



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL**

## **Trabajo de Graduación**

Ehrlichiosis granulocítica canina y Anaplasmosis diagnosticados en el Laboratorio clínico División Veterinaria, Diciembre 2019 - Diciembre 2020

### **Autoras:**

Br. Alexa Gabriela Gadea Hernández

Br. Mercedes Vanessa Moreno Briones

### **Asesor:**

Dr. Omar Navarro Reyes

Managua, Nicaragua

Abril, 2021



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL**

## **Trabajo de Graduación**

Ehrlichiosis granulocítica canina y Anaplasmosis diagnosticados en el Laboratorio clínico División Veterinaria, Diciembre 2019 - Diciembre 2020

### **Autoras:**

Br. Alexa Gabriela Gadea Hernández

Br. Mercedes Vanessa Moreno Briones

### **Asesor:**

Dr. Omar Navarro Reyes

Managua, Nicaragua

Abril, 2021

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la decanatura en la Facultad de ciencia animal de la Universidad Nacional Agraria como requisito parcial para optar al título de: Médico veterinario con grado de Licenciatura.

### Miembros del Tribunal Examinador



Dr. José Collado Flores  
Presidente

Dra. Martha Rayo Rodríguez  
Secretaria

**Lugar y fecha:** Laboratorio de microbiología, 07 de abril de 2021

*la Centenaria*  
**del agro**

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>SECCIÓN</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>DEDICATORIA</b>	i
<b>AGRADECIMIENTO</b>	ii
<b>INDICE DE CUADRO</b>	iii
<b>INDICE DE FIGURA</b>	iv
<b>INDICE DE ANEXO</b>	v
<b>RESUMEN</b>	vi
<b>ABSTRACT</b>	vii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. OBJETIVOS</b>	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
<b>III. MARCO DE REFERENCIA</b>	4
3.1. Vectores	4
3.1.1. Zoonosis por vectores compartidos	4
3.1.2 Clasificación hemobacterias	6
3.2. Alteraciones hematológicas	9
3.3. Clasificación taxonómica de la Ehrlichia y Anaplasma	9
<b>IV. METODOLOGÍA</b>	11
4.1. Ubicación del área de estudio	11
4.2 Descripción del sitio	11
4.2.1. Laboratorio veterinario	11
4.3 Diseño Experimental	12
4.4 Estructura	12
4.4.1 Recopilación de datos	12
4.4.2 Análisis estadístico	13
4.5 Variables	13
4.6 Recolección de datos	13
4.6.1 Fase de laboratorio	13
4.6.2. Análisis de datos	20

<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	21
5.1. Resultados	21
5.2. Factores intrínsecos que predisponen la presencia de hemoparásitos	22
5.2.1. Edad	22
5.2.2. Sexo	24
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	26
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	27
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b>	28
<b>IX. ANEXOS</b>	31

---

## **DEDICATORIA**

A Dios por darnos las fuerzas necesarias para seguir adelante y no desfallecer en el largo camino de la vida, el que en todo momento ha estado con nosotras y nos ha dado la oportunidad de culminar con éxito nuestra carrera, de lo cual estamos orgullosas y seguras de que será de provecho y prosperidad en nuestro porvenir.

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes logramos llegar hasta aquí y convertirnos en profesionales de éxito, por su comprensión y apoyo en cada paso que dimos desde pequeñas.

A esas personas que nos motivan en cada uno de nuestros días a seguir adelante, a levantarnos con el mejor de los ánimos, seres que amamos con todo el corazón.

A los que están en la presencia del señor, que fueron y serán siempre importantes en nuestra vida y que llevaremos en nuestros corazón hasta el final de los tiempos.

A todas las personas que nos han apoyado para que nuestro trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Alexa Gabriela Gadea Hernández  
Mercedes Vanessa Moreno Briones

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestro padre celestial por permitirnos escalar un peldaño más en nuestras vidas y seguir contando con su gracia, amor y misericordia en cada paso que damos el cual nos acerca día a día hacia nuestras Metas.

A nuestros padres Alexis y María; Roberto y Mercedes, por guiarnos e inculcarnos valores como el coraje y perseverancia, los cuales no nos permitieron dejar de luchar por nuestros sueños a pesar de los obstáculos que la vida nos pone. A aquellos familiares que hoy no siguen con nosotros, que aportaron mucho en nuestra vida y nuestro crecimiento personal y profesional.

A nuestro asesor O. Navarro por apoyarnos y formar parte en la realización de este trabajo.

Alexa Gabriela Gadea Hernández

Mercedes Vanessa Moreno Briones

## INDICE DE CUADRO

---

<b>CUADRO</b>	<b>PÁGINA</b>
1. Ehrlichia Spp y Anaplasma Spp, más significativas en perros y gatos	7
2. Pruebas Diagnósticas	8

---



## INDICE DE FIGURA

<b>FIGURA</b>	<b>PÁGINA</b>
1. Agente <i>Rickettsiales</i> causantes de <i>Erlichiosis</i> y Anaplasmosis	9
2. Ubicación topográfica del laboratorio DIVET	11
3. Defectos en la Extensión Sanguínea	15
4. Porcentaje de pacientes positivos a <i>Eh. ewingii</i> y <i>A. phagocytophilum</i>	21
5. Porcentaje de pacientes positivos a <i>Eh. ewingii</i> según su edad	22
6. Porcentaje de pacientes positivo <i>A. phagocytophilum</i> según su edad	23
7. Porcentaje de pacientes positivos a <i>Eh. ewingii</i> según su sexo	25
8. Porcentaje de pacientes positivo <i>A. phagocytophilum</i> según su sexo	25

## INDICE DE ANEXO

---

<b>ANEXO</b>	<b>PÁGINA</b>
1. Realización de frotis sanguíneo	32
2. Técnicas tintoriales	33
3. Observación al microscopio	34
4. Soluciones	35

---

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio división veterinaria en la ciudad de Managua, con el objetivo de comparar la prevalencia de estructuras microscópicas asociadas a hemobacterias. Se realizó un estudio descriptivo - retrospectivo en el periodo de diciembre 2019 - diciembre 2020. La cantidad de pacientes caninos en estudio fue de 163 de distintas edades, entre hembras y machos. Se obtuvo de los 163, 145 individuos con *Ehrlichia ewingii* correspondiente al 88.96% y el 11.04% (18 individuos) a pacientes positivos a *Anaplasma phagocytophilum*. De los positivos a *Eh. ewingii*, el 48% corresponde a adultos, 31% cachorros, 21% geriátricos, así mismo 61% machos y 39% hembras; en cambio los de *A. phagocytophilum* 34% adultos, 33% cachorros y 33% geriátricos, en cuanto a sexo 55% hembras y 45% machos. Las tinciones utilizadas para diagnóstico de hemobacterias fueron Diff-Quick y Wright. Se recomienda a los dueños de mascotas realizar exámenes periódicos y llevar un control de vectores tanto en casa como en el animal para así evitar enfermedades hemoparasitarias.

**Palabras claves:** *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*

## ABSTRACT

The present research work was carried out in the veterinary division laboratory in the city of Managua, with the objective of comparing the prevalence of microscopic structures associated with hemobacteria. A descriptive - retrospective study was carried out from December 2019 - December 2020. The number of canine patients under study was 163 of different ages, between females and males. Of the 163, 145 individuals were found with *Ehrlichia ewingii* corresponding to 88.96% and 11.04% (18 individuals) to patients positive for *Anaplasma phagocytophilum*. Of those positive for *Eh. ewingii*, 48% corresponded to adults, 31% puppies, 21% geriatric, as well as 61% males and 39% females; on the other hand, those positive for *A. phagocytophilum* corresponded to 34% adults, 33% puppies and 33% geriatric, in terms of sex 55% females and 45% males. The stains used for the diagnosis of hemobacteria were Diff-Quick and Wright. It is recommended that pet owners perform periodic examinations and carry out vector control both at home and in the animal in order to avoid hemoparasitic diseases.

