

**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TEMA:

**DETERMINACIÓN DE ERHLICHIOSIS CANINA, MEDIANTE BIOMETRÍA
HEMÁTICA, ENSAYO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y FROTIS
SANGUÍNEO.**

AUTOR:

BYRON FERNANDO OLALLA PAREDES

**Componente práctico del examen complejo previo a la obtención del
título de Médico Veterinario y Zootecnista**

TUTOR:

Dr. Carlos Manzo Fernández, M.Sc.

**Guayaquil, Ecuador
13 de septiembre del 2018**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **componente práctico del examen complejo**, fue realizado en su totalidad por **Byron Fernando Olalla Paredes**, como requerimiento para la obtención del título de **Médico Veterinario y Zootecnista**

REVISOR:

f. _____
Dr. Carlos Manzo Fernández, M.Sc.

DIRECTOR DE LA CARRERA

f. _____
Ing. John Eloy Franco Rodríguez PhD.

Guayaquil, 13 de septiembre del 2018



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Byron Fernando Olalla Paredes**,

DECLARO QUE:

El **componente práctico del examen complejo Determinación de Ehrlichiosis Canina, Mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo**, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario y Zootecnista**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, 13 de septiembre del 2018

EL AUTOR

f. _____
Byron Fernando Olalla Paredes



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
AUTORIZACIÓN**

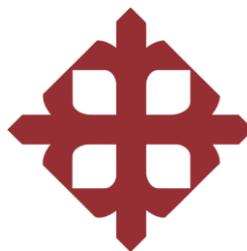
Yo, Byron Fernando Olalla Paredes

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución el **componente práctico del examen complejo Determinación de Ehrlichiosis canina, mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, 13 de septiembre del 2018

EL AUTOR:

f. _____
Byron Fernando Olalla Paredes



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CERTIFICACIÓN URKUND

La Dirección de las Carreras Agropecuarias revisó el Trabajo del componente práctico del Examen Complexivo Titulación “**Determinación de Ehrlichiosis canina, Mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmuncromatográfico y Frotis Sanguíneo**”, presentado por el estudiante **Byron Fernando Olalla Paredes**, de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

URKUND	
Documento	Olalla Paredes, Anteproyecto EC UTE A 2018.docx (D41034487)
Presentado	2018-08-29 17:16 (+02:00)
Presentado por	ute.fetd@gmail.com
Recibido	alfonso.kuffo.ucsg@analysis.orkund.com
Mensaje	EC OLALLA PAREDES BYRON UTE A 2018 Mostrar el mensaje completo 0% de estas 12 páginas, se componen de texto presente en 0 fuentes.

Fuente: URKUND-Usuario Kuffó García, 2018

Certifican,

Ing. John Franco Rodríguez, PhD.
Director Carreras Agropecuarias
UCSG-FETD

Ing. Alfonso Kuffó García, MSc.
Revisor - URKUND



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____

Ing. John E. Franco Rodríguez, Ph. D.
DIRECTOR DE CARRERA

f. _____

Ing. Noelia Caicedo Coello, M.Sc.
COORDINADOR DEL ÁREA

f. _____

Dr. Aníbal Andrade Ortiz, M.Sc.
OPONENTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

**FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

CALIFICACIÓN

**Dr. Carlos Manzo Fernández, M.Sc.
TUTOR**

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Objetivos	3
1.1.1. Objetivos General.....	3
1.1.2. Objetivos Específicos.....	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes bibliográficos.....	4
2.2.- Ehrlichiosis Canina	5
2.1.1. Etiología.....	5
2.1.2. Modos de Transmisión.....	6
2.1.3. Signos Clínicos.....	7
2.1.4. Métodos De Diagnóstico.....	8
3. MARCO METODOLÓGICO	11
3.1. Ubicación del ensayo	11
3.2 Características climáticas.....	11
3.3. Materiales y equipos	12
3.4. Población en estudio.....	13
3.5. Tipos de estudio	13
3.6. Variables a evaluar	14
3.7. Manejo del ensayo.....	15

3.7.1 Toma de muestra.....	15
3.7.2 Procesamiento de la muestra.....	16
3.8. Informe de laboratorio.....	17
3.9. Cuadro de manejo de variables.....	18
4. RESULTADOS ESPERADOS	19
4.1.- Resultado Académico	19
4.2.- Resultado Científico.....	19
4.3.- Resultado Técnico.....	19
4.4.- Resultados Tecnológicos	19
4.5.- Resultados Económicos.....	19
4.6.- Resultados Sociales.....	20
4.7.- Resultados Ambientales.....	20
4.8.- Resultados Culturales.....	20
4.9.- Resultados Contemporáneos.....	20
4.10.- Participación Ciudadana.....	20
5. BIBLIOGRAFÍA	21

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de nuestra historia los caninos han tenido un papel fundamental en nuestra evolución, con una estrecha vinculación en el mejoramiento de la calidad de los seres humanos; como animal de compañía, en el cuidado y vigilancia, por esta razón se infiere que son muy útiles.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto es relevante enfocar estudios que permitan alargar la vida de los caninos y mantener un seguimiento en su salud, la cual se ha visto muy afectada por diversos parásitos, siendo ésta una de las patologías más comunes en ellos.

