



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

ACTA

TGB-10-2023-03

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI FIGLIA Prof. YTALIA BLANCO y Prof. IXORA REQUENA, Reunidos en: Sala de Reuniones del Departamento de Parasitología y Microbiología a la hora: 11:00 am.

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

FRECUENCIA DE DOS HEMOTRÓPICOS: EHRlichia CANIS Y HEPATOOZON CANIS EN MUESTRAS DE UN LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR

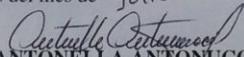
Del Bachiller **JARAMILLO LUGO ALEXANDER RENÉ** C.I.: 23551697, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN <input checked="" type="checkbox"/>
-----------	----------	-----------------------------	--

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 04 días del mes de Julio de 2023


Prof. ANTONELLA ANTONUCCI FIGLIA
Miembro Tutor


Prof. YTALIA BLANCO
Miembro Principal


Prof. IXORA REQUENA
Miembro Principal


Prof. IVÁN AMAYA RODRÍGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado





UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Battistini Casalta”
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

**FRECUENCIA DE DOS HEMOTRÓPICOS: *Ehrlichia canis* y
Hepatozoon canis EN MUESTRAS DE CANINOS DE UN
LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR.**

Tutora:

Lcda. Antonella Antonucci

Trabajo de grado presentado por:

Jaramillo Lugo, Alexander René

C.I. 23.551.697

Como requisito parcial para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis

Ciudad Bolívar, Junio de 2023

INDICE

DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	20
OBJETIVOS	22
Objetivo general	22
Objetivos específicos	22
MATERIALES Y MÉTODOS	23
Diseño de la investigación	23
Muestra.....	23
Criterios de inclusión	23
Procedimientos de laboratorio habitual.....	24
Procedimiento e instrumento de recolección de datos	26
Análisis de resultados y tabulación.....	26
RESULTADOS.....	27
Tabla N° 1	27
Tabla N°2	28
Tabla N°3	29
Tabla N°4	30
Tabla N°5	31
Tabla N°6	32
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	36
RECOMENDACIONES	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

APÉNDICE..... 50
 Apéndice A..... 51

DEDICATORIA

A Dios por ayudarme a no desviarme del objetivo que perseguí al iniciar la carrera y ayudarme a levantarme una y otra vez.

A mis padres, Nora N. Lugo H. y Carlos René Jaramillo M., por las enseñanzas, consejos y palabras de aliento en momentos que incluso no creía en mí mismo.

A mis hermanos, Alexandra Rennymar y Aarón René, para darles el ejemplo que la perseverancia si rinde frutos, siempre estaré para ustedes de eso pueden estar seguros.

A mis abuelas Santa Desideria Hernández y Carlota Josefina Muñoz, quienes cada una a su manera me demostraron amor desde mi niñez.

A mi familia que aun en la distancia nunca dejaron de estar pendiente de mí y de mi formación, ya con este paso estoy más cerca del anhelado “papelito”.

A las personas que en mi vida universitaria me prestaron la ayuda y el apoyo de forma directa e indirecta, me brindaron su cariño, amistad y opiniones, me dejaron una vivencia o una enseñanza, y a todas las personas que de corazón estén felices porque este capítulo llamado trabajo de grado haya llegado a su final.

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios por guiar mi camino hasta ahora y tener la seguridad de que lo seguirá haciendo en el futuro.

Quiero agradecerme a mí, por continuar luchando por la formación académica aun en un tiempo donde hay que ser valiente para “seguir estudiando”, por superar las batallas silentes con sobriedad y celebrar las victorias con alegría.

A la Universidad de Oriente, la casa más alta por ser mi lugar de tantas emociones y recuerdos, el aprendizaje obtenido, dentro y fuera de lo académico, durante todos estos años llevare muy presente por el resto de mi vida.

A mi tutora Lcda. Antonella Antonucci, por todo el cariño brindado antes, durante y después de la realización de este trabajo. Al personal del Laboratorio Nellamed, la Lcda. Gabriela Contreras y Liusmar Salas, gracias por ser de fuente de conocimientos y amistad.

A mi vida, Naimar García, gracias por el apoyo y los consejos, por ayudarme y motivarme a mejorar por y para mí, por acompañar mis trasnochos y no darte por vencida conmigo aunque no sea la persona más fácil del mundo.

A los panas Cristián Rendón, Diego Amariscua, Rubén Barrios y Eduardo Borges, por estar pendiente y tender una mano amiga siempre, ya sobrevivimos la pandemia y aún seguimos dándolo todo, todos los esfuerzos del hoy serán recompensados con creces en el futuro.

A mi grupo de estudio desde la mitad de la carrera y de servicio comunitario Mónica Campos, Cyndys Vázquez, Angélica Marín, Herlyn Aray, Mariangel Jimenez, personas que me enseñaron que un título no se saca solo, y solo llegas rápido, pero en grupo llegas más lejos.

A los aguacates Cruz García, Ángel López y Luis Manuel Ramos, Buenos amigos, compañeros de trabajo y excelentes personas.

A mis amigas del apartamento del diamante, Daniela Rodríguez, Venezia García, Railennys Jiménez, María Mota, por tantas risas, dramas, buenos momentos e incluso adoptarme más veces de las que puedo contar.

RESUMEN

FRECUENCIA DE DOS HEMOTRÓPICOS: *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* EN MUESTRAS DE CANINOS DE UN LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR.

Autor: Jaramillo Lugo, Alexander René

Las enfermedades hemotrópicas afectan animales que viven en zonas tropicales y subtropicales del mundo, debido a la presencia de vectores transmisores de los agentes, tales como garrapatas. *Ehrlichia canis* es una bacteria intracelular parásito obligado, que actúa como el agente causal de la Ehrlichiosis, una enfermedad que afecta más comúnmente a las especies caninas. *Hepatozoon canis* es un parásito protozoario de los caninos, agente etiológico se la Hepatozoonosis. En Venezuela pocos se estudios se han realizado para conocer la frecuencia de *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en caninos, por lo que se realizó este trabajo retrospectivo en Ciudad Bolívar, Venezuela con la finalidad de conocer el status epidemiológico de dichos hemoparásitos en caninos. El diagnóstico correcto permite el control y tratamiento racional de estas enfermedades. La población estuvo representada por 572 muestras de caninos, a los que se les realizó técnica directa de visualización de frotis sanguíneo y frotis de capa blanca coloreados con Giemsa. De la población total 100% (n=572), se obtuvo que el 12,9% (n=74) de los caninos estaban positivos para *Ehrlichia canis*, y el 3,5% (n=20) positivos para *Hepatozoon canis*. El porcentaje de caninos negativos para ambos hemotrópicos fue de 84,3% (n=482). Además se estudió la infección simultánea entre ambas infección, apenas el 0,7% (n=4) de los caninos estaban infectados por *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis*.

Palabras clave: Hemotrópicos, caninos, hepatozoonosis, *Hepatozoon*, *Ehrlichia*.

INTRODUCCIÓN

Los hemoparásitos son un grupo de agentes etiológicos de gran importancia para la salud pública y sanidad animal a nivel global, entre estos están las rickettsias, los nemátodos y los protozoarios cuyo principal vector es la garrapata *Rhipicephalus spp*, las moscas (*Haematobia irritans*, *Stomoxys calcitrans*, *Tabanus spp.*), y otros artrópodos hematófagos los cuales transmiten enfermedades (Montenegro, 2022).

El comportamiento de los hemoparásitos y sus vectores están asociadas a cambios sociales, económicos, de evolución genética del vector y de las cepas de los microorganismos involucrados. En los lugares donde las garrapatas y las moscas son endémicas. la incidencia de enfermedades hemoparasitarias aumentan. Debido a los cambios climáticos puede verse propicio a condiciones ambientales favorables para la multiplicación de artrópodos, especialmente garrapatas y moscas picadoras, favoreciendo la presentación de enfermedades hemoparasitarias. Los estudios de los factores determinantes de los hemoparásitos y su estabilidad zoonóticas son aspectos fundamentales para promover la sanidad animal, lograr mejores tratamientos, acciones de prevención y control que disminuyan la presencia de estas enfermedades (Montenegro, 2022).

Existe una gran variedad de enfermedades transmitidas por vectores que pueden afectar y producir enfermedad en el hombre y distintas especies animales. Algunas de ellas han sido identificadas como especies nuevas y otras, particularmente aquellas cuyos agentes son difíciles de detectar mediante métodos convencionales, son reconocidas cada vez con más frecuencia, como resultado de una mejora en la sensibilidad de las técnicas diagnósticas, sobre todo aquellas basadas en la biología molecular (Ayllon, 2010).

La emergencia de enfermedades nuevas o la reemergencia de otras enfermedades previamente controladas son el reto de la medicina humana y veterinaria. Debido sobre todo a cambios climáticos, los artrópodos, y con ello las infecciones que transmiten, están expandiendo su rango zoo-geográfico, accediendo con ello a nuevos medios. Así, algunas enfermedades emergentes se introducen en un área libre de ellas, considerándose entonces como enfermedades exóticas para esa zona, lo cual está siendo cada vez más frecuente dado el mayor movimiento de animales de compañía junto a sus dueños, de unos países a otros (González y Catín, 2020).

La sintomatología clínica y la presencia del vector como la garrapata en el animal, constituye una orientación para el médico, que unido con los resultados de laboratorio, como pruebas rápidas permiten llegar a un diagnóstico definitivo. En la actualidad se dispone de múltiples pruebas, que por su facilidad de utilización, el tiempo rápido de obtención del resultado, ayuda en un diagnóstico temprano, lo que facilita la realización de un procedimiento terapéutico adecuado y seguro para el paciente (Ruíz, 2021).

Las garrapatas son una de las causas principales de enfermedades parasitarias presentadas en las clínicas veterinarias alrededor del mundo e incluso, se han reportado muchos casos de enfermedades zoonóticas transmitidas por las mismas entre las que se encuentran la Enfermedad de Lyme, la Babesiosis y la Ehrlichiosis canina, siendo esta última producida por *Ehrlichia canis* (Mateus *et al.*, 2007).

