



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica”

Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista.

Autores:

Wilkinz Guerrero Guayara

Pasaporte No. 79730271

Karen Cecilia Lazo Espinoza

C.I. 0105358139

Directora:

Dra. María Silvana Méndez Álvarez

C.I.0102606373

CUENCA-ECUADOR

31-10- 2019



RESUMEN

Las garrapatas son responsables de la transmisión de muchos hemoparásitos, ya sea en forma única o por coinfección. El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de la infección o coinfección con *Ehrlichia canis* (*E. canis*), *Babesia canis* (*B. canis*), y *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) en los valores hematológicos durante la fase subclínica en perros del área urbana de Zaruma y Piñas. Para este estudio se utilizaron 384 animales del área urbana, 192 de Zaruma y 192 de Piñas; considerando los siguientes criterios de inclusión: sin sintomatología clínica, examen físico general normal y presencia de parásitos hematológicos en frotis sanguíneo. Los perros fueron clasificados en 8 subgrupos: Grupo 1, positivos a *E. canis*; Grupo 2, positivos a *B. canis*, Grupo 3, positivos a *A. phagocytophilum*, Grupo 4, positivos a *E. canis* y *B. canis*, Grupo 5, positivos a *E. canis* y *A. phagocytophilum*, Grupo 6, positivo a *B. canis* y *A. phagocytophilum* Grupo 7, positivos a *E. canis*, *B. canis* y *A. phagocytophilum* y Grupo 8 o control, animales totalmente sanos. Las muestras se tomaron mediante punción de la arteria del pabellón auricular para detección de hemoparásitos mediante frotis in Situ y posterior tinción de Giemsa y venopunción cefálica para el hemograma. Los resultados nos permitieron determinar la presencia de hemoparásitos en esta zona del país, encontrando una prevalencia de 20,6% de *Ehrlichia*, siendo más recurrente en perros, seguido de *Babesia* 5,2%, *Anaplasma* 2,9% y en coinfección 5,5% de la asociación *Ehrlichia - Babesia*, 0,8% *Ehrlichia - Anaplasma* y 0,5% *Anaplasma – Babesia* y 0% *Ehrlichia - Babesia – Anaplasma*; en cuanto a los valores hematológicos no se encontraron alteraciones significativas asociadas a la infección por hemoparásitos, llegando a la conclusión de que la presencia de estos agentes infecciosos inciden en muy baja proporción en los valores eritrocitarios o leucocitarios en perros en fase subclínica.

Palabras clave: Prevalencia. Hemoparásitos. *Ehrlichia canis*. *Babesia canis*. *Anaplasma phagocytophilum*. Alteraciones hematológicas



Abstract

Ticks are responsible of the transmission of many hemoparasites, by either unique way or coinfection. The objective of this research was to evaluate the effects of the infection or coinfection by *Ehrlichia canis* (*E. canis*), *Babesia canis* (*B. canis*), and *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) in the hematological values during the subclinical phase in dogs of the urban area of Zaruma and Piñas. For this research 384 dogs from the urban area were used, 192 from Zaruma and 192 from Piñas; considering the following inclusion criteria: no clinical symptoms, normal general physical examination and presence or absence of hematological parasites in blood smears. Dogs were classified in 8 subgroups: Group 1, positive to *E. canis*; Group 2, positive to *B. canis*, Group 3, positive to *A. phagocytophilum*, Group 4, positive to *E. canis* and *B. canis*, Group 5, positive to *E. canis* and *A. phagocytophilum*, Group 6, positive to *B. canis* and *A. phagocytophilum* Group 7, positive to *E. canis*, *B. canis* and *A. phagocytophilum* and Group 8 or control, totally healthy animals. The samples were taken by puncture of the auricle for detection of hemoparasites by smears In situ and subsequent Giemsa stain and cephalic venipuncture for the hemogram. The results allowed us to determine the prevalence of hemoparasites in this area of the country, finding an incidence of 20.6% of *Ehrlichia*, being more recurrent in dogs, followed by *Babesia* 5.2%, *Anaplasma* 2.9% and in coinfection 5, 5% of the association *Ehrlichia* - *Babesia*, 0.8% *Ehrlichia* - *Anaplasma* , 0.5% *Anaplasma* – *Babesia* and 0% *Ehrlichia* – *Babesia* - *Anaplasma*, in terms of hematological values no significant alterations associated with hemoparasitic infection were found, concluding that the presence of these infectious agents falls on a very low proportion of erythrocyte or leukocyte values in dogs in the subclinical phase.

Keywords: Prevalence. Hemoparasites. *Ehrlichia canis*. *Babesia canis*. *Anaplasma phagocytophilum*. Hematologic disorders



Índice de Contenido

1. INTRODUCCION.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
General	17
Específicos.....	17
HIPÓTESIS.....	17
3. REVISIÓN DE LITERATURA	18
Vectores.....	18
3.1.1. Garrapatas	18
Taxonomía	19
Hemoparásitos.....	21
3.1.2. Ehrlichia canis	21
3.1.3. Anaplasma phagocytophilum	23
3.1.4. Babesia canis.....	24
Coinfección de patógenos.....	26
Prevención	27
Alteraciones en el hemograma	28
3.1.5. Alteraciones presentes en Ehrlichia	28
3.1.6. Alteraciones presentes en Anaplasma	28
3.1.7. Alteraciones presentes en Babesiosis.....	29
Identificación de hemoparásitos.....	29
Frotis sanguíneo	30
3.1.8. Tinción de Giemsa	30
3.1.9. Tinción de Wright	31
Hemograma	31
Leucograma	34
Plaquetas	35



4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
4.1. Materiales.....	37
4.1.1. Materiales Biológicos.....	37
4.1.2. Materiales Físicos	37
4.1.3. Materiales Químicos.....	37
4.2. Métodos	38
4.2.1. Localización Geográfica área de estudio.....	38
4.2.2. Metodología investigación no experimental.....	38
4.3. Criterios.....	39
4.3.1. Criterios de Inclusión	39
4.3.1. Criterios de exclusión	39
4.4. Selección de la población.....	39
4.5. Recolección de la Sangre	40
4.5.1. Frotis Sanguíneo	40
4.5.2. Hemograma.....	42
4.6. Biometría Hemática.....	42
4.6.1. Hematocrito	43
4.6.2. Hemoglobina	43
4.6.3. Volumen Corpuscular Medio (VCM).....	44
4.6.4. Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) ...	44
4.6.5. Eritrocitos y Leucocitos.....	44
4.6.6. Recuento de Plaquetas	45
4.7. Diseño Experimental	45
5. RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	46
5.1. Valores hematológicos en perros negativos y positivos a hemoparásitos	46



5.1.1.	Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a <i>E. canis</i>	48
5.1.2.	Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a <i>B. canis</i>	50
5.1.3.	Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a <i>A. phagocytophilum</i>	53
5.1.4.	Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a <i>Ehrlichia canis</i> y <i>Babesia canis</i>	54
5.1.5.	Relación de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a <i>Ehrlichia – Anaplasma</i> y <i>Babesia- Anaplasma</i>	55
5.2.	Prevalencia de Hemoparásitos	56
5.2.1.	Prevalencia de <i>Ehrlichia canis</i>	58
5.2.2.	Prevalencia de <i>Babesia canis</i>	59
5.2.3.	Prevalencia de <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	60
5.2.4.	Prevalencia de Hemoparásitos en Coinfección: <i>E. canis – B. canis</i> , <i>E. canis – A. phagocytophilum</i> y <i>B. canis – A. phagocytophilum</i>	61
6.	CONCLUSIONES	64
7.	RECOMENDACIONES.....	65
8.	BIBLIOGRAFIA.....	66
9.	ANEXOS.....	76



Índice de Tablas

Tabla 1. Intervalos de referencia para hematología (Vaden, Knoll, Smith, y Tilley, 2011).	32
Tabla 2. Valores de referenciales para el leucograma canino.	34
Tabla 3. Formulas leucocitarias relativas y absolutas (leucocitos = 10G/L).....	34
Tabla 4. Relación de los valores hematológicos con perros no infectados e infectados por hemoparásitos.	566
Tabla 5. Comparacion de proporciones entre perros negativos y positivos a Ehrlichia. canis en los niveles bajo y alto individualmente	48
Tabla 6. Comparacion de proporciones entre perros negativos y positivos a Babesia canis en los niveles bajo y alto individualmente	50
Tabla 7. Comparacion de medias de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a Babesia canis	52
Tabla 8. Comparacion de proporciones entre perros negativos y positivos a Anaplasma phagocytophilum en los niveles bajo y alto individualmente.....	53
Tabla 9. Comparacion de proporciones entre perros negativos y positivos a Ehrlichia canis y Babesia canis en los niveles bajo y alto individualmente	552
Tabla 10. Prevalencia total de perros infectados o coinfectados por hemoparásitos (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum)	56
Tabla 11. Prevalencia de perros infectados o coinfectados por hemoparásitos (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum) según el área urbana, Zaruma y Piñas	57



Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Ciclo de vida de la garrapata Marrón del perro (<i>Rhipicephalus sanguineus</i>)	
Fuente: Revista Veterinaria Argentina, octubre 2014.....	19
Ilustración 2. Clasificación de géneros de la familia Anaplasmataceae	
Fuente: (Dumler y col., 2001; Stuen y Longbottom, 2011)	20
Ilustración 3. Clasificación de la familia Babesiidae	
Fuente: Torres, 2016.	21
Ilustración 4. Mórula de <i>Ehrlichia Canis</i> en el citoplasma de un monocito x100)	
Fuente: Sainz y coll. Parasites and Vectors (2015).	21
Ilustración 5. Mórula de <i>Anaplasma Phagocytophilum</i> en el citoplasma de un neutrófilo (x100)	
Fuente: Sainz y col. Parasites and Vectors (2015).	23
Ilustración 6. <i>Babesia canis</i> con típica morfología piriforme en el interior de un eritrocito (100x)	
Fuente: (Banco de imágenes de la Facultad de Biología UCM).	26
Ilustración 7. Ubicación satelital las ciudades de Zaruma y Piñas.	
Fuente: Directorio cartográfico de Google Maps, 2018.	38
Ilustración 8. Técnica Frotis Sanguíneo	
Fuente: Bernadette et al., 2014.	41
Ilustración 9. Microhematocrito	
Fuente: García, 2012.....	43



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Wilkinz Guerrero Guayara en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "**Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica**", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 31 de octubre de 2019

Wilkinz Guerrero Guayara
Pasaporte: 79730271



Cláusula de Propiedad Intelectual

Wilkinz Guerrero Guayara autor del trabajo de titulación "Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 31 de octubre de 2019

Wilkinz Guerrero Guayara
Pasaporte: 79730271



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Karen Cecilia Lazo Espinoza en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "**Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica**", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 31 de octubre de 2019

Karen Cecilia Lazo Espinoza
C.I.: 0105358139



Cláusula de Propiedad Intelectual

Karen Cecilia Lazo Espinoza autora del trabajo de titulación "Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 31 de octubre de 2019

Karen Cecilia Lazo Espinoza
C.I.: 0105358139



Agradecimientos

Quiero agradecer a mi madre, quien a pesar de la distancia siempre me ha apoyado y ha estado junto a mí durante estos años, a mis hermanas y sobrinos por creer y confiar en mí, a doña Perpe que se ha convertido en mi madre adoptiva en este país porque sin su apoyo no habría logrado culminar esta etapa de mi vida y a Alexis, quien ha sido paciente e incondicional durante este proceso.

También agradezco a la Dra. Silvana Méndez, mi directora de tesis, por su paciencia y carisma, a todos aquellos docentes que me hicieron querer la profesión.

Wilkinz Guerrero Guayara



Agradecimiento

Agradezco a DIOS por protegerme, ayudarme y darme la fortaleza necesaria para poder salir adelante en todos los aspectos de mi vida; así como también agradezco a mi madre, quien ha sido un pilar fundamental, ya que con su apoyo me ha ayudado a que culmine mi carrera, a mi mejor amiga Carolina, quien ha sido una persona incondicional en mi vida; y quiero hacer extensivo mis más sinceros agradecimientos de manera especial a mi directora de tesis la Dra. Silvana Méndez, y a los señores miembros del tribunal, quienes atreves de sus conocimientos y orientación han sido excelentes guías para que poder desarrollar y terminar con éxito la presente tesis.

Karen Cecilia Lazo Espinoza



1. INTRODUCCION

Actualmente, las relaciones humano-animales, cada vez más estrechas, ponen en riesgo la salud pública debido a la posible transmisión de enfermedades zoonóticas. Hoy en día los perros dejaron de ser simples mascotas para convertirse en miembros de una familia compartiendo el mismo espacio que sus dueños. Esta estrecha relación coloca al ser humano en un estado de vulnerabilidad frente a la presencia de ectoparásitos responsables de la transmisión de enfermedades zoonóticas hemoparasitarias como: *E. canis* y *A. phagocytophilum*.

Debido al incremento de casos por infección de *Ehrlichia* y *Anaplasma spp.* en seres humanos; en Europa los estudios han aumentado, así como la relación entre la presentación de uno o los dos agentes infecciosos en un mismo animal con cambios en valores hematológicos (Sainz y col., 2015). En EEUU, el estudio experimental realizado por Gaunt y col. (2010), con *E. canis* y *A. platys* mostró también trombocitopenia y alteraciones marcadas frente a una coinfección, señalando que existe riesgo de agudización de la enfermedad ante la presencia de más de un hematozoario en el perro. En Ecuador, estudios revelan la prevalencia de este tipo de afecciones en todo el país, con mayor predominio en la región Costa; así lo indica Torres (2016), quien demostró la prevalencia de *B. canis* en perros atendidos en la ciudad de Machala; Tutachá (2016), identificó *E. canis* y *A. phagocytophilum* en perros callejeros de Guayaquil. McCown, Monterroso, y Grzeszak (2011), comprobaron la prevalencia de *E. canis* y *A. phagocytophilum* en las ciudades de Manta y Guayaquil; sin embargo, estos análisis no exponen la existencia de cambios hematológicos producidos por la presencia de estos hemoparásitos en perros.

En nuestro país, existen únicamente estudios acerca de la prevalencia de enfermedades transmitidas por hemoparásitos como: *E. canis*, *B. canis*, *A. phagocytophilum*, entre otros; sin embargo, no existen investigaciones realizadas sobre los cambios hematológicos que éstos producen en los perros infectados o coinfectados por los mismos. Actualmente, no hay datos publicados de seroprevalencia de este tipo de enfermedades en las ciudades de Zaruma y Piñas. Además, la detección de un posible patrón de cambios hematológicos en



perros durante la etapa subclínica permitirá un diagnóstico temprano, pudiendo prevenirse el estado crónico de la enfermedad, que generalmente es fatal.

En Ecuador, las condiciones climáticas y geográficas generan el ambiente idóneo para la recurrencia de hemoparásitos en los perros, lo que a su vez aumenta la posibilidad de contagio a los humanos; por lo que, una determinación temprana de la enfermedad podría llevar a futuro un tratamiento preventivo y no solo curativo como se da en la actualidad.

La investigación propuesta “Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en etapa subclínica”, nos permitió obtener datos reales de la presencia de estos agentes infecciosos en esta zona del país; además, se convierte en un referente para futuras investigaciones o proyectos de investigación en el área de hematología y salud pública.



2. OBJETIVOS

General

Evaluar los efectos de la infección o coinfección con *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en los valores hematológicos durante la fase subclínica en perros del área urbana de Zaruma y Piñas.

Específicos

- Identificar la presencia de *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en perros del área urbana de Zaruma y Piñas.
- Determinar los valores hematológicos en perros del área urbana de Zaruma y Piñas que se encuentran en fase subclínica de infección por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*.
- Comprobar si existe relación entre la infección y/o coinfección con el grado de alteración de los valores hematológicos en perros en fase subclínica.

HIPÓTESIS

Existe relación entre los perros diagnosticados con *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y *Babesia canis* con el grado de alteración de los valores hematológicos en fase subclínica.



3. REVISIÓN DE LITERATURA

Vectores

3.1.1. Garrapatas

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos que pueden transmitir múltiples patógenos peligrosos tanto a los animales como a humanos, se encuentran distribuidos ampliamente por todo el mundo presentando mayor concentración en los climas tropicales y subtropicales (Kelly y col., 2013). Estos ectoparásitos pertenecen al Phylum: Arthropoda, Clase: Arachnida, Orden: Metastigmata, Familia: Argasidae (garrapatas blandas) e Ixodidae (garrapatas duras); las garrapatas que atacan principalmente a mamíferos pertenecen a la familia Ixodidae que contempla varios géneros (Amblyomma, Rhipicephalus, Dermacentor e Ixodes) (Domínguez, 2011).

La garrapata de mayor distribución en el mundo es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), ésta tiene como hospedador habitual el perro doméstico, aunque también puede parasitar otras especies animales, e inclusive al hombre (Gutierrez, Perez, y Agrela, 2016); entre las principales enfermedades que transmite se encuentra la babesiosis canina, la ehrlichiosis canina (ehrlichiosis monocítica canina) y la anaplasmosis canina (Kumar, 2018). Esta garrapata puede albergar varios agentes infecciosos a la vez, lo que puede conllevar a una coinfección, causando daños fatales al hospedador (Ybañez y col., 2018).

La transmisión de estas enfermedades se da al momento en que la garrapata se alimenta de la sangre de un animal infectado ingiriendo las células con los microorganismos infecciosos; este ectoparásito sirve como vector y reservorio, ya que puede transmitir la enfermedad hasta 155 días después de ingerir la sangre infectada (Domínguez, 2011). Otras maneras de transmisión son las transfusiones sanguíneas de donadores infectados o las infecciones transplacentarias, aunque estas en menor frecuencia (Rodríguez, 2007).

- **Ciclo de vida**

Las formas parasitarias de *Rhipicephalus sanguineus* son tres: larva, ninfa y adulto.

Su ciclo comienza cuando las hembras ponen sus huevos, generalmente en pasto y estos eclosionan, después de este periodo se convierten en larva (con 6 patas), la larva se mueve en el pasto en busca de su primer hospedador, una vez a bordo de él, esta se alimenta de la sangre, posteriormente cae al suelo donde muda a ninfa (con 8 patas) y en su estado móvil busca a su siguiente hospedador y se alimenta de él; debido a su tamaño pasan desapercibidas; sin embargo, ya pueden transmitir enfermedades (Domínguez, 2011). Una vez alimentada la ninfa se deja caer y muda para convertirse en adulta (con 8 patas) y busca su tercer hospedador, donde se reproduce y alimenta. La hembra una vez fecundada y abastecida con suficiente alimento (aumenta 100 veces su peso), se deja caer al piso y empieza a ovopositar, cerrando así su ciclo (Álvarez, 2017).



Ilustración 1. Ciclo de vida de la garrapata Marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*)
Fuente: Revista Veterinaria Argentina, octubre 2014.

Taxonomía

La clasificación taxonómica del género Ehrlichia, se encontraba basada en características morfológicas de las bacterias antes pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae*, pero gracias a la clasificación genética y basándose en la secuencia del gen 16S rRNA, se ha podido reorganizar la taxonomía de éstos.

La denominada ehrlichiosis producida por las especies de los géneros Ehrlichia y Anaplasma, se las ha reubicado actualmente a la familia *Anaplasmataceae*, dentro del orden *Rickettsiales* (Lorente, 2005).

