 17,8 g/dl), mientras que para los caninos hemoparásitados se obtuvo un valor de 10,20 g/dl, el cual se encuentra por debajo del requisito antes señalado. Según el promedio existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con una menor concentración de hemoglobina en los caninos parásitados.

Tabla 3. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de hemoglobina (g/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	14,17	10,21		
Desviación estándar	1,47	3,82		
Coefficiente de variación	10,37%	37,41%	7,273	0,00***
Mínimo	11,90	3,50		
Máximo	17,00	19,50		
Rango	5,10	16,00		

\*: diferencias significativas (p< 0,05)

Investigadores como: Kohn *et al.* (2008), Granick *et al.* (2009), Eberts *et al.* (2011), Yancey *et al.* (2017), De Arcangeli *et al.* (2018) señalan que dentro de las alteraciones hematológicas inducidas por *A. phagocytophilum* se puede encontrar anemia, mencionando además que investigaciones en caninos con signos clínicos y diagnosticados mediante PCR evidenciaron anemia en 70,00%, otros estudios realizados, como el de Bouzouraa *et al.* (2016), señala que evidenciaron una marcada anemia en perros infectados naturalmente con *A. platys*, y que en la hematología de perros seropositivos a *Anaplasma* spp., se encontró anemia en 55,00%, en el apéndice D, se evidencia que en este estudio el 60,00% de los caninos con anaplasmosis presentaron anemia, valor muy similar a los señalado por los investigadores citados anteriormente y lo que confirma lo señalado en la literatura, que los agentes causales de la anaplasmosis

son responsables de la disminución de los valores de la hemoglobina, encargada esta de transportar el oxígeno, con la finalidad de garantizar un correcto funcionamiento del organismo, su disminución lleva al fracaso funcional de este.

En la tabla 4 se muestran los valores promedio de la concentración sanguínea de hematocrito en caninos controles la cual fue de 42,58%, mientras que para los hemoparásitados 31,95%, encontrándose los valores de las muestras controles dentro de los requerimientos recomendados por el Laboratorio clínico INSULAB (36-54%), mientras que los valores de hemoparásitados están levemente por debajo del mínimo recomendado por este laboratorio. Según el promedio existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con una menor concentración de hematocritos en los caninos parásitados, lo que evidencia la acción de los hemoparásitos de la anaplasmosis sobre los hematocritos.

Tabla 4. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de hematocrito (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	P
Recuento	40	60		
Promedio	42,58	31,95		
Desviación estándar	4,38	11,85		
Coefficiente de variación	10,29%	37,09%	6,325	0,000***
Mínimo	36,00	11,00		
Máximo	51,00	61,50		
Rango	15,00	50,00		

\*: diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Badillo *et al.* (2017), señala que los hallazgos más significativos en los caninos positivos a anaplasmosis de su investigación fue la disminución del hematocrito 37,00%, valor que está por encima del encontrado en esta investigación, mientras que Tateishi *et al.* (2014) reportaron valores promedio de hematocrito de 24,00%, muy por debajo del encontrado en este estudio 31,95%, coincidiendo los investigadores que la prevalencia de anaplasmosis está relacionada con la disminución de hematocrito, provocando

cuadros clínicos de anemia, caso muy similar a lo encontrado para esta investigación donde la prevalencia de anaplasmosis, coincide con la disminución de los hematocritos en los caninos estudiados; en el apéndice D, se observa que el 60,00% de las muestras está por debajo de los parámetros recomendados.

Por otro lado, Florez *et al.* (2020) señalan que en relación a los hallazgos del cuadro hemático, en su investigación pudieron observar que los caninos seropositivos, presentaron hematocrito disminuidas, haciendo mención a que sus resultados concuerdan a lo observado en otras investigaciones Gómez *et al.* (2015), González Loiza (2012) y Nakaghi *et al.* (2008), criterio que concuerda con lo encontrado en esta investigación; además señala el mismo autor, que se muestran signos paraclínicos de anemia los cuales son una herramienta de gran valor para diagnosticar estos agentes.

Otros investigadores como Olivares y Altamirano (2019) señalan que los casos positivos a hemoparásitosis de su investigación presentaron en el 44,35% una disminución del hematocrito, en el 5,05% un aumento, mientras que el 50,60% presentó un hematocrito dentro de los rangos de referencia; en la presente investigación los valores para hematocritos disminuidos (60,00%) estuvo muy por encima del señalado por este autor; estos investigadores señalan además que Arostegui y Maldonado (2017) mencionan que los glóbulos rojos parásitados incorporan antígeno en sus membranas, lo que induce a la formación de anticuerpos, que ocasiona la eliminación de estos por fagocitosis. Todo esto sucede en la fase aguda, por lo tanto, se presenta una anemia moderada, que se ve reflejada en la biometría hemática completa a través de la disminución del hematocrito.

En la tabla 5 se observan los valores promedio de la concentración sanguínea de leucocitos en caninos controles 6 868  $\mu$ l, mientras que con hemoparásitosis se obtuvieron 14 539,50  $\mu$ l, estando los caninos controles dentro de los valores (4 000 – 13 000  $\mu$ l) sugeridos por el laboratorio clínico InsuLab, y los hemoparásitosis por encima de estos valores de referencia. Tateishi *et al.* (2014) al investigar el nivel de serie leucocítica, mostraron que el promedio hallado para el recuento total leucocitario fue de

20,18 x10<sup>3</sup>/μl, estando el valor encontrado en este estudio por debajo de este valor. Según el promedio existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con valores elevados en la concentración de leucocitos en los caninos parásitados.

Tabla 5. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de leucocitos (μl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	6868,00	14539,50		
Desviación estándar	1147,55	10514,80		
Coeficiente de variación	16,74%	72,32%	5,599	0,000***
Mínimo	4500,00	2350,00		
Máximo	10000,00	50200,00		
Rango	5500,00	47850,00		

\*: diferencias significativas (p< 0,05)

Olivares y Altamirano (2019) obtuvieron resultados de los casos positivos a hemoparásitosis en cuanto a leucocitos, 64,67% con leucocitosis, 4,81% con leucopenia y 30,52% presentó un leucograma dentro de los rangos de referencia, mientras que Arcila, Patiño (2015), del 100 % de los pacientes positivos a hemoparásito presentaron leucocitosis en el 52,15 %, Kohn *et al.* (2008), Granick *et al.* (2009), Eberts *et al.* (2011), Yancey *et al.* (2017), De Arcangeli *et al.* (2018), en 63 caninos con signos clínicos y diagnosticados mediante PCR evidenciaron, leucocitosis 27,00%, por otro lado Bouzouraa *et al.* (2016), en la hematología de los 20 perros seropositivos a *Anaplasma spp.*, encontraron leucocitosis 30,00% y leucopenia 15,00%, mientras que en esta investigación los valores encontrados, apéndice D, están en, 43,33% con leucocitosis, 3,33% con leucopenia y 53,33% dentro de los rangos de referenciales, valores que difieren de las investigaciones antes mencionados, quizás debido al estado en que se encuentran las infecciones por el agente causal en los diferentes caninos estudiados. De allí, Cepeda y Zapata (2013) señalan que luego de la infección el efecto

en los leucocitos se va a observar primeramente en una leucopenia debida al secuestro de leucocitos en el bazo, ocasionados por los procesos inmunológicos e inflamatorios, como la producción de una sustancia con efecto citotóxico por parte de los linfocitos, que tendrá efecto sobre los monocitos, además, se ha aislado una sustancia que inhibe la migración leucocitaria, pero puede presentarse luego una leucocitosis.

La tabla 6 muestra los valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados neutrófilos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis fueron de 67,45 y 67,12, respectivamente, lo que permite ver que se encuentran dentro de los parámetros establecidos por el laboratorio clínico InsuLab (55 -77 %). Según el promedio no existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados.

Tabla 6. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados neutrófilos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	67,45	67,12		
Desviación estándar	4,07	12,41		
Coficiente de variación	6,03%	18,49%	0,193	0,847ns
Mínimo	60,00	38,00		
Máximo	75,00	90,00		
Rango	15,00	52,80		

\*: diferencias no significativas (p> 0,05)

Aunque el promedio de neutrófilos en las muestras analizadas se encuentre dentro de los parámetros recomendados, es importante señalar que existe una variación porcentual en ellas, encontrándose 36,67% de ellas por debajo de este parámetro, mientras que el 28,33% está por encima, y 35,00% dentro de este rango; al respecto Olivares, D. y Altamirano (2019), señalan que las alteraciones en el número de neutrófilos, pueden corresponder a una disminución (neutropenia) o aumento (neutrofilia) circulantes, respectivamente, producto de cambios en el balance entre la cantidad que ingresa desde la médula ósea a la sangre, su distribución en la sangre y su migración a los tejidos. Por

otro lado, Dinitz y Breitschwerdt, (2012) señalan que en anaplasmosis y más específicamente *A. phagocytophilum* infecta principalmente a las células más diferenciadas del linaje de los neutrófilos y Day (2016) que el mal funcionamiento de los neutrófilos infectados interfiere con los mecanismos de defensa inmunológica (fagocitosis y motilidad), teniendo como resultado una inmunidad deteriorada lo que puede facilitar a infecciones secundarias.

En investigaciones como la de Olivares y Altamirano (2019) observaron neutrofilia en 70,68%; caso contrario ocurre con el estudio de Arcila y Patiño (2015), el cual señala que del 100 % de los pacientes positivos a hemoparásito 57,80% presentaron neutropenia, por otro lado, Sainz Rodríguez (1996) señala que la mayoría de los animales estudiados, 72,04% presentan valores totales incluidos dentro del rango fisiológico; con neutrofilia en 16,13% y neutropenia en 11,83%, mientras que en el presente estudio, apéndice D, el 36,67% de los pacientes de esta investigación presentaron neutropenia y el 35,00% neutrofilia.

En la tabla 7 se observan los valores promedio de la concentración sanguínea de linfocitos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis presentando un promedio de 32,20% y 31,23%, respectivamente, valores ligeramente por encima del parámetro recomendado por el laboratorio clínico InsuLab (15-30%), por otro lado, el apéndice D, muestra que existe 3,33% de las muestras que está por debajo de este parámetro (linfocitopenia), 43,33% por encima (linfocitosis), encontrándose 53,33% dentro de los parámetros recomendados. Según el promedio no existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, teniendo en cuenta que estos tipos de parásitos por ser internos o hemoparásitos no son reconocidos por los linfocitos; ya que estos están diseñados para combatir enfermedades virales, es importante señalar que el 43,33% estuvo por encima del valor de referencia, lo que lleva a considerar que probablemente además de la enfermedad parasitaria puede haber una de tipo viral.

Tabla 7. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de linfocitos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	P
Recuento	40	60		
Promedio	32,20	31,23		
Desviación estándar	4,20	12,04		
Coefficiente de variación	13,04%	38,55%	0,572	0,569ns
Mínimo	24,00	10,00		
Máximo	40,00	62,00		
Rango	16,00	52,00		

\* diferencias no significativas ( $p > 0,05$ )

Tateishi *et al.* (2014) determinaron en las muestras analizadas de su investigación promedio de linfocitos (%) de 22,45, valor muy por debajo del promedio encontrado en este estudio; mientras que, Olivares y Altamirano (2019) mencionan que en su investigación las muestras analizadas presentaron 4,93% con linfocitosis, 16,23%, con linfocitopenia y 78,84% presentó un linfograma dentro de los rangos de referencia, mientras que Peñaloza (2015), encontró en su investigación un 13,00% de linfocitosis, caso contrario ocurrió en esta investigación pues se determinó mayor porcentaje de caninos con linfocitosis (43,33%) que con linfocitopenia (3,33%), sin embargo, Arcila y Patiño (2015) en su estudio obtuvieron mayores porcentajes para linfocitosis 69,00 %.