Entre las diferentes patologías que afectan a estos animales se encuentra la Ehrlichiosis monocítica canina, considerado como un parásito microscópico porque viven y se reproducen en el torrente de los vasos sanguíneos, la garrapata café del perro y de nombre científico *Rhipicephalus sanguineus*, es el agente transmisor de la Ehrlichiosis.

Entre las causas principales de su aparición está la falta de controles periódicos o chequeos permanentes por parte del propietario de la mascota y el hábitat que es propicio para el ciclo biológico de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Es importante evitar la propagación de estos microorganismos porque constituyen un problema de salud pública y muchos de ellos tienen antecedentes y consecuencias en las zoonosis.

La Ehrlichiosis, es considerada como enfermedad zoonótica emergente; de tal modo que realizar un diagnóstico en breve tiempo, podría reducir el índice de la enfermedad, esto sería de gran utilidad para la sociedad, previniendo en gran medida el contagio de animales a humanos.

En la ciudad de Guayaquil, se ha podido presenciar esta enfermedad en la mayoría de los caninos que muestran este tipo de patología, siendo esta una problemática a resolver, por esta razón esta investigación se ha enfocado a la Determinación **de Ehrlichiosis canina**, mediante **Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo**.

La propuesta será de gran utilidad para el médico veterinario porque ofrece datos veraces comparativos de los valores de Biometría Hemática de perros con *E. canis*, contrastado con los resultados obtenidos de frotis sanguíneo y ensayo inmunocromatográfico, para de esta manera, tener conocimiento fehaciente sobre las alteraciones que produce la enfermedad, con el fin de instaurar un método de laboratorio de acceso factible, y el tratamiento idóneo.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivos General.

- Determinar las alteraciones hematológicas en canes infectados con **Ehrlichiosis canina**, mediante biometría hemática, ensayo inmunocromatográfico y frotis sanguíneo.

1.1.2. Objetivos Específicos.

- Identificar la presencia de **Ehrlichiosis canina**, mediante inmunocromatografía y frotis sanguíneo en los pacientes sintomáticos.

- Analizar la presencia de alteraciones hematológicas mediante Biometría Hemática y su relación con los resultados ensayo inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes bibliográficos

Donatien y Letoguard investigadores del Instituto Pasteur de Argelia, identificaron por primera vez en el año 1935 la *Ehrlichia canis*, luego de comprobar que, en perros infestados con garrapatas, existía la presencia de microorganismos dentro de los monocitos. Los mencionados canes presentaban síntomas de fiebre y anemia, lo que determinó el origen de su investigación. Inicialmente fue denominada como *Rickettsia Canis*, y cobró mucha importancia durante la guerra de Vietnam por causar la muerte de cientos de perros militares (Dolz, Ábrego, Romero, Campos y Calderón, 2013, p.20).

Quijada (como se citó en la investigación de Esper y Machado, 2008) afirma que la *E. canis* está distribuida mundialmente y se considera el patógeno más común en perros domésticos, esto debido a que son ellos los anfitriones definitivos de la garrapata marrón de perro "*Rhipicephalus sanguineus*", este artrópodo habita en zonas tropicales y subtropicales pues poseen climas cálidos y húmedos. La ciudad de Guayaquil, de acuerdo con la M.I. Municipalidad de Guayaquil, posee temperaturas que van desde los 19 °C hasta los 33 °C, convirtiéndose así en un hábitat ideal para la proliferación de estos arácnidos (Herakles, 2012, p.14).

Se han realizado diversas investigaciones y publicaciones sobre la enfermedad en América Latina. Carrillo (2012), realizó estudios en 33 perros, pacientes de clínicas ubicadas en la ciudad de Medellín Colombia, en las cuales se propuso la implementación de un método basado en PCR, para el diagnóstico de *Ehrlichia* spp.

Estudios relacionados con *Rickettsias* y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos han ofrecido datos importantes. En clínicas veterinarias de cuatro estados de Venezuela, para el estudio participaron pacientes caninos de ocho clínicas ubicadas en la costa Distrito Capital, Miranda, Aragua y Carabobo

(Quijada, 2012). Se determinó una prevalencia de *E. canis* con resultados de 34,78 %.

En la actualidad se ha detectado evidencia serológica de infección en seres humanos de países como Venezuela, Brasil y Argentina.

En un estudio en Bahía Blanca, Argentina cuyo objetivo general fue estudiar la presencia de *Rickettsias*, *Ehrlichias* y Anaplasmas en garrapatas y caninos domésticos del área urbana. De una muestra de 56 caninos, el 100 % resultaron positivos para *E. canis* (Cicutin, 2014, p.31).

En los inicios de su descubrimiento fue considerada como una bacteria parásita exclusiva en perros, pero las investigaciones han demostrado que también se encuentra en los seres humanos.

2.2.- Ehrlichiosis Canina

2.1.1. Etiología.

La bacteria *Ehrlichia canis* es un microorganismo Gram negativo pleomorfo de forma cocoidal, son parásitos obligatorios, infecta linfocitos y monocitos formando en ellos mórulas conocidas también como micro colonias, pueden ser visibles al microscopio empleando la técnica específica. Se la conoce además con los nombres de "enfermedad del perro rastreador", "pancitopenia canina tropical", "fiebre canina hemorrágica, y "tifus canina" (Carrillo, 2012).