Ehrlichiosis es un término usado para describir un grupo de enfermedades transmitidas por garrapatas causadas por bacterias intracelulares obligadas del género *Ehrlichia* (*Rickettsiales: Anaplasmataceae*). Se reconocen un total de seis especies de *Ehrlichia* de humanos y otros animales: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. mineirensis*, *E. muris* y *E. ruminantium*. Otras especies de *Ehrlichia* spp. adicional se

han informado sobre la base de pruebas moleculares y serológicas de infección, y se descubren rutinariamente nuevos miembros del género. Así como nuevas enfermedades debida a estos agentes. Ocurre en personas, perros y rumiantes, con informes ocasionales de gatos, caballos, primates no humanos y otros animales (Little, 2017).

Ehrlichia canis es el agente etiológico de la Ehrlichiosis monocítica canina (EMC), enfermedad multisistémica grave y a veces fatal que afecta a miembros de la familia *Canidae*, afectando predominantemente a los perros. El agente etiológico, es una bacteria intracelular obligatoria, Gram-negativa, de forma cocoidal, que requiere de un mamífero como reservorio y de un artrópodo como vector. Presenta tropismo por células sanguíneas (leucocitos y plaquetas) de animales y humanos, e invade su citoplasma, alojándose dentro de vacuolas, donde se multiplica por fisión binaria, dando origen a las mórulas (Aguiar *et al.*, 2013).

Ehrlichia spp. puede replicarse dentro de las vacuolas parasitóforas citoplasmáticas dentro de los neutrófilos, monocitos, macrófagos o células endoteliales, y la infección puede confirmarse mediante la identificación de inclusiones intracelulares dentro de las células en frotis de sangre teñidos o frotis de improntas. Estas inclusiones, denominadas mórulas, aparecen como gránulos característicos densamente teñidos dentro del citoplasma de las células infectadas. Las mórulas son algo pleomórficas y la densidad de apariencia puede variar con la etapa de replicación de los organismos (Little, 2017).

Esta enfermedad se dio a conocer en India en 1935, cuando Donatien y Lestoquard del Instituto Pasteur de Argelia, visualizaron en monocitos de perros febriles y con anemia, organismos semejantes a rickettsias, por lo que fueron clasificados como *Rickettsia canis*. Moshovski, en 1945, reclasificó a los *Rickettsias canis* como *Ehrlichia canis*, en honor a Paul Ehrlich, estableciendo un género diferente a *Rickettsia*. Para el año de 1962, en Estados Unidos, Ewing visualizó este

patógeno también en leucocitos en frotis sanguíneos de caninos, fue considerado de importancia veterinaria después de los brotes epizoóticos en perros militares ingleses en Singapur en 1963 y en perros militares de Estados Unidos en Vietnam en 1968, que produjo la muerte de aproximadamente 200 animales (Gutiérrez *et al.*, 2016).

Conforme ha avanzado el tiempo, muchos han sido los casos reportados, generando altas tasas de morbimortalidad entre perros domésticos y otros miembros de la familia *Canidae* en países de todas partes del mundo, sobre todo en regiones tropicales y subtropicales del planeta, esto en concordancia con la presencia de la garrapata marrón del perro, como vector para la transmisión a humanos (Harrus *et al.*, 2012).

Ehrlichia canis ha desarrollado una cantidad de factores de virulencia para evadir las defensas innatas del huésped, incluyendo la apoptosis. Las mórulas de *Ehrlichia spp.* Interactúan con las mitocondrias produciendo proteínas que inhiben la actividad mitocondrial y posterior apoptosis. Se ha demostrado *in vitro* que la polimerización de la actina del citoesqueleto celular en presencia de calcio e hierro es importante en el proceso de propagación intercelular de *E. canis* (Alves *et al.*, 2014).

La infección producida por *E. canis* está asociada a una amplia variedad de manifestaciones clínicas que van a depender de varios factores, entre ellos dosis del patógeno transmitido durante la alimentación de la garrapata, actividad del sistema inmunológico del perro, virulencia de la cepa, raza del perro y coinfección con otros patógenos; por lo tanto, se pueden observar desde casos sin signos clínicos (asintomáticos), otros con malestar leve, llegando a casos graves y algunas veces fatales (Little, 2010).

Puede producirse la resolución espontánea, la remisión con tratamiento o la infección subclínica persistente tienen una duración variable, y posiblemente persistente durante años; puede haber microorganismos persistentes y producción de anticuerpos donde también es posible la desaparición espontánea de los microorganismos. La enfermedad puede convertirse en crónica, con las manifestaciones clínicas descritas (Ruíz, 2021).

La ehrlichiosis humana se ha descrito en pacientes de las Américas, África y Asia y se ha atribuido a la infección por una variedad de diferentes especies de *Ehrlichia* spp. La mayoría de los casos informados de ehrlichiosis humana en los Estados Unidos son causados por *E. chaffeensis*, infección transmitida por garrapatas *Amblyomma americanum*. (Little, 2017). En América del Sur, la etiología y la epidemiología de la ehrlichiosis humana son menos claras. *Ehrlichia canis* ha sido documentado en algunos casos de enfermedades humanas, pero *E. chaffeensis* y *E. Ewingii* también se sospecha que desempeñan un papel en la inducción de una enfermedad febril transmitida por garrapatas en las personas (Vieira *et al.*, 2011).

La ehrlichiosis humana generalmente se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza intenso y malestar general. A menudo se presentan mialgias y molestias gastrointestinales. Los signos neurológicos, incluida la confusión, se desarrollan en aproximadamente el 20% de los pacientes y, en casos graves, se informa dificultad para respirar y diátesis hemorrágica. Se estima que las tasas de mortalidad son del 2 al 3% (Little, 2017).

La mayoría de los niños pero una minoría de adultos con enfermedades debidas a *E. chaffeensis* también desarrolla una erupción maculopapular a petequial no pruriginosa o eritrodermia. Sin embargo, debido a que las lesiones cutáneas son inconsistentes en enfermedades inducidas por *E. chaffeensis* y no documentada en otras formas de ehrlichiosis humana, la presencia o ausencia de una erupción no debe

usarse para llegar a un diagnóstico (CDC, 2015). Hallazgos hematológicos y químicos séricos comunes en pacientes humanos incluyen Trombocitopenia, leucopenia y enzimas hepáticas elevadas (Little, 2017).

Clínicamente, la Ehrlichiosis canina puede cursar con tres fases: aguda, subclínica y crónica. La primera ocurre luego del periodo de incubación que suele ocurrir entre 8 a 20 días posteriores a la inoculación del patógeno, pudiendo existir una recuperación total o inducir a una fase subclínica, sin signos clínicos evidentes. Los perros que son incapaces de eliminar el agente infeccioso desarrollan una infección persistente subclínica y se convierten en portadores asintomáticos. (Straube, 2010).

La fase aguda dura unas 2-4 semanas, durante las cuales el agente se multiplica y disemina por el organismo. Igualmente se replica en células mononucleares, sobre todo del sistema mononuclear fagocitario, como ganglios, bazo, hígado y médula ósea, provocando en ellos una hiperplasia linfocítica que produce un aumento en su tamaño. El agente se continúa diseminando por el organismo, afectando fundamentalmente a pulmones, riñones y meninges. Esta fase se caracteriza por ser típicamente leve o benigna y los signos son, en general, de tipo inespecífico, apareciendo fiebre, anorexia, pérdida de peso, apatía, depresión, secreción ocular-nasal, mucosas pálidas, linfadenomegalia y hepato-esplenomegalia (Ayllon, 2010).

En la mayoría de los casos, los signos clínicos se resuelven aparentemente sin tratamiento, progresando la enfermedad a la fase subclínica. En algunos animales se elimina el agente por una buena respuesta inmunitaria, sin necesidad de un tratamiento médico. La duración de esta fase puede oscilar desde unas semanas hasta años. No se conocen los factores que pueden influir en la progresión de la fase subclínica a la fase crónica ni se conoce el porcentaje de perros infectados que pasan a la fase crónica (Ayllon, 2010).

La ehrlichiosis canina frecuentemente se diagnostica durante la fase crónica. Los animales suelen llegar a esta fase debido a un sistema inmunitario ineficaz, que no es capaz de eliminar el agente causante de la enfermedad. Los perros que llegan a esta fase se encuentran en un estado avanzado de la enfermedad y su pronóstico puede ser grave. Su gravedad depende de distintos factores como la virulencia de la cepa de *E. canis*, la edad del animal, raza, estado inmunitario, la existencia de enfermedades concurrentes y el estrés. En la fase crónica nos encontramos de nuevo con signos inespecíficos similares a los de la fase aguda, como letargia, anorexia, pérdida de peso, fiebre, mucosas pálidas, esplenomegalia y linfadenopatías, entre otros (González y Catín, 2020).

También pueden presentarse signos hemorrágicos, como melena, epistaxis, petequias o equimosis, hipema, hemorragias retinianas, hematomas subcutáneos y sublinguales, hematoquezia o hematuria, en un 25-60% de los casos. De todos estos signos hemorrágicos, el más frecuente es la epistaxis, uni o bilateral. Igualmente se pueden encontrar en esta fase signos oculares, como conjuntivitis, uveitis anterior, glaucoma secundario, edema corneal, cambios retinales e incluso ceguera. (Hurtado *et al.*, 2020).

En menor frecuencia signos neurológicos como ataxia, paraparesis, ataques, síndromes convulsivos, déficit de la propiocepción o nistagmo. Algunos casos pueden presentar alteraciones locomotoras por polimiositis, mono o poliartritis, pero la mayoría de las veces éstas son causadas por especies granulocíticas como *E. ewingii* o *A. phagocytophilum*. (Ayllon, 2010).

Con respecto a las alteraciones en la analítica son muy variables, pero en términos generales se pueden afirmar que el dato hematológico más consistente en la fase aguda, y que permanece durante las demás fases, es la trombocitopenia que ocurre en más del 90% de los perros infectados, aunque también existen casos con

valores plaquetarios normales (Rodríguez *et al.*, 2014). Además de la trombocitopenia, puede haber trombocitopatías, habiéndose identificado un factor de inhibición de la migración plaquetaria (PMIF), producido por los linfocitos B que induce cambios en la superficie de las plaquetas haciéndolas más susceptibles a su destrucción por células del sistema mononuclear fagocitario (González y Catín, 2020).