El género Ehrlichia incluye la especie *E. canis* y otras especies de este género: *E. chaffeensis*, *E. ewingii* y *E. muris*; por su lado el género Anaplasma incluye la especie *Anaplasma phagocytophilum* junto con otras especies como: *A. marginale*, *A. centrale*, *A. caudatum*, *A. bovis* y *A. platys* (Lorente, 2005).

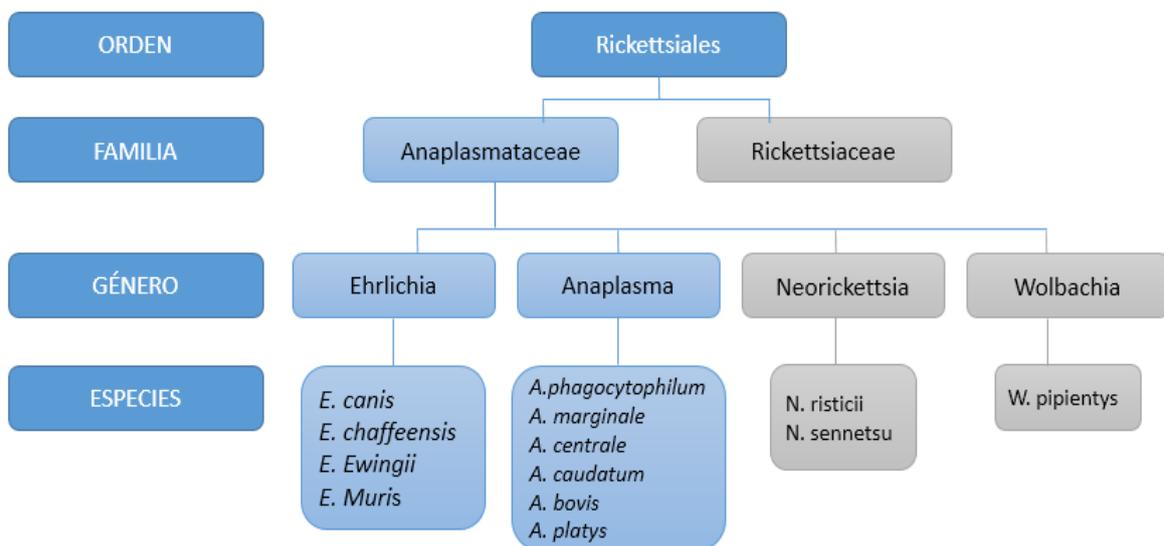


Ilustración 2. Clasificación de géneros de la familia *Anaplasmataceae*
Fuente: (Dumler y col., 2001; Stuen y Longbottom, 2011)

La babesiosis por otro lado, es causada por protozoos del género *Babesia*, perteneciente a la familia *Babesiidae*, orden *Piroplasmida*; considerada actualmente como una de las enfermedades más significativas transmitida por las garrapatas y de gran consideración por su zoonosis. Se han descrito más de 100 especies de *babesia*, sin embargo son pocas las especies que afectan tanto a humanos como a caninos. El género *babesia* que causan infección en los caninos comprende las especies: *B. canis* (forma grande 3-5 μm) y *B. gibsoni* (forma pequeña 1-3 μm) teniendo la primera tres subdivisiones, *B. canis canis*, *B. canis vogeli* y *B. canis rossi* (Torres, 2016).



Ilustración 3. Clasificación de la familia Babesiidae
Fuente: Torres, 2016.

Hemoparásitos

3.1.2. Ehrlichia canis

Ehrlichia canis es el agente etiológico de la ehrlichiosis monocítica canina (EMC) o ehrlichiosis canina, son microorganismos intracelulares, gram negativos con forma redonda o pleomórficos en ocasiones, se localizan en las vacuolas (mórulas) en el citoplasma de células sanguíneas, presentan tropismo hacia las células agranulares como los monocitos; afecta independientemente de la edad, sexo o raza, su distribución es mundial y se presenta más frecuentemente en zonas tropicales y subtropicales (Silva, Pina, y De la Torre, 2014).

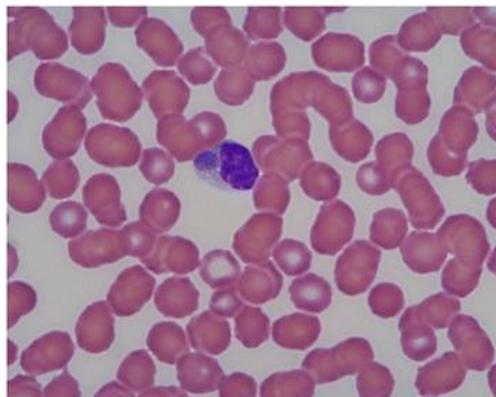


Ilustración 4. Mórula de *Ehrlichia canis* en el citoplasma de un monocito (x100)
Fuente: Sainz y coll. *Parasites and Vectors* (2015).



La ehrlichiosis canina se la conoce también con otros nombres como “enfermedad del perro rastreador”, “pancitopenia canina tropical”, “fiebre canina hemorrágica”, “rickettsiosis canina” o “tifus canina”, es una enfermedad que se transmite por medio de la picadura de las garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*), misma que afecta a miembros de la familia *Canidae* (lobos, perros, chacales, coyotes, zorros), siendo los más afectados los perros (Gutiérrez, Pérez, y Agrela, 2016).

- **Sintomatología**

La sintomatología varía según la edad y el estado inmune del afectado, se considera una enfermedad multisistémica que puede manifestarse en diferentes fases: fase aguda (2 a 4 semanas), fase subclínica (meses o años) o fase crónica (Mylonakis, 2019). Después de su período de incubación de 1 a 3 semanas aproximadamente, se pueden desarrollar estas fases (Sainz y col., 2015).

La fase aguda está caracterizada por fiebre alta, depresión, letargo, anorexia, esplenomegalia, petequias dérmicas, equimosis, y epistaxis. También presenta lesiones a nivel ocular (uveítis, hemorragia y desprendimiento de retina, o en ocasiones ceguera) y neurológico. En su forma subclínica no hay manifestaciones evidentes, pudiendo de esta manera en algunos canes progresar a su etapa crónica, con sintomatología similar a la fase aguda pero llegando a ser este más severo, teniendo así también mucosas pálidas, sangrado, debilidad y pérdida de peso significativo entre los más comunes (Harrus y Waner, 2011).

- **Diagnóstico**

El diagnóstico se basa en una buena anamnesis, aunque puede resultar desafiante para el clínico debido a sus diferentes fases y sus presentaciones clínicas. Las maneras que comúnmente son utilizadas para su diagnóstico son microscopía óptica (identificación de cuerpos de inclusión en frotis sanguíneo), serología (IFAT o ELISA), cultivo celular (aislamiento del agente), hematología y citología; sin embargo, para un definitivo diagnóstico es necesario utilizar técnicas moleculares (detección de anticuerpos y detección de ADN mediante PCR) (Romero, Dolz, y Romero, 2010).



- **Tratamiento**

Las terapias que se recomiendan para ehrlichiosis son Imidocarb (2 dosis de 5mg/kg con un intervalo de 14 días entre ambas S.C), doxiciclina (5 mg/kg cada 12 horas) o tetraciclinas (22 mg/kg cada 8 horas) administrados con una duración de 4 semanas (CVBD DIGEST, 2010). Se recomienda en casos severos una terapia de apoyo con transfusiones de sangre (plasma rico en plaquetas) o aplicación de fluidoterapia. En caso de trombocitopenia grave se puede utilizar corticoides (prednisolona) a corto plazo, teniendo en cuenta la disminución de la dosis por efectos adrenales (Caraguay, 2015).

3.1.3. *Anaplasma phagocytophilum*

Anaplasma phagocytophilum provoca la enfermedad de la ehrlichiosis granulocítica (canina o humana), son bacterias intracelulares, pleomórficos, gram negativas, de distribución cosmopolita que afecta tanto a humanos como animales, su transmisión se da principalmente por la garrapata (Tutachá, 2016). Esta rickettsia se replica en las vacuolas derivadas de la membrana celular de las células que infectan, principalmente leucocitos con tropismo hacia los neutrófilos (Domínguez, 2011).

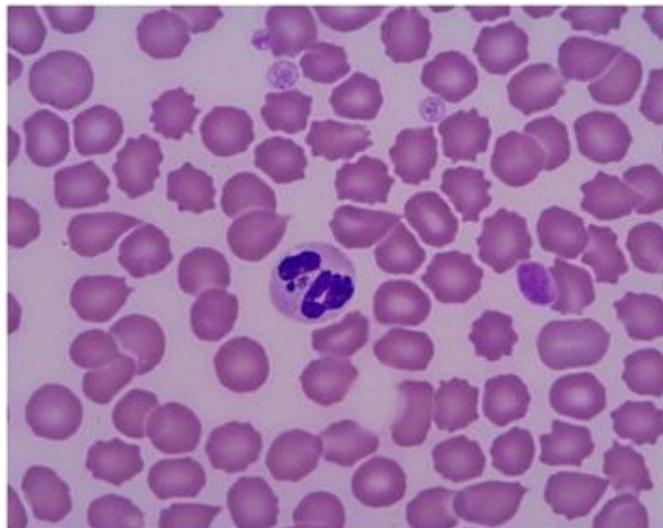


Ilustración 5. Mórula de *Anaplasma phagocytophilum* en el citoplasma de un neutrófilo (x100)
Fuente: Sainz y col. *Parasites and Vectors* (2015).

El periodo de incubación de *Anaplasma phagocytophilum* es de 1 a 2 semanas aproximadamente (Sainz y col., 2015) y cursa con una sintomatología similar a la de la ehrlichiosis canina, destacándose síntomas como letargo, inapetencia /



anorexia y fiebre; entre otros hallazgos, se puede encontrar mucosas pálidas, abdomen tenso, problemas gastrointestinales (vómito y diarrea), ganglios linfáticos ligeramente inflamados y sangrados (petequias, epistaxis, melena). Los síntomas poco frecuentes incluyen tos, uveítis, edema en las extremidades, polidipsia y poliuria (Sainz y col., 2015).

- **Diagnóstico**

El diagnóstico de esta enfermedad es semejante al diagnóstico la ehrlichiosis canina (Tutachá, 2016), y el método que más se utiliza debido a que presenta una mayor sensibilidad para *Anaplasma phagocytophilum* es el frotis sanguíneo, este se lo realiza con sangre periférica tomada inmediatamente después de su extracción, logrando así una mejor visualización de las mórulas en el interior de las células infectadas; esta extensión sanguínea debe secarse al aire y ser conservado a temperatura ambiente (Domínguez, 2011). Aunque el frotis es un buen método de diagnóstico, se recomienda confirmarse mediante PCR (Sainz y col., 2015).

- **Tratamiento**

El tratamiento de elección para las infecciones por *Anaplasma phagocytophilum* es la doxiciclina con dosis de 5 mg/kg cada 12 horas o 10 mg/kg una vez al día durante un periodo de 2 a 3 semanas, este régimen en la mayoría de los casos garantiza una buena respuesta en el animal. El dipropionato de Imidocarb también se ha descrito como una buena alternativa para el tratamiento de la anaplasmosis canina, al igual que la administración del cloranfenicol en cachorros que ha demostrado ser un buen tratamiento (Sainz y col., 2015).

3.1.4. *Babesia canis*

Babesia canis, es el agente causal de la babesiosis, es un hemoparásito intraeritrocitario del género *Babesia*, transmitido por garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor reticulatus*), que puede afectar tanto animales como humanos, otra forma de transmisión puede ser la trasfusión sanguínea de un portador infectado a un animal susceptible o por vía transplacentaria; su distribución es mundial y puede presentarse con una intensidad variada (relativa,



leve o fatal), dependiendo también del sistema inmunológico del hospedador (Domínguez, 2011).

Esta enfermedad también se la conoce como “piroplasmosis canina”, “fiebre de garrapatas”, “fiebre biliar”, “fiebre hematórica”, e “ictericia maligna” (Vasco, 2014). El periodo de incubación de la babesia es de 2 a 4 semanas aproximadamente, su sintomatología se presenta frecuentemente con anorexia, debilidad, postración, fiebre, pérdida de peso, palidez de las mucosas, entre otras (Torres, 2016).

- **Ciclo Biológico**

El ciclo biológico de la *Babesia canis* se alterna entre la reproducción asexual y sexual a lo largo de su desarrollo presenta tres fases típicas que tienen lugar en 7 días:

- Esquizogonia o merogonia: Reproducción asexual, dada en los glóbulos rojos del hospedador vertebrado.
- Gametogonia: Reproducción sexual, con la formación y fusión de los gametos en las células intestinales de la garrapata, hospedador invertebrado.
- Esporogonia: Reproducción asexual en las glándulas salivales de la garrapata, originándose los esporozoítos, agentes infecciosos que son transmitidos desde la saliva de la garrapata a la sangre del hospedador vertebrado (Fraga, 2014).

- **Diagnóstico**

El diagnóstico de esta enfermedad se la realiza mediante dos técnicas; la técnica de detección directa, esta se basa en realizar un frotis sanguíneo teñidos con Giemsa, en la cual se detecta la presencia de merozoítos en glóbulos rojos, este método de diagnóstico, se considera adecuado en la fase aguda de la enfermedad; por otro lado la técnica de detección indirecta, está basado en pruebas serológicas como la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IIR), siendo un método de diagnóstico que puede resultar ineficaz en la fase temprana de la infección (Moraes y col., 2014).

Otras pruebas como el ensayo inmunoenzimático absorbente (ELISA) y la fijación de complemento (FC), son válidas para su diagnóstico, pero su uso no es tan común (Fraga, 2014). (Birkenheuer, 2003), recomendó pruebas moleculares (PCR) para diagnosticar enfermedades parasitarias cuando su parasitemia es baja, esta se encuentra enfocada en la amplificación de fragmentos de ADN de los diferentes tipos de *Babesia* (*B. gibsoni*, *B. canis*, *B. vogeli* y *B. rossi*) (Moraes y col., 2014).

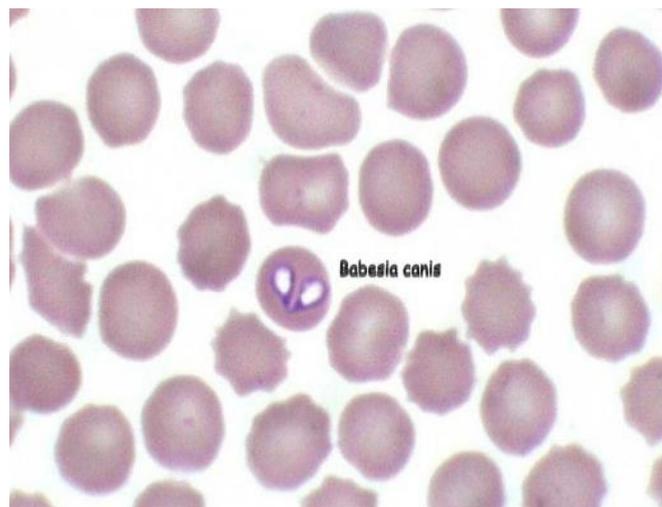


Ilustración 6. *Babesia canis* con típica morfología piriforme en el interior de un eritrocito (100x)
Fuente: (Banco de imágenes de la facultad de Biología UCM)

- **Tratamiento**

El tratamiento de elección para *Babesia canis* es el diprionato de Imidocarb, que actúan directamente en el núcleo del citoplasma del hemoparásito. Resulta eficaz en dos dosis de 4 - 6 mg/kg, IM o SC, administrado con un intervalo de 14 días entre ambas; también se recomiendan fármacos como el metronidazol (5 - 15mg/kg, oral cada 12 horas por 7 días), enrofloxacin (2.5 mg/kg, oral cada 12 horas por 5 días) y doxiciclina (10mg/kg, oral cada 12 horas por 7 a 10 días) (Torres, 2016). En estos casos graves, se recomienda administrar terapia de soporte con rehidratación y/o transfusión sanguínea (ESCCAP, 2012).

Coinfección de patógenos

La presencia de varios patógenos en un mismo individuo resulta común, debido a que estos patógenos se transmiten por un mismo vector artrópodo o por la exposición concurrente a múltiples vectores portadores de estas enfermedades (ehrlichiosis, anaplasmosis o babesiosis) (Sainz y col., 2015), como en el caso



de la garrapata marrón del perro que puede albergar varios agentes infecciosos a la vez, lo que puede conllevar a una coinfección produciendo signos clínicos graves o fatales en los animales. Estas coinfecciones tienden a complicar el cuadro clínico y por ende su diagnóstico, por lo que es necesario realizar un examen exhaustivo para así poder instaurar un tratamiento apropiado (Ybañez y col., 2018).

Prevención

La prevención debe estar dirigida principalmente al control de las garrapatas, y esto se puede lograr mediante un control químico utilizando acaricidas tanto en el animal como en el ambiente, estos productos se ofrecen en una gran variedad de presentaciones, tales como champús, jabones, collares, sprays, productos de administración oral o inyectables, entre otros. Otra manera de prevenir a estos ectoparásitos consiste dar un manejo profiláctico al entorno del animal, evitando así la disposición de las garrapatas. Se aconseja que en las áreas endémicas los animales reciban un tratamiento acaricida regular (Gutiérrez y col., 2016).

En caso de una infestación por garrapatas la eliminación de éstas se puede realizar de manera química mediante el uso de acaricidas o de manera mecánica por extracción manual, para ello se pueden utilizar pinzas o fórceps. La extracción se la realiza tomando a la garrapata con la pinza cerca de la cabeza y tirar hacia afuera con un movimiento suave y constante, evitando apretar o aplastar a la garrapata y cuidando que el aparato bucal no quede incrustado en la piel. Una vez removida la garrapata debe ser eliminada a través del inodoro o ser colocada en un recipiente con alcohol; adicionalmente se recomienda la utilización de guantes al realizar esta labor (Gutiérrez y col., 2016).

Por otra parte, los animales que ya han sido diagnosticados y tratados contra estas enfermedades (ehrlichiosis, anaplasmosis o babesiosis), deben tomarse también medidas profilácticas, debido a que tienen una mayor probabilidad de presentar una reinfección, ya que por lo general el medio ambiente en el que conviven continua siendo el mismo, aumentando así su riesgo (Domínguez, 2011).



Alteraciones en el hemograma

En la fase subclínica algunos animales logran recuperarse espontáneamente, mientras que la mayoría de éstos no pueden eliminar el agente causal (su estado inmune no es competente) por lo que siguen desarrollando infecciones subclínicas persistentes que puede durar hasta varios años, convirtiéndose de esta manera en portadores asintomáticos e instaurándose así la fase crónica (CVBD DIGEST, 2010). A nivel del laboratorio se pueden presentar algunas alteraciones en el hemograma de las enfermedades antes mencionadas, encontrando anomalías en los eritrocitos, leucocitos o plaquetas.

3.1.5. Alteraciones presentes en Ehrlichia

Los perros que se encuentran en fase subclínica y se muestran clínicamente sanos, pueden presentar trombocitopenia leve con aumento concomitante en el tamaño de las plaquetas; así como también un recuento reducido de neutrófilos sin llegar a ser leucopénicos, los animales en esta fase generalmente no se presentan anémicos; sin embargo, se puede evidenciar una disminución en el conteo total de eritrocitos, en el volumen corpuscular medio, en hematocrito y en hemoglobina (Waner y col., 1997).