En este sentido Peñaloza (2015) señala que la linfocitosis encontrada en su estudio se le atribuye a causa de estrés de los pacientes al ser manipulado para la toma de muestra, destacando que Alleman y Couto (2006), señalan que Anaplasma puede causar la aparición de signos clínicos o los animales pueden permanecer como portadores con una infección subclínica durante un período de tiempo prolongado, los portadores subclínicos de estos agentes pueden llegar a presentar signos de la enfermedad cuando hay situaciones de estrés o inmunodepresión por lo que los pacientes analizados pudieron estar atravesando la enfermedad hace algún tiempo sin evidenciar signos clínicos.

Alteraciones menos específicas como la linfocitopenia, se encuentran reportados en la literatura actual de enfermedades producidas por hemoparásitos y en la mayoría de los casos pueden ser causadas por muchas otras condiciones y patologías (Cohn, 2013). La linfocitopenia suele aparecer como consecuencia de un aumento de corticoides

endógeno (típico leucograma de estrés, con neutrofilia y linfopenia) o exógeno, por estrés prolongado o por enfermedades víricas que conllevan aplasia medular, acompañándose de leucopenia generalizada (Pérez-Écija , Estepa, Mendoza, 2012).

La tabla 8 presenta la concentración sanguínea de segmentados eosinófilos, teniendo estos un promedio de 0,30% en las muestras controles y 1,72% para las muestras hemoparásitadas, con porcentajes (apéndice D) de 8,33% de las muestras dentro del rango establecido, teniendo 11,70% por encima (eosinofilia) y 80,00% por debajo, (eosinopenia), según los parámetros recomendados por el laboratorio clínico Insulab (2 – 4%). Según el promedio existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados.

Tabla 8. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados eosinófilos (%) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	P
Recuento	40	60		
Promedio	0,30	1,72		
Desviación estándar	0,69	5,32		
Coefficiente de variación	230,00%	322,42%	2,045	0,044*
Mínimo	0,00	0,00		
Máximo	3,00	37,00		
Rango	3,00	37,00		

\*: diferencias significativas (p< 0,05)

Tateishi *et al.* (2014), en su estudio referido a la Identificación Hematológica y Molecular de *Anaplasma platys* en caninos domésticos de Lima Metropolitana con signos clínicos compatibles con anaplasmosis, encontró un promedio de eosinófilos de 0.70%, muy por debajo del encontrado en esta investigación (1,72%), mientras que Peñaloza (2015) determinó en su estudio una eosinofilia 8,00%, algo similar al hallado en esta investigación (11,7%).

Las diferentes especies de bacterias pertenecientes al género *Anaplasma* spp se caracterizan por formar vacuolas en el citoplasma de la célula que colonizan, a las cuales se les llama mórulas (Arraga et al., 2003), en este sentido, Santacruz-Arroyo, (2014), señalan que *Anaplasma phagocytophilum* tiene características granulocitotrópicas por lo cual infecta neutrófilos y otras células granulocíticas, siendo los neutrófilos la célula hospedera más habitual, sin embargo se ha reportado el hallazgo de mórulas en eosinófilos.

La tabla 9 muestra el resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de plaquetas ( $\mu\text{l}$ ) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, donde se puede observar un promedio de 299 600  $\mu\text{l}$  para las muestras controles y 245 017  $\mu\text{l}$ , estando ambos promedios dentro del rango sugerido por el laboratorio clínico InsuLab (200 000 – 450 000/ $\mu\text{l}$ ); sin embargo el estudio reflejó valores porcentuales de la concentración sanguínea para las plaquetas ( $\mu\text{l}$ ) apéndice D, de 51,67% normales, 43,00% bajos (trombocitopenia) y 5,00% altos (trombocitosis). Según el promedio existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con valores disminuidos en la concentración de plaquetas en los caninos parásitados.

Tabla 9. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de plaquetas ( $\mu\text{l}$ ) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	299600,00	245017,00		
Desviación estándar	57496,40	119312,00		
Coefficiente de variación	13,19%	48,70%	3,052	0,003*
Mínimo	200000,00	87000,00		
Máximo	410000,00	648000,00		
Rango	210000,00	561000,00		

\*: diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Álvarez Medrano (2019) señala que, Harvey *et al.* (1978); Gaunt *et al.* (2010); De Tommasi *et al.* (2014), refieren que en infecciones por *A. platys*, la presencia de

trombocitopenia se debe a diversas causas tales como fagocitosis plaquetaria, disminución en la producción de plaquetas al verse alterados los megacariocitos y destrucción inmunomediada.

En el hemograma de animales positivos a los agentes de la familia Anaplasmataceae los hallazgos son variables y poco específicos, sin embargo el mas comúnmente encontrado tanto para *Ehrlichia* spp como *Anaplasma* spp., es la trombocitopenia, que puede servir como alerta para la presencia de estos agentes (Sainz *et al.*, 2015), como sucede en este estudio 43.00% de caninos presentaron trombocitopenia, corroborando así lo señalado por este autor. Macieira *et al.* (2005) describe que el recuento de plaquetas está reducido en aproximadamente 75,00% de los casos de infecciones por *Ehrlichia canis*. Sin embargo, es importante considerar que aunque la magnitud de la trombocitopenia puede variar entre las distintas etapas de la enfermedad, existe una correlación establecida entre su intensidad y la presencia de la enfermedad, (Bulla *et al.*, 2004). En la infección por *Anaplasma platys* la plaquetometría también se ve fuertemente afectada (Tommasi, 2014).

Greene (2012), señala que durante la infección por *A. platys* en el episodio inicial es cuando se encuentra el más alto porcentaje de plaquetas parasitadas y después de esto, el recuento de plaquetas decrece apresuradamente, llegando a valores por debajo de las 20 000/ $\mu$ L. Posteriormente a la desaparición de los microorganismos, los recuentos de plaquetas aumentan rápidamente, alcanzando valores de referencia dentro de 3 a 4 días. Las parásitemias y subsecuentes episodios trombocitopénicos ocurren en intervalos de 1 a 2 semanas. La trombocitopenia inducida por *A. platys*, inicialmente puede desarrollarse como consecuencia de una lesión directa a las plaquetas mediante la replicación de los microorganismos, los mecanismos inmunes de eliminación de plaquetas pueden ser más importantes durante los subsiguientes episodios trombocitopénicos.

Por otro lado, Tateishi *et al.* (2014), señala que la evaluación hematológica de su investigación reflejó principalmente: 66,70 % de muestras trombocitopénicas, frecuencia considerada como elevada, (muy por encima de la encontrada en este estudio 43,00%), mencionando además que, Eddlestone *et al.* (2007), indica que la presencia de un cuadro de trombocitopenia es común en el caso de infecciones por *A. platys*, aunque se desconoce con exactitud el mecanismo involucrado en la disminución del número de trombocitos, describiendo también que, Harvey (2012), señala que algunos autores plantean la posibilidad de que el microorganismo destruye las plaquetas, sin embargo menciona que por otro lado Chang y Pan (1996), Ferreira *et al.* (2008), comunican que la escasa cantidad de plaquetas dificulta la posibilidad de detectar la bacteria.

Autores como: Gaunt *et al.* (2010), Eberts *et al.* (2011). Bouzouraa *et al.* (2016), Yancey *et al.* (2017), Chirek *et al.* (2018) afirman que la trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común en la anaplasmosis, mientras De Tommasi *et al.* (2014) señala, que puede desarrollarse como consecuencia de una lesión directa a las plaquetas o progenitores por parte de organismos replicantes (en caso de *A. platys*),

La tabla 10 muestra los valores promedio de la concentración sanguínea de urea (mg/dl) en caninos controles y con hemoparasitosis, teniendo 34,85 y 59,05 respectivamente, estando el valor control dentro del rango sugerido por el laboratorio clínico insulab (10 – 58 mg/dl) y las muestras con hemoparasitosis ligeramente por encima de este valor; observándose además apéndice D, que el 31,67% de las muestras analizadas están por encima de este parámetro y el 68,33%, presentan valores normales. Se encontró diferencia altamente significativa entre los controles y los caninos parasitados, con niveles más elevados de urea en los caninos parasitados, lo que pudiera estar incidiendo en el normal funcionamiento de los riñones.

Tabla 10. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de urea (mg/dl) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	34,85	59,05		
Desviación estándar	10,00	50,83		
Coefficiente de variación	26,69%	86,08%	3,585	0,000*
Mínimo	15,00	14,00		
Máximo	54,00	230,00		
Rango	39,00	216,00		

\*: diferencias significativas (p< 0,05)

Cortadellas y Fernández (2012), González y Sanmiguel (2018), referido por Aguilar y León (2021), en su trabajo de investigación, canino mestizo con insuficiencia renal crónica por coinfección con *Ehrlichia canis* y/o *Ehrlichia ewinggi*, señalan que la insuficiencia renal crónica (IRC) es una patología frecuente a nivel mundial en caninos hasta en un 1,50% de prevalencia. Caracterizada por la pérdida de la funcionalidad irreversible y progresiva de más del 75,00% de las nefronas. Citando además a Burton *et al.* (2019), Codner y Maslin (1992), Qurollo *et al.* (2019), Silva *et al.* (2015) los cuales mencionan que esto se produce por diversas causas, pero que existen otras que en pocas ocasiones se tiene en cuenta como es la producida por un agente causal, como lo es la infección por *Ehrlichia canis*, capaz de producir una glomerulonefritis membranosa proliferativa por vasculitis e inmunocomplejos que se adhieren a diversas estructuras renales. Lo que nos lleva a pensar que el 31,67% de las muestras analizadas, pudieran estar padeciendo insuficiencia renal producto de la infección por estos agentes causales de la anaplasmosis.

En la tabla 11 se puede observar los valores promedio de la concentración sanguínea de creatinina en los caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, teniendo los valores controles un promedio de 0,82 mg/dl y las muestras con hemoparásitosis 1,11 mg/dl, estando ambos valores en el rango sugerido por el laboratorio clínico insulab (0,3 – 1,4 mg/dl); sin embargo, es de hacer notar en el apéndice D, que el 16,67% de las muestras con hemoparásitosis analizadas están por encima de este parámetro y el 1,66% por debajo. Se encontró diferencia significativa

entre los controles y los caninos parásitados, con niveles mas elevados de creatinina en los caninos parásitados, lo que está incidiendo en el normal funcionamiento de los riñones impidiendo la depuración de sustancias de desechos.

Tabla 11. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de creatinina (mg/dl) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	0,82	1,11		
Desviación estándar	0,21	0,94		
Coefficiente de variación	25,61%	84,68%	2,361	0,021*
Mínimo	0,50	0,10		
Máximo	1,30	5,10		
Rango	0,80	5,00		

\*: diferencias significativas (p< 0,05)

Langston (2011), señala que un aumento en los niveles de creatinina es indicativo de problemas renales, por ende a medida que disminuye la función renal aumentan los niveles de creatinina, por otro lado, Insuasty (2017) menciona que Chávez (2014), ha descrito que elevaciones de las enzimas hepáticas, así como de la creatinina podría tener un origen prerrenal (por deshidratación) o renal por glomerulonefritis o plasmocitosis intersticial renal.

