



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

Trabajo de graduación

**Abordaje clínico de un canino diagnosticado con una
coinfeción de Anaplasmosis y Ehrlichiosis en el
Laboratorio Clínico “División Veterinaria” del mes
de abril-junio del 2019**

Autor:

Br. Diana Carolina Cuadra Medrano

Asesor:

Dr. Omar Navarro Reyes

Managua, Nicaragua

Junio, 2020

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la Decanatura de la Facultad de Ciencia Animal sede Central Managua, como requisito parcial para optar al título profesional de:

MEDICO VETERINARIO

En grado de Licenciatura

Miembros del Honorable Comité Evaluador

MSc. Dr. Mauricio Silva Torres

Presidente

MSc. Dra. Varinia Paredes

Secretaria

MV. Martha Rayo Rodríguez

Vocal

INDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE DE CUADRO	iii
INDICE DE FIGURA	iv
INDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo general	3
2.2 Objetivos específicos	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3.1 Ubicación del área de estudio	4
3.2 Descripción de los sitios	4
3.2.1 Laboratorio veterinario	4
3.2.2 Lugar donde habita el paciente	7
3.3 Diseño metodológico	9
3.3.1 Etapa I: Planificación del trabajo	9
3.3.2 Etapa II: Fase de campo	10
3.3.3 Etapa III: Fase de laboratorio	14
3.3.4 Etapa IV: Datos evaluados	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1 Descripción del caso clínico	37

4.1.1 Anamnesis	37
4.1.2 Examen clínico del paciente	38
4.1.3. Internación del paciente	45
4.1.4. Carga ectoparasitaria del paciente	47
4.1.5 Evaluación periódica del paciente	50
4.2 Métodos de diagnósticos	51
4.3 Biometría Hemática completa	52
4.3.1 Serie Roja	53
4.3.2 Plaquetograma	55
4.3.3 Serie Blanca	57
4.4 Bioquímica sanguínea	59
4.4.1 TGP y TGO	59
4.4.2 Urea, BUN y Creatinina	61
4.5 Protocolo terapéutico	62
4.5.1 Terapia ectoparasiticida	62
4.5.2 Terapia hemopatogenicida	64
4.5.3 Terapia hematopoyética y hepatoprotectora	65
V. CONCLUSIONES	69
VI. RECOMENDACIONES	72
VII. LITERATURA CITADA	73
VIII. ANEXOS	83

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi abuela **Connie Corea Hernández** y a mi abuelo **Orlando Norberto Bonilla López**, por acogerme como su hija; ambos pilares fundamental de mi vida que gracias a sus sabios consejos, paciencia y amor incondicional pero no ciego, siempre me han apoyado en todas las etapas de mi vida, en los momentos que más los he necesitado, sin ellos mi carrera profesional no hubiese sido posible.

A mis padres **Carolina del Socorro Medrano Sandoval** y **Gerardo Miguel Cuadra Corea**, por regalarme la vida y enseñarme el verdadero significado de esta a través de sus experiencias y consejos.

Br. Diana Carolina Cuadra Medrano

“Lo único imposible es aquello que no intentas”

Eva Leonart, 2016

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por darme la fuerza y sabiduría para poder culminar mis estudios y también por dotarme de perseverancia y paciencia para culminar este proyecto.

A la **Dra. Grethel Ortiz**, representante de la empresa ESCASAN quienes fueron los encargados de financiar este estudio, sin ellos no hubiese sido posible su desarrollo.

De manera muy especial agradezco a mi asesor de tesis: el **Dr. Omar Navarro Reyes**, por creer en mis capacidades y darme la oportunidad de desarrollar este proyecto como mi trabajo de graduación, además de brindarme acceso a los recursos diagnósticos y sus valiosos consejos e ideas, guiándome de forma constante en el transcurso de la investigación, a pesar de su agitada agenda.

Al equipo del Laboratorio División veterinaria: **Dra. Anielka Ruíz** especialista en Biología molecular y bioquímica sanguínea, al **Dr. Christopher Salinas** especialista en hematología y a la **Dra. Jimena Barrios** especialista de Analítica y Uroanálisis.

A mis familiares más cercanos por siempre brindarme su apoyo incondicional.

A mi amigo el **Ing. Ariel Salinas Sequeira**, por brindarme su valioso apoyo, tiempo, consejos y críticas constructivas concernientes a la coherencia al momento de la redacción, a pesar de no ser médico veterinario, siempre mostró una excelente disposición de ayudar.