En la fase aguda un hallazgo característico es la trombocitopenia moderada a grave con un aumento en el número de plaquetas grandes, la trombocitopenia aparece aproximadamente a los 10 días, alcanzando el punto más bajo a la tercera semana posterior a la infección con una disminución significativa del recuento de plaquetas, en esta fase también se puede encontrar leucopenia leve variable y anemia moderada (no regenerativa). La fase clínica aguda suele resolverse espontáneamente (Saito y Walker, 2016). La fase crónica presenta pancitopenia, trombocitopenia grave, leucopenia y una anemia marcada (CVBD DIGEST, 2010).

3.1.6. Alteraciones presentes en Anaplasma

Las alteraciones hematológicas que se presentan en la fase subclínica para esta enfermedad son variables e inespecíficas, sin embargo, entre los hallazgos anormales de laboratorio más comunes se encuentran la trombocitopenia y linfopenia como los principales; también se puede encontrar alterada la química



sanguínea, presentando una disminución de la albúmina en sangre y un aumento de la fosfatasa alcalina y la amilasa (Domínguez, 2011). En algunos casos, los animales después de la fase subclínica, pueden desarrollar una fase crónica grave con una pancitopenia marcada que puede resultar potencialmente mortal (Kelly y col., 2013).

3.1.7. Alteraciones presentes en Babesiosis

Las alteraciones hematológicas encontradas en *Babesia* son trombocitopenia, leucocitosis y anemia (Domínguez, 2011). Una prueba altamente específica que puede usarse para el diagnóstico de la mayoría de perros infectados por *Babesia* (Łyp, 2016), es el frotis sanguíneo teñido con Giemsa o Wright donde permite observar la presencia de los merozoitos en los glóbulos rojos; esta prueba resulta fácil y accesible, siendo un método adecuado en la fase aguda de la enfermedad (Torres, 2016).

Identificación de hemoparásitos

Los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* infectan diferentes tipos de células, nombrándose a las enfermedades según las células sanguíneas infectadas.

La *Ehrlichia canis* infecta principalmente a los agranulocitos (monocitos y linfocitos), mientras que la *Anaplasma phagocytophilum* infecta los granulocitos, presentando especial tropismo por los neutrófilos. Estas bacterias ingresan por fagocitosis a las células sanguíneas, alojándose en sus vacuolas citoplasmáticas, en donde se dividen hasta formar colonias de bacterias conocidas como mórulas, siendo la característica distintiva de este grupo de patógenos. Estos agentes infecciosos son detectados en los frotis sanguíneos mediante las tinciones de Giemsa o Wright, mostrándose como inclusiones redondeadas o elongadas (Dolz, Ábrego, y Romero, 2013).

Estas bacterias pertenecientes a la familia Anaplasmataceae, presentan tres estadios diferentes, que son: los cuerpos elementales (unidad bacteriana), cuerpos iniciales y mórulas. Los cuerpos elementales son las formas maduras infectantes extracelulares, se encuentran adheridas a la superficie de la célula infectada, presentan un centro denso y miden de 0,4 a 0,6 μm de diámetro, estos cuerpos entran a la célula huésped, se multiplican por fisión binaria y forman



inclusiones citoplasmáticas inmaduras de 1,0 a 2,5 μm de diámetro denominadas cuerpos iniciales, luego forman mórulas (4 a 6 μm de diámetro), mismas que se observan al microscopio (Gutiérrez y col., 2016).

Por otro lado, la *Babesia canis* en las extensiones sanguíneas se visualiza como organismos piriformes bilobulados (merozoitos) dentro de los eritrocitos del hospedador (Uilenberg, 2006).

Frotis sanguíneo

El frotis sanguíneo, es un método de laboratorio utilizado para identificar las características citológicas de las células de la sangre. Los frotis pueden realizarse de dos formas: sobre portaobjetos o sobre cubre objetos; se utiliza preferentemente la técnica con porta-objetos porque son más fáciles de manipular y rotular, no requiere montaje y puede archivarse de inmediato. En cualquiera de las dos formas, para realizar los frotis las laminillas deben estar limpias, secas y sin grasa; una vez que se ha realizado el extendido de la sangre se deja secar al aire. El tiempo y la forma de hacer los frotis sanguíneos dependerán de la tinción que se vaya a utilizar (Domínguez, 2011).

En los frotis con tinción de Giemsa o Wright se puede visualizar tanto los parásitos como las mórulas en las células infectadas, la sensibilidad de esta prueba puede aumentar mediante la realización de frotis de la capa flogística o frotis de sangre obtenida del margen de pabellón auricular (Caraguay, 2015). Este método también es utilizado para evaluar las coinfecciones con otros hemoparásitos que son transmitidos por las garrapatas, por otro lado, el recuento de plaquetas en las extensiones sanguíneas sirven como método para corroborar el diagnóstico (Harrus y Waner, 2011).

3.1.8. Tinción de Giemsa

La tinción de Giemsa es un método utilizado para teñir frotis sanguíneos y descubrir parásitos en la sangre, permite también diferenciar los distintos componentes celulares de la sangre según su afinidad por los colorantes básicos, ácidos o la mezcla de éstos; esta tinción consiste en una mezcla de eosina, azul de metileno y varios azules (azur A y B) que dan como resultado una coloración marfil o azul claro al citoplasma, naranja rosado a los eritrocitos,



azul púrpura a los núcleos de los leucocitos, rojo naranja a las granulaciones eosinófilas, pardo claro o violeta claro a las granulaciones neutrófilas, azul oscuro o púrpura a las granulaciones basófilos y color lila oscuro a las plaquetas (Domínguez, 2011).

Tanto la eosina como el azul de metileno son muy sensibles a las variaciones de pH de las diferentes estructuras celulares, de forma que los que poseen propiedades básicas fijan los colorantes ácidos (eosina) tiñéndose de color rojo naranja, mientras que los que poseen propiedades ácidas fijan los colorantes básicos (azul de metileno) adquiriendo un color azul oscuro y los que poseen propiedades de carácter neutro fijan ambos colorantes simultáneamente, tomando un color pardo (Retamales y Manzo, 2018).

3.1.9. Tinción de Wright

La tinción de Wright es un método utilizado para teñir frotis sanguíneos y diferenciar los distintos componentes celulares de la sangre, esta tinción es de tipo Romanowsky, que consiste en la mezcla de un colorante ácido (eosina) y uno o varios colorantes básicos (azul de metileno, azur A, azur B y azur C), que combinados dan como resultado una coloración púrpura a los núcleos de los leucocitos y a los gránulos de los neutrófilos y una coloración rosa a los eritrocitos (Domínguez, 2011). Estos colorantes son sustancias capaces de fijarse selectivamente según su afinidad química y su tinción es a causa de las interacciones del azul B y la eosina Y.

Los agrupamientos de ácidos nucleicos, las proteínas de los núcleos celulares y el citoplasma inmaduro reactivo, se fijan al colorante básico (azul B) y los agrupamientos básicos de las moléculas de hemoglobina y de las proteínas básicas, se fijan al colorante ácido (eosina Y). El resultado puede variar o verse influenciado por el pH de la solución, el tiempo y la fijación de la tinción (Gutiérrez, 2008).

Hemograma

El hemograma es un análisis de sangre del que obtenemos información sobre la morfología, número y características de los eritrocitos (eritrograma), de los leucocitos (leucograma) y de las plaquetas. Este análisis permite detectar



alteraciones en los valores hematológicos cuando hay presencia de una enfermedad (Wittwer, 2012).

Tabla 1. Intervalos de referencia para hematología (Vaden, Knoll, Smith, y Tilley, 2011).

Parámetro	Unidades	Valor referencial
Glóbulos rojos	$\times 10^{12}/L$	5,5 - 8,5
Hemoglobina	g/L	120 – 180
Hematocrito	L/L	0,37 – 0,55
VCM	fL	60 – 77
CGMH	g/L	320 – 360
Plaquetas	$\times 10^9/L$	200 – 700
Glóbulos blancos	$\times 10^9/L$	55 – 78
Neutrófilos	%	60 - 64
Basófilos	%	0 – 1
Linfocitos	%	12 – 30
Monocitos	%	3 – 6
Eosinófilos	%	2 – 5

- **Eritrocitos**

Los eritrocitos o también llamados hematíes o glóbulos rojos, son células de la sangre encargados de proteger, transportar y optimizar la acción de la hemoglobina, su forma es discoidal bicóncava, sin núcleo y su citoplasma es de color rojizo o rojizo anaranjado. Para verificar su número se aplica la prueba de recuento sanguíneo completo (RSC), que ayuda a determinar la presencia de alteraciones; el número de eritrocitos por volumen de sangre en la mayoría de animales se encuentra entre 5,5 y 8,5 $\times 10^{12}/L$. El incremento del número sobre el límite superior se da en casos de eritrocitosis absolutas o relativas, y la disminución en casos de anemia (Gallo, 2014).

- **Hemoglobina**

La hemoglobina es una proteína que se encuentran en grandes concentraciones en los glóbulos rojos, encargada del intercambio gaseoso de oxígeno y dióxido



de carbono entre los pulmones y los tejidos; está formada por globulinas (96%) y por un grupo prostético o hemo (4%) de color rojo, formado a su vez por grupos porfirínicos y Fe. En la mayoría de los mamíferos la concentración de hemoglobina es de 120 a 180 g/L. La concentración de hemoglobina se encuentra aumentada principalmente en la eritrocitosis, anemia por déficit de vitamina B6, diarrea o deshidratación, y se encuentra disminuida en las anemias, leucemia o déficit de vitamina C (Franco, 2010).

- **Hematocrito**

Es el volumen porcentual ocupado por los eritrocitos en la sangre. Fluctúa entre 0,37 a 0,55 L/L en mamíferos, este es uno de los exámenes más utilizados en el estudio de la línea roja por su simplicidad, exactitud y precisión. Se determina mediante la técnica de micro-hematocrito que consiste en centrifugar la sangre con anticoagulante depositado en un tubo capilar durante 5 minutos a 13.000 rpm, logrando así separar la sangre en sus 3 partes (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plasma); su volumen aumenta en deshidratación (aumento relativo) o eritrocitosis (aumento verdadero o absoluto), y disminuye en las anemias (C. A. Gallo, 2014).

- **Volumen Corpuscular Medio (VCM)**

Es el volumen medio de eritrocitos, permitiendo conocer el tamaño de los mismos. Se expresa en femtolitros que corresponde a 1 micra cubica (60 – 77 f/L). El VCM indica las variaciones que se pueden presentar en cuanto al tamaño, siendo normocitos si los eritrocitos están de tamaño normal, macrocitos si los eritrocitos son grandes y microcitos si los eritrocitos son pequeños. El VCM puede aumentar en anemias regenerativas y déficit de vitamina B12 o ácido fólico, y disminuir por déficit de cobre o hierro (Huerta, 2018).

- **Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)**

La CHCM nos indica la concentración de hemoglobina presente en los eritrocitos, su valor en mamíferos es de 320 – 360 g/L. Los eritrocitos que tienen una cantidad normal de hemoglobina se denominan como normocrómicos, mientras que los eritrocitos que tienen una cantidad escasa de hemoglobina se denominan hipocrómicos. La CHCM se ve disminuido en anemias regenerativas, déficit de



hierro o reticulocitosis; no se encuentran afecciones en la cual el valor de la CHCM se encuentre aumentada, puesto que los hematíes no pueden estar sobresaturados de hemoglobina (Tepán, 2017).

Leucograma

El leucograma comprende el recuento de leucocitos totales (concentración de los glóbulos blancos en sangre) y la fórmula leucocitaria (FL) o recuento diferencial. La fórmula leucocitaria representa la cantidad (FL absoluta) o proporción (FL relativa) de cada tipo de glóbulo blanco de la sangre. La fórmula leucocitaria absoluta se expresa en mm^3 (la sumatoria debe coincidir con el recuento total), por otro lado la fórmula leucocitaria relativa al ser una proporción, se expresa en porcentaje (la sumatoria debe ser 100) (Coppo, 2015).

Tabla 2. Valores de referenciales para el leucograma canino.

Parámetro	Valor referencia
Leucocitos ($\times 10^9/\text{L}$)	55 - 12
Neutrófilos (%)	60 - 64
Basófilos (%)	0 - 1
Eosinófilos (%)	2 - 5
Monocitos (%)	3 - 6
Linfocitos (%)	12 - 30

Fuente: (Coppo, 2015)

Tabla 3. Formulas leucocitarias relativas y absolutas (leucocitos = $10\text{G}/\text{L}$).

Leucocitos Totales	Leucocitos = $10.000/\text{mm}^3$	
	FL Relativa	FL Absoluta
Neutrófilos	60	6.000
Basófilos	0	0
Eosinófilos	4	400
Monocitos	6	600
Linfocitos	30	3.000

Fuente: (Coppo, 2015)



- **Leucocitos**

Estos corresponden a las diferentes células blancas nucleadas de la sangre que incluyen a los granulocitos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos) y agranulocitos (monocitos y linfocitos). Todas esas células hacen parte del mecanismo de defensa del organismo, aunque cinética, morfológica y funcionalmente son diferentes. Los monocitos y neutrófilos son células fagocitarias, mientras que los linfocitos actúan en la respuesta inmune celular y humoral (Wittwer, 2012).

- **Neutrófilos:** Actúan en microfagocitosis, su aumento se da en inflamaciones, infecciones agudas, intoxicaciones, hemorragias, estrés, debilidad y fiebre; sus valores disminuyen en hipoplasia medular o intoxicaciones por agentes químicos, entre los principales.
- **Basófilos:** Elaboran histamina, heparina y serotonina. Aumentan en policitemias, hiperlipemias y su disminución no es significativa.
- **Eosinófilos:** Elaboran antihistamínicos. Su aumento se relaciona principalmente con parasitosis.
- **Monocitos:** Efectúan la fagocitosis, estimulan la defensa inmunológica al activar a los linfocitos. Sus valores se elevan en inflamaciones, infecciones crónicas e intoxicaciones como las principales, no teniendo mayor importancia su disminución.
- **Linfocitos:** Participan en la inmunidad celular (T) y humoral (B). Aumentan en inflamaciones, infecciones crónicas, leucemias, intoxicaciones especialmente por barbitúricos, diabetes mellitus e hipoadrenocorticismo. Disminuyen en fases febriles de las infecciones (Coppo, 2015).

Plaquetas

Las plaquetas o trombocitos son pequeñas células que circulan en la sangre, desempeñan un papel esencial en la hemostasia formando coágulos y reparando vasos sanguíneos dañados (Bermejo, 2017). Su recuento resulta en una prueba confiable para el diagnóstico de las enfermedades causadas por las garrapatas



(ehrlichiosis canina, anaplasmosis phagocytophilum y babesiosis canina) (Özata y Ural, 2014), de igual manera se utiliza también para evaluar la recuperación de las mismas (Ybañez y col., 2018).

El recuento de plaquetas nos da el número de plaquetas por volumen de sangre circulante siendo un rango normal de 200 a 700 $\times 10^9$ /L. Se determina mediante el recuento en cámara de Neubauer o mediante observación en frotis de sangre donde la media debe ser de 10 a 20 por campo de visión a 1000x. El aumento o disminución en su recuento, es esencial para determinar los trastornos de coagulación; una cifra media menor a 5 p/c indica trombocitopenia, mientras que un aumento en las plaquetas indica hemorragias, estrés o anemias (hemolítica o ferropénica) (Wittwer, 2012).

- **Tiempo de coagulación**

El tiempo de coagulación de la sangre se entiende como el tiempo para que la sangre coagule en un periodo de tiempo determinado (Zamora, 2012). Esta prueba es medida por la técnica de Lee-White, que consiste en colocar sangre sin anticoagulante en tubos mantenidos a 37°C y examinarlos a simple vista cada 30 segundos hasta detectar la formación del coágulo. Los valores de referencia del tiempo de coagulación en el perro son de 3-6 minutos. Un aumento del tiempo de coagulación indica trombocitopenias, hemofilias, hepatopatías, deficiencias de fibrinógeno y vitamina K; y una disminución del tiempo de coagulación indica hemorragias, cardiopatías descompensadas, entre otras (Coppo, 2015).

- **Retracción de coágulo**

La retracción del coágulo depende del número de plaquetas, de su actividad funcional y de la concentración del fibrinógeno. El grado de retracción se correlaciona muy bien con el número de plaquetas (Zamora, 2012). Según la técnica de McFarlane, la sangre sin anticoagulante se conserva a 37°C, y periódicamente se va midiendo el porcentaje de suero trasudado. Este valor suele apreciarse a los 60 minutos, lapso durante el cual debe haber trasudado el 10% del suero. El aumento de este lapso puede indicar trombocitopenia, alteraciones del fibrinógeno o policitemias y la disminución del mismo se puede presentar en anemias (Coppo, 2015).



4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Materiales Biológicos

- Sangre entera de perros domésticos

4.1.2. Materiales Físicos

- Tubos con EDTA
- Aguja para punción venosa Vacutainer
- Portaobjetos
- Capilares
- Micro-centrífuga
- Lector de hematocrito
- Microscopio
- Contador manual para leucocitos
- Cooler para muestras
- Tubo de hule y boquilla
- Pipeta de Thomas

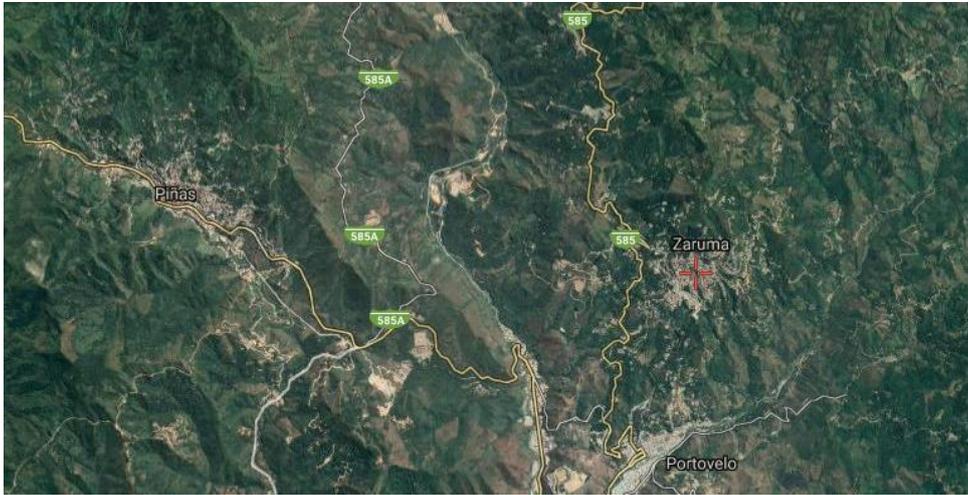
4.1.3. Materiales Químicos

- Tinción de Giemsa
- Tinción de Wright
- Reactivos para hemoglobina (Drabkin)
- Reactivos para seria blanca y roja (Turk y Hayem)



4.2. Métodos

4.2.1. Localización Geográfica área de estudio



*Ilustración 7. Ubicación satelital las ciudades de Zaruma y Piñas.
Fuente: Directorio cartográfico de Google Maps, 2018.*

Esta investigación se llevó a cabo en las zonas urbanas de los cantones Zaruma y Piñas; el cantón Piñas limita al Norte con los cantones Atahualpa y Santa Rosa, al Sur con la provincia de Loja, al Este con los cantones de Portovelo y Zaruma, y al Oeste con los cantones Balsas, Marcabeli y Arenillas ubicado en las siguientes coordenadas: latitud $3^{\circ}40'51.9''$ S, longitud $79^{\circ}40'51''$ O, esta zona presenta una temperatura promedio de 22°C y está ubicado a una altura de 1017 msnm, mientras que el cantón Zaruma limita al norte con la provincia del Azuay, al sur con el Cantón Piñas, al oeste con el Catón Portovelo y al oeste con los cantones Chilla y Atahualpa, cuyas coordenadas son: latitud $3^{\circ}41'28''$ S, longitud $79^{\circ}36'42''$ O, con una temperatura promedio de 22°C y a una altura de 1198 msnm, estas ciudades se encuentran en la parte alta de la provincia de El Oro, a 259 kilómetros aproximadamente de la ciudad de Cuenca.