Combariza, (2016), en su trabajo de investigación, determinó un valor para la Creatinina 0.70 mg/dl, ligeramente por debajo del encontrado en este estudio, señalando que en los resultados de la bioquímica sanguínea no se evidencia ninguna alteración, lo que podría indicar que hasta el momento de la toma de la muestra sanguínea ni hígado ni riñones habrían sufrido injuria mediada por *Anaplasma* spp, y que en los primeros días de la infección experimental solo ocurren casos hematológicos, como leucopenia con neutropenia y linfopenia. Esto pudiera estar sucediendo con el 81,67% de las muestras positivas, puestos que presentan valores normales y quizás esten en los primeros días de la infección, de allí que no existe problemas con los valores de creatinina.

La tabla 12 presenta los valores promedio de proteínas totales (g/l) en caninos controles y con hemoparásitosis, teniendo 6,44 y 6,88 respectivamente, valores que se encuentran dentro del rango recomendado por el laboratorio clínico InsuLab (4 – 7,5 g/l), encontrando además apéndice D, valores porcentuales de 36,67% por encima (hiperproteínemia) y 1,66% por debajo (hipoproteínemia) del parámetro recomendado, con un porcentaje de 61,66 de muestras con valores normales. No se encontró diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, esto quiere decir que los parásitos no afectan la síntesis del metabolismo de las proteínas.

Tabla 12. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de proteínas totales (g/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	6,44	6,88		
Desviación estándar	0,70	1,89		
Coefficiente de variación	10,89%	27,46%	1,646	0,104ns
Mínimo	4,80	3,20		
Máximo	7,40	12,50		
Rango	2,60	9,30		

\*: diferencias no significativas ( $p > 0,05$ )

En avivalabcr.com, Componentes del hemograma e importancia, se sugiere que siempre debe realizarse un análisis de proteínas totales para la evaluación correcta de un hemograma, mencionando que las proteínas totales proporcionan información acerca del estado de hidratación del animal, y que elevados niveles de estas, produce comúnmente deshidratación, la cual puede también elevar erróneamente los indicadores de la masa eritrocitaria.

Chávez, (2014), Cadavid *et al.* (2012), González *et al.* (2009), mencionados por Insuasty (2017), señalan que el hallazgo más frecuente en la bioquímica sanguínea en los perros con ehrlichiosis canina, es la hiperproteínemia por hiperglobulinemia, la cual frecuentemente se asocia con la presencia de hipoalbuminemia, que puede deberse, entre otros, a la existencia de proteinuria, pérdida de peso, malnutrición, hepatopatía o a un intento de compensación de la hiperproteínemia. De igual manera, Lorente, *et al.* (2006), refieren en su estudio, que en la fase subclínica de la ehrlichiosis canina la hiperproteínemia por hiperglobulinemia es una alteración encontrada con frecuencia y que su incidencia se incrementa en la fase aguda y crónica de la infección. En este estudio también se confirma la presencia de hiperproteínemia, en un porcentaje de 36,67%, muy similar al encontrado por estos autores, los cuales señalan un valor de 40,00%.

En la tabla 13 se puede observar los valores promedio de la concentración sanguínea de albúmina en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, teniendo promedio de 2,86 g/l y 2,84 g/l respectivamente, encontrándose estos valores dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico Insulab (2,2 - 4 g/l); sin embargo en el apéndice D, se puede observar que el 26,67% de la muestras analizadas está por debajo (hipoalbuminemia) y el 8,33% está por encima (hiperalbúminemia) del parámetro antes señalado, encontrándose el 65,00% de los valores dentro de este rango. No se encontró diferencia significativa entre los controles y los caninos parasitados, esto quiere decir que los parásitos no afectan la síntesis del metabolismo de las proteínas.

Tabla 13. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de albúmina (g/l) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparasitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	2,86	2,84		
Desviación estándar	0,44	0,95	0,160	0,873ns
Coefficiente de variación	15,21%	33,33%		
Mínimo	2,20	1,10		

Máximo	3,70	5,20
Rango	1,50	4,10

\*: diferencias no significativas (p>0,05)

Combariza (2016) menciona que Da silva (2012), refiere que en la primera fase de la infección por *E. canis*, se observa hipoalbuminemia, la cual puede ser consecuencia tanto de la pérdida periférica de albúmina a fluidos edematosos por el incremento de permeabilidad vascular, pérdida de sangre o disminución de la producción de proteína debido a una enfermedad hepática concurrente. La hipoalbuminemia también podría mantenerse como mecanismo compensatorio de la hiperglobulinemia, para así contrarrestar un incremento de la presión oncótica. Por otro lado, Aguilar y León (2021), refieren lo mencionado por Burton *et al.* (2019), Codner y Maslin (1992), Quorollo *et al.* (2019), Silva *et al.* (2015) que se ha demostrado que en la fase aguda las células infectadas con *E. canis* invaden los riñones adhiriéndose al endotelio vascular produciendo vasculitis, desencadenan un proceso de glomerulonefritis y presentación inicial de proteinuria con pérdida específica de albúmina, 2 a 3 semanas pos infección y en la fase crónica generando lesiones el glomérulo y tubulointersticio por glomerulonefritis membranoproliferativo.

Además, Gutiérrez *et al.* (2016), señalan lo mencionado por Harrus *et al.* (1999, 2012), Procajlo *et al.* (2011), que entre las anormalidades bioquímicas más resaltantes de los perros infectados con *E. canis* se encuentra la hipoalbuminemia, hiperglobulinemia e hipergamaglobulinemia, y que como la síntesis de la albúmina está regulada por la presión oncótica, la disminución en la concentración de albúmina puede actuar como un mecanismo compensatorio para el estado hiperglobulinémico y así mantener la presión oncótica y prevenir un aumento de la viscosidad sanguínea.

En este estudio, la hipoalbuminemia se presentó en 26,67% de la muestras con hemoparasitosis y teniendo en consideración que el 31,67% de estas muestras presentan valores para urea y el 16,67% valores de creatinina elevados, lo cual afectan la

funcionalidad de los riñones, como se señala en la literatura, este contribuye a la pérdida de la albúmina, como mencionan los autores antes señalados.

La tabla 14 muestra los valores promedio de la concentración sanguínea de globulina en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, teniendo promedio de 3,57 g/l y 4,03 g/l respectivamente, encontrándose estos valores dentro del rango sugerido por el laboratorio clínico Insulab (2,5–4,4 g/l); sin embargo en el apéndice D, se puede observar que el 18,33% de la muestras con hemoparásitos analizadas está por debajo (hipoglobulinemia) y el 38,34% está por encima (hiperglobulinemia), del parámetro antes señalado, encontrándose el 43,33% de los valores dentro de este rango. No se encontró diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, esto quiere decir que los parásitos no afectan la síntesis no el metabolismo de las proteínas.

Tabla 14. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de globulina (g/l) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	3,57	4,03		
Desviación estándar	0,76	1,93		
Coefficiente de variación	21,40%	47,83%	1,644	0,104ns
Mínimo	2,30	1,00		
Máximo	4,90	9,87		
Rango	2,60	8,87		

\*: diferencias no significativas (p>0,05)

Autores como: Chávez (2014), Cadavid *et al.* (2012), González *et al.* (2009), Lorente, Sainz, Tesouro (2006), describen que los hallazgos más frecuentes en la bioquímica sanguínea en los perros con ehrlichiosis canina, es la hiperproteinemia por hiperglobulinemia, en este estudio se puede observar que también se presenta una hiperglobulinemia, (38,34%), asociada a la hiperproteinemia (36,67%), lo que confirma lo señalado por estos autores, los cuales refieren un valor de 40,00%.

Por otro lado, Guerrero (2016) al mencionar a Lorente (2004), destaca que este menciona que acompañando a la hiperglobulinemia se suele encontrar una hipoalbuminemia, producida por diferentes causas como el agotamiento de la albúmina en el proceso inflamatorio y el catabolismo proteico asociado a la enfermedad, en nuestro estudio se confirma lo señalado por este autor, ya que se encontró un valor de 26,67% para hipoalbuminemia.

En la tabla 15 se puede observar los valores promedio de la concentración sanguínea de transaminasas TGO y TGP (u/l) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, al comparar la concentración de TGO en caninos controles y con hemoparasitosis encontramos un promedio de 35,23 y 51,05 g/l respectivamente, encontrándose estos valores dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico INSULAB (10-65 u/l); sin embargo en la apéndice D, se puede observar que el 17,00% de la muestras analizadas está por encima del parámetro antes señalado, encontrándose el 83,00% de los valores dentro de este rango; es importante señalar que existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parasitados, con niveles más elevados de TGO en los caninos parasitados, lo que está incidiendo en el normal funcionamiento del hígado.

En cuanto a los niveles de TGP, se puede observar en caninos controles y con hemoparasitosis, promedio de 30,08 y 85,62 g/l respectivamente, encontrándose los valores de los controles dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico Insulab y el de los caninos con hemoparasitos por encima de este parámetro (10-60 u/l); sin embargo en la apéndice D, se puede observar que el 25,00% de la muestras con hemoparasitos analizadas está por encima del parámetro antes señalado, encontrándose el 75,00% de los valores dentro de este rango; es importante señalar que existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parasitados, con niveles más elevados de TGP en los caninos parasitados, lo que está incidiendo en el normal funcionamiento del hígado.

Tabla 15. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación transaminasa glutámico oxalacética (TGO u/l) y transaminasa glutámico-pirúvica (TGP u/l) en caninos controles y con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio TGO (u/l)	35,23	51,05		
Desviación estándar	13,06	54,58		
Coefficiente de variación	37,08%	106,91%	2,155	0,035*
Mínimo	15,00	10,00		
Máximo	60,00	250,00		
Rango	45,00	240,00		
Promedio TGP (u/l)	30,08	85,62		
Desviación estándar	12,17	159,77		
Coefficiente de variación	40,45%	186,61%	2,681	0,009*
Mínimo	12,00	12,00		
Máximo	55,00	749,00		
Rango	43,00	737,00		

\*: diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

García y Zurita (2018) en su trabajo referente a Transaminasas: Valoración y significación clínica, mencionan que, en el hígado se producen múltiples reacciones de transaminación, pero las únicas transaminasas con valor clínico son dos: 1) aspartato-aminotransferasa o transaminasa glutámico-oxalacética (AST o GOT) cuya vida media es de 48 horas, y 2) alanino-aminotransferasa o transaminasa glutámico-pirúvica (ALT o GPT) con una vida media de 18 horas. La ALT es más específica de daño hepático que la AST, debido a que la primera se localiza casi exclusivamente en el citosol del hepatocito, mientras que la AST, además del citosol y mitocondria, se encuentra en el corazón, músculo esquelético, riñones, cerebro, páncreas, pulmón, eritrocitos y leucocitos. Así, pues, se puede considerar la enfermedad hepática como la causa más importante del aumento de la actividad de la ALT y frecuente del aumento de la actividad de la AST.

Por otro lado, el doctor en farmacia del laboratorio de análisis veterinarios Arturo Soria, Madrid, España, Gustavo Sánchez Visconti, señala que, La ALT o GPT (alanina

aminotransferasa) es una enzima citosólica específica del hepatocito. Su aumento detecta una inflamación y/o necrosis del hígado, y también se eleva en el shunt portosistémico. Es un parámetro hepático más específico que la AST, pero en traumatismos graves puede estar aumentada. El grado de elevación suele ser proporcional al daño en el hígado, es decir un aumento de la ALT acusado, indica un daño más severo en el hígado que si el resultado fuera más moderado. Esta enzima permanece mayor tiempo en sangre que la AST.