**Key words:** *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*

## I. INTRODUCCIÓN

Según Domínguez (2001) los hemoparásitos son individuos microscópicos que habitan y se multiplican a nivel de vasos sanguíneos, por fuera o dentro de glóbulos rojos, blancos o plaquetas. Estos individuos se encuentran distribuidos a nivel mundial, al igual que el vector (garrapata) causando efectos adversos en la salud de los animales, que se caracterizan por decadencia y cuadros hemáticos. (p.5)

La ehrlichiosis canina es una afección producida por un microorganismo del orden Rickettsiales, familia Anaplasmataceae. Es una enfermedad infecciosa que surge y se transmite por garrapatas, los agentes etiológicos son bacterias gram negativas intracelulares obligatorias, redondeadas y pleomórficas (en cultivos celulares). Estas bacterias se sitúan en vacuolas rodeadas de membranas (mórulas) en el citoplasma de células hematopoyéticas y dependiendo de la especie, tienen orientación por linfocitos, monocitos y granulocitos. (Gutiérrez et al., 2016)

La anaplasmosis canina se designó como una enfermedad de infección bacteriana que se transmite por una garrapata dura (Ixodidae), que afecta al ser humano y a los animales. Son de distribución universal. Perteneciente al orden *Rickettsiales*, familia *Anaplasmataceae*, género *Anaplasma* y se distingue por ser gram negativa, pleomórfica y de crecimiento intracelular obligado. Una particularidad que la diferencia de las rickettsias es que se replican en unas vacuolas derivadas de la membrana citoplasmática de las células que infectan, principalmente glóbulos blancos y plaquetas. (Domínguez 2011, p.35)

El grupo de las rickettsia debe su nombre al investigador norteamericano Howard Ricketts (1871-1910), quien fue el primero en demostrar su existencia, al observar por primera vez, en 1909, el microorganismo que produce la fiebre de las Montañas Rocosas, al cual se le denomina hoy *Rickettsia rickettsii*. (García 2004, p.73)

La presente investigación se realizara en el laboratorio División Veterinaria, en la ciudad de Managua. La importancia de está radica en presentar el reporte inicial a nivel nacional de hematógenos que afectan células granulocíticas a través de frotis sanguíneo para posterior iniciar un estudio diferencial con otros agentes *Rickettsiales* además de la importancia que conlleva a nivel de salud pública puesto que estos agentes *Rickettsiales* (*Eh. ewingii* y *A. phagocytophilum*) son de trascendencia zoonótica.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Evaluar la prevalencia de estructuras microscópicas asociadas a hemobacterias en el periodo de diciembre 2019 - diciembre 2020 remitidos al laboratorio División Veterinaria.

### 2.2. Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de pacientes infectados por *Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum* analizados en el laboratorio División veterinaria.
- Determinar la presencia según sexo y edad de muestras positivas a *Ehrlichia ewingii* (*Eh. ewingii*) y *Anaplasma phagocytophilum* analizadas en el laboratorio.

### **III. MARCO DE REFERENCIA**

#### **3.1. Vectores**

La OMS (2020) refiere que los vectores:

Son organismos vivos que pueden transmitir enfermedades infecciosas entre personas, o de animales a personas. Muchos de esos vectores son insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos junto con la sangre de un portador infectado (persona o animal), y posteriormente los inoculan a un nuevo portador al ingerir su sangre.

Las enfermedades transmitidas por vectores son causadas por parásitos, virus y bacterias transmitidos por mosquitos, flebótomos, chinches triatomíneas, simúlidos, garrapatas, moscas tsetsé, ácaros, caracoles y piojos. En todo el mundo se registran cada año más de 700 000 defunciones como consecuencia de enfermedades transmitidas por vectores. En su conjunto, las enfermedades transmitidas por vectores representan aproximadamente un 17% de las enfermedades infecciosas. La mayor carga de estas enfermedades, afectan de forma desproporcionada a las poblaciones más pobres, correspondientes a las zonas tropicales y subtropicales.

##### **3.1.1. Zoonosis por vectores compartidos**

La OMS señala que las enfermedades transmitidas por un vector (ETV), que se encuentran en el grupo de las zoonosis o enfermedades zoonóticas, son aquellas que se originan por la infección con agentes patógenos cuyo mecanismo principal de transmisión es la mordedura (o picadura) de artrópodos como mosquitos, flebótomos, triatomíneos, simúlidos (conocidos como moscas negras), garrapatas, pulgas, ácaros y piojos (Torres et al., (s.f).

“La palabra hematozoario está formada con raíces griegas y significa parásitos que viven en la sangre del animal” (Anders, 2017 citado en Mejía y Fargas 2017, p.1).



En Nicaragua apenas se está empleando el termino hematozoarios, que es relativo del termino Hemoparasito. El término” Hematozoario “se designa comúnmente a parásitos de la sangre en animales y Hemoparásitos se designa comúnmente en humanos (Alonso, 2017 citado en Mejía y Fargas, 2017, p. 1).

“Los perros y los humanos se infectan con *Ehrlichia canis*, *E. ewingii* y *E. chaffeensis*” (Buller y cols., 1999 citado en Nelson y Couto, 2010, p. 1328). Aunque las personas no pueden adquirir la ehrlichiosis por la manipulación de un perro infectado, los perros pueden ser reservorios de esos agentes y pueden desempeñar un papel en la enfermedad humana median-te el transporte de los vectores al medio ambiente humano. Las garrapatas deberían retirarse y manejarse con cuidado. (Nelson y Couto 2010, p.1328-1329).

“*A. phagocytophilum* es el agente responsable de la anaplasmosis granulocítica humana (HGA) teniendo un gran impacto en la salud pública” (Dumler et al., 2001, 2005, citado en Alvarez, 2019, p.37).

“Fueron descritas por primera vez en humanos en los años 90 hasta la actualidad con una incidencia de casos en aumento” (CDC, 2019 citado en Alvarez 2019, p. 37).

La distribución geográfica de la enfermedad tanto en seres humanos como en animales domésticos se encuentra ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, donde los vectores *Ixodes* spp. encuentran las condiciones climáticas que garantizan su evolución durante todas las épocas del año (Restrepo, 2017, p.11).