También se puede presentar una hipoalbuminemia por pérdida de proteínas en orina o por otras causas como la presencia de edemas, pérdida de peso o procesos inflamatorios. La funcionalidad hepática suele ser normal, aunque se han descrito aumentos ligeros en los valores de las enzimas hepáticas en el suero, que se pueden acompañar de hiperbilirrubinemia. (Hurtado *et al.*, 2020).

El diagnóstico de ehrlichiosis se basa en una combinación de signos clínicos característicos y hallazgos hematológicos junto con resultados confirmatorios en ensayos de laboratorio establecidos. Una historia de exposición a garrapatas infectadas por residencia o viaje a un área endémica y la presencia de anomalías hematológicas, en particular trombocitopenia, también aumentan el índice de sospecha. El diagnóstico directo puede hacerse mediante la identificación de mórulas en leucocitos en preparaciones citológicas teñidas de sangre total, capa leucocitaria (Capa blanca) o médula ósea; examinar frotis de sangre suele ser más gratificante para identificar agentes granulocíticos. Las mórulas también pueden identificarse en frotis de impronta teñidos recogidos en la necropsia (Allison y Little, 2013).

Las mórulas de *E. canis* o *E. chaffeensis* se consiguen en el citoplasma de monocitos y linfocitos mientras que las mórulas de *E. ewingii* se encuentran en el citoplasma de granulocitos. El diagnóstico se puede sospechar visualizando las mórulas intracitoplasmáticas en las células afectadas en frotis de sangre periférica, y

se confirma con serología, con cultivos o con detección molecular (Franco *et al.*, 2011).

Todos los métodos diagnósticos para esta enfermedad, constan de diferentes valores de sensibilidad y especificidad, por lo que se debe seleccionar el adecuado con base en la sintomatología y el tiempo transcurrido con la infección, ya que en el caso de la evaluación de sangre periférica y detección de anticuerpos IgG, el tiempo transcurrido determina su sensibilidad (Franco *et al.*, 2011).

Desafortunadamente, la búsqueda de las inclusiones en monocitos y linfocitos es dificultosa y consume tiempo. La búsqueda de las inclusiones se hace con aceite de inmersión con objetivo de 100X en 1000 campos. El tiempo empleado por este método se calcula entre 50 a 60 minutos (Allison y Little 2013).

Existe otro microorganismo que cuya capacidad infectante es igual de importante, este produce una enfermedad denominada como hepatozoonosis, el cual es una enfermedad parasitaria causada por un protozoo parásito sanguíneo denominado *Hepatozoon americanum* y *Hepatozoon canis*, que parasitan los glóbulos blancos de los caninos y su transmisión ocurre por la ingestión de garrapatas que contengan ooquistes esporulados de los parásitos (Gómez *et al.*, 2015).

Fue reportado por primera vez en 1905, en la India. En ese momento, el agente causal se describió como un parásito que se encuentra dentro de los leucocitos de los perros, por lo que fue denominado *Leukocytozoon canis*. Algunos años después, el agente causal se transfirió al género *Hepatozoon*, que incluye parásitos encontrados en neutrófilos de ratones, por lo tanto fue renombrado como *Hepatozoon canis* (Dantes y Otranto, 2017).

En la actualidad su distribución es mundial reportándose en Alemania, África, Italia, Francia, España, Portugal, Israel, Asia, Estados Unidos y Sudamérica. Su ciclo biológico es mantenido en el *Rhipicephalus sanguineus*, siendo estacional, sin predilección de sexo, raza o edad, esto puede deberse a la amplia disponibilidad del vector (Tintel, 2016).

El ciclo de vida de *Hepatozoon spp.* en los perros es una cascada de eventos que ocurren en hospedadores vertebrados e invertebrados y, bajo condiciones controladas de laboratorio, puede tomar 81 días (Baneth *et al.*, 2007). Cuando un perro ingiere garrapatas infectadas o sus partes (es decir, mientras acicala o muerde las áreas donde está adherido el vector), los esporozoítos se liberan de los esporoquistes a la luz intestinal (Reyes y Miranda, 2018).

Una vez liberados, los esporozoítos alcanzan el epitelio intestinal y, a través del torrente sanguíneo y la linfa, migran a varios órganos, incluidos el bazo, el hígado, la médula ósea, los pulmones, los ganglios linfáticos y los músculos. En estos sitios, especialmente en los órganos parenquimatosos (hígado y bazo) y en la médula ósea, los esporozoítos dan lugar a macromerontes y micromerontes (que contiene macromerozoitos y micromerozoitos). Cuando se liberan, los micromerozoítos invaden los leucocitos, en particular los neutrófilos y los monocitos, y maduran hasta convertirse en gametocito, que pueden recuperarse en la sangre 28 días después de la infección (Dantes y Otranto, 2017).

Si el esporozoítos se transforma en macroesquizonte en el interior de las células hospedadoras, a la muerte de éstas se liberan los merozoítos que colonizan de nuevo otras células hospedadoras produciéndose macroesquizontes, formando así ciclos de esquizogonia (siendo ilimitados) (Reyes y Miranda, 2018).

Durante la hematofagia, la garrapata ingiere gametocitos de *H. canis*. Los gametocitos se liberan de los leucocitos en el intestino de la garrapata y se asocian en sicigia para formar un cigoto, que dará lugar a un oocineto. El oocineto móvil penetra en el epitelio intestinal y llega al hemocele de la garrapata donde se diferencia en un ooquiste. La esporogonia dura según la especie y el estadio de garrapata de que se trate (Dantas y Otranto, 2017). El estadio de gametocito que se encuentran en los leucocitos circulantes de perros parasitados, esta es la fase más conocida y que se observa en los frotis sanguíneos de un animal parasitado (Cala *et al.*, 2018).

El ciclo de vida de *Hepatozoon canis* se completa cuando la garrapata ingiere los gametocitos, al alimentarse del huésped intermediario que es el perro, se fusionan dentro de la garrapata para formar un oocineto, que atraviesa la pared intestinal de la garrapata y se aloja en el hemocele donde finalmente se desarrolla en un ooquiste que contiene muchos esporoquistes. Cada uno de estos esporoquiste contiene a su vez 12 a 24 esporozoítos. Por consiguiente, el canino debe ingerir la garrapata para infectarse, ya que los microorganismos no migran a la boca de la garrapata (Arcila *et al.*, 2005).

De las dos especies de *Hepatozoon* que afecta al perro, *H. canis* es la menos patógena y requiere la coexistencia de otras patologías para que se manifieste clínicamente. Este microorganismo tiene como hospedador definitivo a la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, transmiten la enfermedad al ser ingeridas por el hospedador intermediario. Las infecciones por *Hepatozoon canis* en caninos generalmente causan enfermedad leve o inaparente pero los casos graves pueden darse. Su ocurrencia se da tanto en regiones templadas como tropicales alrededor del mundo (Rey *et al.*, 2012).

La patogénesis de la infección por *H. canis* se encuentra influenciada por condiciones de deficiencia inmunológica; las patologías que debilitan las respuestas inmunitarias aumentan la susceptibilidad frente a nuevas infecciones o permiten que las infecciones existentes se reactiven (Muñoz *et al.*, 2018). De esta manera los signos clínicos se hacen más evidentes, pero son menos específicos y causan la muerte del canino entre las 4 y 8 semanas de iniciada la sintomatología clínica. En muchos casos la hepatozoonosis se halla asociada a enfermedades como la parvovirus canina, ehrlichiosis, babesiosis, dirofilariosis, distemper y leishmaniosis o en animales inmunosuprimidos (Tintel, 2016).

Los caninos infectados con *H. canis* generalmente no tienen signos clínicos; ya que el parásito frecuentemente es encontrado en leucocitos de caninos clínicamente sanos, considerando que el hallazgo de gametocitos en la circulación sanguínea es ocasional, y atribuyendo eventuales signos clínicos en perros parasitados a otros agentes infecciosos. Las manifestaciones clínicas varían en gravedad (Alva, 2018).

No obstante, aunque *H. canis* aparenta ser inofensivo, de igual manera causa una infección que afecta múltiples tejidos. Entre estos se encuentra el tejido linfoideo, la médula ósea, neutrófilos y monocitos. Los signos clínicos que presentan los perros afectados son inespecíficos y variados, siendo más graves en cachorros menores de 1 año de edad y en perros gerontes (Muñoz *et al.*, 2018).

Este protozoo suele causar una infección crónica con alteraciones clínicas relativamente leves a su huésped, con mayor frecuencia aparece fiebre, anorexia, decaimiento, letargia, mucosas pálidas, pérdida de peso y linfadenopatía local o generalizada. También puede originar según reportes de infecciones experimentales dolor muscular y articular, principalmente de los miembros, ataxia y paraparesia, signos los cuales no se observan típicamente en perros infectados naturalmente por *H. canis* según algunos autores (Muñoz *et al.*, 2018).

Es difícil llegar al diagnóstico en animales con infección crónica por medio del extendido sanguíneo visto en el microscopio a 100X; porque las células afectadas pueden ser sólo una o dos por cada 1000 leucocitos, por lo tanto el examen del frotis debe realizarse en forma meticulosa para lograr hallarlas, de esta manera en el extendido sanguíneo se observan neutrófilos y/o monocitos parasitados con los gametocitos del *Hepatozoon canis*, este puede ser coloreado con Wright, Giemsa, Hemacolor o Diff-Quick, donde los gametocitos adoptan una coloración azul brillante, de forma alargada, rectangulares (Mateus *et al.*, 2007).

Dentro de los hallazgos de laboratorio clínico la anemia es el trastorno hematológico más común en la infección por *H. canis*, por lo general normocítica normocrómica regenerativa. Los recuentos de leucocitos están a menudo dentro del rango normal o con leucocitosis leve sin desviación a la izquierda cuando la parasitemia es baja y puede alcanzar 100.000 células/L de sangre en los casos con parasitemia alta (Muñoz *et al.*, 2018).