Estas bacterias poseen una pared estructuralmente semejante a las gram-negativas, de ahí su clasificación.

Pertenece a la familia Rickettsiae, del orden *Rickettsiales*, incluidas en el género *Rickettsia*, sub-géneros *Ehrlichia*. (Potkonjak, 2013, p.4).

Los estudios han demostrado que se encuentra en la vacuola del leucocito, hecho que propicia a la formación de mórulas visibles al microscopio.

2.1.2. Modos de Transmisión.

La infección es transmitida por la Garrapata Marrón del Perro cuyo nombre científico es *Rhipicephalus sanguineus*, a través de su picadura, ésta se alimenta exclusivamente de sangre de forma temporal, pasando de unos días a varias semanas prendidas en el hospedador, es allí donde inyecta las secreciones de las glándulas salivares de la garrapata con la bacteria (ESCCAP, 2012).

La transmisión de la ehrlichiosis es mecánica y no biológica siendo necesario, un vector para su propagación. En la garrapata es transtestadial y no transovárica por lo cual este artrópodo no puede ser reservorio de la enfermedad, para poder perpetuar la enfermedad es necesario que en su fase de larva o ninfa el ectoparásito adquiera la bacteria luego de ingerir la sangre de canes infectados que se encuentren principalmente en la fase aguda de la enfermedad, pues es allí donde existe un alto porcentaje de leucocitos infectados en la sangre, desde este momento tiene 155 días para infectar a otro animal. Existe también la posibilidad de infectar al can mediante transfusión sanguínea (Huerta, 2015, p.11).

La ehrlichiosis puede infectar, a varias especies de la familia Canidae además del perro, como por ejemplo a los coyotes, zorros, chacales, lobos (Stiles, 2000), incluso se ha determinado que podría ser capaz de infectar al gato y en algunos casos al ser humano (Pérez, 1996; Breitschwerdt, 2002; Aguirre, 2009; Ayllón, 2009).

En España se realizó un estudio en que un 9,9 % fueron seropositivos a *E. canis* (Ayllón, 2010) y en Lima se encontró seropositividad del 23,33 % en especialistas veterinarios que estuvieron en contacto con animales, estos también sufrieron ehrlichiosis canina (Paulino, 2011, p.23).

La infección por *E. canis* puede producir tanto leucopenia como leucocitosis, aunque ésta última es menos frecuente. Se ha sugerido que en las fases iniciales el secuestro leucocitario por procesos inmunológicos puede dar

lugar a la aparición de leucopenia (Reardon, 1981, p.45), mientras que en la fase crónica podría deberse a la aplasia medular mencionada (Neer, 2006, p.70).

2.1.3. Signos Clínicos.

La ehrlichiosis presenta varias fases que cursan clínicamente con desórdenes hemáticos, linfáticos, gastrointestinales, musculoesqueléticos, nerviosos, oftálmicos y renales inespecíficos (Cartagena Yarce, Ríos Osorio, & Cardona Arias, 2015, p. 14)

El curso en la enfermedad comprende tres fases: aguda, subaguda y crónica cada una de ellas con síntomas específicos (López, 2016, p 9).

Las manifestaciones sintomatológicas que se presentan en la fase aguda son depresión, fiebre, anorexia y pérdida de peso. En el laboratorio se puede encontrar trombocitopenia, leucopenia, anemia ligera e hipergamaglobulinemia. Presenta una duración entre una a tres semanas (Dolz et al., 2013, p. 23).

En la fase subclínica, las alteraciones hematológicas como anemia o trombocitopenia se regulan, los corpúsculos de inclusión persisten desde la fase aguda en menor porcentaje. Hay una disminución de la presencia de signos clínicos, sin embargo son visibles la debilidad, apatía, pérdida de peso sustancial, fiebre, linfadenopatía, esplenomegalia, edema periférico en las extremidades traseras y el escroto, palidez de membranas, predisposición a hemorragias cutáneas y de las mucosas, exudado oculonasal mucopurulento, epistaxis y hematuria ocurriendo también la posibilidad de existir neumonía intersticial con disnea, insuficiencia renal, glomerulonefritis, artritis, polimiositis y cojeras (ESCCAP, 2012, p.11).

En la etapa crónica, las células pares se reducen debido a daños en la medula, ya que *E. canis* se encuentra en el canino, si el mismo llega a esta fase su pronóstico es negativo. Otros síntomas pueden ser hemorragia, epistaxis y edema de tejido (Özata & Ural, 2014, p. 20).

2.1.4. Métodos De Diagnóstico.

Las técnicas utilizadas actualmente para su diagnóstico son: la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA, frotis directo, cromatografía en capa sólida y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), siendo el ELISA y el frotis directo las más empleadas (Carrillo Bonilla et al., 2012, p. 22).

Inmunofluorescencia indirecta (IFI): Este es un método en el cual se aplica tinción, empleando reactivos polivalentes. Los anticuerpos marcados con fluoresceína se unen a los antígenos de la pared del microorganismo. Un posterior lavado elimina los anticuerpos no fijados y al examinar la extensión con un microscopio de fluorescencia se puede observar la fluorescencia en la pared de estas bacterias (Fundora Hernández et al., 2013, p. 14).