4.2.2. Metodología investigación no experimental

- **Población: muestra**

Se utilizaron perros únicamente del área urbana de Zaruma y Piñas, al no existir un censo de la población canina en estas ciudades se manejó una población infinita. El tamaño de la muestra se calculó tomando como referencia una probabilidad del 50%, ya que al no haber estudios previos no se conoce la



posibilidad de acierto, con un margen de confianza del 95% y 5% de error estimado, lo que nos da un tamaño de muestra de 384 perros, datos calculados con InfoStat y Asedesto.

$$n = \frac{Z^2 \times p \times q}{e^2} \qquad n = \frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{0,05^2} \qquad n = 384$$

4.3. Criterios

4.3.1. Criterios de Inclusión

Grupo 1 o control sin presencia de hemoparásitos

- Sin sintomatología clínica.
- Examen físico general normal.
- Sin presencia de parásitos hematológicos en frotis sanguíneo.

Grupo 2 o con presencia de hemoparásitos

- Animales sin sintomatología clínica.
- Examen físico general normal.
- Presencia de hemoparásitos en frotis sanguíneo.
- Que no hayan sido tratados contra hemoparásitos.

4.3.1. Criterios de exclusión

- Animales con sintomatología clínica.
- Animales que en el examen físico general presenten alguna anormalidad.
- Animales que hayan recibido tratamiento contra hemoparásitos en los últimos 6 meses.

4.4. Selección de la población

Se tomaron 384 muestras de forma aleatoria entre las dos ciudades, los animales del estudio fueron perros domésticos, y la recolección se hizo de casa en casa; 192 de la ciudad de Zaruma y 192 de la ciudad de Piñas, se realizó una anamnesis completa a los propietarios de cada animal, así como un examen físico completo y frotis sanguíneo para determinar la presencia o no de hemoparásitos; tomando en cuenta los criterios de inclusión, los animales se



clasificaron en 8 subgrupos: Grupo 1, positivos a *Ehrlichia canis*, Grupo 2, positivos a *Babesia canis*, Grupo 3, positivos a *Anaplasma phagocytophilum*, Grupo 4, positivos a *Ehrlichia* y *Babesia*, Grupo 5, positivos a *Ehrlichia* y *Anaplasma*, Grupo 6, positivo a *Babesia* y *Anaplasma*, Grupo 7, positivos a *Ehrlichia*, *Babesia* y *Anaplasma*, Grupo 8 o control, animales totalmente sanos. Al no presentarse ningún caso positivo a *Ehrlichia*, *Babesia* y *Anaplasma*, este grupo fue excluido.

4.5. Recolección de la Sangre

Las muestras de sangre se tomaron por punción periférica de la arteria del pabellón auricular para realizar el frotis sanguíneo y por venopunción de la vena cefálica para realizar el hemograma.

4.5.1. Frotis Sanguíneo

Para la detección de hemoparásitos se realizó punción en el pabellón auricular, ya que después de la fase aguda existe mayor posibilidad de encontrar mórulas de *E. canis*, *B. canis* y *A. phagocytophilum* en sangre periférica (Allison y Little, 2013). A continuación se describe la técnica:

- Previa desinfección del pabellón auricular, con aguja fina se punza la cara interna de la oreja del perro, la gota de coloca directamente al extremo del portaobjetos.
- En ángulo de 45° se coloca el borde de otro portaobjetos y se desliza hasta tocar la gota, se espera que la sangre se distribuya por capilaridad para luego deslizar el portaobjetos hasta el otro extremo obteniendo una capa fina de sangre.
- Se deja secar la sangre a temperatura ambiente (Bernadette, Rodak, y Fritsma, 2014).

El frotis sanguíneo presenta tres zonas diferenciadas: 1) Cabeza: zona en la que se deposita la gota de sangre, suele ser gruesa y no apta para la observación de células; 2) Cuerpo: es la continuación de la extensión sanguínea en el cual existe un reparto uniforme de las células, es considerada como la zona ideal para la observación microscópica, debido a que su espesor es el apropiado; 3) Cola: es

la porción terminal del frotis sanguíneo, su zona es la más fina (Domínguez, 2011).

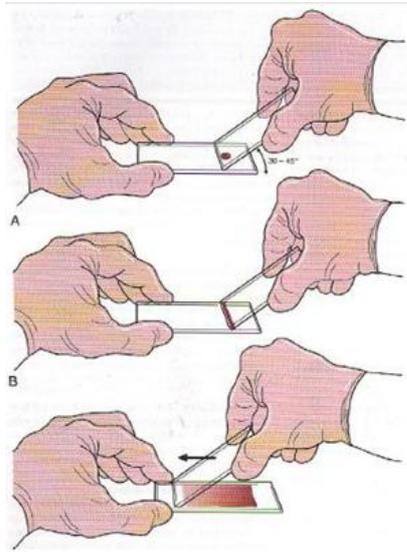


Ilustración 8. Técnica Frotis Sanguíneo
Fuente: Bernadette et al., 2014.

- **Tinción de Giemsa**

Esta técnica nos permite teñir el frotis sanguíneo e identificar la presencia de parásitos presentes en sangre siguiendo estos pasos:

- Con el alcohol metílico se cubrió la superficie del frotis por 5 minutos y se eliminó el exceso.
- Se diluyeron 2 gotas del colorante por cada ml de agua destilada y se cubrió el portaobjetos, dejando actuar de 20 a 25 minutos.
- Se lavó con agua.
- Se dejó secar la preparación en posición vertical al aire.
- Se observó al microscopio con objetivo de inmersión (C. A. Gallo, 2014).
- Transcurrido ese tiempo se lavó la extensión teñida con abundante agua y se eliminó el exceso.
- Se dejó secar al aire libre para observar al microscopio.

- **Identificación de hemoparásitos**

- *Ehrlichia canis*: se utilizó lente de 100x con aceite de inmersión para identificar cuerpos de inclusión en agranulocitos, estos se observan como formas elongadas o alargadas.



- *Babesia Canis*: Con lente de inmersión se visualizaron como organismos puntiformes dentro del eritrocito.
- *Anaplasma phagocytophilum*: la visualización de este agente infeccioso se realiza como en los 2 hemoparásitos anteriores, utilizando lente de 100x para la identificación de mórulas en los neutrófilos. (**Ver Anexo 5**)

4.5.2. Hemograma

Mediante venopunción de la vena cefálica se colectó 2ml de sangre en frascos con EDTA para realizar el examen hematológico completo, el cual se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca.

Los pasos para la extracción de sangre se describen a continuación:

- Se desinfectó el sitio de punción (antiséptico).
- Se utilizó torniquete alrededor de la extremidad anterior.
- Se introdujo una aguja en la vena.
- Se recogió la sangre en un frasco con EDTA
- Se retiró el torniquete
- Se retira la aguja y se ejerce presión con un algodón

- **Tinción de Wright**

Esta tinción se usó para teñir el frotis sanguíneo y lograr hacer la diferenciación de los distintos componentes celulares:

- Se cubrió el frotis sanguíneo en su totalidad con tinción de Wright (aproximadamente 1 ml del colorante) y se dejó actuar durante 3 minutos.
- Se añadió aproximadamente la misma cantidad de solución amortiguadora (buffer), y se sopló ligeramente con una pipeta para homogenizar la muestra, dejándolo reposar durante 6 minutos.

4.6. Biometría Hemática

Conteo sanguíneo completo que permite identificar los 3 tipos de células sanguíneas: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

4.6.1. Hematocrito

- Se homogenizó la muestra, luego se llenó el tubo capilar hasta las $\frac{3}{4}$ partes y se selló con plastilina.
- Se llevó el capilar a la microcentrífuga durante 5 minutos a 13.000 rpm. Para la interpretación se utilizó una tabla de lectura para microhematocrito (García, 2012).

Para la lectura se colocó el tubo capilar en el lector de hematocrito verificando que coincida la sangre con la línea inferior, y que el plasma coincida con la línea superior y se registró el valor obtenido. Los eritrocitos se compactan en la parte inferior del capilar, dejando la capa leucoplaquetaria en el centro y el plasma en la parte superior (Villiers y Blackwood, 2015).

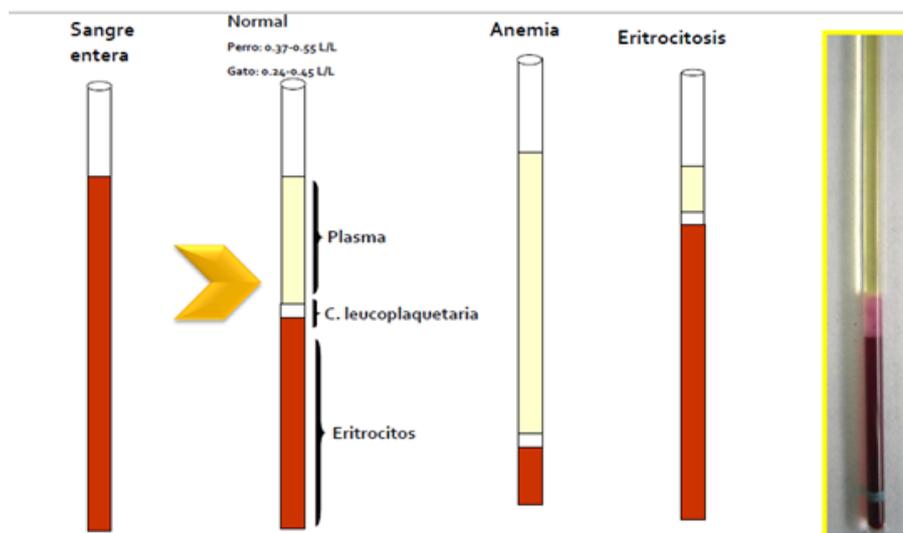


Ilustración 9. Microhematocrito
Fuente: García, 2012.

4.6.2. Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) se calculó utilizando el valor del hematocrito (PVC) por la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), dividido para la constante (100).

$$Hb: \frac{MCHC (g/L) \times PVC\%}{100}$$



4.6.3. Volumen Corpuscular Medio (VCM)

Para conocer el tamaño de los eritrocitos se utilizó la siguiente fórmula matemática:

$$\text{Matemáticamente VCM} = \frac{\text{Hematocrito (L/L)} \times 10}{\text{Eritrocitos (x10}^{12}\text{/L)}}$$

4.6.4. Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

La concentración de hemoglobina presente en los eritrocitos se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Matemáticamente CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/L)} \times 100}{\text{Hematocrito (L/L)}}$$

4.6.5. Eritrocitos y Leucocitos

- Este recuento se realizó utilizando la pipeta de Thomas; para los eritrocitos se aspiró la sangre hasta la marca de 0.5, aspirando posteriormente el líquido diluyente hasta donde marca 101 (dilución 1:200).
- Una vez llena las pipetas se agitaron en el agitador de pipetas durante 3 minutos dejando reposar por 10 minutos más.
- Se eliminaron las primeras gotas de las pipetas y se colocó una gota en cada lado de la cámara de Neubauer llevándola posteriormente al microscopio para el conteo respectivo.

• Calculo de Eritrocitos

$$\text{GR Totales} = \frac{\text{GR contados (profundidad) (dilución)}}{\text{Superficie contada}}$$

$$\text{GR Totales } \mu\text{L} = \frac{\text{GR contados (10) (200)}}{0.2}$$



- **Calculo de Leucocitos**

$$\text{GB Totales} = \frac{\text{GB contados (profundidad) (dilución)}}{\text{Superficie contada}}$$

$$\text{GB Totales} = \frac{\text{GB contados (10) (20)}}{4}$$

4.6.6. Recuento de Plaquetas

Para calcular el número de plaquetas por volumen de sangre circulante se utilizó el frotis sanguíneo teñido con tinción de Wright observado al microscopio con lente 100x, la fórmula utilizada es la siguiente:

$$\text{Numero de plaquetas} = \text{recuento de plaquetas} \times 1000$$

- **Tiempo de coagulación**

Para medir este analito se utilizaron 2 ml de sangre fresca colocada en un tubo sin anticoagulante mantenido la temperatura de 37°, observándolos cada 30 segundos hasta que se detectara la formación de coagulo.

El valor en el perro varía entre 3-6 minutos.

- **Retracción del coagulo**

La sangre recolectada en tubos sin anticoagulante se conserva a 37° y se mide el valor de suero trasudado, este valor suele apreciarse a los 60 minutos.

4.7. Diseño Experimental

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS® versión 24 para estadísticos descriptivos e InfoStat para medidas de resumen y t- student para comparación de medias. Los datos obtenidos se tabularon en el programa de EXCEL, para exponer en cuadros y gráficos.



5. RESULTADOS y DISCUSIÓN

Los resultados están dados en 2 secciones, primero encontramos los valores hematológicos correlacionados con la infección o confección de los animales, y segundo la prevalencia de la enfermedad en las zonas de estudio.

5.1. Valores hematológicos en perros negativos y positivos a hemoparásitos

Los valores hematológicos de los perros del área urbana de Zaruma y Piñas infectados o coinfectados por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* se encuentran dentro de los rangos fisiológicamente normales. (ver Anexo 6)

Tabla 4. Relación de los valores hematológicos con perros no infectados e infectados por hemoparásitos

Prueba Hemática	Nivel	Negativos		Positivos		Total		P
		Casos	%	Casos	%	Casos	%	
Glóbulos Rojos #	Bajo (<5,5)	37	14,9	32	23,5	69	18	0,02
	Normal (5,5 - 8,5)	167	67,3	92	67,6	259	67,4	
	Alto (>8,5)	44	17,7	12	8,8	56	14,6	
Hemoglobina #	Bajo (<120)	16	6,5	10	7,4	26	6,8	0,10
	Normal (120 - 180)	21	8,5	21	15,4	42	10,9	
	Alto (>180)	211	85,1	105	77,2	316	82,3	
Hematocrito #	Bajo (<0,37)	24	9,7	25	18,4	49	12,8	0,04
	Normal (0,37 - 0,55)	195	78,6	94	69,1	289	75,3	
	Alto (>0,55)	29	11,7	17	12,5	46	12	
VGM #	Bajo (<60)	61	24,6	20	14,7	81	21,1	0,05
	Normal (60 - 77)	141	56,9	82	60,3	223	58,1	
	Alto (>77)	46	18,5	34	25,0	80	20,8	
CGMH #	Bajo (<320)	16	6,5	12	8,8	28	7,3	0,39
	Alto (>360)	232	93,5	124	91,2	356	92,7	
Plaquetas #	Bajo (<200)	10	4,0	9	6,6	19	4,9	0,53
	Normal (200 - 700)	189	76,2	100	73,5	289	75,3	
	Alto (>700)	49	19,8	27	19,9	76	19,8	
T. Coagulación #	Normal (3 - 6)	248	100,0	136	100,0	384	100	
Retracción Coagulo %	Bajo (<10)	8	3,2	4	2,9	12	3,1	0,01
	Normal (10)	224	90,3	109	80,1	333	86,7	
	Alto (>10)	16	6,5	23	16,9	39	10,2	
Glóbulos Blancos #	Bajo (<55)	77	31,0	39	28,7	116	30,2	0,69
	Normal (55 - 78)	38	15,3	18	13,2	56	14,6	
	Alto (>78)	133	53,6	79	58,1	212	55,2	
Neutrófilos #	Bajo (<60)	69	27,8	35	25,7	104	27,1	0,80
	Normal (60 - 64)	27	10,9	13	9,6	40	10,4	
	Alto (>64)	152	61,3	88	64,7	240	62,5	
Basófilos #	Normal (0 - 1)	204	82,3	115	84,6	319	83,1	0,57
	Alto (>1)	44	17,7	21	15,4	65	16,9	
Linfocitos #	Bajo (<12)	52	21,0	37	27,2	89	23,2	0,38
	Normal (12 - 30)	139	56,0	71	52,2	210	54,7	
	Alto (>30)	57	23,0	28	20,6	85	22,1	
Monocitos #	Bajo (<3)	226	91,1	126	92,6	352	91,7	0,61
	Normal (3 - 6)	22	8,9	10	7,4	32	8,3	
Eosinófilos #	Bajo (<2)	18	7,3	9	6,6	27	7	0,69
	Normal (2 - 5)	56	22,6	36	26,5	92	24	
	Alto (>5)	174	70,2	91	66,9	265	69	

Los valores de $p < 0,05$ indican que hay relación entre la presencia de hemoparásitos y los valores hematológicos



Si bien los valores hematológicos de los perros infectados en fase subclínica están dentro de los rangos normales, al analizar estos valores y la relación entre infección o coinfección por hemoparásitos se evidencian diferencias significativas en ciertos valores, que serán de analizados en este apartado.

La tabla 4 presenta los resultados obtenidos de las variables hematológicas de los 384 perros del estudio, 248 negativos frente a 136 positivos a hemoparásitos *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* solos o en coinfección, sin discriminar entre ellos.

Dentro de las variables que presentan alteraciones, encontramos que hay diferencia significativa ($p < 0,05$) en el conteo de Glóbulos rojos ($< 5,5$), así como en el valor del hematocrito ($< 0,37$) en animales positivos a hemoparásitos en fase subclínica, siendo este un indicador de anemia, sin embargo los datos obtenidos en Cúcuta por Arenas, Vélez, Rincón, y González (2016) muestran que los eritrocitos y el recuento plaquetario son factores que puede indicar la presencia de hemoparásitos, resultado que coincide con nuestro estudio en el valor alterado de los eritrocitos, sin embargo no con el recuento plaquetario, mientras que Alcivar (2018) encontró alteraciones en los valores de hematocrito y recuento plaquetario; sin embargo, los resultados podrían estar asociados al grupo de investigación, ya que sus datos fueron obtenidos de pacientes que presentaban sintomatológica compatible con infección por hemoparásitos, mientras que en nuestro estudio el grupo debía ser asintomático.

También encontramos diferencia significativa en la retracción del coagulo, que está ligado directamente al conteo plaquetario donde un aumento en el tiempo de retracción indicaría trombocitopenia, aunque para que este valor tenga validez, el recuento del hematocrito debería estar dentro de los límites normales y se debería considerar la concentración de fibrinógeno, por lo que en el presente estudio este resultado no es un indicador de infección. En cuanto al tiempo de coagulación se presentó normalidad en todos los casos considerando el intervalo seleccionado, lo que podría estar relacionado a su poca reproducibilidad y a que solo cuando los factores de coagulación se ven afectados de manera severa este método es sensible (Zamora, 2012).