La trombocitopenia se produce en aproximadamente un tercio de los perros y puede ser el resultado de una interferencia en la producción en la médula ósea o también se puede atribuir a una coinfección por otro hemotrópico. Aunque el tratamiento para eliminar la infección no ha sido determinado, el diagnóstico de la enfermedad debe hacerse cuando sea posible. Una vez determinado como positivo el animal, debe ser tratado para eliminar temporalmente los gametocitos que se encuentran en las células blancas debido a que éstos son los estadios del ciclo que adquieren las garrapatas y en éstas ocurre la reproducción sexual del parásito. El pronóstico de los perros tratados con bajas parasitemias es generalmente bueno. Si las parasitemias son altas, el pronóstico depende de la coexistencia de otra enfermedad (Rey *et al.*, 2012).

En un laboratorio convencional, el diagnóstico definitivo de la infección por *H. canis* se establece al encontrarlo en extendidos sanguíneos, porque al ser una enfermedad multisistémica, la sintomatología es compleja y ningún síntoma es patognomónico. Cuando un perro tiene parasitemia detectable solo están infectados uno o dos neutrófilos por cada 1000 leucocitos (Craig, 2010).

Los métodos tradicionales de diagnóstico directo para la detección rápida de *Hepatozoon* incluyen frotis de sangre, finos y gruesos, y Frotis de capa leucocitaria (capa blanca). Estos métodos son efectivos solo en animales con alta parasitemia. La sensibilidad disminuye notablemente para las infecciones subclínicas y para aquellas especies de *Hepatozoon* (como *H. americanum*) que normalmente producen niveles de parasitemia muy bajos durante la enfermedad clínica. Las tinciones Romanowsky, incluidas las tinciones de Giemsa y las tinciones rápidas como Diff-Quick, son adecuadas para detectar *Hepatozoon* spp. En sangre (Modrý *et al.*, 2017).

Los métodos histopatológicos para el hallazgo de las formas asexuales son muy laboriosos, costosos y requieren de personal especializado. Los métodos de biología molecular son considerablemente más sensibles para detectar infecciones causadas por *H. canis* en las que la parasitemia es tan baja que no es visualizada mediante extendidos sanguíneos. Entre estos, se incluye la reacción en cadena de la polimerasa estándar seguida de digestión por enzimas de restricción y secuenciación (Criado *et al.*, 2013).

En Khanapara, India, durante el año 2013 se realizó un trabajo de investigación con la sangre de 424 casos sospechosos de hemoparásitos sobre la base de la historia clínica se examinó microscópicamente en frotis de sangre al fresco y frotis de sangre teñidos con Giemsa. La prevalencia fue del 57,31% en la población hospitalaria compuesta por perros de compañía (58,03%) y de trabajo (54,54%) y del 63,64% en la población de perros callejeros. Un total de 7 especies: *Babesia gibsoni* (47,16%),

Ehrlichia (Anaplasma) platys (8,49%), *Dirofilaria immitis* (2,83%), *Ehrlichia canis* (2,12%), *Babesia canis* (1,41%), *Hepatozoon canis* (1,41%) y *Ehrlichia ewingii* (0,47%) en infecciones únicas o mixtas. *B. gibsoni* se encontró que era la especie de hemoprotozoario más predominante (Bhattacharjee y Samah, 2013).

En 2020 se hizo una investigación con el objetivo de evaluar el lugar más adecuado para la recolección de muestras sanguíneas, utilizados en la realización de extendidos de frotis sanguíneos para el examen parasitológico directo. Además, para detectar la prevalencia de hemoparásito en perros. De los 66 animales estudiados, 17 de ellos (22,75%) fueron considerados positivos. De acuerdo a los exámenes realizados, el frotis de capa blanca obtuvo el mayor número de resultados positivos, seguido por el frotis de sangre periférica y finalmente el frotis de sangre capilar (punta de la oreja). Entre los agentes etiológicos más comúnmente encontrados estuvieron: *Anaplasma platys* (64.72%), seguido por *Hepatozoon* spp. (17.64%), *Babesia* spp. (11.76%) y *Ehrlichia* spp. (5.88%) (Berndt *et al.*, 2019).

En 2020 se realizó unos estudios acerca de patógenos transmitidos por garrapatas (PTG), la prevalencia de los géneros *Babesia*, *Hepatozoon*, *Anaplasma* y *Ehrlichia* fueron investigados en 209 perros, entre domésticos y callejeros en 3 ciudades de Malawi. Entre los perros examinados, 93 (44,5%) estaban infectados con al menos un tipo de PTG. Las tasa de detección fueron 23,1% para *Babesia rossi*, 2.9% para *B. vogeli*, 19.1% para *Hepatozoon canis*, 2.4% para *Anaplasma platys*, y 3.8% para *Ehrlichia canis* (Chatanga *et al.*, 2021).

En México realizaron un estudio que analizó la efectividad de los métodos diagnósticos para la detección de Ehrlichiosis monocítica humana y canina, concluyendo que los métodos diagnósticos eficaces se enmarcan los hematológicos que evalúan la morfología de los monocitos en búsqueda de mórulas y los

serológicos, que incluyen la búsqueda de anticuerpos anti-Ehrlichia, pero que se encuentra limitado debido a la reactividad cruzada que presenta (Franco *et al.*, 2011).

En Argentina en la provincia de Santa Fe, al ser descrito el primer caso de Ehrlichiosis monocítica canina, en la Ciudad de Rafaela (área endémica de *R. sanguineus*), dada la inespecificidad de síntomas y signos presentes en el canino, se concluyó la importancia de la visualización del frotis de sangre periférica, como diagnóstico presuntivo, ya que la observación en extendido sanguíneo de la forma visible denominada mórula representa una herramienta útil en el diagnóstico diferencial de esta enfermedad con otras enfermedades transmitidas por garrapatas como lo son la babesiosis y la hepatozoonosis canina (Tarragona *et al.*, 2019).

En Perú se determinó el grado de concordancia entre el examen hematológico y pruebas serológicas en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. Se emplearon 77 muestras de sangre de perros con signos clínicos compatibles a Ehrlichiosis canina y 20 controles clínicamente normales que fueron obtenidos en la Clínica de Animales Menores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se encontró un 84.7%, así mismo, se determinó que la trombocitopenia, leucopenia, anemia y el antecedente de contacto con garrapatas lo cual tuvieron una relación significativa con la presencia de la enfermedad (Hoyos *et al.*, 2011).

La mayoría de estudios relacionados con la zoonosis provocada por *E. canis* fueron realizados en Latinoamérica dada la posibilidad que los perros puedan facilitar la transmisión de esta bacteria al humano, incrementando así su importancia zoonótica. En la actualidad, diferentes laboratorios en el mundo dedicados a la investigación de este microorganismo implementan métodos que facilitan el estudio de un número grande de muestras, lo que permite conocer género y especie. Sin embargo, hasta ahora, el único método de diagnóstico específico confiable,

económico y disponible en Venezuela es la identificación directa del microorganismo por visualización de mórulas en frotis sanguíneo (Tami *et al.*, 2010).

En un estudio sobre *Ehrlichia canis* en perros de una comunidad del estado Aragua, Venezuela, recolectaron muestras sanguíneas de 110 perros domésticos y fueron evaluadas por métodos serológicos previa visualización microscópica de frotis, la seroprevalencia resultó en 77.3% con detección molecular por PCR. El porcentaje de perros infestados por garrapatas fue de 69%, identificándose mayormente a *Rhipicephalus sanguineus*. Se determinó que 80% (68/85) de los perros seropositivos y el 32% (8/25) de los seronegativos estaban infestados por garrapatas (Martínez *et al.*, 2012).

El primer hallazgo de hepatozoonosis en Venezuela por observación microscópica data de hace más de 20 años. *H. canis* fue reportado por primera vez en Barquisimeto, estado Lara, como hallazgo histopatológico, cuando se observaron esquizontes en el bazo. En el estado Zulia, se reportó una parasitemia que oscilaba entre 1 y 35% en los 17 animales examinados, con alteraciones en la química sanguínea de caninos positivos a hepatozoonosis y en el estado Aragua se reporta por primera vez la presencia de *Hepatozoon canis* con otros hemotrópicos en un paciente que asistió a una consulta veterinaria. En el estado Falcón, se caracterizó molecularmente este patógeno y se señala que el *Hepatozoon canis* es la especie que está presente en esa región (Gómez *et al.*, 2015).

En Cabudare, Venezuela, se realizó un estudio en el cual se realizaron frotis sanguíneos de sangre periférica de la oreja de 300 perros. Se observó *Hepatozoon* spp. En las muestras de sangre periférica de 11 perros estudiados, correspondiendo a tres perros del estado Lara y ocho al estado Yaracuy, observándose que es baja la presencia de este en estas áreas, como lo observado en otros estados de Venezuela. El hallazgo de *Hepatozoon canis* representa un importante aporte epidemiológico de la

enfermedad en el municipio Sucre, ya que este es el primer caso reportado en el oriente venezolano (Forlano y Meléndez, 2013).

En un estudio realizado en el año 2015 se tomaron muestras sanguíneas a 65 caninos, de todas las edades, sin distinción de raza ni sexo. Para el diagnóstico parasitológico se utilizó el examen directo, extendidos sanguíneos y de capa blanca teñidos con Hemacolor, también se empleó la técnica de concentración de Knott modificada. De los 65 caninos estudiados, 39 resultaron positivos para hemotrópicos, representando una prevalencia de 60,00%. Entre los hemotrópicos encontrados, *Ehrlichia canis* resultó ser la especie más común en los caninos con una prevalencia de 89,70%, seguido por *Anaplasma platys* (10,20%), *Dirofilaria immitis* (7,70%) y *Hepatozoon canis* (2,60%). El hallazgo de *Hepatozoon canis* representa un importante aporte epidemiológico de la enfermedad en el municipio Sucre, siendo este el primer caso reportado en el oriente venezolano (Gómez *et al.*, 2015).

En Venezuela, el diagnóstico de las infecciones por este parásito se hace mediante dos métodos: el examen microscópico de los extendidos sanguíneos de sangre completa o los de capa blanca. La principal desventaja de la observación directa de estos parásitos radica en que no siempre son detectables debido a que los ciclos de parasitemia son intermitentes o que su número es muy bajo. Particularmente de hepatozoonosis existen pocos reportes en Venezuela (Gómez *et al.*, 2015).