Frotis directo: Técnica de laboratorio que proporciona, la cuantificación de forma oportuna de células de la serie roja y leucocitaria, además permite identificar anomalías morfológicas o lesiones específicas de ambas series, que suelen ser uno de los signos más tempranos en numerosas enfermedades como linfomas, anemias, inmunomediadas, procesos parasitarios (Pérez. 2016, p 12).

Cromatografía en capa sólida y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) detecta y amplifica el ADN de *Ehrlichia* spp. Esta prueba puede detectar *Ehrlichia* spp. Tempranamente, de cuatro a diez días post-inoculación, en pacientes infectados experimentalmente (Carrillo Bonilla et al., 2012, p. 9).

La Técnica Comercial Elisa SNAP R3DxR (or 4DxR) (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, Estados Unidos), que presenta una especificidad cercana al 100 % y sensibilidad de 98,9 %, es una de las pruebas de mayor frecuencia en los laboratorios, no obstante suele arrojar resultados falsos en las fases sub clínica y crónica (Cartagena Yarce et al., 2015, p. 30).

La biometría hemática, o citometría hemática como también se la conoce, es el examen de laboratorio de mayor utilidad y más frecuentemente solicitado por el clínico, de manera que, en un solo examen se pueden obtener valores de tres series celulares diferentes: eritroide, leucocitaria y plaquetaria, ofreciendo al

médico veterinario referencias sobre enfermedades de diferentes órganos y sistemas además de patologías hematológicas (López. 2016, p. 13).

En un solo estudio se analizan tres líneas celulares completamente diferentes: eritroide, leucocitaria y plaquetaria, que no sólo orientan a patologías hematológicas; sino también a enfermedades de diferentes órganos y sistemas, para ello una vez que tenemos la sangre, para el análisis de la serie roja, se homogenizará y procederá a llevarla al equipo de hematología, se llenaran los datos del paciente, seleccionaremos la especie, y llevaremos al tubo de recolección de sangre, a esperar los resultados.

Luego para el análisis de la serie blanca se realizará un frotis ubicando una gota de sangre total en una placa porta objeto para enseguida con otra placa dispersarla por la superficie de la primera, finalizando con cubrir este extendido durante 5 minutos con alcohol metílico y eliminar el excedente (fijación química); se coloca el preparado con solución de Giemsa y se deja reposar por 3 minutos, se lava con agua destilada, se deja secar al ambiente y por último se observa en el microscopio con objetivo de inmersión (López 2016, p. 34).

Para el test de inmunocromatográfica se recolecta suero o plasma, se introduce 4 gotas en el tubo de muestra que contiene 300 ul de diluyente de ensayo; se mezcla las muestras con diluyente de ensayo; se retira el kit de prueba de la bolsa de aluminio y se coloca en una superficie plana y seca, se agrega 4 gotas de esta mezcla en el orificio del cassette, se verá un movimiento púrpura a través de la ventana de resultados; se interpretarán los resultados de las pruebas en un lapso comprendido entre 5 – 10 min. La presencia de una sola banda dentro de la ventana de resultados indicará negativo, en cambio la presencia de dos bandas es resultado positivo. El resultado es inválido cuando el color púrpura no es visible o no se han seguido las instrucciones correctamente.

Otro método que se emplea es el frotis sanguíneo que será realizado de la siguiente manera: extendido de la muestra sanguínea, se fija con metanol y tras 2 minutos, teñir con una solución de Giemsa al 10 %, durante 20 minutos,

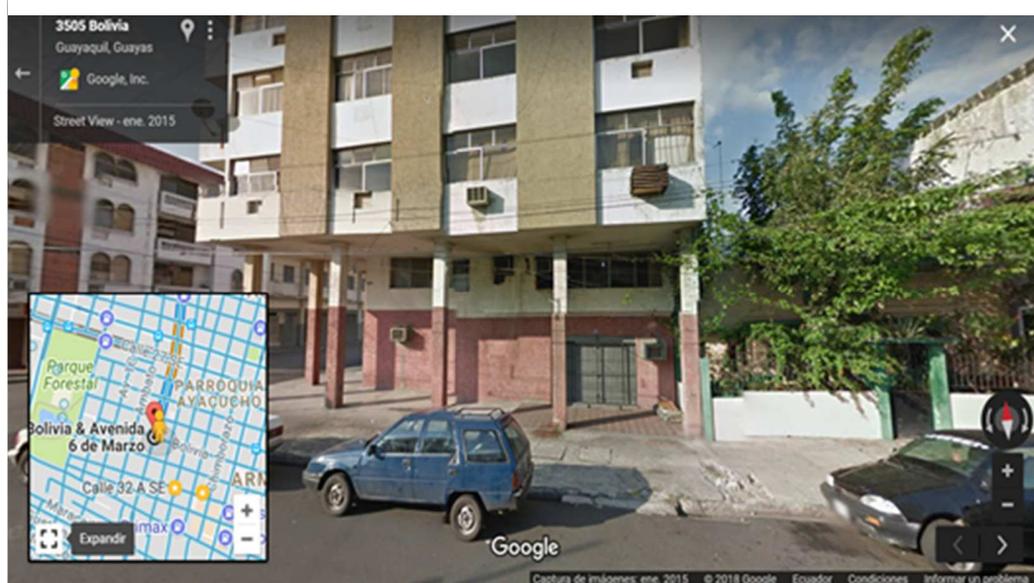
posteriormente se procede a la observación microscópica agregando aceite de inmersión, se procede a colocar la muestra con objetivo de inmersión (100X), para así confirmar los hallazgos microbiológicos (Tkach, Moreno, & Bava, 2012, p. 21).