Br. Diana Carolina Cuadra Medrano

INDICE DE CUADRO

CUADRO	PÁGINA
1. Dosificación del fluralaner en perros según su peso	12
2. Materiales proporcionados en el kit PetNAD™	28
3. Cantidad de muestra del ácido nucleico extraído	28
4. Juego de reactivo POCKIT™ <i>Ehrlichia canis</i>	31
5. Variables y subvariables según los objetivos específicos	36
6. Constantes fisiológicas del paciente	39
7. Examen físico practicado al paciente	39
8. Hallazgos físicos en la deshidratación	42
9. Monitoreo del paciente durante la internación	45
10. Monitoreo de las primeras 12 horas postratamiento ectoparasiticida	48
11. Monitoreo Mensual del paciente	50
12. Resultados del diagnóstico de laboratorio	51
13. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución oral	65
14. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución inyectable 1	66
15. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución inyectable hepatoprotector	67

INDICE DE FIGURA

FIGURA	PÁGINA
1. Ubicación topográfica del Laboratorio Clínico “Divet”	4
2. Ubicación topográfica del Barrio Acahualinca	7
3. Ubicación topográfica del hogar del paciente	8
4. Administración <i>ad libitum</i> del ectoparasiticida	12
5. Paciente en observación post administración del ectoparasiticida	13
6. Se introdujo el tubo capilar en la microcentrífuga y se cerró el equipo programado a 10,000 rpm	16
7 A y B. Extracción del tubo capilar de la microcentrifugadora (A) para la lectura del hematocrito en el lector comercial (B)	17
8. Materiales utilizados durante el método del portaobjetos	21
9. Paso 1 se depositó la sangre	21
10. Paso 2 se colocó el portaobjeto extensor y desplazarlo	21
11. Paso 3 se dejó que se extendiera la sangre	22
12. Paso 4 se deslizó el portaobjetos extensor	22
13. Paso 5 se dejó secar la extensión y después se rotuló	22
14. 20 μ L de sangre total	24
15. 3 gotas de los diluyentes de ensayo 20 μ L de sangre total	24
16. Interpretación de los resultados	25
17. Materiales proporcionados en el Kit de preparación conjunta de ácido nucleico PetNAD TM	27
18. Materiales para la extracción del ADN. Guantes (1), Micropipeta y puntas con filtro de 1 ml (2), puntas de 50 μ l (3) y tubos de mini-centrífuga para usar (4)	27
19. Se usó una nueva punta desechable al eje de la pipeta, se presionó lo suficiente para hacer un sello hermético	28
20. Se transfirió 200 μ l de sangre fresca a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, luego se agregó 600 μ l de PB1 y mezclo bien durante 1 minuto	29
21. Se agregó 600 μ l de PB2 y luego se mezcló bien durante 10 segundos	29
22 A, B y C. Se transfirió 600 μ l de la mezcla a la columna(A y B), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto y desecho el flujo(C)	29

23 A, B y C. Se transfirió 600 µl de PB3 a la columna (A), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto (B) y desecho el flujo (C)	30
24 A, B y C. Se transfirió 600 µl de PB4 a la columna (A), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto (B) y desecho el flujo (C). Posteriormente se giró a toda velocidad durante otros 3 minutos para eliminar el etanol residual	30
25 A, B y C. Se colocó la columna en un tubo limpio de 1.5 ml de microcentrífuga y agregó 50 µl de PB5 a la columna (A), se dejó incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto y luego se giró a toda velocidad durante 1 minutos (B), posteriormente se descartó la columna (C)	30
26. Tubos de reacción para iiPCR	32
27. POCKIT™ - Instrumento compatible	32
28. Agitador Vortex Mixer, 3150 rpm	32
29. Micropipeta (1) y puntas de filtro (2)	33
30 A, B y C. Al tubo de Premix (A) se le agregó 50 µl de Premix Buffer B (B y C)	33
31 A y B. Se agregó 5 µl de extracto de ácido nucleico (A) o control P (+) al tubo de premezcla (B). Se giró el tubo de premezcla durante 10 segundos en una minicentrífuga	34
32 A, B y C. Se transfirió 50 µl de premezcla / mezcla de muestra al tubo R, se selló la parte superior de cada tubo R con una tapa y asegúrese de que el tubo R esté bien tapado	34
33 A y B. Tubo R con burbuja en el área de detección(A), se agitó el tubo R para remover la burbuja del área de detección del tubo de reacción (B)	34
34 A, B y C. Se colocó el tubo R (control positivo) en el aparato (A), resultados cualitativos y iiPCR POCKIT plus (B y C)	34
35. Estado inicial del paciente	37
36. Sistema de valoración del estado corporal de cinco puntos	41
37 A, B y C. Inspección de las mucosas oral y conjuntiva, correspondiente al 28 de mayo del 2019 (A) y al 22 de junio del 2019 (B y C)	42
38. Petequias en la región de la ingle	44
39 A, B y C. Toma de muestra de ectoparásitos de las áreas infestadas previas a la administración de fluralaner para realizar PCR en las garrapatas	47
40. Especímenes vivos de garrapatas recolectados durante la primera hora post tratamiento ectoparasiticida con fluralaner 112.5 mg	48