En Ciudad Bolívar, Venezuela, se analizaron 52 muestras de sangre de caninos de ambos sexos y razas a través de la evaluación hematológica y el frotis de capa blanca (FCB). Se obtuvo una frecuencia de (EMC) del 26,92% (n=14), donde el sexo prevalente fue en machos de un 92,86% (n=13) y en perros de raza grande tales como: Pit Bull, Rottweiler, Labrador y algunos mestizos de un 64,29% (n=9) frente a un 35,71% (n=5) en razas pequeñas especialmente Poodle y Pinscher (Guzmán y Rendón, 2022).

A pesar de que las pruebas ideales para la determinación de hemotrópicos en caninos aún con niveles reducidos de parasitemia, son los serológicos, no es posible depreciar el valor del análisis microscópico en el diagnóstico de hemotrópicos ya que se utilizan técnicas y materiales al alcance de cualquier laboratorio. Obteniendo una mayor sensibilidad (Técnica “Gold Standard”) con el Extendido de capa leucocitaria, ya que permite la visualización de mayor número de leucocitos por campo, aumentando la probabilidad de encontrarnos con leucocitos infectados.

Por medio de la realización y ejecución de este trabajo se determinó la frecuencia de dos hemotrópicos *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en muestras de caninos de un laboratorio privado de Ciudad Bolívar durante el periodo de enero de 2021 a diciembre de 2022.

JUSTIFICACIÓN

Los hemotrópicos son agentes microscópicos que viven y se reproducen en el sistema circulatorio, por fuera o dentro de glóbulos rojos o blancos. Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en todo el mundo y sus principales vectores son las moscas, garrapatas y otros artrópodos hematófagos que también son cosmopolitas cuyos microorganismos *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* son altamente transmitidos por estos, causando graves consecuencias en los caninos infectados como lo es el padecimiento de Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y Hepatozoonosis (Montenegro, 2022).

La Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) es una enfermedad de distribución mundial, de alta mortalidad en caninos doméstico y síntomas inespecíficos, lo que dificulta su diagnóstico clínico, mientras que la hepatozoonosis es una enfermedad que infecta perros en todos los territorios donde se presenta su huésped vector que es la garrapata con lo cual se puede afirmar que su distribución es interdependiente

Estos microorganismos hoy en día tienen una incidencia considerable en la fauna doméstica siendo considerados, como agentes causales de enfermedades de diagnóstico habitual en algunas regiones del trópico, dichos agentes tienen potencial zoonótico, hecho sustentado en investigaciones de análisis serológicos para anticuerpos circulantes en humanos de diferentes países. A nivel regional y nacional se debe considerar un elemento preocupante de salud pública, ya que debido a la convivencia doméstica con los caninos y la tendencia a migrar de zonas de vivienda e incluso de país en compañía de las mascotas, los vectores y por consiguiente los microorganismos se diseminan en un rango geográfico mayor.

A pesar de que los hallazgos en laboratorios clínicos ha ido en aumento es muy poco reconocido debido a su comportamiento oportunista, ésta es quizás la principal causa de la poca data epidemiológica encontrada, por esta razón se desea determinar la incidencia de dos hemotrópicos *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en muestras de caninos de un laboratorio privado de Ciudad Bolívar.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la frecuencia de dos hemotrópicos *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en muestras de caninos de un laboratorio privado de Ciudad Bolívar durante el periodo de enero 2021 a diciembre de 2022.

Objetivos específicos

1. Distribuir la población en estudio sexo y edad.
2. Señalar la frecuencia de infección por Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y Hepatozoonosis en las muestras caninas.
3. Clasificar de acuerdo al sexo y edad, los casos con infección por Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y Hepatozoonosis canina en la población estudiada.
4. Mencionar la existencia de casos con infección simultánea con Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y Hepatozoonosis canina en la población estudiada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de la investigación

La estrategia que fue ejecutada para el desarrollo de este trabajo corresponde al tipo de investigación descriptiva, ya que exhibe el conocimiento de la realidad tal como se presenta en una situación de espacio y de tiempo determinado, se describe el fenómeno sin introducir modificaciones (Arias, 2012). El estudio transversal descriptivo tiene como fin estimar la magnitud y distribución de una enfermedad o condición de salud (variable dependiente) en un momento dado, además de medir otras características en los individuos de la población, como pueden ser las variables epidemiológicas relativas a las dimensiones de tiempo, lugar y persona (variables independientes) (Altamirano *et al.*, 2012).

Muestra

El universo fue representado por todos los caninos atendidos en un laboratorio privado de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, en el periodo comprendido de enero 2021 a diciembre del 2022.

La muestra, estuvo constituida por 572 caninos domésticos atendidos en el área de hematología y descarte de hemotrópicos, sin distinción de edad y sexo, en un laboratorio privado de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, en el periodo comprendido de enero 2021 a diciembre del 2022.

Criterios de inclusión

- Caninos de ambos sexos.

- Muestras sanguíneas procedentes de caninos sin coágulos, hemólisis, en óptimas condiciones; procedentes de caninos domésticas y tomadas por un médico veterinario.

Procedimientos de laboratorio habitual

Tinción de Giemsa

Fundamento

Aplica dos principios básicos de tinción: a) la fijación de la sangre extendida sobre el portaobjetos, y b) el empleo, junto a los colorante ácido (eosina), junto con un 2 colorantes básicos: el azul de metileno (derivado de las tiazinas) y uno de sus derivados por oxidación conocido como Azur, estos colorantes teñirán las estructuras celulares y parasitarias de acuerdo a su carácter ácido o básico (Aguilar y Vives, 2014).

Material

- Lamina Portaobjeto.
- Muestra Sanguínea anticoagulada.
- Alcohol metílico (metanol) absoluto (totalmente libre de acetona).
- Solución de Giemsa.
- Microscopio con objetivo de inmersión.
- Aceite de inmersión.

Procedimiento de la tinción con Giemsa de un extendido

- Se realiza un extendido de sangre completa anticoagulada en un portaobjeto.
- Una vez seco el extendido, Se fija la extensión de sangren metanol absoluto durante 5 min.
- Se sumerge verticalmente en solución Giemsa (de trabajo al 10%).
- Se espera 5 min.
- Se lava la extensión con abundante agua destilada y se deja secar al aire libre. Una vez seca, está lista para ser observada al microscopio (Aguilar y Vives, 2014).

Procedimiento para el frotis de capa leucocitaria (capa blanca):

- Llenar un tubo (capilar) de microhematocrito con la muestra sanguínea, y tapar un extremo con sellador.
- Centrifugar por 5 minutos. Utilizar una lima o algún elemento filoso para realizar una marca o bisel en el vidrio del capilar debajo de la capa leucocitaria. (La capa leucocitaria se encuentra ubicada en el medio de la muestra centrifugada, entre el plasma y el paquete globular de células rojas).
- Partir el capilar aplicando presión en el lado opuesto al lugar previamente marcado.
- Tomar la porción del capilar que contenga la capa leucocitaria y una porción del plasma, y aplicar una gota de la capa leucocitaria en una lámina portaobjetos junto con una pequeña porción de plasma. Si mucho plasma es liberado, utilizar una KimWipe® (toallita para trabajos delicados) limpia para retirar el exceso.
- Colocar otra lámina limpia sobre la capa leucocitaria, y rápidamente jalar los extremos de las láminas uno sobre otro en direcciones opuestas.
- Dejar secar los extendidos, teñir con una tinción Romanowsky, como Giemsa.

- Después de la tinción, aplicar el medio de montaje (aceite de inmersión) y una laminilla cubreobjetos.
- Examinar microscópicamente las láminas a 400x y 1000x de aumento (objetivos 40x y 100x respectivamente). (Sirois, 2020).

Procedimiento e instrumento de recolección de datos

Los datos se obtuvieron por medio de la aplicación de una ficha de recolección de datos (Apéndice A) a través de la revisión de datos clínicos y/o muestras tomadas de todos aquellos pacientes caninos durante el periodo bajo estudio. Provenientes de la base de datos del Laboratorio clínico Nellamed, C.A.

Análisis de resultados y tabulación

Se procesaron los datos mediante estadística descriptiva y los resultados se presentarán en tablas de frecuencia absoluta y relativa, por medio de los programas Microsoft Excel® 2013 e IBM SPSS Statistics Windows versión 25.0, para con ello lograr una correcta interpretación de los mismos. En los objetivos que lo ameriten se realizará estadística inferencial, aplicando la prueba de Chi-cuadrado (X^2), para determinar significación estadística.

RESULTADOS

Tabla N° 1

DISTRIBUCIÓN DE CANINOS SEGÚN EDAD Y SEXO, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

Edad (años)	Sexo					
	Hembra		Macho		Total	
	n	%	n	%	n	%
0 - 2	88	15,4	78	13,7	166	29,1
3 - 5	87	15,2	67	11,7	154	26,9
6 - 8	97	16,9	61	10,7	158	27,6
9 - 11	41	7,2	34	5,9	75	13,1
12 - 14	4	0,7	7	1,2	11	1,9
15 - 17	2	0,4	6	1	8	1,4
Total	319	55,8	253	44,2	572	100

En la tabla N°1, se señaló la distribución de los caninos según edad y sexo, la mayoría de los caninos resultaron ser hembras 55,8% (n=319), frente a los machos representan el 44,2% (n=253), las edades que predominan fueron de 0-2 años con un 29,1% (n=166), seguido del grupo 3-5 años con 26,9% (n=154), y las edades con menos caninos fue el de 15-17 años con el 1,4% (n=8).

Tabla N°2

FRECUENCIA DE *Ehrlichia canis* EN CANINOS, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

<i>Ehrlichia canis</i>	Total	
	n	%
Negativo	498	87,1
Positivo	74	12,9
Total	572	100

La frecuencia de *Ehrlichia canis* en los caninos estudiados se desplegó en la tabla N°2, donde el 87,1% (n=498) tuvieron resultados negativos, mientras que los casos positivos representan el 12,9% (n=74).

Tabla N°3

FRECUENCIA DE *Hepatozoon canis* EN CANINOS, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

<i>Hepatozoon canis</i>	Total	
	n	%
Negativo	552	96,5
Positivo	20	3,5
Total	572	100

En la tabla N°3 se representó la frecuencia de *Hepatozoon canis* en los caninos, la mayoría resultaron negativos para dicho hemoparásito 96,5% (n=552) y solo el 3,5% (n=20) estuvieron positivos.