### 3.1.2 Clasificación hemobacterias

Hemobacterias

Orden: *Rickettsiales*

Familia: *Rickettsiaceae*

Género: *Rickettsia Orientia*

Orden: Rickettsiales

Familia: *Anaplasmataceae o Ehrlichiceae*

Géneros: *Ehrlichia*

*Anaplasma*

*Neorickettsia* y *Wolbachia*

Fuente: Lorente (2005)

Cuadro 1. Ehrlichia Spp y Anaplasma Spp, más significativas en perros y gatos

<b>Género y especies</b>	<b>Mascota hospedador</b>	<b>Tropismo celular</b>	<b>Vector principal</b>	<b>Síndrome clínico principal</b>
<i>Ehrlichia canis</i>	Perro y gato	Monocitotrópico	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fase aguda: Fiebre, anorexia, pérdida de peso, disnea, linfadenopatía</li> <li>• Fase subclínica: Sin alteraciones clínicas.</li> <li>• Fase crónica: Depresión, membranas mucosas pálidas, dolor abdominal, epistaxis, hemorragia retiniana, esplenomegalia, hepatomegalia, arritmia, poliuria y polidipsia</li> </ul>
<i>Ehrlichia ewingii</i>	Perro	Granulocitotrópico	<i>Amblyomma americanum</i>	Trombocitopenia leve o moderada, poliartritis, fiebre, meningitis, debilidad y anemia
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Perro	Monocitotrópico	<i>Amblyomma americanum</i>	Subclínica; No está claro en las infecciones naturales.
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Perro y gato	Granulocitotrópico	<i>Ixodes spp</i>	Trombocitopenia, meningitis, fiebre, poliartritis, letargo, inapetencia.
<i>Anaplasma platys</i>	Perro	Trombocitotrópico	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fiebre, poliartritis

Fuente: Nelson y Couto (2010)

Cuadro 2. Pruebas Diagnósticas

Géneros y especies	Pruebas diagnósticas
<i>Ehrlichia canis</i>	PCR o qPCR ELISA
<i>Ehrlichia ewingii</i>	Inmunofluorescencia indirecta (IFI) Frotis de capa blanca (FBC) PCR o Qpcr ELISA Inmunofluorescencia indirecta (IFI)
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	PCR ELISA Inmunofluorescencia (IF)
<i>Anaplasma platys</i>	PCR Inmunofluorescencia (IF)

Fuente: Navarro (2018)

### 3.2. Alteraciones hematológicas

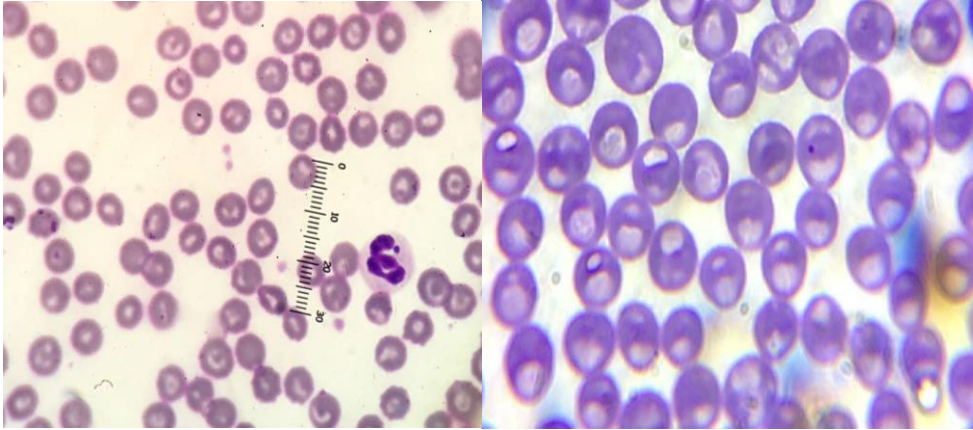


Figura 1. Agente *Rickettsiales* causantes de Ehrlichiosis y Anaplasmosis  
Fuente: Navarro (2018)

Los agentes rickettsiales invaden los granulocitos formando colonias de microorganismos dentro de las vacuolas llamadas mórulas. Hallamos alteraciones hematológicas como anemia, neutropenia, trombocitopenia y leucopenia, durante la fase crónica hallazgos de pancitopenia tanto en Ehrlichiosis como en Anaplasmosis (Alvarez 2019, p. 2; Lorente 2005, p. 21 - 23).

### 3.3. Clasificación taxonómica de la Ehrlichia y Anaplasma

“El género *Ehrlichia* se designó como tal en 1945 en honor a Paul Ehrlich” (Moshkovski, 1945, Silverstein, 1998 citado en Lorente, 2005, p. 13). “*Ehrlichia canis* fue descrita en 1935 por Donatien y Lestoquard, aunque fue denominada *Rickettsia canis*” (Lorente 2005, p.13).

“Los microorganismos del orden *Rickettsiales* comprenden las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae*. Fueron clasificados en el año 2001 tras realizar los análisis filogenéticos de las secuencias genéticas del ARNr 16S y el groESL” (Dumler y cols., 2001 citado en Nelson y Couto 2010 p. 1322).

“Basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, las especies anteriormente incluidas en los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Cowdria* y *Neorickettsia* se reorganizarían en cuatro grupos genéticos” (Dumler y Cols., 2001, como se citó en Lorente 2005, p.14 - 15) :

- Grupo 1: La especie tipo de *Anaplasma* es *A. marginale*, además de las especies hasta entonces conocidas como son *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* y *Anaplasma caudatum*; se incluyen las siguientes *Ehrlichia phagocytophila* (actualmente *Anaplasma phagocytophilum*), *Ehrlichia bovis* (ahora *Anaplasma bovis*) y *Ehrlichia platys* (hoy conocida *Anaplasma platys*).
- Grupo 2: El género *Ehrlichia* se extiende y se agrega *Cowdria ruminantium* (hoy *Ehrlichia ruminantium*). La especie tipo es *E. canis*; otras especies de este género son *E. chaffeensis*, *E. Ewingii* y *E. Muris*.
- Grupo 3: El género *Neorickettsia*, cuya especie tipo es *N. helminthoeca*, queda con la inclusión de las especies *Ehrlichia risticii* y *Ehrlichia sennetsu* (denominadas *N. risticii* y *N. sennetsu* respectivamente).

Según Nelson y Couto (2010 p.1322) “Los microorganismos pertenecientes a los géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* y *Neorickettsia* se clasifican genéticamente y según su tropismo celular (monocitotrópico, granulocitotrópico o trombocitotrópico)”.

“El género *Anaplasma*, según la última clasificación del Bergey’s manual, incluye las siguientes especies: *A. marginale*, *A. centrale*, *A. ovis*, *A. bovis*, *A. platys* y *A. phagocytophilum*, siendo las dos últimas especies las únicas de relevancia en medicina canina” (Garrity et al., 2001, citado en Lorente, 2005 p.21).

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1. Ubicación del área de estudio

Los pacientes remitidos de clínicas para realización de examen al laboratorio división veterinaria fueron seleccionados como parte del estudio, durante una evaluación enfocada en la población de canes afectados por ehrlichiosis y anaplasmosis. El estudio se realizó en una única fase, la cual se efectuó en el Laboratorio Clínico “División Veterinaria y consistió en el monitoreo de los exámenes positivos a ehrlichiosis y anaplasmosis.

Se evaluó en los meses de diciembre 2019 a diciembre del 2020.

### 4.2 Descripción del sitio

#### 4.2.1. Laboratorio veterinario

El Laboratorio Clínico DIVET, está situado en el Reparto Las Palmas, de los semáforos del Supermercado Walmart 2 cuadras al norte 1 1/2 cuadras al este, casa 1117, Distrito II Departamento de Managua. Ubicación topográfica  $12^{\circ}08'39.0''N$   $86^{\circ}17'42.0''W$  (Google, 2019). Sus puntos limítrofes son, al norte con el Barrio Monseñor Lezcano, al sur con el Barrio Altagracia norte, al este con el Reparto “El Carmen” y al oeste con el Barrio Batahola Norte.



Figura 2. Ubicación topográfica del laboratorio DIVET. Fuente: Google, 2019

### **4.3 Diseño Experimental**

Con los estudios descriptivos se busca especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, únicamente pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan éstas. (Hernández, 2014, p.92)

Autores como Müggenburg y Pérez (2017) refieren que los estudios retrospectivos o retrolectivos “son aquellos en los cuales se indaga sobre hechos ocurridos en el pasado” (p. 45)

Se realizará un estudio experimental descriptivo y retrospectivo en base a pacientes con diagnóstico de *Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum* en el laboratorio división veterinaria en el período de diciembre 2019 – diciembre 2020, se analizaron 163 muestras positivas a hemoparásitos.