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación del ensayo

El trabajo de investigación será desarrollado en el “Consultorio Veterinario de Especialidades GM” ubicado en las calles 6 de marzo Y Bolivia #922 al sur de la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas, coordenadas -2.211917, -79.890900.

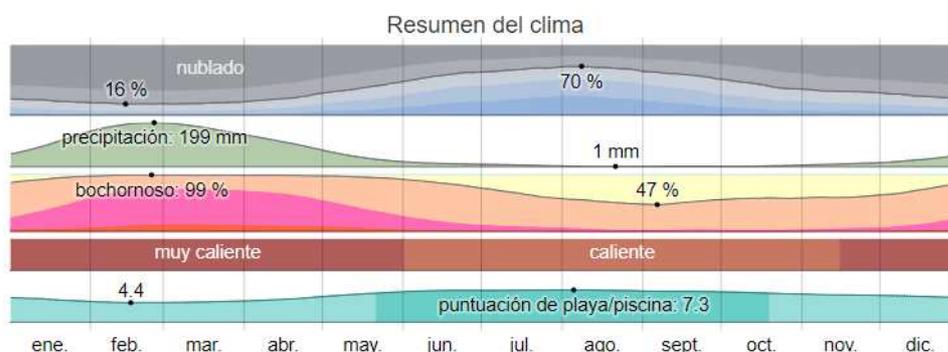
Gráfico 1 Ubicación geográfica de la Veterinaria donde se realizará la investigación



Fuente: Google maps

3.2 Características climáticas

En Guayaquil, la temporada de lluvia es muy caliente, opresiva y nublada y la temporada seca es caliente, y parcialmente nublada. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 21 °C a 31 °C y rara vez baja a menos de 19 °C o sube a más de 33 °C.



La *temporada calurosa* dura 2,1 meses, del 7 de marzo al 10 de mayo, y la temperatura máxima promedio diaria es más de 30 °C. El día más caluroso del año es el 4 de abril, con una temperatura máxima promedio de 31 °C y una temperatura mínima promedio de 24 °C.

La *temporada fresca* dura 2,2 meses, del 19 de junio al 26 de agosto, y la temperatura máxima promedio diaria es menos de 29 °C. El día más frío del año es el 24 de agosto, con una temperatura mínima promedio de 21 °C y máxima promedio de 29 °C.(Weather Spark, 2018)

3.3. Materiales y equipos

- Historia clínica.
- Libreta de apuntes
- Mandil
- Guantes de inspección.
- Mascarilla.
- Campo estéril.
- Marcador.
- Jeringuilla.
- Agujas.
- Banda elástica, Torniquete.
- Tubos al vacío con y sin anticoagulante EDTA (Na₂).
- Hematógrafo.
- Kit de ensayo inmunocromatográfico (CDV AG test kid).
- Alcohol 70%.

- Algodón.
- Portaobjetos.
- Tinción de Giemsa.
- Aceite de inmersión.
- Gradillas.
- Microscopio.
- Lanceta.
- Papel absorbente.
- Agua destilada.

3.4. Población en estudio

Los caninos objetos de estudio serán pacientes atendidos en el “Consultorio Veterinario de Especialidades GM” mismos que presenten signos clínicos de **Ehrlichiosis canina** durante los meses de junio a agosto de 2018.

3.5. Tipos de estudio

La investigación se trabajará como diseño no experimental descriptivo, el cual tendrá como objetivo determinar las alteraciones hematológicas en canes infectados con **Ehrlichiosis canina**, mediante biometría hemática, ensayo inmunocromatográfico y frotis sanguíneo.

Para el análisis estadístico se emplearán:

- Los estadígrafos básicos de la Biometría Hemática.
- Se determinarán la frecuencia de individuos afectados.

3.6. Variables a evaluar

- **Edad:**

- ✓ 1-4 años

- ✓ 4-9 años

- ✓ 9-15 años

- **Raza:**

- ✓ Pequeñas

- ✓ Medianas

- ✓ Grandes

- **Sexo:**

- ✓ Hembra

- ✓ Macho

- **Procedencia:**

- ✓ Norte

- ✓ Centro

- ✓ Sur

- **Sintomatología:**

- ✓ Fiebre.

- ✓ Hemorragias **en la piel** (petequias y equimosis).

- ✓ Anemia.

- ✓ Malestar abdominal.

- ✓ Secreciones respiratorias y oculares.
- ✓ Daños en la mucosa de la vagina o del pene y edema escrotal.
- ✓ Artritis.
- ✓ Incontinencia urinaria.
- ✓ Tos.
- ✓ Poliuria y polidipsia.
- ✓ Falta de coordinación en los movimientos.
- ✓ Fallo renal.
- ✓ El perro sangra por la nariz o por los ojos.
- ✓ El perro puede perder el apetito, pierde peso y se muestra triste y decaído.