Dinitz y Breitschwerdt, (2012), Greene, (2012), señalan que dentro de las alteraciones bioquímicas de su estudio, para la especie *A. phagocytophilum* reportadas durante la fase de bacteremia, se han encontrado entre ellas una elevación de las transaminasas. De igual manera Kohn *et al.* (2008), Chireck *et al.* (2018), reportan que en infecciones por *A. phagocytophilum* se ha encontrado principalmente alteraciones como hiperbilirrubinemia y aumento de transaminasas; sin embargo, Bouzouraa *et al.* (2016), Álvarez (2019), encontraron con menor frecuencia un ligero aumento de transaminasas.

En la siguiente investigación se encontró 17,00% para la TGO y 25,00% para TGP, esta con un promedio de 85,62 g/l, muy por encima del valor de referencia señalado, lo que podría considerarse que los hemoparásitos del género *Anaplasma*, podrían estar causando daños hepáticos a los caninos.

En la tabla 16 se puede observar los valores promedio de la concentración sanguínea de bilirrubina total; bilirrubina directa y bilirrubina indirecta (mg/dl), en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, al comparar la concentración de BT en caninos controles y con hemoparásitosis observamos un promedio de 0,64 y 1,06 mg/dl respectivamente, encontrándose el promedio de los caninos controles dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico Insulab (0,1 - 1 mg/dl) y el valor para los caninos con hemoparásitosis ligeramente por encima del parámetro referido; sin embargo en el apéndice D, se puede observar que el 31,67% de las muestras con

hemoparásitos analizadas está por encima del parámetro antes señalado, encontrándose el 68,33% de los valores dentro de este rango.

En cuanto a los niveles de BD, se encontro promedio de 0,15 y 0,34 mg/dl respectivamente, estando el promedio de los caninos controles dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico InuLab (0,07 a 0,3 mg/dl) y el valor para los caninos con hemoparásitosis ligeramente por encima del parámetro señalado; observándose además en el apéndice D, un 5,00% por debajo y 55,00% por encima del parámetro antes mencionado, encontrándose el 40,00% de los valores dentro de este rango.

En lo que respecta a la concentración de BI, se aprecio un promedio de 0,48 y 0,75 mg/dl respectivamente, encontrándose estos valores dentro del parámetro señalado por el laboratorio clínico InuLab (0,1 - 1 mg/dl); sin embargo, en el apéndice D, se puede observar que el 16,67% de la muestras con hemoparásitos analizadas está por encima del parámetro antes señalado, encontrándose el 83,33% de los valores dentro de este rango; es importante señalar que se encontró diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con niveles más elevados de bilirrubina total; directa e indirecta en los caninos parásitados, lo que está incidiendo en el normal funcionamiento del hígado.

Tabla 16. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación bilirrubina total (BT); bilirrubina directa (BD) y bilirrubina indirecta (BI), (mg/dl) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio (BT)	0,64	1,06		
Desviación estándar	0,23	0,92		
Coefficiente de variación	35,80%	86,08%	3,469	0,001*
Mínimo	0,15	0,13		
Máximo	0,97	4,40		
Rango	0,82	4,27		
Promedio (BD)	0,15	0,34	3,464	0,001*

Desviación estándar	0,07	0,40		
Coefficiente de variación	46,71%	120,62%		
Mínimo	0,07	0,02		
Máximo	0,30	1,87		
Rango	0,23	1,85		
Promedio (BI)	0,48	0,75		
Desviación estándar	0,23	0,59		
Coefficiente de variación	47,54%	78,77%	3,104	0,003*
Mínimo	0,07	0,06		
Máximo	0,87	2,70		
Rango	0,80	2,64		

\*: diferencias significativas (p<0,05)

En la literatura referida a los manuales de cuidados y enfermedades de caninos, mencionan que, la bilirrubina se produce al descomponerse la hemoglobina y que el hígado es el encargado de remover del cuerpo. Por lo tanto, medir su nivel de bilirrubina es una manera de comprobar que tan bien está funcionando el hígado; y que dentro de las causas comunes de una bilirrubina indirecta elevada se incluye una anemia hemolítica, lo que significa que el cuerpo está eliminando demasiados glóbulos rojos; además señalan que cuando existe bilirrubina alta en la sangre puede deberse a una insuficiencia hepática, a una obstrucción en el flujo biliar o un aumento en la destrucción de glóbulos rojos, y que cuando existe un aumento de la bilirrubina total en general y de la bilirrubina directa en particular, sugiere una obstrucción del conducto biliar.

En este estudio se determinó para las muestras con hemoparásitos analizadas porcentajes de bilirrubina por encima de los parámetros de referencia, obteniendo para la bilirrubina total 31,67%, 55,00% para la bilirrubina directa y 16,67% para la bilirrubina indirecta; conociendo además que dentro de los análisis hematológicos se encontraron porcentajes elevados en cuanto a la disminución de la hemoglobina y los hematocritos, se puede afirmar lo referido en los manuales de cuidados y enfermedades de caninos, que existe un mal funcionamiento del hígado en estos caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, creando problemas hepáticos, y muy probablemente problemas de obstrucción del flujo biliar.

Dinitz y Breitschwerdt (2012), Greene (2012); señalan que dentro de las alteraciones bioquímicas de su estudio, para la especie *A. phagocytophilum* reportadas durante la fase de bacteremia, se han encontrado entre ellas una hiperbilirrubinemia; de igual manera Kohn *et al.* (2008), Chireck *et al.* (2018), también reportan para la misma especie alteraciones como hiperbilirrubinemia y aumento de transaminasas; sin embargo Bouzouraa *et al.* (2016), Álvarez (2019), encontraron con menor frecuencia un ligero aumento de bilirrubina; por otro lado, Guzmán, Panagua (2012), encontraron un valor de bilirrubina 0,70 mg / dl (teniendo como valores de referencia 0,1 – 0,6 mg / dl) valor que se encuentra por encima de los valores de referencia. Lo reportado por estos investigadores es muy similar a lo encontrado en esta investigación en lo que respecta a las alteraciones por hiperbilirrubinemia.

La tabla 17 presenta los valores promedio de la fosfatasa alcalina (u/l) en caninos controles y con hemoparásitosis, fueron 144,70 y 176,83, respectivamente, valores que se encuentran dentro del rango recomendado por el laboratorio clínico INSULAB (25 – 300 u/l), encontrando además apéndice D, valores porcentuales de 16,67% por encima del parámetro recomendado, con un porcentaje de 83,33 de muestras con valores normales. No se encontró diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, es decir cómo está enzima se encuentra en los túbulos a nivel del páncreas, quiere decir que no hay afección a ese nivel en los caninos parásitados.

Tabla 17. Resumen de la prueba estadística t-Student aplicada a los valores promedio de la concentración sanguínea de la relación fosfatasa Alcalina (FAL) (u/l) en caninos controles y con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	Controles	Hemoparásitados	t-Student	p
Recuento	40	60		
Promedio	144,70	176,83		
Desviación estándar	79,40	137,04		
Coefficiente de variación	54,87%	77,49%	1,481	0,142ns
Mínimo	30,00	33,00		
Máximo	288,00	600,00		
Rango	258,00	567,00		

\*: diferencias no significativas (p>0,05)

Dinitz y Breitschwerdt (2012), Greene (2012), señalan que dentro de las alteraciones bioquímicas entre otras se ha encontrado, un moderado aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina. Sin embargo, Guzmán, Paniagua (2012), en su estudio no observó alteraciones en los valores de fosfatasa alcalina encontrando un valor de 65 u/l, muy por debajo del encontrado en este estudio.

En la tabla 18 se puede observar que del 100% de los pacientes que presentaron debilidad, el 62,35% presentó hemoparásitos del género *Anaplasma*, mientras que del 100% que no presentó debilidad solo 6,09% correspondió a los que presentaron hemoparásitos del género *Anaplasma*. De igual manera en la misma tabla se puede ver, que existe una asociación altamente positiva entre la debilidad presentada por los caninos y la presencia de hemoparásitos, es decir la debilidad se asocia a que los caninos tenían hemoparásitos, esto se corrobora en el apéndice D, donde del 100% de los pacientes positivos a los hemoparásitos del género *Anaplasma*, el 88,33% presentaron debilidad.

Tabla 18. Asociación de la debilidad en caninos con sospecha de hemoparásitos del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	<i>Con debilidad</i>		<i>Sin debilidad</i>		$\chi^2$	p
	N	%	n	%		
<i>Anaplasma</i>						
Positivo	53	62,35	7	6,09	72,51	0,000*
Negativo	32	37,65	108	93,91		
Total	85	100	115	100		

n= número de pacientes; %= porcentaje;  $\chi^2$ = Chi-cuadrado; p: probabilidad; \*=significativa (p<0,05)

Lillini *et al.* (2006), Rikihisa (2011) y Greene (2012), señalan que los signos clínicos más comunes que presentan los caninos, una vez infectados con *A. phagocytophilum*

destacan la debilidad, rigidez, cojera, hepatomegalia y esplenomegalia; entre otros, mientras que Anigen (2013), Ozata y Ural (2014), Troncoso *et al.* (2014), en su investigación describe que en mas de la mitad de los perros diagnosticados con *A. phagocytophilum* presentan dolor músculo esquelético, caracterizado por incapacidad para moverse o rigidez, debilitamiento, úlceras y cojeras y que los perros infectados sufren de dolores articulares y poliartritis

Naranjo y Zúñiga (2021), en su estudio referente a la frecuencia de erliquiosis y anaplasmosis en perros con historial de garrapatas en una clínica veterinaria de Piura, Perú, mencionan que dentro de los signos clínicos encontrados con mayor frecuencia en el estudio se encuentran la debilidad, letargia, entre otros, señalando además a Rodríguez y Vivas (2004) los cuales describen que los mismos síntomas también fueron descritos en un estudio realizado en Yucatán, México.

En la tabla 19 se puede observar que del 100% de los pacientes que presentaron fiebre, el 55,06% presentó hemoparásitos del género *Anaplasma*, mientras que del 100% que no presentó fiebre solo 9,91% correspondió a los que presentaron hemoparásitos del género *Anaplasma*. De igual manera en la misma tabla se puede ver, que existe una asociación altamente positiva entre la fiebre presentada por los caninos y la presencia de hemoparásitos, es decir que la fiebre se asocia a que los caninos tenían hemoparásitos. Los hemoparásitos estimulan la producción de espirógeno y se produce fiebre para combatir la infección. Esto se corrobora en el apéndice D, donde del 100% de los pacientes positivos a los hemoparásitos del género *Anaplasma*, el 81,67% presentaron fiebre.

Tabla 19. Asociación de la fiebre en caninos con sospecha de hemoparásitos del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

	<i>Con fiebre</i>		<i>Sin fiebre</i>		$\chi^2$	p
	N	%	n	%		
<i>Anaplasma</i>						
Positivo	49	55,06	11	9,91	47,94	0,000*
Negativo	40	44,94	100	90,09		

Total	89	100	111	100
-------	----	-----	-----	-----

n= número de pacientes; %= porcentaje;  $\chi^2$ = Chi-cuadrado; p: probabilidad; \*=significativa (p<0,05)

Lillini *et al.* (2006), Rikihisa, (2011) y Greene (2012) señalan que dentro de los signos clínicos más comunes que presentan los caninos, una vez infectados con *A. phagocytophilum* destacan fiebre, letargia, depresión, entre otros; mientras que Morgan *et al.* (2004), Mc Gavin y Zachary (2006), Ábrego (2008), Ettinger y Feldman (2010), De Farías *et al.* (2012) y Greene (2012), refieren que en los caninos infectados por *A. platys* la forma asintomática es la mas común, aunque podrían presentarse algunos síntomas en animales inmunosuprimidos, como fiebre leve.