### **4.4 Estructura**

#### **4.4.1 Recopilación de datos**

Los datos fueron recolectados de los expedientes de pacientes remitidos al laboratorio división veterinaria con diagnóstico presuntivo a hemobacterias en granulocitos (*Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum*) en el período de diciembre 2019 – diciembre 2020 y archivados en base de datos (Excel).

Para la selección de pacientes en cuanto a los expedientes tenemos:

- Criterios de inclusión : Hemogramas en pacientes caninos
- Criterios de exclusión: Exámenes de EGO, EGH, citología cutánea  
Exámenes realizados a pacientes de especies felinas, equinas, bovinas, caprinas, ovinas, exóticas.

Todos los datos que concordaron con los criterios de inclusión fueron anexados a nuestra base de datos realizado en software excel 2013.

El total de expedientes fueron 163.



#### **4.4.2 Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los caninos remitido al laboratorio por diagnóstico presuntivo se realizó en el programa de excel.

#### **4.5 Variables**

Pacientes positivos a hemobacterias en granulocitos.

Caninos positivos a hemobacterias según sexo y edad.

#### **4.6 Recolección de datos**

##### **4.6.1 Fase de laboratorio**

Cada una de las muestras se sometió a dos técnicas de tinción (Wright y Diff-Quick) para el diagnóstico de hemobacterias. Para poder realizar las pruebas diagnósticas primero se debe realizar el frotis sanguíneo.

El Frotis Sanguíneo posibilita el análisis de elementos formes de la sangre, ya sea por alteraciones estructurales en eritrocitos, leucocitos y/o plaquetas, inserciones intra o extracelular de parásitos o bacterias sanguíneas; así como también la estimación de recuentos indirecto de las plaquetas y fórmula leucocitaria (Gallo 2014, p. 42).

La sangre debe ser fresca, recién obtenida y en lo posible evitarse realizar frotis de sangre con anticoagulante; pues la más fina morfología de las células resalta en sangre sin anticoagulante, mientras que la mayoría de anticoagulantes tienden a distorsionar las células. En caso que no pueda evitarse usar sangre con anticoagulante, debe tenerse en consideración las características de los diferentes anticoagulantes. (Gallo 2014, p. 42).

## **Preparación del Frotis sanguíneo**

Según Cuadra (2020) describe:

- Una vez homogenizada la muestra, se tomó sangre con un tubo capilar o un aplicador de alrededor de 2 – 3 mm de diámetro.
- Se depositó una gota pequeña sobre un extremo del portaobjetos para frotis, el cual debe descansar en una superficie plana.
- Se apoyó el extremo del portaobjeto extensor con firmeza con la mano dominante a un ángulo de 30 – 45° sobre la superficie del portaobjetos para frotis, y por delante de la gota de sangre.
- Se desplaza el porta extensor hacía atrás hasta alcanzar la gota de sangre, sin separarlo de la superficie del portaobjetos para frotis.
- Una vez que el portaobjetos extensor hizo contacto con la sangre, y esta ha corrido por capilaridad en el borde inferior del portaobjetos, luego este se inclinó, de modo que ambos formen un ángulo de 30-45 grados y se procedió a la extensión
- El frotis se realizó con un movimiento rápido, continuo y uniforme, se extendió el portaobjetos extensor hacia delante, cubriendo 2/3 del portaobjetos para frotis.
- Se secó rápidamente moviéndolo en el aire; pero nunca aplico calor ni se sopló, ya que la lentitud del secado producirá cambios morfológicos en los eritrocitos; luego se rotulo con el nombre del paciente.

## Principales defectos de una extensión sanguínea

Según Messeguer *et al.* (1992) como lo cito Gallo (2004, p.44) los principales defectos pueden ser:

- Extensión gruesa se obtiene por exceso de sangre
- Extensión demasiado delgada y fina sucede porque faltó sangre o la extensión se hizo muy lentamente.
- Variaciones en bandas gruesas y finas debido a una extensión se hizo con titubeo.
- Presencia de líneas a lo largo de la extensión (en especial en la cola) el borde extensor del portaobjetos era irregular, la sangre se dejó secar en el borde extensor o había partículas de polvo sobre el portaobjetos.
- Zonas de la extensión sin sangre quiere decir que el portaobjetos está sucio o hay presencia de grasa.
- Extensión demasiado estrecha y gruesa acontece antes de que la sangre se hubiera extendido en el borde del extensor, o accidentalmente uno de los bordes del extensor se levantó.



Figura 3. Defectos en la Extensión Sanguínea.  
Fuente: Gallo (2014)

### ***Morfología celular del neutrófilo***

Pérez et al., 2012, menciona lo siguiente sobre los neutrófilos:

Se caracterizan por un núcleo separado en numerosos lóbulos, habitualmente entre 3 y 5. La cromatina nuclear aparece densamente compactada (basófila) con zonas puntuales menos condensadas. El citoplasma es claro, pálido y a veces se puede observar una vacuolización finamente granular que suele ser incolora y puede tornarse ligeramente acidófila (no confundir con los eosinófilos que presentan unos gránulos intensamente rosáceos). El tamaño normal de los neutrófilos en pequeños animales es de 12 micras (recordemos que para discernir los tamaños de los leucocitos se usa el hematíe como referencia)

Según Pérez et al., (2012) los neutrófilos bandados o cayados:

Son formas inmaduras de los polimorfos nucleares y, en condiciones fisiológicas, son escasos en sangre periférica de pequeños animales. Se caracterizan por un núcleo que, en vez de aparecer multilobulado, muestra una forma característica de "U" o "C". Todas las formas inmaduras de los neutrófilos (cayados, mielocitos, metamielocitos, etc.) presentan los gránulos secundarios ya descritos, si bien en estas células son muy difíciles de demostrar.

### ***Morfología de los linfocitos***

Pérez et al., (2012), afirman que los linfocitos "Son de pequeño tamaño escasamente mayores a un eritrocito y con un núcleo redondeado densamente teñido donde predomina la cromatina compacta. El citoplasma es escaso y a veces incluso imperceptible".

### ***Alteraciones morfológicas***

Según Pérez et al., (2012), refiere que el neutrófilo tóxico suele ser el cambio más frecuente en leucocitos y aparecen por efecto de una inflamación o infección sistémica (típicamente por bacterias Gram (-) que afecta a la granulopoyesis medular. Según la gravedad de la alteración podemos distinguir entre: cuerpos de Döhle, basofilia generalizada, granulación tóxica, neutrófilos gigantes y células con núcleo en anillo.

- Cuerpos de Döhle

Son la forma más leve de cambio tóxico y aparecen como parches grises irregulares en el citoplasma debido a alteraciones en el retículo endoplásmico. En felinos se pueden encontrar frecuentemente en animales normales pero, en caninos, son específicos de inflamación sistemática con acción sobre la granulopoyesis. Se pueden encontrar tanto en neutrófilos maduros como en bandados.

La forma irregular y el típico color grisáceo ayuda a diferenciarlos de los gránulos del neutrófilo.

- Basofilia generalizada

Se visualiza como una coloración azulada difusa homogénea. En daños más graves aparece una vacuolización espumosa del citoplasma por daño en los lisosomas, dándole una aparición burbujeante.