3.7. Manejo del ensayo

3.7.1 Toma de muestra

Vena cefálica

Hay que colocar al animal en la mesa en posición decúbito esternal. Se rasura el área q se va hacer la punción se esteriliza el área Luego una persona sujetará con una mano la cabeza agarrando el hocico y alejándolo del miembro que se va a utilizar. Con la otra mano tomará y estabiliza el codo, comprimiendo la vena cefálica dorsalmente para visualizarla mejor. La compresión en la extremidad puede realizarse también colocando un torniquete. Para realizar la extracción de sangre la persona que la realiza estabilizará la pata y piel sobre la vena con la mano libre (la que no sujeta la jeringa). Se insertará la aguja acoplada a la jeringa introduciendo la aguja como mínimo 1 cm (0,5 cm en perros pequeños y gatos). Después de retirar la aguja se aplicará una gasa o una torunda de algodón sobre el sitio de la punción para de esta manera, evitar la hemorragia y la presentación

de un hematoma. Y para finalizar se pasa de la jeringa a los tubos al vacío con y sin anticoagulante EDTA (Na₂).

3.7.2 Procesamiento de la muestra

Para el procesamiento sanguíneo, si no hacemos el hemograma en dos o tres horas la sangre debe ser refrigerada a 4° C y estar en la nevera-. El recuento de glóbulos rojos, la hemoglobina y el hematocrito no sufren modificaciones si la sangre se refrigera durante unas 24 horas.

En el momento de llevar la sangre al medidor que está ubicado en el hematógrafo debe haber un buen manejo sin contaminación y llevar la sangre directo al medidor para el resultado que emite la máquina de conteo sea exacto.

El conteo dura entre 10 a 15 minutos y el resultado se refleja en la pantalla del hematógrafo.

3.8. Informe de laboratorio

Formato de informe de Laboratorio



Diagnóstico y prevención De Enfermedades

Paciente	
Propietario	
Medico	
Muestra	

Especie	
Sexo	
Raza	
Edad	

Hemograma

PARÁMETROS	RESULTADO	LIMITES	ALERTA
Leucocitos %		6.0 – 17.0	
Linfocitos %		12.0 – 30.0	
MID %		5.0 – 20.0	
Neutrófilos %		60.0 – 70.0	
Linfocitos #		1.0 – 4.8	
MID #		0.2 – 2.1	
Neutrófilos #		3.0 – 11.4	
Recuento de G. Rojos		5.50 – 8.50	
Hemoglobina		120 – 180	
Hematocrito		37.0 – 55.0	
VCM		60.0 – 70.0	
HCM		19.5 – 24.5	
CHCM		320 - 360	
RDW-SD		37.0 – 54.0	
RDW-CV		11.0 – 15.5	
Recuento Plaquetario		150 – 500	
VPM		7.0 – 12.0	
PDW		9.0 – 30.0	
Plaquetócrito		0.1 – 9.99	
P-LCR		9.0 – 50.0	
Hemoparásito:			

F: _____

Guayaquil ,Ecuador

Fecha : _____

3.9. Cuadro de manejo de variables.

Objetivo específico	Variables	Objetivo	Dimensión
<i>Ehrlichia canis.</i>	Raza	Pequeña	Hasta 18 Kg
		Mediana	De 18 – 25 Kg
		Grande	Más de 25 Kg
	Sexo	Hembra	
		Macho	
	Edad	1-4 años	Adolescencia
		4-9 años	Adulto mayor
		9-15 años	Adulto Senior
	Sintomatología	Fiebre	37,9 – 39,9
		Hemorragia	Difusa - leve
		Anemia	Regenerativa No regenerativa
		Malestar abdominal	Aguda – Crónica
		Secreciones respiratorias y oculares	Mucopurulente Sanguinolenta Catarral
		Daños en la mucosa de la vagina o del pene y edema escrotal	Lesiones Nódulos accesos
		Artritis	Reumatoidea No Reumatoidea
Incontinencia urinaria		Anuria Disuria Tenesmo	
Tos		Productiva No productiva	
Poliuria, polidipsia		Poliuria Sí__ No__ Polidipsia Sí__ No__	
Falta de coordinación en los movimientos		Ataxia Parecia	
Pérdida de apetito		Anorexia Desnutrición	
Decaimiento	Postración Sincope		
Sangrado	Epítasis Hematemesis Metrorragia		
Fatiga	Taquicardia Bradycardia		

4. RESULTADOS ESPERADOS

4.1.- Resultado Académico

Este aporte de investigación servirá para continuar con la planificación y desarrollo total de una tesis sobre el tema propuesto.

4.2.- Resultado Científico

Se genera un aporte científico a partir del empleo de diferentes técnicas de diagnóstico para confirmar el diagnóstico.

4.3.- Resultado Técnico

Se trabajará con los protocolos establecidos y la bioseguridad requerida en la toma de muestras sanguíneas para el proceso de estudio de las diferentes técnicas requerida para dar un diagnóstico óptimo a los paciente que asisten a consulta.

4.4.- Resultados Tecnológicos

Se utilizará un hematógrafo e implementos necesarios para ayudarnos a confirmar con el diagnóstico.