En Baster, Minessota, un estudio al examinar a 18 perros con diagnóstico hematológico y molecular para *A. phagocytophilum*, entre los signos clínicos hallados se encontró fiebre en 89,00%, Eberts *et al.* (2011); mientras que en los resultados hallados por Chirek *et al.* (2018), encontró fiebre 67,00% incluyendo convulsión 2,00%, por otro lado, Ozata y Ural, (2014), señalan que el 75,00% de perros infectados con *A. phagocytophilum* de su investigación presentan signos clínicos a menudo inespecíficos; entre ellos, fiebre, letárgica o depresión y anorexia; estos valores elevados de fiebre en sus pacientes encontrados por estos investigadores, son muy similares a los encontrados en esta investigación, lo que confirma que la fiebre es un signo sintomatológico de la presencia de anaplasmosis.

## CONCLUSIONES

Se identificó la presencia de *Anaplama platys* y *Anaplasma phagocytophilum* en caninos de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta, con una prevalencia de 30,00% de la población estudiada.

Se evidenció una alta prevalencia de anemia en los caninos positivos a *Anaplasma*, lo que confirma que estos agentes causales de la anaplasmosis son responsables de la disminución de los hematocritos (60,00%) y de los valores de la hemoglobina (60,00%).

Existe una diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con una menor concentración de hemoglobina (10,21g/dl), hematocritos (31,95%), plaquetas (14539,50 ul), en los caninos parásitados, lo que evidencia la acción de los hemoparásitos de la anaplasmosis sobre estos parámetros.

En lo que respecta a la serie blanca, los caninos con presencia de anaplasmosis presentaron leucocitosis (64,67%), neutropenia (36,67%), linfocitosis (43,33%), eosinopenia (80,00%) y trombocitopenia (43,00%).

30,00% de los caninos infectados por estos agentes causales de la anaplasmosis presentaron valores elevados de urea con un promedio de 59,05 %, encontrándose además diferencia altamente significativa entre los controles y los caninos parásitados, con niveles más elevados de urea en los caninos parásitados, lo que pudiera estar incidiendo en el normal funcionamiento de los riñones.

Se evidenció hipoalbuminemia (26,67%), con elevados porcentajes de urea (31,67%) y moderados porcentaje de creatinina (16,67%), lo cual afectan la funcionalidad de los riñones, contribuyendo a la pérdida de la albúmina, como se menciona en la literatura.

Se encontró un moderado aumento en los niveles de transaminasas TGO (17,00%) y TGP (25,00%), esto aunado a elevados porcentajes para la bilirrubina total (31,67%) y bilirrubina directa (55,00%), se puede afirmar lo referido en los manuales de cuidados y enfermedades de caninos, que existe un mal funcionamiento del hígado en estos caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, creando problemas hepáticos, y muy probablemente problemas de obstrucción del flujo biliar.

La presencia de hemoparásitos del género *Anaplasma*, en comunidades caninas de la isla de Margarita, estuvo altamente asociada a las manifestaciones clínicas de debilidad (62,35%) y fiebre (55,0%).

## **RECOMENDACIONES**

Establecer alianzas entre los entes gubernamentales a fin de que se establezca vigilancia epidemiológica con la finalidad de evitar la propagación de este tipo de infecciones, y a través de controles y aplicaciones de planes preventivos y correctivos, evitar contaminaciones en humanos.

Realizar charlas y/o jornadas de concientización para dar a conocer a la sociedad, la presencia de estos hemoparásitos en la Isla de Margarita, a fin de tomar las medidas sanitarias necesarias.

## BIBLIOGRAFÍA

Ábrego, L. 2008. Detección de Anaplasmataceae en garrapatas colectadas de perros y *Anaplasma platys* en muestras de sangre de perros de Costa Rica mediante la técnica de PCR. Tesis de Maestría, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Alcivar Espinales, Andrea. 2018. Detección de Ehrlichia, Anaplasma, Borrelia, Dirofilaria en caninos atendidos en la clínica veterinaria Animalopolis en Guayaquil. Trabajo de grado. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador

Alleman, A. y Wamsley, H. 2008. An update on anaplasmosis in dogs. Disponible: <<http://veterinarymedicine.dvm360.com/update-anaplasmosis-dogs>> (10/11/2019)

Alleman, R. 2017. Hemoparásitos y vectores. Primera edición. Editorial Veteboock.com. Colombia.

Amusatogui, I.; Tesouro, M. y Kakoma, I. 2008. Serological reactivity to Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Neorickettsia risticii, Borrelia burgdorferi and Rickettsia conorii in dogs from northwestern Spain. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 8(1): 797-803.

Anigen. (2013). Anaplasmosis canina. Bionote. México.

Arcila, D. y Patiño, L. (2015). Prevalencia de infección por hemoparásitos de caninos que fueron atendidos en una clínica veterinaria de la ciudad de Medellín, durante el período comprendido entre agosto de 2011 y julio de 2013. (Tesis de pregrado) Recuperado de [http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1735/1/Prevalencia\\_infeccion\\_hemoparasitos\\_caninos.pdf](http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1735/1/Prevalencia_infeccion_hemoparasitos_caninos.pdf)

Arraga, C. 1992. Ehrlichiosis: canina en Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Reporte de 55 casos. Revista Científica Saber-Universidad de los Andes, 2(2): 30-40.

Arraga, C.; Palmar, O. y Salas, P. 2003. Ehrlichia platys (Anaplasma platys) in dogs from Maracaibo, Venezuela: An ultrastructural study of experimental and natural infections. Veterinary Pathology, 40(1): 149-156.

Ayllón, T. 2010. Enfermedades vectoriales en gatos de la comunidad de Madrid: estudios serológicos, molecular y epidemiológico de la infección por Ehrlichia spp., Anaplasma spp., Neorickettsia spp., Leishmania spp. y Bartonella spp. Tesis doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad Complutense de Madrid, España. Disponible: <<<https://eprints.ucm.es/10168/1/T31536.pdf>>> (10/09/2019).

Álvarez Medrano, G. 2019. Hallazgos hematológicos y detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp., en perros con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo

(Lambayeque - Perú). Facultad de Medicina Veterinaria. Escuela Profesional de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

Badillo, M., *et al.* 2017. Infección por Ehrlichia canis y Anaplasma sp. en caninos atendidos en clínicas veterinarias en Barranquilla, Colombia. Rev.MVZ Córdoba 22(Supl):6023-6033, 2017. ISSN: 0122-0268

Barutzki, D.; De Nicola, A. y Zeziola, M. 2006. Seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum infection in dogs in Germany. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 119(1): 342-347.

Bauer, J. 1986. Análisis clínico: Métodos e interpretación. Novena edición. Editorial Reverté. S.A. Barcelona, España.

Beall, M.; Chandrashekar, R. y Eberts, M. 2008. Serological and molecular prevalence of Borrelia burgdorferi, Anaplasma phagocytophilum, and Ehrlichia species in dogs from Minnesota. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 8(1): 455-464.

Blanco, L. y Maya, J. 1999. Epidemiología básica y principios de investigación. Primera edición. Editorial. McGraw Hill. México.

Bouzouraa T, René-Martellet M, Chene J, Charalampos A, Lebert I, Chavelt-Monfray K, Cadoré J, Halos L, Chabanne L. 2016. Clinical and laboratory features of canine Anaplasma platys infection in 32 naturally infected dog in Mediterranean basin. Ticks Tick-borne Dis 7(6): 1256-1264.

Brito, L., Guilarte, D., Gómez, E. y Sánchez, A. 2009. Aspectos epidemiológicos, clínicos y hematológicos de la ehrlichiosis canina en el municipio Sucre, estado Sucre. Asociación Venezolana Para el Avance de la Ciencia. Mérida, Venezuela.

Camero, S. 2012. Manual de prácticas de laboratorio de biometría hemática. Centro de Bachillerato Tecnológico Industrial y de Servicios.

Campos, L. 2011. Detección molecular del agente zoonótico Anaplasma phagocytophilum en muestras de sangre de perros y garrapatas de perros de Costa Rica In: Segundo Congreso de Investigación de la Red Centroamericana de Exbecarios del DAAD para la Investigación. 30 nov-2 dic. León, Nicaragua.

Cardona, J.; Zapata, J., y Urán, J. 2019. Sistematización de la prevalencia de Anaplasma spp., en caninos y metanálisis de A. platys y A. phagocytophilum. Revista MVZ Córdoba, 24(2): 7239-7247.

Carrade, D.; Foley, J.; Borjesson, D. y Sykes, J. 2009. Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. Journal of Veterinary Internal Medicine, 23(6): 1129-1141.

Cepeda, O. y Zapata, J. (2013). Detección serológica por elisa indirecta de hemoparásitos y dirofilaria immitis en caninos en Bogotá, Colombia. (Tesis de pregrado) Recuperado de <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17535/T14.13%20C333d.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Chirek *et al.* 2018. Granulocytic Anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. *J Small Anim Pract* 59: 112-120.

Combariza, G. 2016. Práctica empresarial en la Clínica Canes y Amigos. Corporación Universitaria Lasallista. Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias. Medicina Veterinaria. Caldas-Antioquia. Colombia.

Cohn, L. A. 2013. Anaplasmosis canina. En *Terapéutica Veterinaria actual* (12a ed.). España: Elsevier Saunders.

Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and „HGE agent“ as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6): 2145-2165.

De Arcangeli. *et al.* 2018. Anaplasma phagocytophilum infection in thrombocytopenic dogs. *Vet Ital* 54: 73-78

De Farias, T.; Paiva, E.; Camboim, A.; Antas, E.; Alves, S.; Santos, P.; Paes, A. y De Melo, A. 2012. An assessment of whole blood and fractions by nested PCR as DNA source for diagnosing Canine Ehrlichiosis and Anaplasmosis. *Scientific World Journal*, 1(1): 1-6.

De La Fuente, J.; Torina, A. y Naranjo, V. 2006. Molecular characterization of Anaplasma platysstrains from dogs in Sicily, Italy. *BMC Veterinary Research*, 2(1): 24-29.

De Tommasi *et al.* 2014. Anaplasma platys in bone marrow megakaryocytes of young dogs. *J Clin Microbiol* 52(6): 2231–2234.

Dinitz, P. y Breitschwerdt, E. 2012. Ehrlichia and anaplasma infection in: Greene C (ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. Cuarta edición. Editorial Elsevier. St. Louis, USA.

Diniz, P.; Beall, M. y Omark, K. 2009. High prevalence of tick-borne pathogens in dogs from an Indian Reservation in northeastern Arizona. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(2): 12-19.

- Doumas, B.; Bayse, D. y Carter, R. 1981. A candidate reference method for determination of total protein serum. *Clinical Chemistry*, 27(1): 164-169.
- Dumler, J.; Barbet, A.; Bekker, C.; Dasch, G.; Palmer, G.; Ray, S.; C. y Rurangirwa, F. 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma,
- Eberts *et al.* 2011. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma paghocytopilum* infection in dogs. *JAAHA* 47(6): 86-94.
- Ettinger, S y Feldman, E. 2010. *Veterinary internal medicine. Seventh edition.* editorial Elsevier. United States of America.
- Florez Muñoz, A., *et al.* 2020. Estudio de los factores de riesgo asociados a Ehrlichiosis y Anaplasmosis en caninos de Barrancabermeja, Santander. Colombia
- Foley, J.; Brown, R. y Gabriel, M. 2007. Spatial analysis of the exposure of dogs in rural north-coastal California to vectorborne pathogens. *Reviewed Medical Journal in The Field of Veterinary Medicine*, 161(1): 653-657.
- Forbes, B.; Sahn, D. y Weissfeld, A. 2009. *Diagnóstico Microbiológico. Décima segunda edición.* Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Fourie, J.; Horak, I.; Crafford, D.; Erasmus, H. y Botha, O. 2015. The efficacy of generic doxycycline tablet in the treatment of canine monocytic ehrlichiosis. *The Journal of the South African Veterinary Association*, 86(1): 1193-1202.
- Gaunt *et al.* 2010. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasit Vectors* 2010; 3(1): 33.
- García, M., Zurita, A. 2018. *Transaminasas: Valoración y significación clínica.* Santa Cruz de Tenerife. España.
- Gary, A.; Webb, J. y Hegarty, B. 2006. The low seroprevalence of tick-transmitted agents of disease in dogs from southern Ontario and Quebec. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(1): 1194-1200.
- Gómez, E.; Guilarte, D.; Toledo, J.; Simoni, Z.; Díaz, A.; Henriquez, A.; Nieves, M. y Díaz, M. 2015. Hallazgo de Hepatozoon y otros hemotrópicos en caninos domésticos del municipio Sucre, estado Sucre, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 55(1): 1690-4648.