- Granulación tóxica

Se caracteriza porque la célula presenta pequeños gránulos citoplasmáticos de color rojizo.

- Neutrófilos gigantes

Estas células son similares en apariencia a los neutrófilos normales pero tienen un diámetro de dos veces mayor. Son más frecuentes en gatos e indican igualmente un daño tóxico.

- Células con núcleo en anillo

Los neutrófilos con núcleo en anillo son característicos de procesos sépticos e indican un daño tóxico máximo.

## Neutrófilo hipersegmentado

Son células envejecidas con cinco o más lóbulos, que pueden encontrarse en animales con hiperadrenocorticismo o cortico terapia crónica, así como en procesos que cursan con neutrofilia prolongada (piometra). Este cambio también se denomina desviación a la derecha.

## Corpúsculos de Barr

También llamado cromatina sexual, el corpúsculo de barr se encuentra en las hembras de los mamíferos.

Constituye la cromatina condensada del cromosoma X inactivo. Como sabemos las hembras mamíferas poseen dos cromosomas X (uno que vino de la madre y otro que vino del padre).

Uno de ellos siempre es inactivado, al azar, por las células, para que no se exceda la carga genética (compensación de dosis).

El corpúsculo de Barr puede presentarse de diferentes formas en las células. En las células poli nucleadas circulantes, como los neutrófilos, puede presentarse como una pequeña extensión del núcleo en forma de raqueta.

Los cuerpos de Howell-jolly son:

Remanentes nucleares de forma redonda, que se tiñen de color purpura o morado intenso, de tamaño pequeño, de localización excéntrica; comúnmente los eritrocitos de Howell-jolly son retenidos por el bazo pero en caso de contracción esplénica (por estrés) pueden salir a la circulación. Es como observarlos en frotis de sangre periférica de gatos sanos; sin embargo, con frecuencia se asocian anemia regenerativa, cuando acompañan a la policromasia y la anisocitosis (Nuñez y Bouda, 2007, p. 36).

## ***Tinción Wright***

Los pasos para realizar la tinción según Bush (1982) son:

- Colocar el portaobjeto sobre el soporte tintorial, asegurando de que la tinción se halle en la cara superior.
- Cubrir la extensión completamente, es decir inundando el portaobjeto, con la coloración utilizando una cuenta gotas se deja reposar y de esta forma se fija la extensión.
- Añadir al portaobjeto agua destilada aproximadamente dos veces la cantidad de colorante. Mezclar el colorante y el agua destilada haciendo oscilar suavemente el soporte de tinción. Reposar durante 5 minutos.
- Se arrastra la solución del portaobjeto lavando el portaobjetos mientras está en posición horizontal, ya que en otros casos los precipitados formados se fijan a la extensión y hacen difícil e incluso imposible el examen. Agregar agua destilada al portaobjeto y se deja reposar sobre el portaobjetos durante 1 minuto aproximadamente hasta que la extensión adquiriera un tinte color rojizo.
- Se enjuaga la cara opuesta del portaobjeto y se seca seguidamente la extensión colocando el portaobjeto verticalmente sobre un trozo de papel filtro o gasa, apoyando sobre una cubeta de tinción u otro objeto. Es aconsejable que el portaobjeto no se seque mediante papel de filtro aplicado suavemente, ni mediante movimientos de agitación de la mano en el aire, ya que de esta manera existe el peligro de hacer saltar la extensión.
- Examinar al microscopio en objetivo 100X con aceite de inmersión.

### ***Tinción Diff – Quick* ®**

Según Benjamin (1990)

- Se sumerge la lámina en una solución fijadora por 5 segundos (una sumersión por segundo). Se deja escurrir el fijador.
- Sumergir la laminilla en la solución I por 5 segundos, dejamos escurrir el exceso de colorante.
- Introducir la laminilla en la solución II por 5 segundos. Escurrimos el exceso de colorante.
- Enjuagar la laminilla con agua destilada y dejar secar. Examinar al microscopio en objetivo 100x con aceite de inmersión.

#### **4.6.2. Análisis de datos**

Los datos recolectados fueron procesados en hoja electrónica en Excel según edad, sexo y si el animal es positivo a *Ehrlichia ewingii* o *Anaplasma phagocytophilum* para un mejor análisis de los resultados obtenidos durante el proceso de investigación.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Resultados

Se remitió una población de 163 pacientes para ser muestreados y diagnosticados mediante extendidos periféricos para la observación de *Eh. ewingii* y *A. phagocytophilum* de los cuales se obtuvieron los siguientes resultados:

- 145 pacientes positivos a *Eh. ewingii* equivalente al 88.96% de la población muestreados, a su vez 18 pacientes resultaron positivos a *A. phagocytophilum* siendo estos el 11.04%.

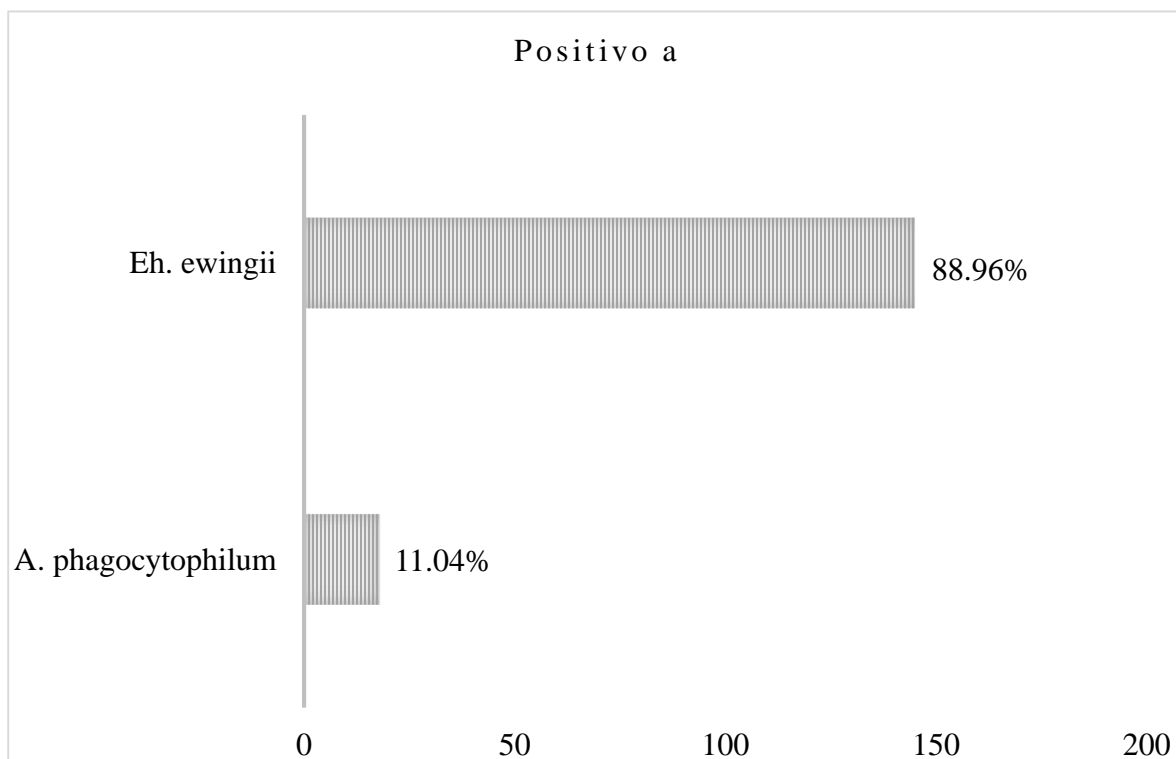


Figura 4. Porcentaje de pacientes positivos a *Eh. ewingii* y *A. phagocytophilum*

Según Domínguez (2011), menciona que “la característica principal para la identificación del *Anaplasma phagocytophilum* mediante las técnicas tintoriales es la ubicación de la mórula granulocítica en el interior del neutrófilo”.