5.1.1. Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a *E. canis*

Tabla 5. Comparación de proporciones entre perros negativos y positivos a *Ehrlichia canis* en los niveles bajo y alto individualmente

Prueba Hemática	Nivel	Negativos		Positivos		Total Casos	P
		Casos	%	Casos	%		
Glóbulos Rojos #	Bajo (<5,5)	37	68,5	17	31,5	54	**
	Alto (>8,5)	44	88,0	6	12,0	50	**
Hemoglobina #	Bajo (<120)	16	76,2	5	23,8	21	**
	Alto (>180)	211	77,3	62	22,7	273	**
Hematocrito #	Bajo (<0,37)	24	64,9	13	35,1	37	*
	Alto (>0,55)	29	74,4	10	25,6	39	**
VGM #	Bajo (<60)	61	92,4	5	7,6	66	**
	Alto (>77)	46	73,0	17	27,0	63	**
CGMH #	Bajo (<320)	16	69,6	7	30,4	23	*
	Alto (>360)	232	76,3	72	23,7	304	**
Plaquetas #	Bajo (<200)	10	66,7	5	33,3	15	
	Alto (>700)	49	74,2	17	25,8	66	**
T. Coagulación #	Normal (3 - 6)	248	75,8	79	24,2	327	**
	Retracción Coagulo %	Bajo (<10)	8	72,7	3	27,3	11
Glóbulos Blancos #	Alto (>10)	16	61,5	10	38,5	26	
	Bajo (<55)	77	76,2	24	23,8	101	**
Neutrófilos #	Alto (>78)	133	74,7	45	25,3	178	**
	Bajo (<60)	69	77,5	20	22,5	89	**
Basófilos #	Alto (>64)	152	75,6	49	24,4	201	**
	Alto (>1)	44	80,0	11	20,0	55	**
Linfocitos #	Bajo (<12)	52	70,3	22	29,7	74	**
	Alto (>30)	57	79,2	15	20,8	72	**
Monocitos #	Bajo (<3)	226	75,6	73	24,4	299	**
Eosinofilos #	Bajo (<2)	18	81,8	4	18,2	22	**
	Alto (>5)	174	76,0	55	24,0	229	**

Los asteriscos indican diferencia significativa (p<0,05) * y (p<0,01) **

En la tabla 5 se observa que a pesar de la existencia de diferencias significativas entre los casos negativos y positivos a *E. canis* en la serie roja (GR, HB, Hto) y los índices eritrocitarios (VGM, CGMH), éstos no son los esperados, ya que el número de casos negativos con alteraciones tanto en recuentos bajos y altos es superior a los perros positivos, datos que no concuerdan con los resultados obtenidos por Lorente (2005), quien determinó que los valores hematológicos de ambos grupos estaban dentro de los márgenes fisiológicos; aunque sí encontró



trombocitopenia en un 35% de la población estudiada. Además, en esta tabla podemos observar policitemia en 6 animales y 5 con disminución en el VGM, lo que podría estar relacionado a deshidratación en el primer caso y una deficiencia de hierro o vitamina B6 en el segundo; adicionalmente, solo en 4 casos se presentó disminución en los valores de eritrograma, con un aumento en VGM y disminución de CGMH, correspondiente a una anemia regenerativa asociada normalmente a hemolisis y el leucograma disminuido solo en 2 animales, observado en algunos casos de infecciones sobreagudas Wittwer, (2012) (**ver anexo 8**), coincidiendo así con Waner y col., (1997) quien menciona que aunque normalmente los animales en fase subclínica no presentan anemia y leucopenia, si se puede llegar a dar una disminución en estos valores.

El estudio realizado en Lavras - Brasil donde se analizó el estado serológico de los pacientes con *E. canis* frente a los valores hematológicos, determinó que los perros serológicamente positivos tenían un hematocrito un poco más bajo que los negativos, sin embargo esta diferencia no era significativa, por lo que los perros en fase subclínica no presentaban alteraciones mayores en el hemograma (Fonseca et al., 2017). Cabe recalcar que animales en fase crónica con sintomatología asociada a la enfermedad sí presentan alteraciones hematológicas, esto se demuestra en el estudio realizado por Bai, Goel, Jhmabh, Kumar y Joshi (2017) que encontraron valores medios de eritrocitos, Hto, VGM, CGMH y recuento de trombocitos fueron significativamente más bajos en perros infectados que en los no infectados.

En cuanto a los Leucocitos, nuestro estudio no encontró correlación entre la infección por *E. canis* y un aumento en la población leucocitaria, coincidiendo con los resultados de (Lorente, 2005; A. Sainz y col., 2000).

Por otro lado, al analizar los diferentes valores hematológicos entre la población de perros negativos y positivos a *E. canis* de este estudio mediante la prueba *t* student, no se encontraron diferencias significativas. (**ver Anexo 9**)



5.1.2. Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a *B. canis*

Tabla 6. Comparación de proporciones entre perros negativos y positivos a *Babesia canis* en los niveles bajo y alto individualmente

Prueba Hemática	Nivel	Negativos		Positivos		Total Casos	P
		Casos	%	Casos	%		
Glóbulos Rojos #	Bajo (<5,5)	37	88,1	5	11,9	42	**
	Alto (>8,5)	44	95,7	2	4,3	46	**
Hemoglobina #	Bajo (<120)	16	100,0	0	0,0	16	**
	Alto (>180)	211	93,4	15	6,6	226	**
Hematocrito #	Bajo (<0,37)	24	80,0	6	20,0	30	*
	Alto (>0,55)	29	90,6	3	9,4	32	**
VGM #	Bajo (<60)	61	89,7	7	10,3	68	**
	Alto (>77)	46	92,0	4	8,0	50	**
CGMH #	Bajo (<320)	16	100,0	0	0,0	16	*
	Alto(>360)	232	92,1	20	7,9	252	**
Plaquetas #	Bajo (<200)	10	100,0	0	0,0	10	
	Alto (>700)	49	96,1	2	3,9	51	**
T. Coagulación #	Normal (3 - 6)	248	92,5	20	7,5	268	**
Retracción Coagulo %	Bajo (<10)	8	100,0	0	0,0	8	*
	Alto (>10)	16	88,9	2	11,1	18	
Glóbulos Blancos #	Bajo (<55)	77	92,8	6	7,2	83	**
	Alto (>78)	133	91,7	12	8,3	145	**
Neutrófilos #	Bajo (<60)	69	93,2	5	6,8	74	**
	Alto (>64)	152	91,6	14	8,4	166	**
Basófilos #	Alto (>1)	44	89,8	5	10,2	49	**
Linfocitos #	Bajo (<12)	52	91,2	5	8,8	57	**
	Alto (>30)	57	93,4	4	6,6	61	**
Monocitos #	Bajo (<3)	226	92,6	18	7,4	244	**
Eosinofilos #	Bajo (<2)	18	90,0	2	10,0	20	**
	Alto (>5)	174	93,0	13	7,0	187	**

Los asteriscos indican diferencia significativa ($p < 0,05$) * y ($p < 0,01$) **

En el caso de *B. canis* como infección única, se encuentra un comportamiento similar al de *E. canis*, tanto en serie blanca como en roja, sin embargo, el hematocrito en 6 animales positivos a *B. canis* presentaba un valor significativamente más bajo que en animales negativos, pudiendo ser producto de una anemia leve o de sobrehidratación; sin embargo, en el caso de *Babesia* así como el de *Ehrlichia* no encontramos trombocitopenia, que es un indicador hematológico de la presencia de *Babesia* asociada a signos clínicos específicos de la enfermedad (Cemecho, Pallas, Gestel è, y Guitián, 2003; Kettner, Reyers, y Miller, 2003). Aunque no existen diferencias significativas asociadas a la presencia de *Babesia canis* y la alteración de los valores hematológicos, autores



como Dominguez, (2011) mencionan leucocitosis y anemia en la fase aguda, sin embargo, no existen datos para la fase subclínica; en el presente estudio se encontró que 6 animales tenían el hematocrito bajo, y de estos solo 5 presentaron disminución en el recuento de glóbulos rojos, sin presentar alteración en la hemoglobina. Para el caso el leucograma, solo en 1 caso se presentó neutropenia y linfopenia, sin encontrar estudios que expliquen esta alteración en fase subclínica. (**ver Anexo 10**)

El estudio realizado por Yáñez (2017) en la ciudad de Guayaquil, se analizaron 102 pacientes que acudieron a consulta sin presentar sintomatología, reportó 57 casos positivos a *B. canis* y los resultados hematológicos indicaron trombocitopenia marcada sin presentar otras alteraciones que fueran estadísticamente significativas, lo que concuerda con los resultados de este estudio. Por otro lado, en el estudio realizado por Zárate (2016) en la ciudad de Loja con 100 animales y con un 44% de prevalencia de la enfermedad, encontró anemia como una de las características predominantes en los paciente positivos a la infección acompañado de neutrofilia, leucocitosis y trombocitopenia; sin embargo, estos resultados pueden estar relacionados con el estado clínico de estos pacientes, ya que la gran mayoría presentaba sintomatología propia de la enfermedad. Lo que nos lleva a concluir que en estadio subclínico no se presenta un cuadro marcado de alteraciones hematológicas en perros infectados con *B. Canis*.

En la tabla 7 al observar la comparación de valores hematológicos en perros negativos y positivos a *Babesia* encontramos que solo existe diferencia significativa en los valores de concentración de hemoglobina corpuscular media y volumen corpuscular medio, datos que no concuerdan con Andoni, Rapti, Postoli, y Zalla (2012); Fabisiak, Sapierzynski, y Klucinski (2010) que reportaron cambios en los valores de referencia de VGM y CGMH asociados a anemia y hemolisis consistente con la sintomatología de la enfermedad, mientras que en nuestro estudio los animales estaban en fase subclínica.

**Tabla 7.** Comparación de medias de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a *Babesia canis*

<i>t-student</i>		<i>Media</i>	<i>EE</i>	<i>CV</i>	<i>t=</i>	<i>p=</i>
GR x10 ¹² /L	Negativos	6,78	0,09	26,42	-0,31	0,7557
	Positivos	6,91	0,34	22,25		
Hb g/L	Negativos	225,86	3,13	26,42	-0,31	0,7557
	Positivos	230,10	11,52	22,38		
Hto L/L	Negativos	0,46	0,01	18,60	1,39	0,1641
	Positivos	0,44	0,02	23,65		
VGM fL	Negativos	73,87	1,52	39,24	2,85	0,0077
	Positivos	64,45	2,93	20,35		
CGMH g/L	Negativos	486,55	5,43	21,30	-2,35	0,0194
	Positivos	543,45	30,53	25,13		
Pla x10 ⁹ /L	Negativos	513,65	11,82	43,92	0,31	0,7585
	Positivos	497,80	44,26	39,76		
Rcoag %	Negativos	10,58	0,17	30,74	.0,23	0,8207
	Positivos	10,75	0,55	22,76		
GB x10 ⁹ /L	Negativos	93,88	2,92	59,44	0,78	0,4379
	Positivos	84,00	10,48	55,80		
Neut %	Negativos	67,30	0,75	21,13	-1,05	0,2947
	Positivos	70,75	3,49	22,05		
Bas %	Negativos	0,60	0,05	150,40	-0,51	0,6181
	Positivos	0,75	0,29	172,36		
Linf %	Negativos	21,79	0,70	61,07	0,45	0,6531
	Positivos	20,40	3,53	77,40		
Mono %	Negativos	0,72	0,06	162,27	0,27	0,7863
	Positivos	0,65	0,22	152,01		
Eosi %	Negativos	9,39	0,34	68,65	1,32	0,1888
	Positivos	7,45	1,27	75,99		



5.1.3. Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a *A. phagocytophilum*

Tabla 8. Comparación de proporciones entre perros negativos y positivos a *Anaplasma phagocytophilum* en los niveles bajo y alto individualmente

Prueba Hemática	Nivel	Negativos		Positivos		Total Casos	P
		Casos	%	Casos	%		
Glóbulos Rojos #	Bajo(<5,5)	37	94,9	2	5,1	39	**
	Alto (>8,5)	44	97,8	1	2,2	45	**
Hemoglobina #	Bajo(<120)	16	94,1	1	5,9	17	**
	Alto(>180)	211	95,9	9	4,1	220	**
Hematocrito #	Bajo(<0,37)	24	96,0	1	4,0	25	**
	Alto(>0,55)	29	93,5	2	6,5	31	**
VGM #	Bajo (<60)	61	98,4	1	1,6	62	**
	Alto (>77)	46	95,8	2	4,2	48	**
CGMH #	Bajo (<320)	16	88,9	2	11,1	18	**
	Alto(>360)	232	96,3	9	3,7	241	**
Plaquetas #	Bajo (<200)	10	90,9	1	9,1	11	**
	Alto (>700)	49	92,5	4	7,5	53	**
T. Coagulación #	Normal (3 - 6)	248	95,8	11	4,2	259	**
Retracción	Bajo (<10)	8	100,0	0	0,0	8	**
Coagulo %	Alto (>10)	16	88,9	2	11,1	18	**
Glóbulos Blancos #	Bajo (<55)	77	97,5	2	2,5	79	**
	Alto (>78)	133	95,7	6	4,3	139	**
Neutrófilos #	Bajo (<60)	69	97,2	2	2,8	71	**
	Alto (>64)	152	94,4	9	5,6	161	**
Basófilos #	Alto (>1)	44	93,6	3	6,4	47	**
Linfocitos #	Bajo (<12)	52	91,2	5	8,8	57	**
	Alto (>30)	57	96,6	2	3,4	59	**
Monocitos #	Bajo (<3)	226	95,4	11	4,6	237	**
Eosinófilos #	Bajo (<2)	18	94,7	1	5,3	19	**
	Alto (>5)	174	96,1	7	3,9	181	**

Los asteriscos indican diferencia significativa ($p < 0,05$) * y ($p < 0,01$) **

Los resultados para *A. phagocytophilum* muestran presencia de 11 casos positivos sin que se encuentren alteraciones significativas a nivel hematológico, datos similares a los de este estudio fueron obtenidos por Silva (2016), quien encontró que no existían alteraciones en eritrograma o leucograma asociadas a la presencia o ausencia de la enfermedad, lo que atribuye al estado clínico de la misma; contrario a los datos obtenidos por Peñaloza (2015) quien encontró además de una mayor prevalencia (38 casos), un número mayor de alteraciones hematológicas como trombocitopenia, anemia y linfocitosis, resultados que pueden estar asociados a las características de la población de estudio, ya que provenían de zonas rurales del cantón Catamayo.



Aunque en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre los valores hematológicos y la presencia de *A. phagocytophilum*, existe un solo caso que muestre las características laboratoriales de la enfermedad, es decir, anemia macrocítica hipocrómica y trombocitopenia, pero a diferencia de lo reportado por Domínguez, (2011), no se encontró linfopenia sino linfocitosis, lo que nos indicaría un posible estado infeccioso. (ver Anexo 11)

Los resultados de la prueba t- student entre grupos de perros sanos y los positivos a *A. phagocytophilum* de nuestro estudio no presentan diferencias estadísticamente significativas. (ver Anexo 12)

5.1.4. Relación de niveles bajo y alto de parámetros hematológicos con perros negativos y positivos a *Ehrlichia canis* y *Babesia canis*

Tabla 9. Comparación de proporciones entre perros negativos y positivos a *Ehrlichia canis* y *Babesia canis* en los niveles bajo y alto individualmente

Prueba Hemática	Nivel	Negativos		Positivos		Total Casos	P
		Casos	%	Casos	%		
Glóbulos Rojos #	Bajo (<5,5)	37	84,1	7	15,9	44	**
	Alto (>8,5)	44	93,6	3	6,4	47	**
Hemoglobina #	Bajo(<120)	16	80,0	4	20,0	20	**
	Alto(>180)	211	93,4	15	6,6	226	**
Hematocrito #	Bajo(<0,37)	24	82,8	5	17,2	29	**
	Alto(>0,55)	29	93,5	2	6,5	31	**
VGM #	Bajo (<60)	61	93,8	4	6,2	65	**
	Alto (>77)	46	82,1	10	17,9	56	**
CGMH #	Bajo (<320)	16	84,2	3	15,8	19	**
	Alto(>360)	232	92,8	18	7,2	250	**
Plaquetas #	Bajo (<200)	10	76,9	3	23,1	13	**
	Alto (>700)	49	92,5	4	7,5	53	**
T. Coagulación #	Normal (3 - 6)	248	92,2	21	7,8	269	**
Retracción	Bajo (<10)	8	88,9	1	11,1	9	**
Coagulo %	Alto (>10)	16	66,7	8	33,3	24	**
Glóbulos Blancos #	Bajo (<55)	77	92,8	6	7,2	83	**
	Alto (>78)	133	91,1	13	8,9	146	**
Neutrófilos #	Bajo (<60)	69	88,5	9	11,5	78	**
	Alto (>64)	152	92,7	12	7,3	164	**
Basófilos #	Alto (>1)	44	93,6	3	6,4	47	**
Linfocitos #	Bajo (<12)	52	91,2	5	8,8	57	**
	Alto (>30)	57	89,1	7	10,9	64	**
Monocitos #	Bajo (<3)	226	92,2	19	7,8	245	**
Eosinofilos #	Bajo (<2)	18	90,0	2	10,0	20	**
	Alto (>5)	174	93,0	13	7,0	187	**

Los asteriscos indican diferencia significativa (p<0,05) * y (p<0,01) **



En la asociación *E. canis* – *B. canis* encontramos diferencia altamente significativa entre los perros negativos y positivos, mas no se encontró diferencia significativa en relación a los valores hematológicos; dentro de este estudio 3 tres animales presentaron trombocitopenia, un cuadro común en infección por *Ehrlichia* y *Babesia* en estado agudo o crónico, pero también asociado como valor predictivo en cuadros de coinfección por *E. canis* y *B. canis* (Rautenbach, Schoeman, & Goddard, 2018). **(ver Anexo 13)**

Los resultados de la prueba t student, donde comparamos de los valores hematológicos entre perros negativos y positivos a *Ehrlichia* – *Babesia* no presentan diferencias significativas. **(ver Anexo 14)**

5.1.5. Relación de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a *Ehrlichia* – *Anaplasma* y *Babesia*- *Anaplasma*

En cuanto a los resultados obtenidos para valores hematológicos en relación con la presencia de *Ehrlichia* – *Anaplasma* y *Babesia*- *Anaplasma* en fase subclínica, encontramos que además de presentarse en menor proporción como agentes infecciosos, (1,3% del total de la población estudiada), tampoco presentaron diferencias significativas tanto en la serie roja como la seria blanca, lo que concuerda con los resultados obtenido por Silva (2016).

Dentro de los resultados obtenidos en este estudio, una constante ha sido la alteración de valores hematológicos un número importante de animales clínicamente y serológicamente sanos, lo que podría estar relacionado a factores nutricionales o afecciones subclínicas que no son detectables a simple vista (Pedrozo, Quintana, Bazán y Florentín, 2010), además algunos autores como Morales (2009); Rebar (2003), mencionan factores ambientales como el estrés causado por la sujeción para extraer la sangre, temperatura, grado de excitación, estado de hidratación, edad entre otros, como causantes de la variación del eritrograma y leucograma.



5.2. Prevalencia de Hemoparásitos

Tabla 10. Prevalencia total de perros infectados o coinfectados por hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*).

Prevalencia total		
Casos	N° de muestras	Porcentaje %
Negativo	248	64,58
Positivo	136	35,42
Total	384	100

Fuente: Los autores

De los perros seleccionados para este estudio, los animales positivos a hemoparásitos son casi un 30% menos que los negativos, resultado que difiere con los datos obtenidos por Alcivar (2018) en la Clínica Animalopolis de la ciudad de Guayaquil, donde obtuvo una prevalencia del 65% o Tutachá (2016) que encontró una prevalencia del 75%, o por McCown y col. (2011) mostraba una prevalencia del 88%, lo que puede ser atribuible a las condiciones ambientales de esta zona, ya que Guayaquil presenta una temperatura promedio de 25° además está ubicada sobre el nivel del mar, adicionalmente el primer estudio se realizó en animales que presentaron sintomatología clínica, mientras que el segundo se hizo en animales de refugios o centros de rescate temporal, lo que podría incidir en el porcentaje de casos positivos, esto coincide con los resultados de Lorente (2005), quien atribuía esta alta prevalencia a las peculiaridades de la población estudiada.