Granick *et al.* 2008. Anaplasma phagocytophilum infects cells of the megakaryocytic lineage through sialylated ligands but fails to alter platelet production. *J Med Microbiol* 57: 416–423.

Greene, C. 2012. Infectious diseases of the dog and cat. Fourth edition. Editorial Elsevier. U.S.A. Gutiérrez, C.; Pérez, I. y Agreda, I. 2016. Ehrlichiosis canina. *Revista Saber*, 28(4): 641-665.

Guerrero, C. 2016. Problemática de la ehrlichiosis canina vista desde el aspecto teórico y el aspecto clínico en una clínica veterinaria de Bogotá (central de urgencias veterinarias). Programa de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Pecuarias. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia.

Guerrero, W., y Lazo, K. 2019. Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica”. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Cuenca. Cuenca. Ecuador

Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0649-0>>

Gutiérrez, C., Pérez, L. y Agrela, I. 2016 EHRlichiosis CANINA SABER. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 28, núm. 4, pp. 641-665, 2016 Universidad de Oriente. Cumaná, edo. Sucre.

Guzmán C, J.; Paniagua M. L. (s.f) Características Hematológicas, Bioquímicas E Histopatológicas De Ehrlichiosis Canina (en línea). Consultado 01 de septiembre de 2016. Disponible en: <[http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doctesis/PANIAGUA A%20LILIANA20101105-113350.pdf](http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doctesis/PANIAGUA%20LILIANA20101105-113350.pdf)>

Gyles, C.; Prescott, J.; Songer, J. y Thoen, C. 2010. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Fourth edition. Editorial Willey Blackwell. U.S.A. Harvey, J. 2012. Ehrlichia and anaplasma infection in: Greene, C. (ed). Infectious diseases of the dog and cat. Fourth edition. Editorial Elsevier. U.S.A.

Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM. 1978. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. *J Infect Dis* 137: 182-188.

Harvey JW. 2012. Evaluation of hemostasis: coagulation and platelet disorders. In: *Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, Missouri: Elsevier. p 209-215.

Inokuma, H.; Oyamada, M. y Kelly, P. 2005. Molecular detection of a new *Anaplasma* species closely related to *Anaplasma phagocytophilum* in canine blood from South Africa. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(1): 2934-2937.

Insuasty Pérez, Sonia. 2017. Criterios diagnósticos y terapéuticos de la ehrlichiosis canina. Universidad Pedagógica Y Tecnológica de Colombia. Tunja. Colombia.

Kaplan, J. y Pesque, A. 1991. Química clínica: técnicas de laboratorio, fisiopatología, método de análisis. Primera edición. Editorial Médica Panamericana, S.A. México.

Kemperman, M.; Neitzel, D. y Jensen, K. 2008. *Anaplasma phagocytophilum* transmitted through blood transfusion Minnesota. *Journal of the American Medical Association*, 300(1): 2718-2720.

Kohn *et al.* 2008. Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *J Vet Intern Med* 22(6): 1289–1295.

Langston, C. 2011. exámenes de laboratorio de la función renal. In Elsevier Inc. Saunders

Lillini, E.; Macri, G.; Proietti, G. y Scarpulla, M. 2006. New findings on Anaplasmosis caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081(1): 360-370.

Liseth Camila Aguilar Galeano .1 1Estudiante de Medicina Veterinaria, Programa de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A Bogotá, Colombia.

Macieira *et al.* 2005. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. *Vet Clin Pathol* 34: 44-48.

Manna, L.; Alberti, A. y Pavone, L. 2004. First molecular characterization of a granulocytic *Ehrlichia* strain isolated from a dog in South Italy. *The Veterinary Journal*, 167(1): 224-227.

McCown *et al.* 2015. Monitoreo de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* y *Dirofilaria immitis* en perros de tres ciudades en Colombia. *Rev CES Med Vet Zoot* 10(2): 224-231.

Mc Gavin, M. y Zachary, F. 2006. Pathologic basis of Veterinary disease. Fourth edition. Editorial Elsevier. U.S.A.

M'ghirbi, Y.; Ghorbel, A. y Amouri, M. 2009. Clinical, serological and molecular evidence of ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Tunisia. *Journal Parasitology Research*, 104(1): 767-774.

Miller, L. y Huley, k. 2009. Vector borne diseases: infectious disease management in animal shelters. Primera edición. Editorial Wiley Blackwell. U.S.A..

Morales, G. 2014. Determinación de Ehrlichia spp. Mediante el método de frotis periférico directo usando tinción de Giemsa en perros. Tesis de Post-grado. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootécnica. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador.

Morgan, R.; Bright, R. y Swartout, M. 2004. Clínica de pequeños animales. Cuarta edición. Editorial Elsevier. Madrid, España. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2000. Boética. Principios para las investigaciones médicas en seres humanos. Publicación científica. OPS-OMS.

Naranjo, N., Zúñiga, R. 2021. Frecuencia de erliquiosis y anaplasmosis en perros con historial de garrapatas en una clínica Veterinaria de Piura, Perú. *Salud tecnol. vet.* 2021; 1: 28-35

Olivares Valle, D., Altamirano Marengo J. 2019. Prevalencia de Hemoparasitosis en Caninos (*Canis Lupus Familiaris*) en el Municipio de Managua. Nicaragua.

Ozata, F., & Ural, K. 2014. Indices de trombocitosis en perros infectados con Ehrlichia canis y Anaplasma phagocytophilum. *Revista MVZ Córdoba*, 19(3), 4277-4288.

Paulino, A. 2011. Detección serológica de anticuerpos contra Ehrlichia canis y Ehrlichia chaffeensis en humanos que realizan actividades veterinarias en Lima Metropolitana. Tesis de Pre-grado. Departamento de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Peñaloza, L. 2015. Diagnóstico de Dirofilarariosis y Anaplasmosis canina en perros de los barrios rurales del cantón Catamayo de la provincia de Loja a través del test Sanp \*4DX\* canino. Tesis de grado. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootécnica. Universidad Nacional de Loja, Ecuador. Disponible: <<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/11534>> (12/10/19).

Pérez-Écija, R., Estepa, J., Mendoza, F. (2012). Alteraciones cuantitativas de la serie blanca. Portal Veterinaria. Recuperado de <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/22274/alteraciones-cuantitativas-de-la-serie-blanca.html>

Quijada, J.; García, M.; Sánchez, G.; Bethencourt, A.; Medina, O.; Vivas, I.; Pérez, A. y García, H. 2012. Rickettsias y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos de clínicas

veterinarias de cuatro estados de Venezuela. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(8): 1-16

Ratliff, C. y Hall, F. 1973. *Laboratory manual of clinical a biochemistry*. Scott and White Memorial Hospital publicaciones office temple. Texa.

Reitman, S. y Frankel, S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*, 28(1): 56-63.

Rikihisa, Y. 2010. *Anaplasma Phagocytophilum* y *Ehrlichia Chaffensis*: manipulators s of host cells. *Nature Reviews Microbiology*, 8(5): 328-339.

Rikihisa, Y. 2011. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1): 469-489.

Rubio, A.; Salas, E. y Gómez, G. 2011. Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma spen* canes de la ciudad de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 22(3): 233-238.

Rojas Mejía Ramón. 2009. Detección de Ehrlichiosis humana, mediante técnica de PCR, en una localidad del salado alto Ejido y la Mucuy baja del estado Mérida. Universidad de los Antes. Facultad de biología.

Sainz *et al.* 2015. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors* 8:75-94

Sainz A, Amusatogui I, Tesouro MA. 1999. Ehrlichia platys infection and disease in dogs in Spain. *J Vet Diagn Invest* 11: 382-384. doi: 10.1177/ 104063879901100419

Sampson, E.; Baird, M. y Burtisi, C. 1980. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clinical Chemistry*, 26(1): 816-826.

Sánchez, G. (s/f). Laboratorio de Análisis Veterinarios Arturo Soria. Madrid. España

Santacruz-Arroyo, N. A. (2014). Diagnóstico serológico y citológico de anaplasmosis en perros de la ciudad de Morelia, Michoacán. Tesis de Grado.Facultad de MVZ, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Morelia,México.

Sokal, R y Rohlf, J. 1996. *Introducción a la bioestadística*. Primera edición. Editorial Reverte. Barcelona. Venezuela.

Solano, L.; Llull, J. y Osso, M. 2006. A serological study of exposure to arthropod borne pathogens in dogs from northeastern Spain. *Veterinary Research*, 37(1): 231-244.

- Suksawat, J.; Pitulle, C. y Arraga, A. 2001. Coinfection with three Ehrlichia species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure. *Journal Clinical Microbiology Reviews*, 39(1): 90-93.
- Suksawat, J.; Pitulle, C. y Arraga, A. 2002. Coinfection with three Ehrlichia species in dogs from Thailand and Venezuela with emphasis on consideration of 16S ribosomal DNA secondary structure. *Journal Clinical Microbiology Reviews*, 40(1): 3887-3892.
- Tateishi V., *et al* 2014. Identificación Hematológica y Molecular de Anaplasma platys en Caninos Domésticos de Lima Metropolitana con Signos Clínicos Compatibles con Anaplasmosis. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 2015; 26(1): 111-118
- Taylor, M.; Coop, R. y Wall, R. 2007. *Veterinary parasitology*. Third Edition. Editorial Wiley Blackwell, U.S.A.
- Tietz, N. 1972. Measurement of lipase activity in serum. In: *Standard methods of clinical chemistry*. Cooper, R. (ed.). Academic Press, New York.
- Troncoso, I.; Fischer, C.; Villarroel, C. y Herzberg, D. 2014. Caso clínico: Anaplasma Phagocytophilum en un paciente canino. *Revista de Hospitales Veterinarios*, 6(2): 41-47.
- Tutachá, D. (2016). Identificación de animales seropositivos a enfermedades hematozoáricas: ehrlichiosis, anaplasmosis, dirofilariasis y enfermedad de lyme en caninos callejeros de la ciudad de Guayaquil (B.S. thesis). Quito: UCE.
- Vale, O. 2007. Prevalencia de babesia canis en perros bajo atención veterinaria. Trabajo de postgrado. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia.
- Villalba Velásquez, P. 2018. Aspectos clínicos y epidemiológicos asociados a la presencia de *babesia* sp. En caninos de clínicas veterinarias de la ciudad de Cumaná, estado sucre Universidad de oriente Núcleo de Sucre Escuela de ciencias Departamento de Bioanálisis.
- Walters, M. y Gerarde, H. 1970. An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchemical Journal*, 15(2): 231-243.
- Woldehiwet, Z. 2010. The natural history of Anaplasma phagocytophilum. *Journal Veterinary Parasitology*, 167(1): 108-122.
- Yancey *et al.*, 2017. Doxycycline treatment efficacy in dogs with naturally occurring Anaplasma phagocytophilum infection. *J Small Anim Pract* 59(5): 286-293.