Tabla N°4

CLASIFICACIÓN DE CASOS POSITIVOS PARA *Ehrlichia canis* EN CANINOS DE ACUERDO A EDAD Y SEXO, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

Edad (años)	Sexo					
	Hembra		Macho		Total	
	n	%	n	%	n	%
0 - 2	15	20,3	5	6,8	20	27
3 - 5	14	18,9	6	8,1	20	27
6 - 8	17	23	6	8,1	23	31,1
9 - 11	6	8,1	4	5,4	10	13,5
12 - 14	0	0	0	0	0	0
15 - 17	1	1,4	0	0	1	1,4
Total	53	71,6	21	28,4	74	100

Edad: ($X^2 = 2,131$ df = 5 P = 0,831)

Sexo: ($X^2 = 8,659$ df = 1 P = 0,003)

Con referencia en la tabla N°4 donde se indicaron los casos positivos para *Ehrlichia canis* 100% (n=74), la mayoría de la población canina fueron hembras 71,6% (n=53), de los cuales el grupo de edad con mayor número de casos positivos fue de 0-2 años, equivalente a un 20,3% (n=15). Los caninos machos con Ehrlichiosis representan el 28,4% (n=21), donde al igual que las hembras el rango de edad con mayor casos positivos en los machos fue de 0-2 años con el 6,8% (n=20). Para las variables Edad ($X^2 = 2,131$; df = 5; P=0,831) y Sexo ($X^2 = 8,659$; df = 1; P = 0,003), solo se encontró una relación significativa estadística en cuanto al sexo de los caninos.

Tabla N°5

CLASIFICACIÓN DE CASOS POSITIVOS PARA *Hepatozoon canis* EN CANINOS DE ACUERDO A EDAD Y SEXO, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

Edad (años)	Sexo					
	Hembra		Macho		Total	
	n	%	n	%	n	%
0 - 2	4	20	11	55	15	75
3 - 5	1	5	1	5	2	10
6 - 8	1	5	1	5	2	10
9 - 11	1	5	0	0	1	5
12 - 14	0	0	0	0	0	0
15 - 17	0	0	0	0	0	0
Total	7	35	13	65	20	100

Edad: ($X^2 = 21,360$ df = 5 P =0,001)

Sexo: ($X^2 = 3,624$ df = 1 P =0,057)

En la tabla N°5 se reportaron los casos positivos para *Hepatozoon canis* 100% (n=20) en los caninos estudiados, los machos representan el 65% (n=13) siendo este el sexo predominante en los casos positivos de Hepatozoonosis, frente a las hembras que representan el 35% (n=7). Las edades predominantes para ambos sexos fueron de 0-2 años. Según la prueba de chi cuadrado para las variables Edad ($X^2 = 21,360$; df = 5; P =0,001) y Sexo ($X^2 = 3,624$; df=1; P =0,057), únicamente se encontró significancia estadística (P<0,05) en el caso de la edad.

Tabla N°6

FRECUENCIA DE CASOS CON INFECCIÓN SIMULTANEA CON *Ehrlichia canis* Y *Hepatozoon canis* EN CANINOS, ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLINICO NELLAMED, C.A., CIUDAD BOLIVAR, ESTADO BOLIVAR, ENERO 2021 – DICIMEBRE 2022

<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Hepatozoon canis</i>					
	Negativo		Positivo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Negativo	482	84,3	16	2,8	498	87,1
Positivo	70	12,2	4	0,7	74	12,9
Total	552	96,5	20	3,5	572	100

$X^2: 0,312$ $df = 5$ $P = 0,338$

En la tabla N°6 se describió la frecuencia de casos con infección simultánea de *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en caninos, fueron hallados que únicamente el 0,7% de los casos (n=4) de la población total 100% (n=572) presentaban Ehrlichiosis monocítica canina (EMC) y Hepatozoonosis simultáneamente. No se obtuvieron relaciones significativas ($P > 0,05$) a través del Test de Chi cuadrado ($X^2: 0,312$; $df = 5$; $P = 0,338$).

DISCUSIÓN

Hepatozoon canis y *Ehrlichia canis* son patógenos transmitidos por garrapatas que comparten un vector común, específicamente, *Rhipicephalus sanguineus*. Se ha documentado además que una misma garrapata puede albergar más de un tipo de agente infeccioso, pero los ciclos de vida claramente diferentes de *H. canis* y *E. canis*, sugieren que las infecciones mixtas ocurren debido a la exposición a más de una garrapata (Kruzeniski *et al.*, 2013).

A pesar de que las técnicas microscópicas no tienen la misma sensibilidad que los métodos serológicos y de biología molecular para la determinación y descarte de hemotrópicos, al igual que la caracterización de las especies específicas; siguen siendo una herramienta valiosa que está al alcance de cualquier laboratorio con equipos básicos, para ayudar en el diagnóstico diferencial de distintas enfermedades transmitidas por vectores, específicamente fueron tomadas en cuenta las transmitidas por garrapatas, en este estudio se analizó la frecuencia de dos especies de hemotrópicos que tienen como células diana la población leucocitaria, en especial los leucocitos mononucleares. Se consultaron 572 casos de pacientes caninos que acudieron al laboratorio clínico Nellamed C.A. en un intervalo de tiempo desde enero de 2021 hasta diciembre de 2022 provenientes de distintas consultas veterinarias.

Existen múltiples estudios investigativos acerca de los patógenos transmitidos por garrapatas considerando que los vectores responsables del contagio se encuentran ampliamente diseminados a lo largo del globo. Entre algunos de los más comúnmente encontrados en los análisis microscópicos tenemos a los tratados en este trabajo, *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis*, obteniendo prevalencias entre el 5,8%-19,1% y 2,1%-17,6% respectivamente, datos provenientes de estudios realizados en

Latinoamérica (Forlano y Meléndez, 2103; Eiras, *et al.*, 2107; Berndt, *et al.*, 2019; Castro *et al.*, 2019; Solano, 2021).

Otros trabajos llevados a cabo en otros continente han obtenidos valores distintos quizás asociados a las condiciones ambientales, socioeconómicas, sanitarias y endemicidad de las zonas de estudio con prevalencias que van del 2,12%-49,5% para *Ehrlichia canis* y del 2,54%-30,58% para *Hepatozoon canis* (Bhattacharjee y Samah, 2013; Chatanga *et al.*, 2013; Barati y Razmi, 2015; Boonhoh *et al.*, 2022).

De acuerdo a las variables edad y Sexo, relacionados con *E. canis* un estudio realizado con una población de 168 caninos provenientes de las ciudades de Ciénaga y Santa Marta, encontró que no hubo significancia predictivas para estos valores (Castro *et al.*, 2014). No existe una predilección específica de sexo para la infección por *Hepatozoon canis* ya que en distintos estudio las poblaciones pueden tender tendencia ya sean por machos o por hembras (Baneth *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2018), sugieren que la predisposición para contraer la enfermedad está más asociado a las poblaciones que al hemotrópicos en sí.

En otras investigaciones llevadas a cabo en Argentina y Venezuela, fueron establecidas relaciones importantes entre la edad y la infección por *Hepatozoon canis*, observando que hay un predominio por los caninos más jóvenes < 3 años (Eiras *et al.*, 2017, Solano, 2022). Estos datos si están alineado con lo expuesto en presente trabajo. Incluso se han encontrado antecedentes de infecciones Verticales, reduciendo aún más la el promedio de edad de los infectados por dicho apicomplejo (Cramer *et al.*, 2022).

En un estudio realizado en las ciudades de Mumbai y Delhi, se encontraron 12 caninos infectados únicamente por *H. canis* (2,3%), también se halló una prevalencia de 49,7% (261/525) de perros infectados por patógenos transmitidos por garrapatas,

específicamente fueron determinadas infecciones simultáneas por *E. canis* y *H. canis* en 50 casos (49,5%) (Adb Rani *et al.*, 2011).

Incluso existen estudios en los cuales un mismo Leucocito es infectado por ambas variedades de hemotrópicos, como el desarrollado en Israel, en el que se demostró coinfección por *H. canis* y *E. canis* en los mismos monocitos, confirmado por técnicas moleculares y análisis microscópicos de las células parasitadas por primera vez en 3 perros infectados naturalmente. La evaluación de frotis de sangre periférica indicó que al menos 50% de los leucocitos infectados con *H. Canis* contenían a su vez mórulas de *E. canis*. La coinfección de la misma células huésped demostrados en este reporte sugieren que la presencia de un patógeno podría aumentar la invasión o prologar la supervivencia celular del otro (Baneth *et al.*, 2015). También se encuentran documentados casos en los que no se encuentran infecciones simultáneas entre diferentes tipos de patógenos transmitidos por garrapatas, como el desarrollado en el Hospital Veterinario Educativo de la Universidad Príncipe de Songkla. Entre 2016 y 2019, se obtuvo una prevalencia de 251 animales infectados con patógenos transmitidos por garrapatas, 50,6% fueron diagnosticados con *E. canis* (n = 127), 39,84% con *H. canis* (n = 100) y 9,56% con *Babesia canis* (n = 24). En este estudio no se encontraron coinfección parasitarias entre las especies estudiada en ninguno de los casos (Chethanod *et al.*, 2020).

A pesar del elevado nivel de desarrollo en la detección de estas infecciones parasitarias por los modernos métodos serológicos y moleculares, el acceso a estas técnicas para el diagnóstico clínico de rutina todavía está restringido a unos pocos laboratorios en todo el mundo. En ausencia de un kit de diagnóstico rápido rentable y fácilmente disponible, la microscopía, como “el estándar de oro” sigue siendo la elección de los veterinarios involucrados en el campo del diagnóstico y el tratamiento (Bhattacharjee y Samah, 2013).

CONCLUSIONES

- La frecuencia total de la infección por *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* fue del 12,9% y 3,5%, respectivamente
- Entre los casos positivos para *Ehrlichia canis*, se observó una predominancia de casos en hembras (71,6%) jóvenes de 0-2 años de edad, obteniendo solo una relación estadísticas significativa en cuanto al sexo.
- Los caninos que fueron hallados positivos para *Hepatozoon canis* demostraron una tendencia a ser machos (65%) de corta edad (0-2 años), y se estableció una relación estadística entre la edad y las infecciones por dicho protozooario.
- Se confirmó la existencia de 4 casos de coinfecciones por *E. canis* y *H. canis*, lo que corresponde a un 0,7% de la población total estudiada.