*Eh. ewingii* invade los granulocitos formando colonias de microorganismos dentro de las vacuolas llamadas mórulas. En un estudio realizado por Domínguez, (2011) en cuanto al total general de casos positivos a hemoparásitos en estudio (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) en caninos del área urbana de la ciudad de Cuenca. Se obtuvo de un total de 64 muestras positivas a Hemopatógenos, de estas 36 muestras fueron positivas a *Ehrlichia canis*, que representan la prevalencia más alta y únicamente 2 muestras positivas para *Anaplasma phagocytophilum*, correspondiente al 3,13% del total de casos positivos, siendo esta la prevalencia más baja.

## 5.2. Factores intrínsecos que predisponen la presencia de hemoparásitos

### 5.2.1. Edad

Pacientes positivos a *Ehrlichia ewingii*. Los caninos entre el rango de adultez que incluye las edades desde 1 año hasta 6 años, presentaron mayor afectación con un 48%, mientras que los geriátricos (7 – 20 años) mostraron una incidencia del 31% y los cachorros (menores 1 año) un 21%. Esto de una población positiva de 145 caninos.

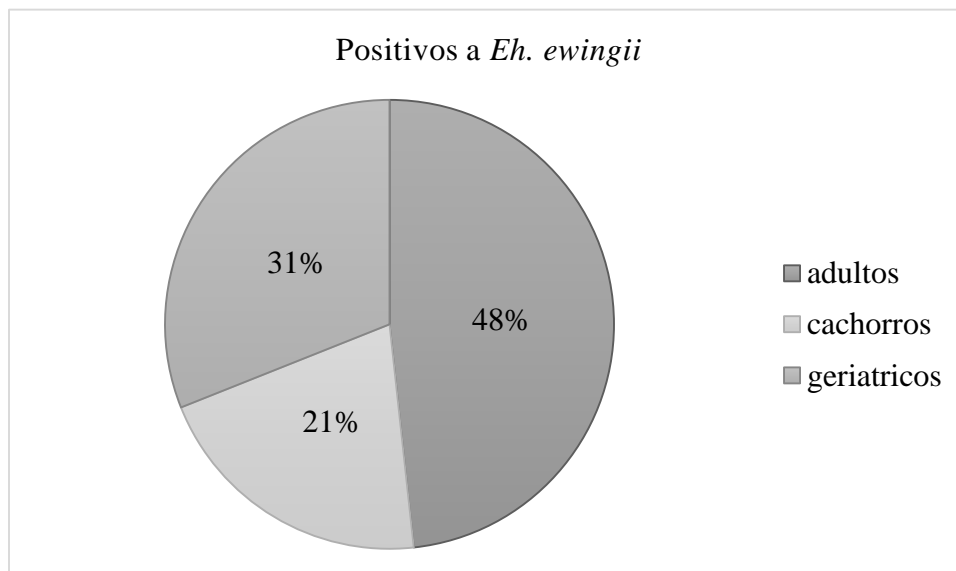


Figura 5. Porcentaje de pacientes positivos a *Eh. ewingii* según su edad

Pacientes positivos a *A. phagocytophilum* lo que nos deja como resultado un 34% de incidencia en adultos, 33% en cachorros y 33% en geriátricos esto de una población positiva de 18 caninos.

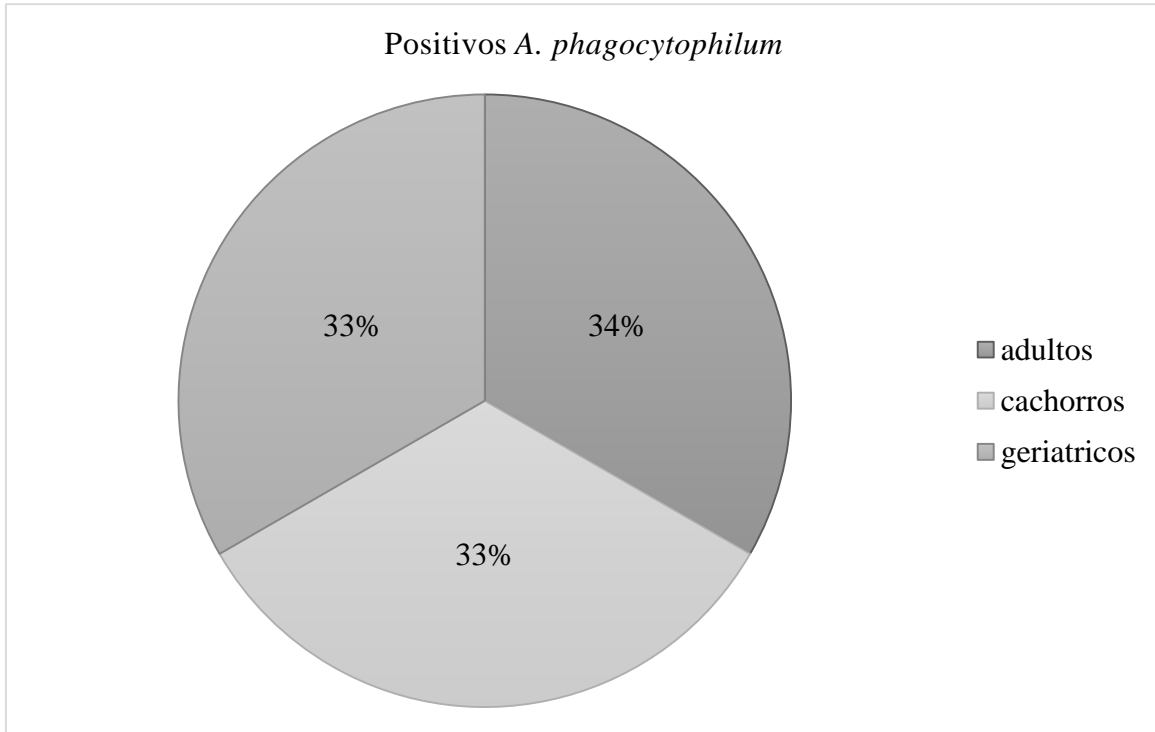


Figura 6. Porcentaje de pacientes positivo *A. phagocytophilum* según su edad

Los resultados obtenidos de animales positivos a agentes granulocitos presenta una tendencia de afectación en pacientes adultos en un 48% y 34% respectivamente.

Autores como Huerto y Dámaso (2015), citado por Arostegui y Maldonado (2017), reportan a perros de mediana edad como aquellos que tienen mayores oportunidades de exposición al vector que los cachorros; esto debido a la costumbre de los propietarios de sacar a la calle a los animales cuando completan sus vacunas y consideran que tienen menos riesgo de contraer enfermedades infecciosas.