4.5.- Resultados Económicos

Un correcto diagnóstico disminuirá el gasto a los propietarios de la mascota generando un tratamiento óptimo y eficaz sin tener falsos positivos.

4.6.- Resultados Sociales

Se fortalecerá el bienestar animal y calidad de vida del paciente, así como de los propietarios al tratar el problema de su mascota.

4.7.- Resultados Ambientales

Se llevará un control óptimo de los manejos de los fómites utilizados con el paciente que sea atendido en la consulta para de este modo no generar un impacto negativo ambiental.

4.8.- Resultados Culturales

Se realizará una historia clínica y un seguimiento del paciente para tener un control del manejo del propietario y si está cumpliendo con el tratamiento requerido por el médico veterinario que va atender a su mascota.

4.9.- Resultados Contemporáneos

Se indagará y buscará resultados de otras propuestas de investigación similares para que sean comparados.

4.10.- Participación Ciudadana

Se convocará a la comunidad para que asista a charlas de capacitación de esta patología para que estén informados y sepan cómo actuar en caso de que su mascota sea un caso positivo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, E. 2009. "Results from an indirect fluorescent antibody test using three different strains of Ehrlichia canis", Veterinary journal (London, England: 1997), vol. 182, no. 2, pp. 301-305.
- Ayllón S. 2009. "Serology, PCR and culture of Ehrlichia / Anaplasma species in asymptomatic and symptomatic cats from central Spain". Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vol, 15 Suppl. 2, pp. 4-5
- Ayllón, S. 2010. Enfermedades vectoriales en gatos de la comunidad de Madrid: Estudio serológico, molecular y epidemiológico de la infección por "Ehrlichia spp, Anaplasma spp, Neorickettsia spp, Leishmania spp y Bartonella spp". Universidad Complutense de Madrid.
- Barrios L., Lí O., Suárez F., Manchego A., Hoyos L. 2013. Evidencia hematológica y serológica de Ehrlichia SPP en propietarios de caninos domésticos con antecedentes de ehrlichiosis en Lima metropolitana. Rev. investig. vet. Perú v.24 n.1 Lima 2013.
- Breitschwerdt, E. 2002. "Molecular evidence supporting Ehrlichia canis-like infection in cats", Journal of veterinary internal medicine /American College of Veterinary Internal Medicine, vol. 16, no. 6, pp. 642-649
- Carrillo Bonilla, L. M., Betancur Cardona, S., Roldán Cardona, D., Pérez Jaramillo, J. E., Galeano Rivera, D., Loaiza Echeverri, É. T., & Giraldo Echeverri, C. A. (2012).

Implementación de un método basado en PCR, para el diagnóstico de Ehrlichia spp., en caninos de Medellín (Colombia). Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 7(2), 38–46.

Cartagena Yarce, L. M., Ríos Osorio, L. A., & Cardona Arias, J. A. (2015). Seroprevalence of Ehrlichia canis in Dogs with Suspected Infection by Tick-Borne Pathogens in Medellín, 2012-2014. Revista de Medicina Veterinaria, (29), 51–62.

Cicutin G. 2014. Detección molecular de Rickettsia massiliae y Anaplasma platys en garrapatas Rhipicephalus sanguineus y caninos domésticos del municipio de Bahía Blanca (Argentina). Rev chilena Infectol 2014; 31 (5): 563-568.

Dolz, G., Ábrego, L., Romero, L. E., Campos Calderón, L., Bouza Mora, L., & Jiménez Rocha, A. E. (2013). Ehrlichiosis and anaplasmosis in Costa Rica. Acta Médica Costarricense, 55, 34–40.

ESCCAP Consejo europeo para el control de las parasitosis de los animales de compañía. 2012. Guía ESCCAP no 3. Ectoparásitos Control de insectos y garrapatas que parasitan a perros y gatos.

Fundora Hernández, H., Puig Peña, Y., Chiroles Rubalcaba, S., Rodríguez Bertheau, A. M., Gallardo Díaz, J., & Milián Samper, Y. (2013). Métodos inmunológicos utilizados en la identificación rápida de bacterias y protozoarios en aguas. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 51(1), 84–96.

Herakles. 2012. Rickettsias y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos de clínicas veterinarias de cuatro estados de Venezuela. REDVET. Revista Electrónica de

Veterinaria, vol. 13, núm. 8, agosto, 2012, pp. 1-16 Veterinaria Organización.
Málaga, España.

Huerta M. 2015. Factores asociados a la infección por Ehrlichia canis en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica vol.32 n.4 Lima Oct./Dec. 2015.

López, S. N. 2016. La biometría hemática. Acta Pediatr Mex. 2016 jul;37(4):241-246-249.

López J, Abarca K, Mundaca M. I, Caballero C, & Valiente-Echeverría F. 2012. Identificación molecular de Ehrlichia canis en un canino de la ciudad de Arica, Chile. Rev. chil. infectol. vol.29 no.5 Santiago oct. 2012.