## APÉNDICES

### Apéndice A

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS  
CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Yo \_\_\_\_\_ portador de la C.I.

V- \_\_\_\_\_ Domiciliado en: \_\_\_\_\_ en calidad de

representante legal del canino \_\_\_\_\_ de

raza \_\_\_\_\_ sexo \_\_\_\_\_ y edad \_\_\_\_\_; Siendo

mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales y sin coacción ni violencia

alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito,

inconvenientes y riesgos relacionados con el proyecto de investigación intitulado:

Parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos en caninos con infección por

*Anaplasma platys* y *Anaplasma Phagocytophilum*. Isla de Margarita estado Nueva

Esparta, Venezuela; asesorado por el Dr. Gabriel Hernández Cisneros y el licenciado

Meldis Salazar, para optar por el título de Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad

de Oriente Núcleo de Sucre, declaro mediante la presente:

Haber sido informado (a) de una manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el mismo.

Tener un claro conocimiento del objetivo del trabajo antes señalado.

Conocer bien el protocolo experimental, en el cual se establece que la participación de

mi representado en el trabajo consiste en: donar una muestra de sangre de 10 rnl, la cual

se extraerá con ayuda del médico veterinario autorizado por la coordinación del

proyecto, por punción venosa en los miembros inferiores, mediante previa antisepsia.

Que la participación de mi representado en dicho estudio, no implica ningún riesgo e inconveniente alguno para la salud.

Que la muestra sanguínea que acepto donar, en nombre de mi representado será utilizada única y exclusivamente para medir los parámetros hematológicos y bioquímicos especificados en los objetivos de dicho proyecto.

Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.

## Apéndice B

### DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a la participación de mí representado en este estudio es totalmente voluntaria, acuerdo:

Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio de las muestras sangre que acepto donar para los fines indicados anteriormente.

Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona y la de mi representado.

Firma del voluntario: \_\_\_\_\_

Nombre y Apellido: \_\_\_\_\_

C. I.: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

## Apéndice C

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS  
ENCUESTA SOCIO-EPIDEMIOLÓGICA

Fecha     /     /     N°: \_\_\_\_\_

### DATOS PERSONALES.

Nombres: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ raza: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

SITUACIÓN SOCIO- ECONÓMICA: Marcar con una equis (X) la respuesta según corresponda

Zona o área del municipio donde vive: Centro \_\_\_ Periferia \_\_\_ Rural \_\_\_ otros \_\_\_

Datos de la vivienda:

Tipo de vivienda: Rancho: \_\_\_ Casa: \_\_\_ Quinta: \_\_\_ Otros: \_\_\_

Piso de vivienda: Cemento: \_\_\_ tierra: \_\_\_ rustico: \_\_\_ otros: \_\_\_

Techo de la vivienda: Platabanda: \_\_\_ zinc: \_\_\_ otros: \_\_\_

Paredes: \_\_\_ Bloques: \_\_\_ Ladrillos: \_\_\_ Cartón piedra: \_\_\_ Bahareque: \_\_\_ Madera: \_\_\_  
\_\_\_ otros: \_\_\_

## HÁBITOS HIGIENICOS SANITARIOS

Posee animales domésticos SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Especie y número de animales que posee en su casa como mascotas:

Perros: \_\_\_\_ Número: \_\_\_\_ Gatos: \_\_\_\_ Número: \_\_\_\_ Otros: \_\_\_\_ ¿Cuál?  
\_\_\_\_ Número: \_\_\_\_

Número de personas que mantienen contacto directo con los animales en su casa: Niños \_\_\_\_ Adultos \_\_\_\_

¿Cuando llegó la mascota a su casa el veterinario supervisó el traslado y la salud del mismo? Sí \_\_\_\_ No \_\_\_\_

¿En su casa se cumplen los hábitos de aseo periódico a los animales?

Sí \_\_\_\_ No \_\_\_\_

¿Cada que tiempo baña su mascota?

Una vez por semana \_\_ Dos veces por semana \_\_ Cada 15 días \_\_ Mensualmente \_\_  
A veces \_\_ Nunca \_\_

¿Cada que tiempo limpia y desinfecta el lugar donde permanece su mascota? Diario

\_\_ Una vez por semana \_\_ Cada 15 días \_\_ Mensualmente \_\_ A veces \_\_ Nunca  
\_\_

¿Conoce usted que son las desparasitaciones externas y las programa con su Veterinario? Sí \_\_ No \_\_

¿Conoce usted que son las desparasitaciones internas y las programa con su Veterinario?

Sí \_\_ No \_\_

¿Conoce usted que son las vacunaciones y las programa con su Veterinario?

Sí \_\_\_ No \_\_\_

¿Conoce usted cuales son las enfermedades que le puede transmitir su mascota y como evitarla? Sí \_\_\_ No \_\_\_

¿Manipulan mascotas con síntomas de enfermedad? Sí \_\_\_ No \_\_\_

¿Se lavan las manos después de acariciar a los animales? Sí \_\_\_ No \_\_\_

¿Visitan o se acercan otros animales ajenos a su casa? Sí \_\_\_ No \_\_\_

¿Con que frecuencia sacas a pasear a tu mascota?

Diario \_\_\_ Una vez por semana \_\_\_ Cada 15 días \_\_\_ cada dos semanas \_\_\_ A veces \_\_\_

Nunca \_\_\_

¿A qué lugar llevas a pasear a tu mascota?

Centro \_\_\_ Periferia \_\_\_ Rural \_\_\_ otros \_\_\_

### Apéndice D

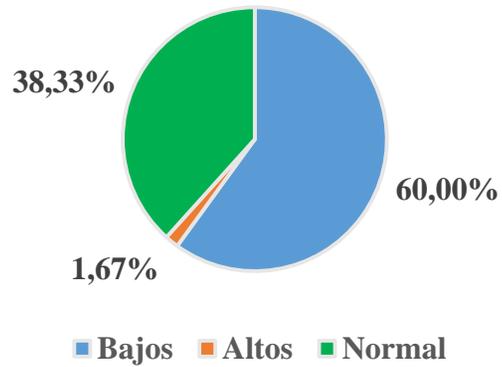


Figura 1. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de hemoglobina (g/dl) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

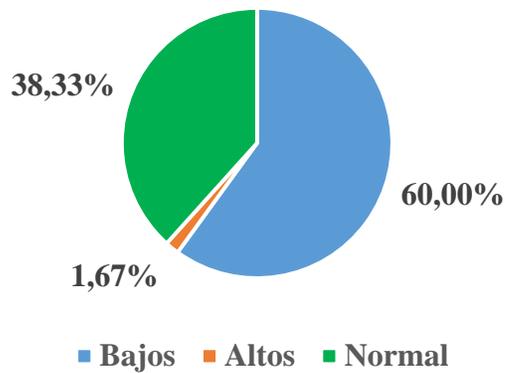


Figura 2. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de hematocrito (%) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

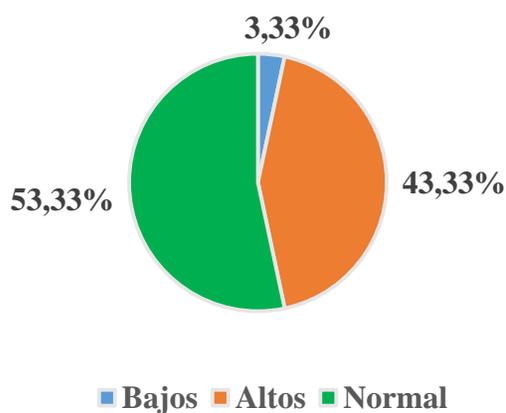


Figura 3. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de leucocitos ( $\mu$ l) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

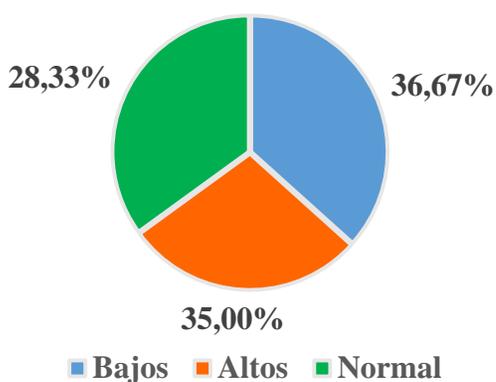


Figura 4. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de segmentados neutrófilos (%) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

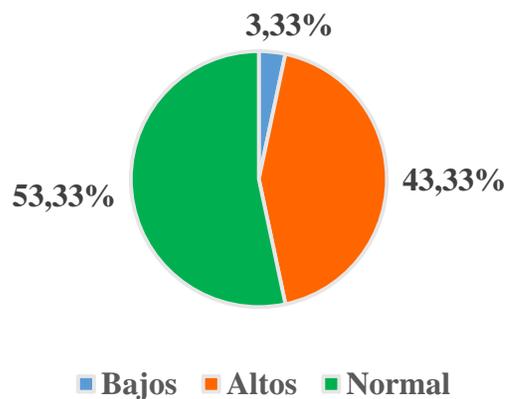


Figura 5. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de linfocitos (%) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

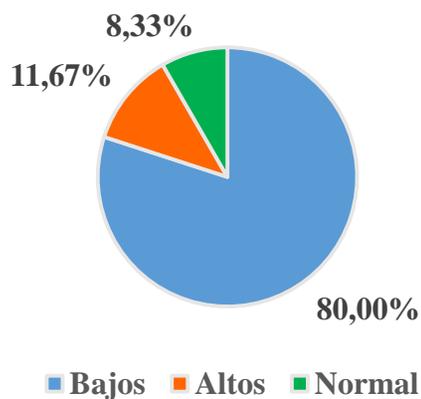


Figura 6. Valores promedio de la concentración sanguínea de segmentados eosinófilos (%) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

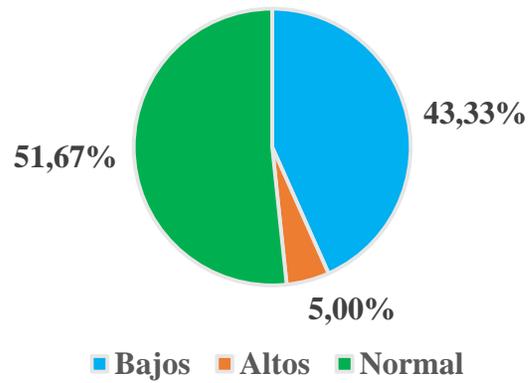


Figura 7. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de plaquetas ( $\mu$ l) en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

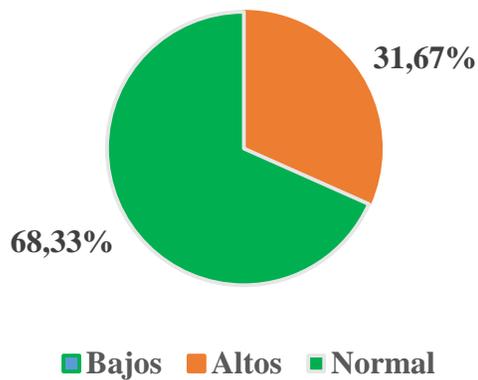


Figura 8. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de urea (mg/dl) en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

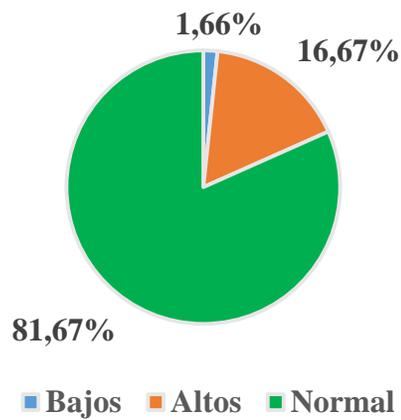


Figura 9. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de creatinina (mg/dl) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