Mccown, Monterroso, y Cardona (2014), replicaron su estudio del 2011 en Colombia, utilizando para ello dos ciudades costeras y una ciudad ubicada en una región montañosa, encontrando prevalencia del 84% de hemoparásitos en perros en Cartagena y Barranquilla, mientras que Medellín, que presenta características similares a Zaruma y Piñas, con temperatura promedio de 22° y un altitud entre 1000 y 1400 msnm, tuvo una prevalencia del 30%.

El estudio por Sarango y Álvarez (2017) realizado en el Cantón Puerto López ubicado sobre el nivel del mar con temperatura promedio de 25°, determinó una prevalencia del 72,02%, mientras que Dominguez (2011) reportó que en la



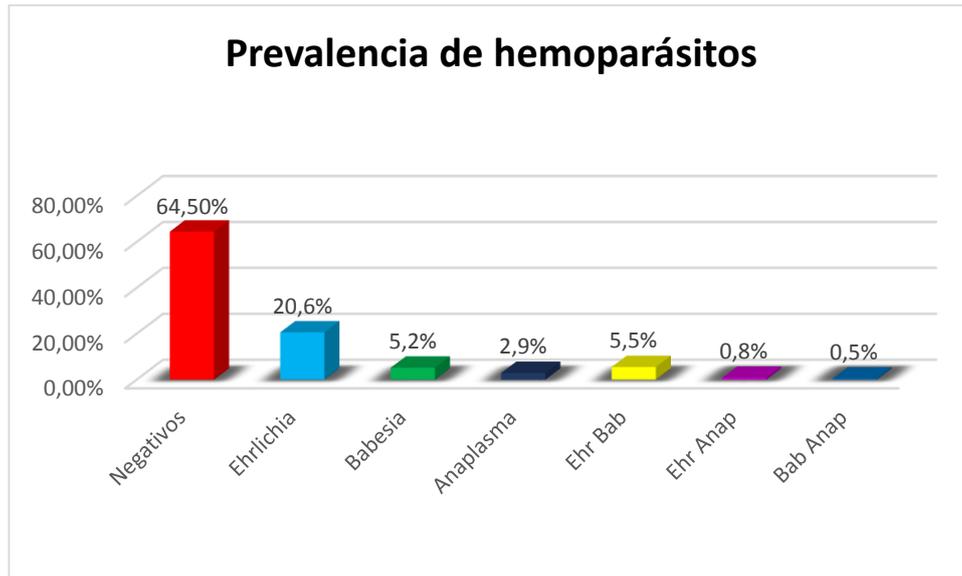
ciudad de Cuenca, con temperatura promedio de 14,7°C y a 2550 msnm, la población canina afectada era del 11,43% lo que indicaría que las condiciones geográficas y ambientales influyen en la presencia de parásitos hematológicos debido a un aumento importante en los vectores que los transmiten, sin embargo esto se contradice con los resultados obtenidos por Angulo y Rodríguez (2005) en la ciudad de Managua, ubicada a 82,97 msnm y con una temperatura promedio de 30,3°C, donde encontraron solo un 17,7% de hemoparásitos, aunque este resultado podría ser atribuible a que la población de estudio se limitó únicamente a perros menores de un año de edad, y aunque autores como Milanjeet y col. (2014) mencionan que la edad no es un factor determinante, si existe una mayor frecuencia de animales positivos a mayor edad.

Tabla 11. Prevalencia de perros infectados o coinfectados por hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) según el área urbana, Zaruma y Piñas

Prevalencia por zona				
Casos	N° de casos	Piñas	N° de casos	Zaruma
Negativos	127	33,1%	121	31,5%
Positivos	65	16,9%	71	18,5%

Fuente: Los autores

La prevalencia de perros infectados o coinfectados por hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) en la ciudad de Piñas es un 1,6% menos que en Zaruma, esta pequeña diferencia podría estar relacionada con la tenencia y cuidado de los perros, como lo indican Sarango y Álvarez (2017), ya que la mayoría de animales estuvieron o han estado expuestos a garrapatas en algún momento de su vida.



Fuente: Los autores

.Gráfico 1. Prevalencia de perros infectados y coinfectados por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*.

En este estudio se determinó que la población afectada por hemoparásitos es casi un tercio del total de la muestra, siendo la *Ehrlichia* el agente infeccioso que más afecta a los perros de esta zona del país, seguido de *Babesia*, coinfección *Ehrlichia – Babesia* y *Ehrlichia - Anaplasma* que corresponden a cerca del 12% del total y en menor proporción encontramos *Anaplasma* que en infección y coinfección llega al 4,2%.

La mayoría de estudios relacionados a la prevalencia de hemoparásitos en la Provincia del el Oro se han realizado en la ciudad de Machala y estos a su vez han estado guiados a un solo tipo de parásito hematológico, sea esta *Ehrlichia canis* o *Babesia canis*, pero no existen estudios donde se vea la prevalencia de estos hemoparásitos en infección y menos aún de *Anaplasma phagocytophilum*, por lo que los resultados se analizaron en base a trabajos de tesis de grado en esta zona del país y se contrastan con los obtenidos en otras provincias.

5.2.1. Prevalencia de *Ehrlichia canis*

Este agente infeccioso es el que tiene mayor representación en esta zona dentro de los hemoparásitos estudiados, encontrando que Piñas existen 42 casos que corresponden al 31% del total de positivos, mientras que en Zaruma se



presentaron 37 casos (27%) (**ver Anexo 7**), datos muy superiores a los obtenidos por Valarezo (2013), quien en su estudio a 200 animales de la ciudad de Machala solo reportó un prevalencia del 4,5%, resultado que puede ser atribuido al manejo de las muestras, ya que el frotis se realizó de la sangre recolectada en el tubo con EDTA, pero como lo indica Dominguez (2011), existen mayores posibilidades de identificar hemoparásitos mediante frotis de sangre periférica extraída del pabellón auricular realizando el extendido inmediatamente se realice la punción del mismo. Ahora, el trabajo de Pauta (2016) obtuvo una prevalencia del 21,25 %, que se podría atribuir al uso de la prueba rápida del test kit que presenta una mayor sensibilidad, sin embargo, los resultados obtenidos por él son similares a los obtenidos en nuestro estudio lo que se nos indicaría que la detección de hemoparásitos por frotis de sangre periférica de pabellón auricular es un método diagnóstico aceptable.

Existen estudios realizados en otras zonas del país; Alcivar (2018) encontró una prevalencia de 53.8% de *Ehrlichia* en animales atendidos en la clínica Animalopolis de la ciudad de Guayaquil, McCown y col. (2011) solo reportó un 40% de prevalencia a *E. canis* en esta misma ciudad, estos datos pueden diferir entre sí por los criterios utilizados para la toma de muestras, ya que los animales de la clínica presentaban algún tipo de sintomatología asociada a la enfermedad, mientras que los del segundo estudio fueron tomados al azar.

Ahora comparando el estudio realizado por Isaza y Grajales (2015) en la ciudad de Medellín, con características geográficas y climáticas parecidas a las del presente estudio, encontramos que tuvieron una prevalencia de *Ehrlichia canis* del 23.61 %, resultado que se acerca al obtenido en Zaruma y Piñas.

5.2.2. Prevalencia de *Babesia canis*

Nuestro estudio demuestra una prevalencia de 5.2% para *Babesia canis* entre estas 2 ciudades, existiendo una mayor porcentaje de casos en Zaruma (10%), mientras que en piñas se encontró un 4% (**ver anexo 7**), de este total contrastamos los datos con resultados obtenidos en tesis realizadas en otras regiones.



Un trabajo retrospectivo sobre *B. canis* en Ecuador Balao (2014) reportó una prevalencia de 41% en Duran; 47 % en Santa Elena y 15% en Babahoyo, todos estos utilizaron la técnica de tinción Wrigth – Giemsa. También se menciona que la diferencia entre Durán, Santa Elena y Babahoyo puede ser atribuida a la época del año en que se tomaron las muestras, ya que en épocas de lluvia la población de vectores disminuye. En el Cantón Machala Torres (2016) encontró una prevalencia de *B. canis* del 30,7% de 202 animales en estudio de una clínica veterinaria de la ciudad, sin embargo, estos presentaron algún tipo de sintomatología a diferencia de los casos reportados en Durán, Santa Elena y Los Ríos, donde las muestras fueron tomadas de la población canina indistintamente de si presentaban o no sintomatología.

Estos resultados difieren de los obtenidos en nuestro estudio, lo que podría atribuirse a la ubicación geográfica de Zaruma y Piñas, ya que se encuentra a una mayor altitud y con menor humedad que las zonas costeras del país, sin embargo, se acercan un poco a los obtenidos por Isaza y Grajales (2015) en la ciudad de Medellín, donde reportaron un 1.39% de prevalencia de este hemoparásito. Al contrario, Domínguez (2011), en su estudio reportó una alta prevalencia de *Babesia canis* en la ciudad de Cuenca, a una altura de 2250 msnm, aunque esto puede atribuirse a que del total muestreado de 560 animales solo 64 casos fueron positivos a hemoparásitos y de estos solo 26 específicamente a *Babesia Canis*, este número de casos positivos representa un 40.63% del total, mientras que en Zaruma y Piñas de un total de 136 casos positivos, 5.2% corresponden a *Babesia*, es decir 20 animales y 11 animales presenta infección *Ehrlichia Babesia*, es decir 5,5%. Adicionalmente, este valor relativamente alto podría también ser producto del traslado de animales en época de vacaciones a zonas más cálidas con características favorables para los vectores y no a que se esté convirtiendo en enfermedad endémica de la ciudad.

5.2.3. Prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum*

La prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* fue del 2.9%, con un total de 11 casos positivos, de estos 6 casos se registraron en Zaruma 5 en Piñas (**ver Anexo 7**), siendo éste el menor agente infeccioso encontrado en la población canina del estudio, datos que se asemejan a los de Isaza y Grajales (2015) en



la ciudad de Medellín donde la prevalencia fue tan solo de 1,39%, considerando que estas tienen ciudades características similares en cuanto temperatura y altitud promedio, datos contrarios a los de Dominguez (2011), que reportó un 3.13% de prevalencia de *A. phagocytophilum* en la ciudad de Cuenca con tan solo 2 casos positivos o Ulloa (2018) que encontró un 0% de casos positivos en la ciudad de Azogues, ubicada a 2508 msnm, lo que nos permite suponer que la ubicación geográfica sigue siendo un determinante en la presencia de hemoparásitos en perros.

Los datos obtenidos por Sigüenza (2018) en el estudio realizado en Guayaquil, muestran una prevalencia de la enfermedad del 52%, resultados muy por encima de los obtenidos por Alcívar (2018) que obtuvo una prevalencia de 18,5% para *A. phagocytophilum*, teniendo en cuenta que en los 2 casos se utilizaron animales que presentaban algún tipo de sintomatología asociada a la enfermedad, podemos explicar que haya una mayor prevalencia de la enfermedad que en nuestro estudio donde utilizamos animales asintomáticos, ahora la diferencia entre los estudios de Alcívar y Sigüenza podría estar en el tipo de técnica utilizada para la detección de hemoparásitos, ya que en el primer caso se usó inmunofluorescencia indirecta, prueba que presenta un mayor grado de sensibilidad.

En Colombia Mccown y col. (2014) reportaron 40% de prevalencia para *A. phagocytophilum* en la ciudad de Barranquilla y 51% en Cartagena, datos que se aproximan a los obtenidos en los estudios hechos en Guayaquil en 2018, que podrían explicarse una vez más por la localización geográfica y condiciones ambientales de estas ciudades, que facilitan la presencia de vectores responsables de la transmisión de la enfermedad.

5.2.4. Prevalencia de Hemoparásitos en Coinfección: *E. canis* – *B. canis*, *E. canis* – *A. phagocytophilum* y *B. canis* – *A. phagocytophilum*

En el gráfico 1 se muestran los resultados de animales afectados por coinfección, encontrando un total de 21 perros infectados con *E. canis* - *B. canis*, correspondiente al 5,5% del total, de estos se registraron 13 casos en Zaruma y 8 en Piñas, para *E. canis* – *A. phagocytophilum* el número total de animales fue



de 3 que corresponden a un 0,8% , 2 en Zaruma y 1 en Piñas, mientras que en *B. canis* – *A. phagocytophilum* solo hubo 2 casos que representan el 0,5% del total, registrándose 1 caso en cada ciudad.

Aunque el número de estudios realizados analizando las coinfecciones por diferentes hemoparásitos es limitado; en nuestro país, encontramos que Sigüenza (2018) en su estudio sobre prevalencia de *A. phagocytophilum* en la ciudad Guayaquil obtuvo un 42% de pacientes coinfectados con *E. canis* - *A. phagocytophilum*, resultados similares a los obtenidos en el estudio realizado por McCown y col. (2014) en las ciudades de Cartagena y Barranquilla, con una prevalencia del 40% y 49% respectivamente, sin embargo en este mismo estudio se encontró una prevalencia del 6% de coinfección de *E. canis* y *A. phagocytophilum* en perros de la ciudad de Medellín, que aunque es un resultado mayor al obtenido en nuestro estudio que reportó tan solo un 0,8%, nos permite suponer que las condiciones geográficas siguen siendo un factor determinante en la presencia del hemoparásito solo o en conjunto.

En el 2011, en las ciudades de Manta y Guayaquil ya se realizó un estudio de prevalencia de hemoparásitos en perros de la calle, en este se encontró un 26% de animales coinfectados *E. canis* – *A. phagocytophilum* (McCown y col., 2011), resultado cercano al 18% obtenido por Tutachá (2016) con esta misma asociación en la ciudad de Guayaquil.

En cuanto a la relación *E. canis* – *B. canis*, no existen estudios realizados en Ecuador que nos permitan saber la prevalencia de esta coinfección, esto podría ser porque en la mayoría de los casos se utilizó la prueba SNAP 4DX, que detecta *Ehrlichia* y *Anaplasma*, pero no *Babesia*, o se hicieron estudios para determinar la prevalencia de estos Hemoparásitos por separado; sin embargo Rautenbach, Schoeman, y Goddard (2018) en un estudio realizado en Sur África reportaron una prevalencia del 2% de esta asociación hemoparasitaria, un número no muy inferior al obtenido en nuestro estudio, 5,5%, teniendo en cuenta el tamaño muestral de ambos estudios. 197 frente a 384.



En Cebu, Filipinas, de un total de 100 animales muestreados de diferentes clínicas, se reportó el primer caso de asociación *Ehrlichia* – *Babesia* por Haidee et al. (2018).

En cuanto a la coinfección por *B. canis* – *A. phagocytophilum*, no se registran datos en ninguno de los estudios realizados en Ecuador y tampoco se encuentra literatura relacionada al tema en otros estudios, en nuestro estudio se registraron 2 casos, correspondientes al 0.5% de la población total estudiada.



6. CONCLUSIONES

- Al analizar los resultados globales sobre prevalencia de hemoparásitos en la población estudiada podemos determinar que los valores hematológicos que se vieron alterados significativamente fueron el conteo de glóbulos rojos y el valor del hematocrito en los animales en fase subclínica.
- Existe una alta prevalencia de animales infectados, y en menor medida, coinfectados por hemoparásitos en las ciudades de Zaruma y Piñas, siendo la *Ehrlichia canis* el hemoparásito que tiene una mayor incidencia con casi un quinto de la población canina afectada, seguido en menor proporción por *Babesia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* y coinfecciones.
- Los valores hematológicos de perros en fase subclínica infectados por *E. canis*, *B. canis* y *A. phagocytophilum*, se mantuvieron dentro de los rangos normales para la especie, salvo los valores de hematocrito en infección por *Babesia canis*, donde un grupo pequeño de animales presentó un recuento por debajo del rango normal y 3 animales positivos para *Ehrlichia* se reportó un recuento menor para VGM.
- Solo en 3 casos positivos a coinfección por *E. canis* y *B. canis* se encontró un recuento menor a los parámetros normales de plaquetas, y para infecciones con un solo hemoparásito las alteraciones fueron mínimas, por lo que podríamos concluir que en fase subclínica la alteración en los valores hematológico no es significativa.



7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de un sitio propicio y adecuado para el examen físico general y la toma de muestras, para así reducir los niveles de estrés.
- Para futuras investigaciones se sugiere incluir pruebas complementarias como el recuento de reticulocitos para poder tener una mayor especificidad en la clasificación del tipo de anemia.
- En nuevos estudios donde se mida el tiempo retracción del coagulo se recomienda incluir la concentración de fibrinógeno.



8. BIBLIOGRAFIA

- Alcivar, A. (2018). *Detección de Ehrlichia, Anaplasma, Borrelia, Dirofilaria en caninos atendidos en la clínica veterinaria Animalopolis en Guayaquil*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/10326/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-43.pdf>
- Allison, R. W., & Little, S. E. (2013). Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(2), 127–144. <https://doi.org/10.1111/vcp.12040>
- Álvarez, R. (2017). REVISION SOBRE LA BIOLOGIA DE *Rhipicephalus sanguineus* (ARTHROPODA, CHELICERATA)(LATREILLE, 1806). REVIEW ON THE BIOLOGY OF *Rhipicephalus sanguineus* (ARTHROPODA, CHELICERATA)(LATREILLE, 1806). *Researchgate*, 5(1), 11–16. <https://doi.org/0719-3726>
- Andoni, E., Rapti, D., Postoli, R., & Zalla, P. (2012). Hematologic Changes in Dogs Naturally Infected with Babesiah. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*. Retrieved from https://f039217e-a-d32f1b3a-sites.googlegroups.com/a/ubt.edu.al/rssb/ajas2012papers/14_AJAS_3_2012_Andoni.pdf?attachauth=ANoY7coQ1r3nikBjBITcE5h67Z6-sSTh3A0D5rA292HQOSuU7oI4pkIOTUk0jpWZQRVMxyi79rGr2oL8oXmiPT8fVBUwWZh_W5qO2ghHqVf1sSFb_vZ45zOw373HsqTKlvzt
- Angulo, J., & Rodríguez, L. (2005). *Diagnóstico situacional de cuatro hemoparásitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua*. Universidad Nacional Agraria. Retrieved from <http://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnl10a594.pdf>
- Arenas, J., Vélez, A., Rincón, J., & González, J. (2016). Frecuencia y factores de riesgo asociados a la presencia de hemoparásitos en caninos que acudieron a una clínica veterinaria en la ciudad de Cúcuta (2015- 2016). Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/84108887.pdf>
- Bai, L., Goel, P., Jhmabh, R., Kumar, P., & Joshi, V. G. (2017). Molecular prevalence and haemato-biochemical profile of canine monocytic



- ehrlichiosis in dogs in and around Hisar, Haryana, India. *Journal of Parasitic Diseases: Official Organ of the Indian Society for Parasitology*, 41(3), 647–654. <https://doi.org/10.1007/s12639-016-0860-8>
- Balao, C. (2014). Revisión y estudio retrospectivo de Babesiosis canina en las Zonas 5 y 8 de Ecuador:2011-2014. *El Misionero Del Agro*. Retrieved from http://archivo.uagraria.edu.ec/web/revistas_cientificas/4/13-2014.pdf
- Banco de imágenes de la Dacultad de Biología UCM. (n.d.). Bioimagen: Babesia en sangre circulante de un perro. Autor: Cristina. Retrieved September 22, 2019, from http://bioimagen.bioucm.es/foto/6336?fbclid=IwAR2QVKJLaNGE9pRYM2XU-s41AgUeaAwcruJt9JU5I7URVtvkkl-0Mu_nv7I
- Bermejo, E. (2017). Plaquetas. *Sociedad Argentina de Hematología*, 21, 9.
- Bernadette, F., Rodak, G., & Fritsma, E. (2014). *Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas*. Argentina.
- Birkenheuer, A. (2003). Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. Canis* DNA in canine blood samples. *PubMed*. Retrieved from www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/12958243/
- Caraguay, J. (2015). Diagnóstico de Ehrlichiosis en perros procedentes de los Barrios rurales del Cantón Catamayo, a través del SNAP*4 Dx*. *Universidad Nacional de Loja*, 1–90.
- Cemecho, A. T., Pallas, E., Gestel è, J., & Guitián, F. (2003). *Parasitación por Babesia canis en Galicia*. (Vol. 23). Retrieved from <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v23n1/11307064v23n1p50.pdf>
- Coppo, J. (2015). Interpretación de análisis clínicos en perros y gatos - José Antonio Coppo - Google Books. <https://doi.org/9506230528,9789506230524>
- Companion Vector Borne Diseases CVBD DIGEST. (2010). Canine Ehrlichiosis – from Acute Infection to Chronic Disease, (7), 1–12.