RECOMENDACIONES

- Fomentar en los propietarios de caninoLi la realización de exámenes hematológicos y descarte de hemotrópicos regulares.
- En conjunción con veterinarios y asociaciones benéficas animales realizar descarte de hemotrópicos para obtener datos epidemiológicos más actualizados y precisos.
- Dar charlas para concientizar a las personas, en especial a los propietarios de mascotas, sobre las enfermedades transmitidas por vectores y su posible potencial zoonótico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd Rani P., Coleman G., Gatné M., Irwin, P., Traub R. 2011. A survey of canine tick-borne diseases in India. *Parasites Vectors* 4, 141. [Documento en línea] Disponible en <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-141> [Mayo, 2023].
- Aguilar, D., Cavalcante, G., Pinter, A., Gennari, S., Camargo, L., Labruna, M. 2013. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. [Documento en línea] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17294930/> [Mayo, 2023].
- Aguilar, J., Vives, J. 2014. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. Editorial Elsevier España S.L. Barcelona, España. 4ª ed. pp. 900.
- Allison, R., Little, S. 2013. Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 42:127–144 [Documento en línea] Disponible en: <https://doi.org/10.1111/vcp.12040/> [Abril, 2023].
- Altamirano, L., Villa, A., García, G. 2012. Epidemiología y estadística en salud pública. Editorial McGraw Hill. México. 1ª ed. pp. 344.
- Alva, K. 2018. Sensibilidad y especificidad de la técnica de frotis sanguíneo frente a capa leucocitaria en el Hallazgo de *Hepatozoon* spp. Y *Ehrlichia* spp. En caninos de la ciudad de Trujillo-2016. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Veterinarias. Escuela Académico

Profesional De Medicina Veterinaria. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Cajamarca. pp. 60.

- Alves, R., Levenhagen, M., Labruna, M., Beletti, M. 2014. The spreading process of *Ehrlichia canis* in macrophages is dependent on actin cytoskeleton, calcium and iron influx and lysosomal evasion. [Documento en línea] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24378068/> [Mayo, 2023].
- Arias, F. 2012. El proyecto de investigación. Episteme, C.A. Caracas, Venezuela.
- Arcila, V. H., Castellanos, V., Díaz, S., Sánchez, M. 2005. *Hepatozoon Canis* en Colombia. [Documento en línea] Disponible en: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/articulo/view/576/547> [Mayo, 2023].
- Ayllon, T. 2010. Enfermedades vectoriales en gatos de la comunidad de Madrid. Estudio serológico, molecular y epidemiológico de la infección por *Ehrlichia* spp, *Anaplasma* spp, *Neorickettsia* spp, *Leishmania* spp y *Bartonella* spp. Trabajo de Grado. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. pp. 319.
- Baneth, G., Samish, M., Shkap, V. 2007. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: *Hepatozoidae*) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). J Parasitol 93:283–299. [Documento en línea] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17539411/> [Mayo, 2023].

- Baneth G., Gutiérrez R., Montenegro V., Rojas, A., Rojas D., Yasur D. 2014. Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: First molecular description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection, *Veterinary Parasitology*. Elsevier, 199°. 121-128. [Mayo, 2023].
- Baneth G., Harrus S., Gal A., & Aroch, I. 2015. Canine vector-borne co-infections: *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* in the same host monocytes. *Veterinary Parasitology*, 208(1-2), 30–34. [Documento en línea] Disponible en <https://doi:10.1016/j.vetpar.2014.12.013> [Mayo, 2023].
- Barati, A., Razmi, G. 2015. A parasitologic and molecular survey of *Hepatozoon canis* infection in stray dogs in northeast of Iran. *J Parasitol* 4(17). [Documento en línea] Disponible en: <https://www.editorialmanager.com/jparasitology/download.aspx?id=137536&-guid=d90e17f6-5f2c-4d67-b035-d9afc3cca585&scheme=1> [Mayo, 2023].
- Berndt, T., Ecco, L., Santi, F., Neto, J., Vasconcelos, A., Menezes, A., *et al.* 2019. Avaliação comparativa entre as técnicas de confecção do esfregaço sanguíneo de sangue periférico como método diagnóstico de hemoparasitoses em cães (*Canis lupus familiaris*, *Linnaeus*, 1758). *Sci. Elec. Arch.* 12 (1) [Documento en línea] Disponible en: <http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&-page=article&op=view&path%5B%5D=630&path%5B%5D=pdf> [Mayo, 2023].

- Bhattacharjee, K., Sarmah, P. 2013. Prevalencia de hemoparásitos en perros domésticos, de trabajo y callejeros de Assam y el noreste de India: un estudio basado en un hospital. *Vet. World* 6(11): 874-878. [Documento en línea] Disponible en: www.veterinaryworld.org/Vol.6/Nov-2013/9.pdf/ [Mayo, 2023].
- Boonhoh, W., Fungwithaya, P., Sontigun, N., Wongtawan, T. 2022. Multiple blood pathogen infections in apparently healthy sheltered dogs in southern Thailand. *Int. Journ. of Vet. Sci. Med.* 10(1): 64-71. [Documento en línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1080/23144599.2022.2111514> [Mayo, 2023].
- Cala, D. L., Noguera, A. K., Álvarez, N. C., Aguinata, J. Y. 2018. Primeros casos de infección canina con *Hepatozoon canis* en la ciudad de Cúcuta, Colombia. [Documento en línea] Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pidS1609-91172018000400055 [Mayo, 2023].
- Castro L., Foley J., Pesapane R., Thomas R. 2019. Molecular detection and characterization of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from northern Colombia, *Veterinary Microbiology*. Elsevier, 233(1): 184–189. [Documento en línea] Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.027> [Mayo, 2023].
- Chatanga, E., Kainga, H., Razemba, I., Ssuna, R., Sweenen, L., Hayashida, K., Sugimoto, C., Katakura, K., Nonaka, N., Nakao, R. 2021. Molecular detection and characterization of tick-borne hemoparasites and *Anaplasmataceae* in dogs in major cities of

- Malawi. *Parasitol Res.* 120 (1): 267-276. [Documento en línea] Disponible en <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06967-y> [Mayo, 2023].
- Chethanond, U., Musikacharoen, T., Thongsahuan, S., Thongtako, W., Saechan, V., Wasiksiri, S. 2020. Hematological profile of blood parasitic infected dogs in Southern Thailand. *Veterinary World.* 13(11): 2388-2394. [Documento en línea]. Disponible: www.veterinaryworld.org/Vol.13/November-2020/13.pdf [Mayo, 2023].
- Centers for Disease Control and Prevention. 2015. Ehrlichiosis. <http://www.cdc.gov/ehrlichiosis/> [Mayo, 2023].
- Craig, T.M. 2010. Hepatozoonosis. En: *Enfermedades infecciosas en perros y gatos.* McGraw-Hill, México. pp. 504 - 511.
- Cramer, S., Lellbach, H., Loesenbeck, G., Müller, E., Naucke, T., *et al.* 2022. First evidence of vertical *Hepatozoon canis* transmission in dogs in Europe. *Parasite Vectors.* 2022(15): 296. [Documento en línea] <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05392-7> [Mayo, 2023].
- Criado A., Martínez, A., Buling, A., Barbra, J. 2013. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in Southern Europe. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12719133/> [Mayo, 2023].
- Dantas, F., Otranto, D. 2017. Hepatozoonosis on: *Arthropod Borne Diseases.* Brisola, C. Springer International Publishing, Cham, Suiza. 1era ed. Cap 23: 368-373.

- Eiras, D., Scodellaro, C., Vezzani, D. 2017 Hematological and epidemiological Characterization of *Hepatozoon canis* infection in dogs from Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2017. [Documento en línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.02.008> [Mayo, 2023].
- Franco, M., Gallegos, A., Rosado, Karla. 2011. Efectividad de los métodos diagnósticos para la detección de ehrlichosis monocítica humana y canina. [Documento en línea] Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S071610182019000500650&script=sci_arttext [Mayo, 2023].
- Forlano, M., Meléndez, R. 2013. Diagnóstico de *Hepatozoon* spp. en perros (*Canis familiaris*) y sus vectores en áreas rurales de los estados Lara y Yaracuy-Venezuela. [Documento en línea] Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762013000200005 [Mayo, 2023].
- Gómez, E., Del Valle, J., Simoni, Z., Díaz, A., Henríquez, A., Nieves, M., Díaz, M. 2015. Hallazgo de *Hepatozoon* y otros hemotrópicos en caninos domésticos del municipio Sucre, estado Sucre, Venezuela. [Documento en línea] Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/bmsa/v55n1/art07.pdf> [Abril, 2023].
- Gómez Martínez, E., Del Valle, G., Toledo, J., Simoni, Z., Díaz, A., Henríquez, A. *et al.* 2015. Hallazgo de *Hepatozoon* y otros hemotrópicos en caninos domésticos del municipio Sucre, estado Sucre, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*.

[Documento en línea] Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482015000100007 [Mayo, 2023].

González, H., Catín, J. 2020. Diagnóstico de la situación sanitaria y económica referente a hemoparásitos que afectan el hato bovino activamente productivo de la comarca el Alto, Municipio de Santo Tomás, Departamento de Chontales, febrero 2020 [Documento en línea] Disponible en:
<https://repositorio.una.edu.ni/4259/1/tn173g643d.pdf> [Abril, 2023].

Gutiérrez, C. Pérez, I., Agrela, I. 2016. Ehrlichiosis Canina. [Documento en línea] Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-0162201600040000 [Mayo, 2023].

Guzmán, F., Rendón, C. 2022. Ehrlichiosis monocítica canina en pacientes atendidos en un laboratorio clínico privado de Ciudad Bolívar-estado Bolívar. Tesis de Grado. Escuela de Ciencias de la Salud. Núcleo Bolívar. Universidad De Oriente. pp. 44 (Multígrafo).