En un estudio realizado por Dagnone y Vidotto, 2006 en el Hospital de Enseñanza Veterinaria de la Universidad Estadual de Londrina, estado de Paraná, sur de Brasil, 87 de 381 (22,8%) de los perros eran positivos para Ehrlichiosis; según este estudio, los grupos con mayor riesgo de ser seropositivos a Ehrlichiosis comparado con la población general incluyeron los perros mayores de 1 año, previamente expuestos a las garrapatas y presencia de signos neurológicos. (Arostegui y Maldonado, 2017)

Según Orjuela, García e Imbachi, 2015: En el estudio realizado sobre *Ehrlichia spp.*, en la ciudad de Florencia, Caqueta, Colombia. En cuanto al factor predisponente “edad”, en este estudio se encontró una asociación fuerte entre la edad adulta y la presentación de la enfermedad. Las posibles explicaciones para ello son: más infecciones por mayor edad, el estado inmunológico del huésped o incluso mayor exposición al vector garrapatas por una menor atención en el cuidado. (Rodríguez, 2005)

En el estudio (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) de acuerdo a la edad. *Anaplasma phagocytophilum* para este hemoparásito resultaron positivas 2 muestras, la una muestras pertenece a un canino entre 1 y 5 años de edad y representa el 1,56% y la otra muestra positiva corresponde a un canino mayor a 5 años, lo que equivale al 1,56% del total de muestras positivas. (Domínguez, 2011)

### **5.2.2. Sexo**

Porcentaje de pacientes positivos a *Ehrlichia ewingii* según el sexo, dando como resultado un 61% machos contra un 39% hembras.

“En el estudio realizado sobre *Ehrlichia spp.*, en la ciudad de Florencia, Caqueta, Colombia. Se obtuvo un resultado en cuanto a machos del 56.12% y en hembras del 43.88% de una población de 98 pacientes” (Orjuela et al., 2015).

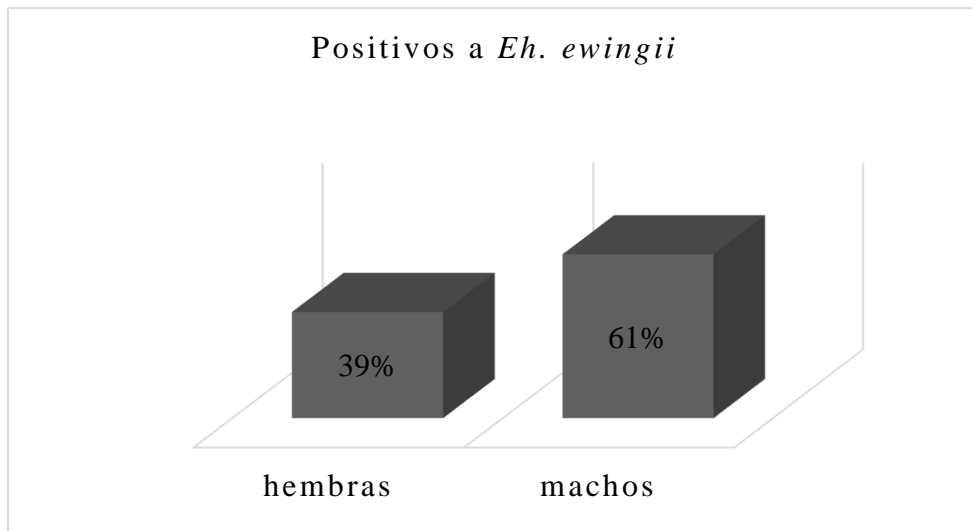


Figura 7. Porcentaje de pacientes positivos a *Eh.ewingii* según su sexo

Pacientes por sexo positivos a *Anaplasma phagocytophilum*. En el estudio (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) realizado por Dominguez, (2011) de acuerdo al sexo “de una población de 64 pacientes. *Anaplasma phagocytophilum* dos pacientes machos lo que equivale al 3.13% del total de muestras positivas” siendo diferentes a los obtenidos en este estudio donde se obtuvo un 55% hembras y 45% machos.

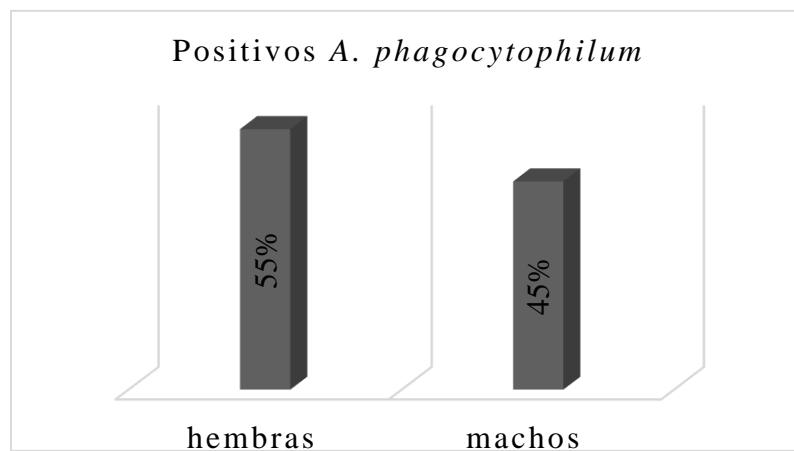


Figura 8. Porcentaje de pacientes positivo *A. phagocytophilum* según su sexo

En base a los diversos estudios analizados y al nuestro podemos determinar que el sexo no es un factor predisponente para ambas enfermedades.

## VI. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este estudio, determinamos que existe un índice mayor de infección por hemoparásitos en caninos referenciados en un alto porcentaje a *Ehrlichia ewingii* que fue el agente de mayor incidencia en canes en comparación al del *A. phagocytophilum*. con una prevalencia del 88.96%, Como resultado de la investigación estadística presentada, recolección de datos, ayuda de pruebas diagnósticas se observa una relación existente entre la enfermedad y los diversos signos y síntomas asociados.

La sección canina de adultos es la que muestra mayor afectación para ambas enfermedades.

En cuanto a los resultados de sexo y edad concluimos que ambos factores no presentan relevancia significativa en nuestra investigación. (Arostegui, H. y Maldonado, M., 2017), exponen que “el sexo, edad y raza no son factores predisponentes para padecer una hemoparasitosis, basta con haber tenido contacto con el vector”.

Teniendo en cuenta que cualquier mascota puede adquirir alguna de estas enfermedades, mayormente los perros con edades geriátricas tienden a ser más susceptibles a padecer una o ambas enfermedades puesto que tienen menor capacidad de respuesta a las infecciones, reducción del metabolismo animal causando un aumento en el peso corporal que se refleja en la acumulación de tejido graso, tienden a disminuir su actividad física, disminuyen su capacidad de termorregulación agregando que los dueños estos pacientes no son conocedores de los cuidados y controles necesarios que conlleva una mascota a esa edad.

## VII. RECOMENDACIONES

- Implementar programas de capacitación para los propietario del paciente en los que creemos conciencia de los pro y contra que conlleva las enfermedades zoonóticas transmitidas por vectores las afecciones que tienden a causar en sus mascotas y a la vez la importancia que tiene realizar con frecuencia exámenes de sangre y un control sobre los vectores en nuestros hogares y mascotas, para evitar que haya un porcentaje más alto de incidencia de enfermedades por hemoparásitos.
- Llevar un control anual sobre la incidencia de hemoparásitos en canes a nivel de laboratorios para luego, ser remitidos al Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA) para que puedan crear una base de datos.
- Los médicos veterinarios deben recomendar realizar más de una prueba de laboratorio en caso de pacientes negativos debido al tiempo de incubación que presenta cada enfermedad.
- Realizar un estudio diferencial entre *eh. ewingii* y *a. phagocytophilum* y otros agentes rickettsiales por técnica PCR.
- Realizar visitas médicas al veterinario al menos dos veces al año, es decir cada 6 meses, para saber el estado de salud de la mascota mediante una serie de exámenes de rutina (BHC, EGH, EGO).