- Dolz, G., Ábrego, L., & Romero, L. (2013). Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. *Scielo*, 55, 7. <https://doi.org/0001-6012>
- Dominguez, G. (2011). *Prevalencia e Identificación de Hemoparasitos (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum) en Perros en la Ciudad de Cuenca*. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3024/1/tv199.pdf>
- Dumler, S., Barbet, A., Bekker, C., Dasch, G., Palmer, G., Ray, S., ... Rurangirwa, F. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*. Retrieved from https://pdfs.semanticscholar.org/e66b/5ba5382f712b5d82a56cb0ad3f152e4eeab7.pdf?_ga=2.244130181.1840584865.1569196197-579503460.1567584503
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites ESCCAP. (2012). Control de enfermedades transmitidas por Vectores en perros y Gatos. *ESCCAP*. Retrieved from https://www.esccap.org/uploads/docs/a2wchx2h_2012_G5.pdf
- Fabisiak, M., Sapierszynski, R., & Klucinski, W. (2010). Analysis of Haematological Abnormalities Observed in Dogs Infected by a Large Babesia. *Bull Vet Inst Pulawy*. Retrieved from <http://www.piwet.pulawy.pl/jvetres/images/stories/pdf/20102/20102167170.pdf>
- Fonseca, J., Pascoti, F., Maciel, M., Hirsch, C., Barcelos, C., Guedes, E., & Guimarães, A. (2017). Hematological Parameters and Seroprevalence of Ehrlichia canis and Babesia vogeli in Dogs. *Ciência Animal Brasileira*, 18(0). <https://doi.org/10.1590/1089-6891v18e-36095>
- Fraga, E. (2014). Estudio clínico, laboratorial y ecográfico de la babesiosis canina



- en Galicia. *ResearchGate*, (January 2009), 1–386.
- Franco, L. (2010). *La Hemoglobina: Una Molécula Prodigiosa. Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)* (Vol. 104).
- Gallo, C. (2014). *Manual de Diagnostico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario*. Managua. Retrieved from <http://repositorio.una.edu.ni/2745/1/tnl70g172m.pdf>
- Garcia, L. E. (2012). *Manual de técnicas básicas de laboratorio aplicadas a pequeñas especies*.
- Gaunt, S., Beall, M., Stillman, B., Lorentzen, L., Diniz, P., Chandrashekar, R., & Breitschwerdt, E. (2010). Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites & Vectors*. Retrieved from <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1756-3305-3-33>
- Gutierrez, C., Perez, L., & Agrela, I. (2016). Ehrlichiosis Canina. *SABER. Revista Multidisciplinaria Del Consejo de Investigación de La Universidad de Oriente*. Retrieved from <http://www.redalyc.org/jatsRepo/4277/427751143001/html/index.html>
- Gutiérrez, C., Pérez, L., & Agrela, I. F. (2016). Ehrlichiosis canina. *Artículo De Revisión Biomedicina*, 28(2343–6468), 641–665.
- Gutiérrez, V. (2008). “ Estudio comparativo entre el método de coloración de Wright y prueba de Elisa para el diagnóstico de Ehrlichiosis canina en la ciudad de San Pedro Sula , Honduras .” *Universidad San Carlos de Guatemala*, 65.
- Haidee, R., Ybañez, D., Ybañez, A. P., Lee, L., Arnado, A., Monika, L., ... Xuan, X. (2018). Detection of *Ehrlichia*, *Anaplasma*, and *Babesia* spp. in dogs in Cebu, Philippines. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.14-19>
- Harrus, S., & Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*, 187(3), 292–296. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.02.001>



- Huerta, J. (2018). *Hematología práctica: interpretación del hemograma y del estudio de coagulación*.
- Isaza, D., & Grajales, 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*. Corporación Universitaria Lasallista. Retrieved from http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1735/1/Prevalencia_infeccion_hemoparasitos_caninos.pdf
- Kelly, P. J., Xu, C., Lucas, H., Loftis, A., Abete, J., Zeoli, F., ... Wang, C. (2013). Ehrlichiosis, Babesiosis, Anaplasmosis and Hepatozoonosis in Dogs from St. Kitts, West Indies. *PLoS ONE*, 8(1), e53450. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053450>
- Kettner, F., Reyers, F., & Miller, D. (2003). Trombocytopenia in Canine Babesiosis and its Clinical Usefulness. Retrieved September 10, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/8671263_Thrombocytopenia_in_canine_babesiosis_and_its_clinical_usefulness
- Kumar, P. (2018). Haemato-biochemical changes in dogs infected with Babesiosis. *International Journal of Chemical Studies*, 4(2349–8528), 25–28.
- Lorente, C. (2005). *Evaluación hematológica e inmunofenotípica de la Ehrlichiosis Canina; evolución tras la administración de Dipropionato de Imidocarb*. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones. Retrieved from <https://eprints.ucm.es/7165/>
- Łyp, P. (2016). Occurrence of different strains of Babesia canis in dogs in eastern Poland. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 60(4), 423–427. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0063>
- Mccown, M. E., Monterroso, V. H., & Cardona, W. (2014). Surveillance for Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, and Dirofilaria immitis in Dogs From Three Cities in Colombia. *Journal of Special Operations Medicine*, 1(1), 86–90. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/cmvez/v10n2/v10n2a14.pdf>



- McCown, M., Monterroso, V. H., & Grzeszak, B. (2011). Surveillance of zoonotic and infectious diseases in Ecuador: implications for special operations forces medical operations, personnel, and canines. *Journal of Special Operations Medicine: A Peer Reviewed Journal for SOF Medical Professionals*, 11(3), 61–65. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22173599>
- Milanjeet, Singh, H., Singh, N., Singh, N., Singh, C., & Rath, S. (2014). *Molecular prevalence and risk factors for the occurrence of canine monocytic ehrlichiosis*. *Veterinarni Medicina* (Vol. 59). Retrieved from <http://vri.cz/docs/vetmed/59-3-129.pdf>
- Moraes, P., Rufino, C., Reis, T., Aquiar, D., Meneses, A., & Gonçalves, E. (2014). Optimization of a molecular method for the diagnosis of canine babesiosis. *Research Note*, 23(1984–2961), 105–108.
- Morales, M. (2009). *Atlas de Hemocitología Veterinaria*. Navarra.
- Mylonakis, M. E. (2019, April). An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Veterinary Journal*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.01.015>
- Özata, F., & Ural, K. (2014). Thrombocyte indices in dogs infected with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*. *MVZ Córdoba*, 19, 4277–4288. <https://doi.org/0122-0268>
- Pauta, F. (2016). *Determinacion del Índice de Prevalencia de Hemoparasitos (Ehrlichia Canis) en la Clínica Veterinaria Animals Happy de la Ciudad de Machala*. Universidad Técnica de Machala. Retrieved from [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7702/2/DE00055_TRAJODETITULACION.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7702/2/DE00055_TRABAJODETITULACION.pdf)
- Pedrozo, R., Quintana, G., Bazán, A., & Florentín, M. (2010). Valores hematológicos de referencia en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clínica privada de Asunción. *Revistas Científicas*. Retrieved from <http://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/viewFile/180/115>
- Peñaloza, M. (2015). *Diagnóstico de Dirofilariosis y Anaplasmosis Canina en Perro de los Barrios Rurales del Cantón Catamayo de la Provincia de Loja a*



- Través del Test Snap 4DX Canino*. Universidad Nacional de Loja. Retrieved from <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/11534/1/TESIS MAYRA ALEJANDRA PEÑALOZA LOJA.pdf>
- Rautenbach, Y., Schoeman, J., & Goddard, A. (2018). Prevalence of canine Babesia and Ehrlichia co-infection and the predictive value of haematology. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 85(1). <https://doi.org/10.4102/ojvr.v85i1.1626>
- Rebar, A. (2003). *Interpretación del hemograma Canino y Felino*. Retrieved from <http://www.vetpraxis.net/wp-content/uploads/2015/09/Interpretación-del-Hemograma-Canino-y-Felino.pdf>
- Retamales, E., & Manzo, V. (2018). Recomendaciones para la tinción de frotis sanguíneos para la lectura del hemograma. *Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia*, 1–14.
- Rodriguez, A. (2007). Epidemiología de la Babesiosis: Zoonosis emergente. *Medigraphic*, 5, 132–138.
- Romero, L. E., Dolz, G., & Romero, J. J. (2010). Evaluation of the diagnosis of Ehrlichia canis in dogs from Costa Rica, using blood smears and molecular technique. *Rev. Ciencias Veterinarias*, 28(0250–5649), 23–36.
- Sainz, Á., Roura, X., Miró, G., Estrada-Peña, A., Kohn, B., Harrus, S., & Solano-Gallego, L. (2015). Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasites & Vectors*, 8, 75. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0649-0>
- Sainz, A., Tesouro, M. A., Amusatogui, I., Rodriguez, F., Mazzucchelli, F., & Rodriguez, M. (2000). Prospective Comparative Study of 3 Treatment Protocols Using Doxycycline or Imidocarb Dipropionate in Dogs with Naturally Occurring Ehrlichiosis. *Vet Intern Med* . Retrieved from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02226.x>
- Saito, T., & Walker, D. (2016). Ehrlichioses: An Important One Health Opportunity. *Veterinary Sciences*, 3(3), 20. <https://doi.org/10.3390/vetsci3030020>



- Sarango, M., & Álvarez, C. (2017). *Caracterización de ectoparásitos y determinación de las enfermedades hematozoáricas y bacterianas presentes en la población canina y felina del cantón Puerto López*. Universidad Central del Ecuador. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13052/1/T-UCE-0014-039-2017.pdf>
- Sigüenza, D. (2018). *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum en caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Pet Roussel de Guayaquil, diagnosticado mediante Inmunofluorescencia Indirecta de la IgG*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/11453/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-53.pdf>
- Silva, A., Pina, S., & De la Torre, G. (2014). Infección humana asintomática por contacto con perros . Un caso de ehrlichiosis humana. *Gaceta Médica de México.*, 171–174. <https://doi.org/150:171-4>
- Silva, B. (2016). *Comparacion de los Valores Hematológicos en Perros Seropositivos y Seronegativos a Microorganismos de la Familia Anaplasmataceae*. Universidad Austral de Chile. Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2016/fvs5861c/doc/fvs5861c.pdf>
- Stuen, S., & Longbottom, D. (2011). Treatment and Control of Chlamydial and Rickettsial Infections in Sheep and Goats. *Elsevier*. Retrieved from https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46736763/Treatment_and_Control_of_Chlamydial_and_20160623-15983-1gg9fyx.pdf?response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DTreatment_and_Control_of_Chlamydial_and.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-
- Tepán, J. (2017). *Determinación de valores de referencia en hemograma y química sanguínea en caninos hembras en condiciones de altitud*.
- Torres, J. A. (2016). *Índice de prevalencia de babesia canis en perros en el cantón Machala provincia de El Oro*. Machala: Universidad Técnica de Machala. Retrieved from



<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7701>

- 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. *Universidad Central Del Ecuador*, 1–63.
- Uilenberg, G. (2006). Babesia—A historical overview. *Veterinary Parasitology*, 138(1–2), 3–10. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2006.01.035>
- Ulloa, M. (2018). *Incidencia de Anaplasmosis en Caninos*. Universidad Politécnica Salesiana. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15092/1/UPS-CT007446.pdf>
- Valarezo, J. (2013). *Determinacion de Ehrlichia Canis en Perros en la Ciudad de Machala*. Universidad Tecnica de Machala. Retrieved from http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1466/7/CD532_TESIS.pdf
- Vasco, K. (2014). " Standardization of melting curve analysis for the detection of Babesia in ticks using nucleotide polymorphisms ". *ResearchGate*, (December), 1–99.
- Villiers, E., & Blackwood, L. (2015). *Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales*. España: BSAVA.
- Waner, T., Harrus, S., Bark, H., Bogin, E., Avidar, Y., & Keysary, A. (1997). Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Veterinary Parasitology*, 69(3–4), 307–317. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01130-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01130-2)
- Wittwer, F. (2012). *Manual de patología clínica veterinaria* (2nd ed.). Chile: Imprenata América.
- Yáñez, A. (2017). *Cambios hematológicos en Canis lupus familiaris positivos a Babesia spp., atendidos en la veterinaria Dr. Pet ubicada en la ciudad de Guayaquil*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/7726/1/T-UCSG-PRE-TEC->



CMV-23.pdf

Ybañez, R. H. D., Ybañez, A. P., Arnado, L. L. A., Belarmino, L. M. P., Malingin, K. G. F., Cabilete, P. B. C., ... Xuan, X. (2018). Detection of Ehrlichia, Anaplasma, and Babesia spp. in dogs in Cebu, Philippines. *Veterinary World*, 11(1), 14–19. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.14-19>

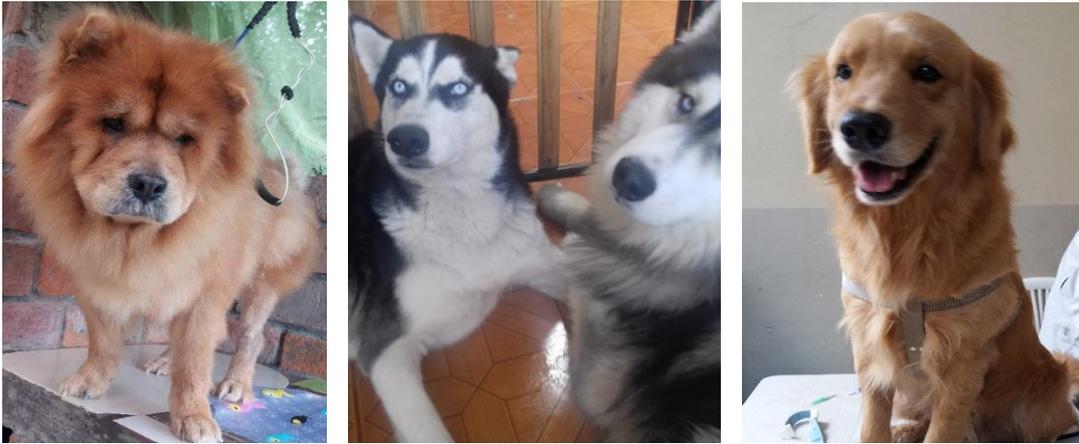
Zamora, Y. (2012). Pruebas del coagulograma y componentes de la hemostasia. Utilidad para diagnosticar las diátesis hemorrágicas Tests of coagulation and hemostasis components. Usefulness for diagnosing hemorrhagic diathesis. *Inmunología y Hemoterapia*, 28(2), 141–150.

Zárate, V. (2016). *Prevalencia de Babesia spp. en Perro (canis familiaris) Atendidos en las Clinicas Veterinarias de la Ciudad de Loja y Hospital Docente Veterinario "Cesar Augusto Guerrero" de la Universidad Nacional de Loja*. Retrieved from [http://dspace.unl.edu.ec:9001/jspui/bitstream/123456789/9896/1/TESIS Vanessa Alexandra Zárate Rosillo.pdf](http://dspace.unl.edu.ec:9001/jspui/bitstream/123456789/9896/1/TESIS%20Vanessa%20Alexandra%20Zárate%20Rosillo.pdf)

**9. ANEXOS****Anexo 1:** Ejemplo de la ficha utilizada para la recolección de datos.

Datos Generales			
Propietario	Direccion	Telefono	Fecha
Especie	Edad	Raza	Sexo
EXAMEN FISICO			
Peso	Temperatura	Mucosas	TLLC
Frecuencia respiratoria	Frecuencia cardiaca	Características pulso	% Hidratacion
Ganglios linfaticos	Condicion corporal	Estado nutricional	Actitud
Desde cuando tiene esta mascota		Tiene mas mascotas en casa	
Vacunas			
Desparasitaciones (tiempo)			
Ha estado expuesto a garrapatas	Ha sido tratado contra hemoparasitos		Hace que tiempo
Enfermedades que ha padecido		Duracion	
PIEL	Ha notado lesiones en piel		Apariencia
	Desde cuando		Area involucrada
Sistema Esqueletico	Anormalidades al caminar		Miembro afectado
	Intermitente o constante		Hace que tiempo
Sistema Respiratorio	Tos	Productiva	Duracion
	Estornudos		Duracion
	Descarga nasal	Tipo	Disnea
Sistema Cardiovascular	Fatiga facilmente	Debilidad	
	Palidez	Cianosis	Tiempo
Sistema Digestivo	Apetito	Ingestion de Agua	Regurgitación
	Vomito	Apariencia	Frecuencia
	Frecuncia evacuaciones	Apariencia	Consistencia
Sistema Urinario	Hematuria	Poliuria	Polaquiuria
	Disuria	Oliuria	Duración
Sistema Nervioso	Comportamiento anormal	Ataxia	Convulsiones
Ojos	Anormalidades		Tiempo
Oidos	Anormalidades		Tiempo
Historia (Anamnesis)			

Anexo 2: Animales de la muestra y agente causal (*Rhipicephalus sanguineus*)



Animales utilizados para el estudio



*Agente causal (*Rhipicephalus sanguineus*) encontrado en animal de la muestra*

Anexo 3: Imágenes de las actividades realizadas durante la investigación.



Toma de constantes fisiológicas (Frecuencia cardiaca – Temperatura)



Extracción de sangre de la vena cefálica



Muestras de sangre



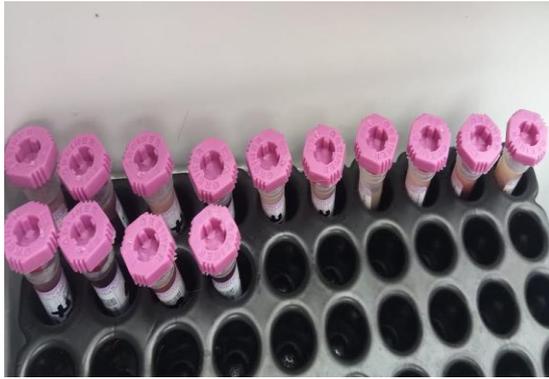
Extendido de sangre (frotis)



Almacenamiento de muestras de sangre para retracción del coágulo



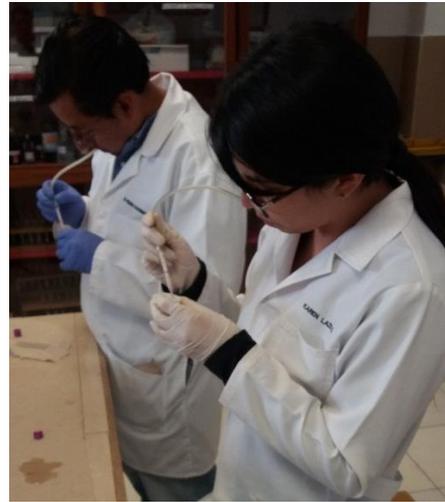
Anexo 4: Imágenes de las actividades realizadas en el laboratorio.