Harrus, S., Waner, T., Neer, M. 2012. *Ehrlichia canis* infection on: Infectious diseases of the dog and cat. Greene, C. (ed.). Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. 4ª edición. pp. 227-238

Hoyos, L., Li, O., Alvarado, A., Suarez, F., Díaz, D. 2011. Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de ehrlichiosis canina. [Documento en línea]. Disponible:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172007000200007 [Mayo, 2023].

Hurtado, S., Rodríguez, A., Bonilla, D. 2020. Prevalencia de infección por microorganismos hemáticos en caninos que fueron atendidos en una Clínica Veterinaria del municipio de Tuluá, Valle del Cauca, Colombia, 2020 [Documento en línea] Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/d0aa4378-e785-4272-8199-345a374a3409/content> [Abril, 2023].

Kruzeniski, S., Tam, F., Burgess, H. 2013. About a case of Hepatozoon canis in a 16 weeks old puppy from Ghana. Canadá. Pathology in Practice, JAVMA. 243(12): 1705-1707. [Documento en línea]. Disponible: <http://DOI.OR/10.2460/JAVMA.243.12.1705> [Mayo, 2023].

Little, S. 2010. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. [Documento en línea]. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20933140/> [Mayo, 2023].

Little, S. 2017. Ehrlichiosis on: Arthropod Borne Diseases. Brisola, C. Springer International Publishing, Cham, Suiza. 1era ed. Cap. 14: 205-214.

Martínez M., Arraga, C., Alvarado, F., Ruiz C., Gutiérrez, C. 2012. Estudio serológico y molecular de *Ehrlichia canis* en perros de una comunidad del estado Aragua, Venezuela. [Documento en línea]. Disponible: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.vi4.11220> [Mayo, 2023].

- Mateus, A., Fernando A., Vargas, G., Arcila, V., Castellanos, V. 2007. Reporte de casos clínicos con *Hepatozoon canis* en el Centro Médico Quirúrgico Veterinario de la Universidad Cooperativa de Colombia. [Documento en línea] Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612669006.pdf> [Abril, 2023].
- Modrý, D., Beck R., Hrazdilová K., Baneth, G. 2017. A Review of Methods for Detection of Hepatozoon Infection in Carnivores and Arthropod Vectors. *Vector-Borne Zoonot Dis.* 17 (1) [Documento en línea] Disponible en: <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1963> [Abril, 2023]
- Montenegro, V. 2022. Estudio de prevalencia y factores de riesgo asociados a hemoparásitos en bovinos de Villavicencio, Colombia. Trabajo de Grado. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia. pp. 45.
- Muñoz, J., Pardo, D., Ruiz, M. 2018 Diagnóstico de *Hepatozoon canis* en caninos domésticos de esperanza (FCV-UNL) (Santa Fe), Argentina. *Zoociencia* 5(2):1-11. [Documento en línea]. Disponible: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/zoociencia/Article/view/1302> [Mayo, 2023].
- Rey, C., Trujillo, L., Martínez, A., Ortiz, G., Sambrano, G. 2012. Determinación de *Hepatozoon canis* mediante PCR en caninos domésticos de la Vela de Coro, estado Falcón, Venezuela. [Documento en línea]. Disponible:

<https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15745> [Mayo, 2023].

Reyes, A., Miranda, W. 2018. Investigación por medio de Frotis Sanguíneo del protozoo *Hepatozoon* spp. En caninos en la ciudad de Santo Domingo, R.D. Trabajo de Grado. Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña. Santo Domingo, República Dominicana. pp. 54.

Rodríguez, I., Bolio, M., Ojeda, M. 2014. Diagnóstico de la ehrlichiosis monocítica canina: una revisión actualizada. [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=560058660010> [Mayo, 2023].

Ruíz, C. 2021. Determinación de la presencia de hemotrópicos *Babesia* spp, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma* spp en caninos del Cantón Catamayo. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. pp. 66.

Sirois, M. 2020. Laboratory Procedures for Veterinary Technicians. Editorial Elsevier Inc. St. Louis, Estados Unidos. 7ª ed. pp. 153.

Solano, M. 2021. Prevalencia de *Hepatozoon canis* en caninos domésticos de Ciudad Bolívar, estado Bkolívar. Tesis de Grado. Escuela de Ciencias de la Salud. Núcleo Bolívar. Universidad De Oriente. pp. 31 (Multígrafo).

- Straube, J. 2010. Canine Ehrlichiosis – from Acute Infection to Chronic Disease. Institute for Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, Germany. [Documento en línea]. Disponible: <http://www.cvbd.org/en/home/cvbd-digest-articles> [Mayo, 2023].
- Tamí, I., García, F., Arcia, R. 2010. Ehrlichiosis en animales y humanos en Venezuela. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (SVBE) [Documento en línea]. Disponible: https://www.academia.edu/75395365/Acta_Cient%C3%ADfica_de_la_Sociedad_Venezolana_de_Bioanalistas_Especialistas [Mayo, 2023].
- Tarragona, E., Flores, F., Herrera, C., Dalinger, M., Aguirre, N. 2019. Primer reporte de un caso de ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Santa Fe, Argentina. [Documento en línea]. Disponible: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEveterinaria/article/view/8438> [Mayo, 2023].
- Tintel, M. 2016. Reporte de cinco casos clínicos de hepatozoonosis en caninos de Paraguay. [Documento en línea]. Disponible: https://www.redalyc.org/pdf/636/636474560_13.pdf [Mayo, 2023].
- Vieira, R., Biondo, A., Guimarães, A. 2011. Ehrlichiosis in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 20 (1): 1–12. [Documento en línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000100002> [Mayo, 2023].

Vincent, N. 2014. Canine and feline Hepatozoonosis in: *Canine and feline infectious disease*. Sykes, J. ed. Elsevier publishing. St. Louis. Cap77. pp. 747-759.

APÉNDICE

Apéndice A



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
 NÚCLEO BOLÍVAR
 ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
 “Dr. Francisco Battistini Casalta”
 DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

Fecha de Análisis de la muestra			
Edad del perro			
Sexo del perro			
Ehrlichiosis monocítica canina (EMC)		Hepatozoonosis	

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO

TITULO	FRECUENCIA DE DOS HEMOTRÓPICOS: <i>Ehrlichia canis</i> y <i>Hepatozoon canis</i> EN MUESTRAS DE CANINOS DE UN LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR.
---------------	---

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Bchr. Jaramillo Lugo, Alexander René	CVLAC: 23.551.697 EMAIL: alexanderjl95@gmail.com

PALABRAS O FRASES CLAVES: Hemotrópicos, caninos, hepatozoonosis, Hepatozoon, Ehrlichia.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO

ÁREA y/o DEPARTAMENTO	SUBÁREA y/o SERVICIO
BIOANÁLISIS	

RESUMEN (ABSTRACT):

Las enfermedades hemotrópicas afectan animales que viven en zonas tropicales y subtropicales del mundo, debido a la presencia de vectores transmisores de los agentes, tales como garrapatas. *Ehrlichia canis* es una bacteria intracelular parásito obligado, que actúa como el agente causal de la Ehrlichiosis, una enfermedad que afecta más comúnmente a las especies caninas. *Hepatozoon canis* es un parásito protozoario de los caninos, agente etiológico de la Hepatozoonosis. En Venezuela pocos estudios se han realizado para conocer la frecuencia de *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis* en caninos, por lo que se realizó este trabajo retrospectivo en Ciudad Bolívar, Venezuela con la finalidad de conocer el status epidemiológico de dichos hemoparásitos en caninos. El diagnóstico correcto permite el control y tratamiento racional de estas enfermedades. La población estuvo representada por 572 muestras de caninos, a los que se les realizó técnica directa de visualización de frotis sanguíneo y frotis de capa blanca coloreados con Giemsa. De la población total 100% (n=572), se obtuvo que el 12,9% (n=74) de los caninos estaban positivos para *Ehrlichia canis*, y el 3,5% (n=20) positivos para *Hepatozoon canis*. El porcentaje de caninos negativos para ambos hemotrópicos fue de 84,3% (n=482). Además se estudió la infección simultánea entre ambas infecciones, apenas el 0,7% (n=4) de los caninos estaban infectados por *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis*.

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO**

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU x	JU
Lcda. Antonella Antonucci	CVLAC:	12.192.195			
	E_MAIL	nenella1976@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x
Lcda. Ytalia Blanco	CVLAC:	8.914.874			
	E_MAIL	ytaliablanco@hotmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x
Dra. Ixora Requena	CVLAC:	10.062.328			
	E_MAIL	ixorarequena@gmail.com			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU x

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2023	07	04
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
TESIS: FRECUENCIA DE DOS HEMOTRÓPICOS: <i>Ehrlichia canis</i> y <i>Hepatozoon canis</i> EN MUESTRAS DE CANINOS DE UN LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR.	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: LABORATORIO PRIVADO DE CIUDAD BOLÍVAR.

TEMPORAL: 5 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO: Departamento de Bioanálisis

INSTITUCIÓN: Universidad de Oriente

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO**



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

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

Estimado Profesor Martínez:

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

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

UNIVERSIDAD DE ORIENTE	
SISTEMA DE BIBLIOTECA	
RECIBIDO POR	<i>[Firma]</i>
FECHA	05/08/09
HORA	5:20

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Firma]
JUAN A. BOLANOS CUNTEL
Secretario



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

JABC/YGC/marija

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

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO BOLIVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"DE FRANCISCO BATTISTINI CASALTA"
COMISIÓN DE TRABAJOS DE GRADO

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario “

AUTOR(ES)

Br. JARAMILLO LUGO ALEXANDER RENÉ
C.I. 23551697
AUTOR

Br.
C.I.
AUTOR

Alexander JL 95@gmail.com

JURADOS

Antonella Antonucci
Pro TUTOR: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI
FIGLIA

C.I.N. 12.192.195

EMAIL: *Nenella1976@gmail.com*

Yolanda Blanco
JURADO Prof. YOLANDA BLANCO

C.I.N. 8914872

EMAIL: *yolanda.blanco@gmail.com*

Ixora Requena
JURADO Prof. IXORA REQUENA

C.I.N. 10.062.328

EMAIL: *ixorarequena@gmail.com*

P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO PARTOS

Avenida José Méndez c/c Columbo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencia de la Salud, Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela.
Teléfono (0285) 6324976