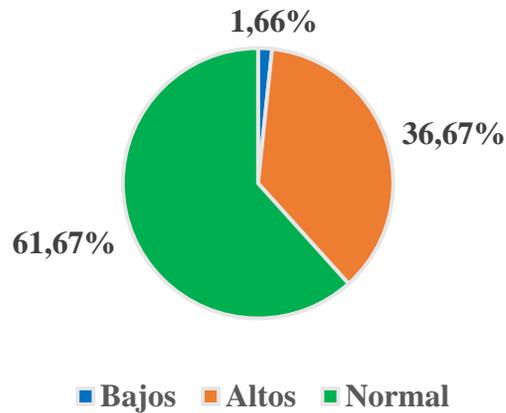


Figura 10. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de proteínas totales (g/l) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

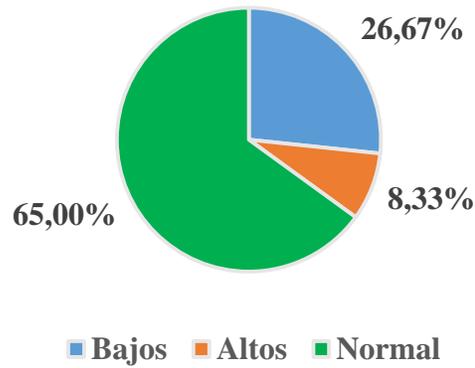


Figura 11. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de albúmina (g/l) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

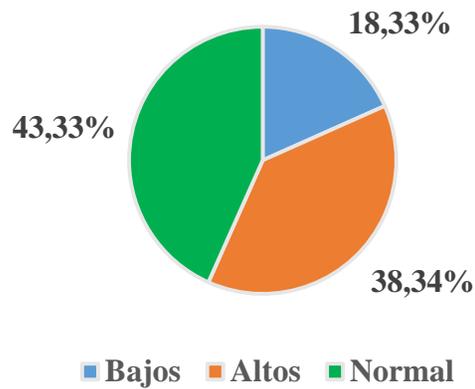


Figura 12. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de globulina (g/l) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

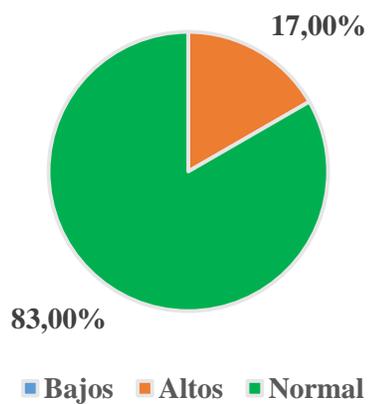


Figura 13. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de la relación transaminasa glutámico oxalacética (TGO u/l) en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

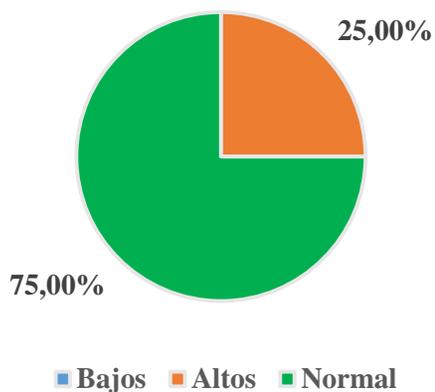


Figura 14. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de la relación transaminasa glutámico-pirúvica (TGP u/l) en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

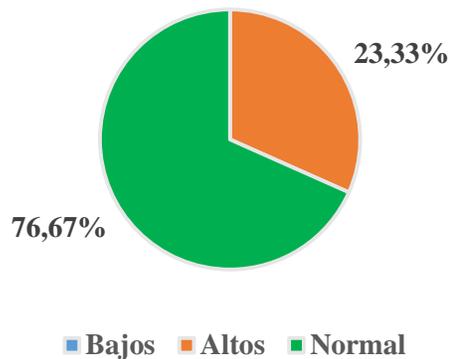


Figura 15. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de bilirrubina total (BT) en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta,

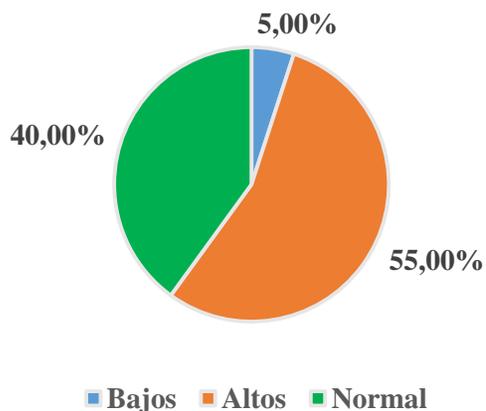


Figura 16. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de bilirrubina directa (BD) (mg/dl), en caninos con hemoparásitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

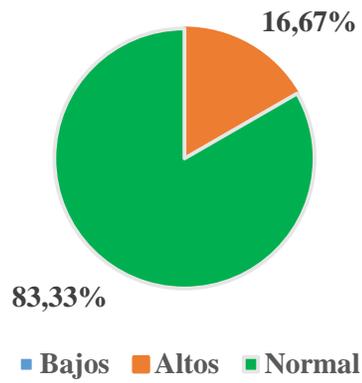


Figura 17. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de bilirrubina indirecta (BI) (mg/dl), en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

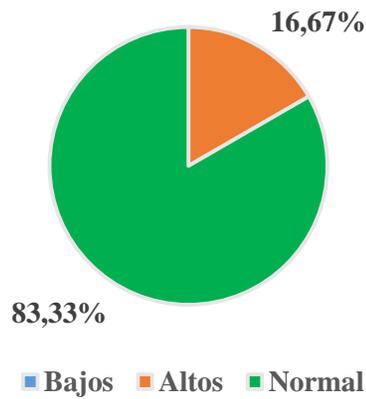


Figura 18. Valores porcentuales de la concentración sanguínea de fosfatasa Alcalina (FAL) (u/l) en caninos con hemoparasitosis del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

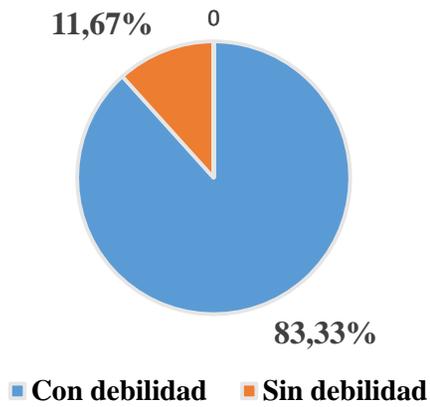


Figura 19. Asociación de la debilidad en caninos con sospecha de hemoparásitos del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta

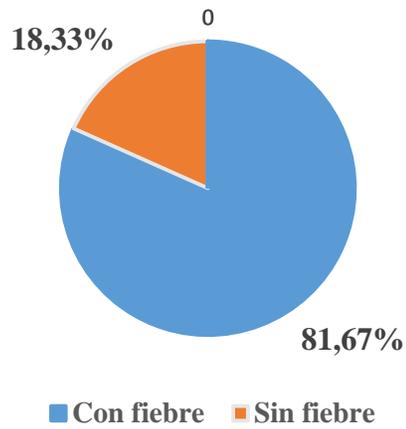


Figura 20. Asociación de la fiebre en caninos con sospecha de hemoparásitos del género *Anaplasma*, provenientes de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta.

## HOJAS DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	PARÁMETROS BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS Y CLÍNICOS, EN CANINOS CON INFECCIÓN POR <i>Anaplasma platys</i> y <i>Anaplasma phagocytophilum</i> . ISLA DE MARGARITA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA
<b>Subtítulo</b>	

#### Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Ortega Núñez, Karelys Del Valle	<b>CVLAC</b>	20.992.844
	<b>e-mail</b>	Ortegakarelys03@hotmail.com
	<b>e-mail</b>	
Espinoza Bermúdez, Anyoly Eugenia	<b>CVLAC</b>	20.563.585
	<b>e-mail</b>	Anyoesber02@gmail.com
	<b>e-mail</b>	

#### Palabras o frases claves:

Parámetros bioquímicos
Parámetros hematológicos
<i>Anaplasma platys</i>
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Sub-área
Ciencias	Bioanálisis

### Resumen (abstract):

Se evaluaron los parámetros bioquímicos, hematológicos y clínicos, en caninos con infección por *Anaplasma platys* y *Anaplasma phagocytophilum* Isla de Margarita, del estado Nueva Esparta. Se analizaron muestras de 200 perros, sin distinción de edad, raza o sexo. Para el diagnóstico se utilizó: examen directo, extendido sanguíneo coloreado con Giemsa y frotis de capa blanca teñido con colorante de Wright. Del total de muestras analizadas por técnicas parasitológicas para *Anaplasma*, 60 caninos resultaron positivos al hemoparásito para una prevalencia del 30,00 %, además se observó una tasa de infección para *Anaplasma platys* del 73,34%, *Anaplasma phagocytophilum* 18,33 %, y Anaplasma+ hemoparásitos (hem) 8,33%; representando este el primer registro realizado para el estado Nueva Esparta. A los caninos que resultaron positivos (60), así como a los caninos controles (40), se le realizó un hemograma y una química sanguínea, lo que permitió evaluar las diferencias entre los parámetros hematológicos, bioquímicos en los caninos evaluados. Estadísticamente existe diferencia significativa entre los controles y los caninos parásitados, con una menor concentración de hemoglobina (10,20 g/dl), hematocritos (31,95%), plaquetas (245.017  $\mu$ l) y niveles más elevados de urea (59,05mg/dl) en los caninos parásitados, además se presentó una alta asociación a las manifestaciones clínicas: debilidad (62,35%) y fiebre (55,06%). Se evidenció una alta incidencia de anemia (60,00%), leucocitosis (43,33%), neutropenia (36,67%), neutrofilia (35,00%); linfocitosis (43,33%); eosinopenia (80,00%), lo que coloca en grave riesgo a los caninos positivos a anaplasmosis.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
<b>González, Gabriel</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>9.421.969</b>
	e-mail	<b>presidenciahc@hotmail.com</b>
<b>Guilarte, Del Valle</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>9.306.352</b>
	e-mail	<b>delguifa67@hotmail.com</b>
<b>Nieves, María</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>16.732.077</b>
	e-mail	<b>maria_jnieves@hotmail.com</b>

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
<b>2022</b>	<b>05</b>	<b>13</b>

Lenguaje: SP

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis de Grado-OrtegaK & EspinozaA.docx	Word 2016

### Alcance:

Espacial: \_\_\_\_\_ Nacional \_\_\_\_\_ (Opcional)

Temporal: \_\_\_\_\_ Temporal \_\_\_\_\_ (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

\_\_\_\_\_ Licenciado(a) en Bioanálisis \_\_\_\_\_

Nivel asociado con el Trabajo: Licenciado(a) \_\_\_\_\_

Área de Estudio: Bioanálisis \_\_\_\_\_

### Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

\_\_\_\_\_ UNIVERSIDAD DE ORIENTE – VENEZUELA \_\_\_\_\_

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Letido el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

**JUAN A. BOLANOS CUNPELE**  
Secretario



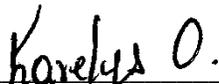
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6**

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.

  
\_\_\_\_\_  
Karelys Ortega  
Autor

  
\_\_\_\_\_  
Anydy Espinoza  
Autor

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Gabriel González  
Asesor