Muestras de sangre para hematocrito



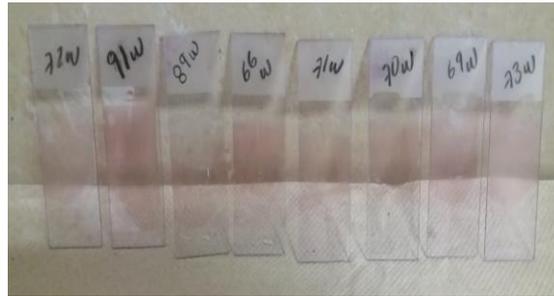
Microcentrifuga (microhematocrito)



Utilización de la pipeta de Thomas para conteo de glóbulos rojos y blancos

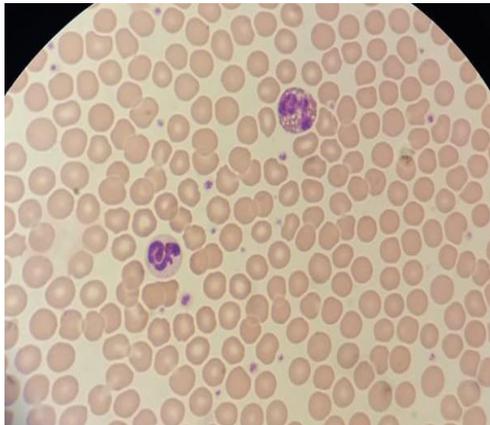


Conteo de glóbulos en la cámara de Neubauer

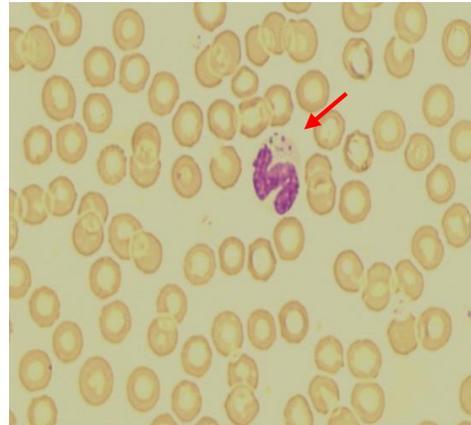


Frotis sanguíneos y Tinción (Giemsa)

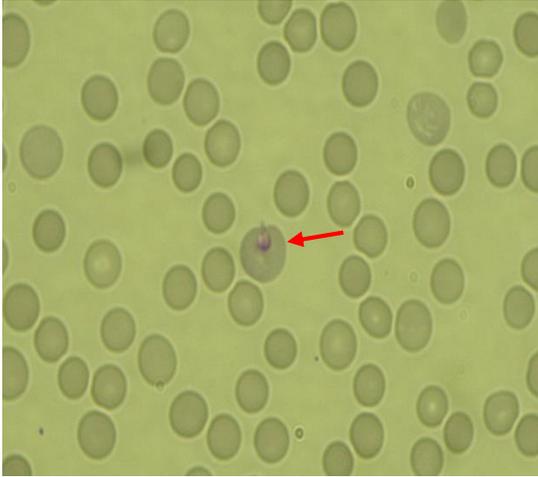
Anexo 5: Imágenes observadas al microscopio (Serie blanca y hemoparásitos).



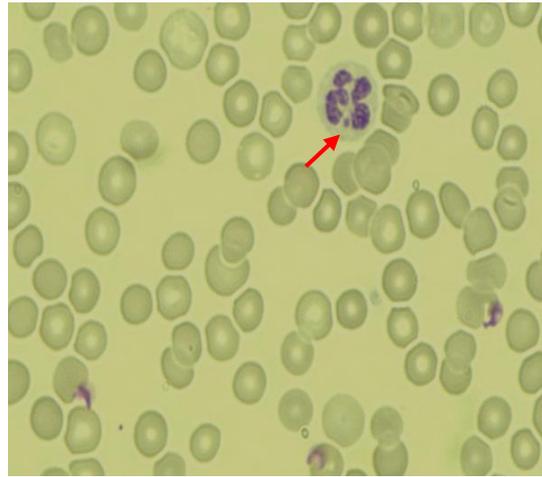
Serie blanca (eosinófilo - neutrófilo)



Cuerpos elementales de Ehrlichia canis



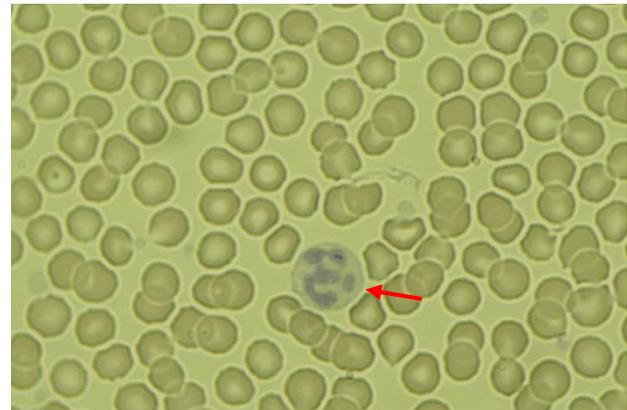
Babesia canis



Ehrlichia canis



Babesia canis



Anaplasma phagocytophilum



Anexo 6 : Valores hematológicos en perros positivos a hemoparásitos

Prueba Hemática	Nivel	Ehrlichia		Babesia		Anaplasma		Ehr - Bab		Ehr - Anap		Bab - Anap	
		Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%
Glóbulos Rojos #	Bajo (<5,5)	17	21,5	5	25,0	2	18,2	7	33,3	0	0,0	1	50,0
	Normal (5,5 - 8,5)	56	70,9	13	65,0	8	72,7	11	52,4	3	100,0	1	50,0
	Alto (>8,5)	6 _b	7,6	2	10,0	1	9,1	3	14,3	0	0,0	0	0,0
Hemoglobina #	Bajo (<120)	5	6,3	0	0,0	1	9,1	4	19,0	0	0,0	0	0,0
	Normal (120 - 180)	12	12,2	5 _b	25,0	1	9,1	2	9,5	0	0,0	1	50,0
	Alto (>180)	62	78,5	15	75,0	9	81,8	15	71,4	3	100,0	1	50,0
Hematocrito #	Bajo (<0,37)	13	16,5	6 _b	30,0	1	9,1	5	23,8	0	0,0	0	0,0
	Normal (0,37 - 0,55)	56	70,9	11 _b	55,0	8	72,7	14	66,7	3	100,0	2	100,0
	Alto (>0,55)	10	12,7	3	15,0	2	18,2	2	9,5	0	0,0	0	0,0
VGM #	Bajo (<60)	5 _b	6,3	7	35,0	1	9,1	4	19,0	0	0,0	1	50,0
	Normal (60 - 77)	57 _b	72,2	9	45,0	8	72,7	7 _b	33,3	2	66,7	1	50,0
	Alto (>77)	17	21,5	4	20,0	2	18,2	10 _b	47,6	1	33,3	0	0,0
CGMH #	Bajo (<320)	7	8,9	0	0,0	2	18,2	3	14,3	0	0,0	0	0,0
	(>360)	72	91,1	20	100,0	9	81,8	18	85,7	3	100,0	2	100,0
	Bajo (<200)	5	6,3	0	0,0	1	9,1	3 _b	14,3	0	0,0	0	0,0
Plaquetas #	Normal (200 - 700)	57	72,2	18	90,0	6	54,5	14	66,7	3	100,0	2	100,0
	Alto (>700)	17	21,5	2	10,0	4	36,4	4	19,0	0	0,0	0	0,0
	T. Coagulación #	79	100,0	20	100,0	11	100	21	100,0	3	100,0	2	100,0
Retracción Coagulo %	Bajo (<10)	3	3,8	0	0,0	0	0	1	4,8	0	0,0	0	0,0
	Normal (10)	66	83,5	18	90,0	9	81,8	12 _b	57,1	3	100,0	1	50,0
	Alto (>10)	10	12,7	2	10,0	2	18,2	8 _b	38,1	0	0,0	1	50,0
Glóbulos Blancos #	Bajo (<55)	24	30,4	6	30,0	2	18,2	6	28,6	2	66,7	1	50,0
	Normal (55 - 78)	10	12,7	2	10,0	3	27,3	2	9,5	0	0,0	1	50,0
	Alto (>78)	45	57,0	12	60,0	6	54,5	13	61,9	1	33,3	0	0,0
Neutrófilos #	Bajo (<60)	20	25,3	5	25,0	2	18,2	9	42,9	0	0,0	0	0,0
	Normal (60 - 64)	10	12,7	1	5,0	0	0	0	0,0	1	33,3	0	0,0
	Alto (>64)	49	62,0	14	70,0	9	81,8	12	57,1	2	66,7	2	100,0
Basófilos #	Normal (0 - 1)	68	86,1	15	75,0	8	72,7	18	85,7	3	100,0	2	100,0
	Alto (>1)	11	13,9	5	25,0	3	27,3	3	14,3	0	0,0	0	0,0
Linfocitos #	Bajo (<12)	22	27,8	5	25,0	5	45,5	5	23,8	1	33,3	1	50,0
	Normal (12 - 30)	42	53,2	11	55,0	4	36,4	9	42,9	2	66,7	1	50,0
	Alto (>30)	15	19,0	4	20,0	2	8,2	7	33,3	0	0,0	0	0,0
Monocitos #	Bajo (<3)	73	92,4	18	90,0	11	100	19	90,5	3	100,0	2	100,0
	Normal (3 - 6)	6	7,6	2	10,0	0	0	2	9,5	0	0,0	0	0,0
Eosinófilos #	Bajo (<2)	4	5,1	2	10,0	1	9,1	2	9,5	0	0,0	1	50,0
	Normal (2 - 5)	20	25,3	5	25,0	3	27,3	6	28,6	1	33,3	1	50,0
	Alto (>5)	55	69,6	13	65,0	7	63,6	13	61,9	2	66,7	0	0,0

Anexo 7: Prevalencia de hemoparásitos por ciudades: Zaruma y Piñas

Hemoparásitos	Zaruma	%	Piñas	%
Ehrlichia	37	27%	42	31%
Babesia	14	10%	6	4%
Anaplasma	6	4%	5	4%
Ehrlichia-Babesia	13	10%	8	6%
Ehrlichia-Anaplasma	2	1%	1	1%
Babesia- Anaplasma	1	1%	1	1%



Anexo 8: Alteraciones en eritrograma y leucograma en casos positivos a Ehrlichia canis

Ehrlichia canis

Casos (+)	Prueba	Analito	Resultado	Interpretación
4	Eritrograma	GR	Disminuido	VGM > Anemia
		Hto		macrocítica
		Hb		CGMH < hipocrómica
2	Leucograma	Neutrófilos	Disminuido	Neutropenia
		Linfocitos		Linfopenia

Anexo 9: Resultado t student, Comparación de medias de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a Ehrlichia canis

t-student		Media	E.E.	CV	t=	p=
GR x10 ¹² /L	Negativos	6,87	0,10	26,32	1,81	0,0718
	Positivos	6,47	0,18	25,13		
Hb g/L	Negativos	228,83	3,45	26,31	1,79	0,0742
	Positivos	215,48	6,11	25,20		
Hto L/L	Negativos	0,46	0,01	18,40	0,61	0,5392
	Positivos	0,46	0,01	20,78		
VGM fL	Negativos	73,01	1,68	40,18	-0,50	0,6144
	Positivos	74,82	2,80	33,23		
CGMH g/L	Negativos	494,23	6,31	22,31	1,97	0,0507
	Positivos	471,34	9,75	18,39		
Plaq x10 ⁹ /L	Negativos	512,01	12,75	43,49	-0,14	0,8895
	Positivos	515,95	25,95	44,70		
Rcoag %	Negativos	10,55	0,19	31,23	-0,52	0,6020
	Positivos	10,76	0,33	26,92		
GB x10 ⁹ /L	Negativos	93,18	3,17	59,32	-0,13	0,9000
	Positivos	94,06	6,30	59,56		
Neut %	Negativos	67,26	0,82	21,36	-0,62	0,5388
	Positivos	68,37	1,58	20,60		
Bas %	Negativos	0,62	0,05	151,18	0,56	0,5737
	Positivos	0,56	0,10	156,81		
Linf %	Negativos	22,15	0,77	61,10	1,24	0,2165
	Positivos	20,05	1,46	64,65		
Mono %	Negativos	0,75	0,07	154,86	1,17	0,2422
	Positivos	0,58	0,13	195,63		
Eosi %	Negativos	8,99	0,35	68,63	-1,80	0,0721
	Positivos	10,44	0,81	69,05		

**Anexo 10: Alteraciones en eritrograma y leucograma en casos positivos a *Ehrlichia canis******Babesia canis***

Casos (+)	Prueba	Analito	Resultado
6	Eritrograma	GR	Disminuido (5)
		Hto	Disminuido (6)
		Hb	Normal
2	Leucograma	Neutrófilos	Disminuido
		Linfocitos	

Anexo 11: Alteraciones en eritrograma y leucograma en casos positivos a *Ehrlichia canis****Anaplasma phagocytophilum***

Casos (+)	Prueba	Analito	Resultado	Interpretación
1	Eritrograma	GR	Disminuido	VGM ↑ Anemia macrocítica CGMH ↓ hipocrómica
		Hto		
		Hb		
	Leucograma	Neutrófilos	Disminuido	Neutropenia
		Linfocitos		Linfopenia
		Plaquetas	Disminuido	Trombocitopenia



Anexo 12. Resultado t student, Comparación de medias de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a *Anaplasma phagocytophilum*

<i>t-student</i>		<i>Media</i>	<i>E.E.</i>	<i>CV</i>	<i>t=</i>	<i>p=</i>
GR x10 ¹² /L	Negativos	6,79	0,09	26,07	0,20	0,8391
	Positivos	6,68	0,64	31,66		
Hb g/L	Negativos	226,18	3,05	26,07	0,20	0,8451
	Positivos	222,64	21,31	31,74		
Hto L/L	Negativos	0,46	0,01	19,01	-0,71	0,4782
	Positivos	0,48	0,02	14,48		
VGM fL	Negativos	73,11	1,45	38,25	-0,74	0,4775
	Positivos	82,64	12,83	51,48		
CGMH g/L	Negativos	490,59	5,49	21,60	1,15	0,2499
	Positivos	453,18	33,69	24,65		
Plaq x10 ⁹ /L	Negativos	511,57	11,56	43,65	-0,64	0,5244
	Positivos	555,27	77,08	46,04		
Rcoag %	Negativos	10,58	0,17	30,65	-0,33	0,7396
	Positivos	10,91	0,61	18,54		
GB x10 ⁹ /L	Negativos	93,31	2,87	59,45	-0,12	0,9035
	Positivos	95,36	16,23	56,46		
Neut %	Negativos	67,33	0,73	21,02	-1,23	0,2176
	Positivos	72,73	5,61	25,57		
Bas %	Negativos	0,61	0,05	152,37	-0,42	0,6694
	Positivos	0,73	0,33	151,76		
Linf %	Negativos	21,84	0,69	60,99	1,09	0,2759
	Positivos	17,36	5,04	96,21		
Mono %	Negativos	0,73	0,06	161,49	0,76	0,4451
	Positivos	0,45	0,21	151,26		
Eosi %	Negativos	9,30	0,33	68,79	0,29	0,7696
	Positivos	8,73	2,17	82,48		



Anexo 13: Alteraciones en eritrograma y leucograma en casos positivos a *E. canis* y *B. canis*

E. canis* - *B. canis

Casos (+)	Prueba	Analito	Resultado	Interpretación
3	Eritrograma	GR	Disminuido	VGM ↑ Anemia macrocítica CGMH ↓ hipocrómica
		Hto		
		Hb		
	Leucograma	Neutrófilos	Disminuido (1)	Neutropenia
			Aumento (1)	Neutrofilia
			Normal (1)	Normal
		Linfocitos	Aumento (1)	Linfocitosis
			Normal (2)	Normal

Anexo 14. Resultado t student, Comparación de medias de valores hematológicos entre perros negativos y positivos a *Ehrlichia* - *Babesia*

t-student		Media	E.E.	CV	t=	p=
GR x10 ¹² /L	Negativos	6,83	0,09	25,55	1,79	0,0736
	Positivos	6,11	0,49	36,43		
Hb g/L	Negativos	227,38	3,05	25,57	1,80	0,0732
	Positivos	203,57	16,08	36,20		
Hto L/L	Negativos	0,46	0,01	18,84	0,70	0,4853
	Positivos	0,45	0,02	19,97		
VGM fL	Negativos	72,68	1,43	37,36	-1,30	0,2088
	Positivos	85,48	9,75	52,25		
CGMH g/L	Negativos	491,75	5,46	21,14	1,72	0,0869
	Positivos	450,95	29,68	30,16		
Plaq x10 ⁹ /L	Negativos	514,90	11,50	42,54	0,57	0,5764
	Positivos	476,95	65,86	63,28		
Rcoag %	Negativos	10,42	0,12	22,56	-1,54	0,1396
	Positivos	13,57	2,05	69,07		
GB x10 ⁹ /L	Negativos	93,25	2,92	59,70	-0,18	0,8608
	Positivos	95,43	11,11	53,36		
Neut %	Negativos	67,90	0,72	20,24	1,63	0,1175
	Positivos	60,33	4,58	34,77		
Bas %	Negativos	0,61	0,05	152,57	0,43	0,6642
	Positivos	0,52	0,16	143,11		
Linf %	Negativos	21,44	0,68	60,82	-1,23	0,2322
	Positivos	26,52	4,08	70,44		
Mono %	Negativos	0,71	0,06	163,46	-0,56	0,5754
	Positivos	0,86	0,26	139,44		
Eosi %	Negativos	9,34	0,33	68,79	0,66	0,5065
	Positivos	8,38	2,17	82,48		



UNIVERSIDAD DE CUENCA

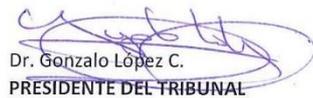
DEJAMOS CONSTANCIA DE HABER RECIBIDO LA TESIS DE GRADO DE LOS EGRESADOS:

WILKINZ GUERRERO GUAYARA

KAREN CECILIA LAZO ESPINOZA

MISMA QUE HA SIDO REVISADA Y CORREGIDA PARA CONTINUAR CON LOS TRÁMITES DE GRADUACIÓN

Cuenca, 30 de octubre de 2019


Dr. Gonzalo López C.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL


Dr. Jorge Bustamante O.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Dr. Omar Andrade G.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Dra. Silvana Méndez A.
DIRECTOR DE TESIS


Dr. Guillermo Guevara V.
DELEGADO DE ESTADÍSTICA