Neer, T., S. 2006. "Canine Monocytotropic Ehrlichiosis (E. canis, E. chaffeensis, E. ruminantium, and N. risticii Infections). Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis, and Wolbachia Infection." in Infectious Diseases of the dog and cat, ed. C.E. Greene, Third edn. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 203-217.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. 2013. Recogida, presentación y almacenamiento de muestras para el diagnóstico. Versión adoptada en la Asamblea Mundial de Delegados de la OIE en mayo 2013. Capítulo 1.1.2. Disponible en:
http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/1.01.01.%20Recogida%20y%20env%C3%ADo%20de%20muestras.pdf

- Özata, F., & Ural, K. (2014). Thrombocyte indices in dogs infected with Ehrlichia canis and Anaplasma phagocytophilum. Revista MVZ Córdoba, 19(3), 4277–4288. <https://doi.org/10.21897/rmvz.90>
- Pérez E., 2012. Citología sanguínea en pequeños animales. Hallazgos más comunes y su interpretación, Análisis y estudio del frotis sanguíneo. Disponible en: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/7130/articulos-archivo/analisis-y-estudio-del-frotis-sanguineo.html>
- Perez, M., B. 1996. "Ehrlichia canis-like agent isolated from a man in Venezuela: antigenic and genetic characterization", J Clin. Microbiol.vol. 34, no. 9, pp. 2133-9
- Potkonjak A, 2013. Seroepidemiological Research of Canine Monocytic Ehrlichiosis in the Autonomous Province of Vojvodina,
- Quijada J, García M, Sánchez G, Medina O, Isis Vivas,Pérez A, García Herakles. 2012. Rickettsias y parásitos hemotrópicos en pacientes caninos de clínicas veterinarias de cuatro estados de Venezuela. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 13, núm. 8, agosto, 2012, pp. 1-16 Veterinaria Organización Málaga, España.
- Reardon, M. 1981. "Acute experimental canine ehrlichiosis. I. Sequential reaction of the hemic and lymphoreticular systems", Veterinary pathology, vol. 18, no. 1, pp. 48-61.

Stiles, J. 2000, "Canine rickettsial infections", *The Veterinary clinics of North America Small animal practice*, vol. 30, n° 5, pp. 1135-1149.

Tkach, A. D., Moreno, J. D., & Bava, A. J. (2012). Diagnóstico presuntivo de histoplasmosis en un frotis sanguíneo. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 46(4), 0-0.

Weather Spark. (2018). Clima promedio en Guayaquil, Ecuador, durante todo el año. Recuperado el 23 de agosto de 2018, de <https://es.weatherspark.com/y/19346/Clima-promedio-en-Guayaquil-Ecuador-durante-todo-el-a%C3%B1o>



**Presidencia
de la República
del Ecuador**



**Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes**



SENESCYT
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo **Byron Fernando Olalla Paredes**, con C.C: # **1711889194** autor del componente práctico del examen complejo: **Determinación de Ehrlichiosis Canina, Mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo** previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, **13** de septiembre **2018**

f. _____

Nombre: **Byron Fernando Olalla Paredes**
C.C: **1711889194**



Presidencia
de la República
del Ecuador



Plan Nacional
de Ciencia, Tecnología,
Innovación y Saberes



SENESCYT
Secretaría Nacional de Educación Superior,
Ciencia, Tecnología e Innovación

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA Y SUBTEMA:	Determinación de Ehrlichiosis Canina, Mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo.		
AUTOR(ES)	Byron Fernando Olalla Paredes		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Dr. Carlos Manzo Fernández, M.Sc.		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Educación Técnica para el Desarrollo		
CARRERA:	Medicina Veterinaria y Zootecnia		
TÍTULO OBTENIDO:	Médico Veterinario y Zootecnista		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	13 de septiembre de 2018	No. DE PÁGINAS:	24
ÁREAS TEMÁTICAS:	Salud Pública, Bienestar Animal, Patología Clínica, Epidemiología.		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	ehrlichiosis monocítica, inmunocromatográfico, frotis sanguíneo, pancitopenia.		
RESUMEN/ABSTRACT:	<p>La investigación se realizó con el propósito de determinar el Ehrlichiosis canina, mediante Biometría Hemática, Ensayo Inmunocromatográfico y Frotis Sanguíneo. La propuesta será de gran utilidad para el médico veterinario porque ofrece datos veraces comparativos de los valores de Biometría Hemática de perros con <i>E. Canis</i>, contrastado con los resultados obtenidos de frotis sanguíneo y ensayo inmunocromatográfico, para de esta manera, tener conocimiento fehaciente sobre las alteraciones que produce la enfermedad, con el fin de instaurar un método de laboratorio de acceso factible. Se utilizó dos muestras de sangre, una con anticoagulante y otra sin anticoagulante. El hematógrafo permitió realizar la biometría hemática, se usaron los kits de pruebas para ensayo inmunocromatográfico y se determinó el frotis sanguíneo con el uso de portaobjetos, cubreobjetos y otros medios de laboratorio. Los datos fueron tabulados de manera comparativa para exponer los resultados obtenidos con un análisis de ellos.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593969524519	E-mail: byronvet77@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE):	Nombre: Ing. Noelia Caicedo Coello, M.Sc.		
	Teléfono: +593987361675		
	E-mail: noelia.caicedo@cu.ucsg.edu.ec		
SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
Nº. DE REGISTRO (en base a datos):			
Nº. DE CLASIFICACIÓN:			
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):			