## VIII. LITERATURA CITADA

- Alvarez, G. E. (2019). *Hallazgos hematológicos y detección de anticuerpos contra Anaplasma spp. en perros con antecedentes de garrapatas del distrito de Chiclayo (Lambayeque - Perú)*. [Tesis de grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos] Repositorio UNMSM [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/11722/Alvarez\\_mg.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/11722/Alvarez_mg.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Arostegui, H. A. y Maldonado, M. L (2017). *Alteraciones sistémicas asociadas a hemoparásitos transmitidos por la garrapata marrón (Rhipicephalus sanguineus) en caninos, atendidos en la clínica veterinaria Obregón, en el periodo de mayo a octubre del año 2016*. [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria] Repositorio institucional UNA. <http://repositorio.una.edu.ni/3621/1/tnl73a769.pdfmus>
- Benjamín, M. M. (1991). *Manual de patología clínica veterinaria*. Editorial LIMUSA
- Bush, B. M. (1982). *Manual de laboratorio veterinario de análisis clínico*. Editorial ACRIBIA.
- Domínguez, G. G. (2011). *“PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN DE HEMOPARÁSITOS (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum) EN PERROS DE LA CIUDAD DE CUENCA”*. [Tesis de Grado Universidad de Cuenca] Repositorio institucional Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3024/1/tv199.pdf>
- Gallo Lamping, C. A. (2014). *Manual de diagnóstico en énfasis en laboratorio clínico veterinario*. Universidad Nacional Agraria.
- García Cortes, V. (2004). *Introducción a la microbiología*. Editorial EUNED.
- Google maps (2019). *División Veterinaria, DIVET*. Consultado el 21 de diciembre de 2019. <https://www.google.com/maps/place/Divisi%C3%B3n+Veterinaria,+DIVET,+Las+Palmas,+de+los+sem%C3%A1foros+de+Walmart+2+c+lago+1+1%2F2+c+arriba,+casa+1117,+Managua+12051/@12.14409,-86.294968,17z/data=!4m2!3m1!1s0x8f71567e7a3d97b3:0xcafbf53330e96b6?hl=es>



- Gutiérrez, C. N., Pérez-Ybarra, L. y Agrela, I. F. (2016). *Ehrlichiosis canina*. [Archivo PDF] <http://ve.scielo.org/pdf/saber/v28n4/art02.pdf>
- Hernández Sampieri, R.; Fernández Collado, C. y Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la investigación* (6ta ed.). Editorial McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A DE C.V.
- Lorente Mendez, C. (2005). *Evaluación Hematológica e Inmunofenotípica de la Ehrlichiosis canina; Evolución tras la administración de Dipirionato de Imidocarb en la ciudad de Madrid*. [Tesis de grado, Universidad Complutense Madrid]. Repositorio institucional UCM. <https://eprints.ucm.es/7165/1/T28229.pdf>
- Mejía, R. J. y Fargas, L. J. (2017) *Análisis de prevalencia de hemoparásitos en canes del municipio de Camoapa, departamento de Boaco, durante junio ,2017*. [Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio institucional UNA. <http://repositorio.una.edu.ni/id/eprint/3640>
- Müggenburg Rodríguez V. y Pérez Cabrera, I. (2007). *Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa*. [Archivo PDF] [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.redalyc.org/pdf/3587/358741821004.pdf&ved=2ahUKEwiuy77Ps8TvAhVG2FkKHWipBUgQFjABegQIERAC&usq=AOvVaw1tCvCW\\_kWTkdlC9DNnYySh](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.redalyc.org/pdf/3587/358741821004.pdf&ved=2ahUKEwiuy77Ps8TvAhVG2FkKHWipBUgQFjABegQIERAC&usq=AOvVaw1tCvCW_kWTkdlC9DNnYySh)
- Navarro, O. (2018). *Hemoparásitos en perros y gatos*. [Diapositiva de Power point] División veterinaria.
- Nelson, R.W. y Couto, C.G. (2010). *Medicina interna de pequeños animales* (4ta ed.). Editorial Elsevier
- Núñez, L. y Bouda, J. (2007). *Patología clínica veterinaria*. [Archivo PDF] <http://www.fmvz.uat.edu.mx/Libros%20digitales/Libro%20Patologia%20Clinica%20Veterinaria.pdf>
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2020, 02 de marzo). *Enfermedades transmitidas por vectores*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
- Orjuela, J.; García, G. e Imbachi, J. (2015). *Análisis epidemiológico de la presentación de Ehrlichia sp. en caninos de Florencia Caquetá, Colombia*. [Archivo PDF] <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.reda>

lyc.org/pdf/636/63641399004.pdf&ved=2ahUKEwi6ivG368LvAhUtw1kKH  
\_IDrwQFjAAegQIBRAC&usg=AOvVaw1WtWw19UnMUGNelEfvDMLM

Pérez, R.; Esteja, J. y Mendoza, F. (2012). *Alteraciones morfológicas de la serie blanca*. Portal veterinaria.  
<https://www.portalveterinaria.com/articoli/articulos/22174/alteraciones-morfologicas-de-la-serie-blanca.html>

Restrepo, K. J. (2017). Anaplasmosis canina: caso clínico. [Tesis de grado, Corporación Universitarias Lasallista] Repositorio institucional Lasallista.  
[http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1852/1/Anaplasmosis\\_canina\\_caso\\_clinico.pdf](http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1852/1/Anaplasmosis_canina_caso_clinico.pdf)

Torres Castro, M., Noh-Pech, H., Lugo-Caballero, C., Dzul-Rosado, K. y Puerto, F. I. (s.f). *Las enfermedades transmitidas por vector: importancia y aspectos epidemiológicos*.  
<https://www.revista.cba.uady.mx/ojs/index.php/BAC/article/download/3446/1491>

## **IX. ANEXOS**

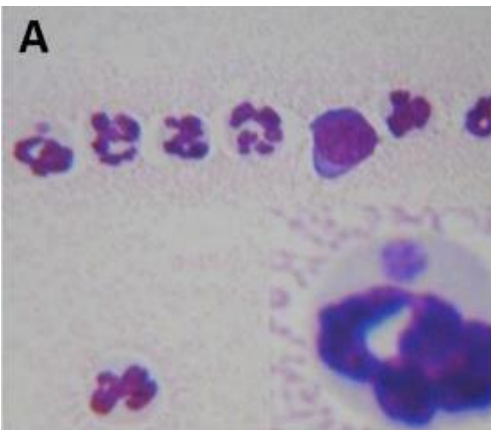
## Anexo 1. Realización de frotis sanguíneo



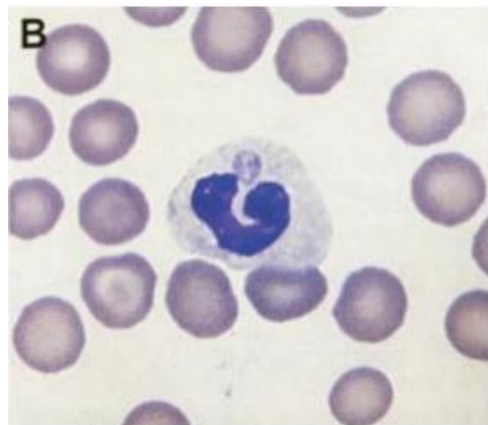
## Anexo 2. Técnicas tintoriales



### Anexo 3. Observación al microscopio



Mórula *A. phagocytophilum*



Mórula *Eh. ewingii*

Anexo 4. Soluciones



Kit tinción Diff - Quick



Solución tinción wright