41. Porcentaje y cantidad de la carga ectoparasitaria presente en el paciente	49
42. Resultado de la inmunocromatografía del paciente	51
43. Resultados cronológicos de la serie roja	53
44. Resultados cronológicos de las constantes corpusculares	54
45. Resultados cronológicos del Plaquetograma	55
46. Resultados cronológicos de la serie blanca	57
47. Resultados cronológicos de las transaminasas	60
48. Resultados cronológicos de Urea, Bun y Creatinina	61
49. Representación esquemática de los tiempos de transmisión de patógenos de telmophagous (pulgas, moscas de la arena y garrapatas) y (mosquitos) solenophagous artrópodos vectores	63

INDICE DE ANEXOS

ANEXOS	PÁGINA
1. Patio de la casa donde habita el paciente, evidenciando la presencia del lavadero	84
2 A y B. Patio de la casa destacando la presencia de artefactos en desuso de los propietarios del paciente	84
3. Formato de Hoja Clínica 1	84
4. Formato de Hoja Clínica 2	84
5. Formato de remisión de exámenes	84
6. Estetoscopio, termómetro infrarrojo y foco frontal de inspección utilizado durante el examen clínico del paciente	84
7. Bascula digital	84
8. Batería de jaulas de internación provistas de bandejas de recolección de desechos	84
9. Bandeja de recolección de desechos cubierta con papel toalla, para facilitar la visualización de los ectoparásitos desprendidos	84
10. Torniquete, Tubos de recolección de muestras sanguíneas, aguja de doble punta estéril y guantes de nitrilo utilizados durante la extracción de sangre	84
11. Papel toalla, envase de recolección, pinza, cronometro y foco frontal utilizado en el monitoreo de la carga ectoparasitaria durante la internación	84
12. Pockit TM Microplus, utilizado para iiPCR	84
13. Kit Anigen Rapid CaniV-4 utilizado para la inmunocromatografía	84
14. HumaLyzer Primus - HUMAN utilizado para la bioquímica sanguínea	84
15. Human Count 30 TM utilizado para la hematología	84
16. Fármaco utilizado en la terapia ectoparasiticida	84
17. Fármaco utilizado en la terapia hemopatogenicida	84
18. Fármacos utilizados durante la terapia hematopoyética	84
19. Fármaco utilizado en la terapia hepatoprotectora	84

RESUMEN

El estudio de caso se realizó en el Laboratorio Clínico “División Veterinaria” de la Ciudad de Managua de abril a junio del año 2019. El objetivo principal fue evaluar la evolución de un caso de coinfección de hemopatógenos en una hembra canina de tres meses; además se determinó la especie de garrapata y cuantificó la población total, asimismo la identificación del agente etiológico responsable, se realizó a través de frotis sanguíneo, inmunocromatografía y cadena polimerasa isotermal aislada (iiPCR). También se evaluaron las alteraciones hematológicas por medio de Biometría hemática completa y las alteraciones bioquímicas hepáticas y renales a través de TGP, TGO, Urea, BUN y Creatinina, análisis realizados mensualmente en el Pre y pos tratamiento, con el fin de instaurar un protocolo farmacológico para el control de vectores y del agente etiológico, asimismo de restablecer los valores hematológicos, hepáticos y renales del paciente. Todos los datos obtenidos en el estudio fueron registrados en una matriz del software Estadístico Excel 2010. El paciente ingresó presentando una infestación de ectoparásitos, caquéxico, sin fiebre, anorexia completa y depresión. El vector encontrado fue identificado como *Rhipicephalus sanguineus* y la carga ectoparasitaria contabilizada fue de 1,327 garrapatas. Se identificó una coinfección de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma spp*; entre las alteraciones hematológicas se encontró citopenias marcada antes del tratamiento, una vez instaurado el protocolo terapéutico se restablecieron los valores hematológicos a las constantes fisiológicas de referencia. En cuanto a las alteraciones bioquímicas registradas no se reportó daño renal, pero si alteración transitoria de la función hepática, ya que disminuyó drásticamente la tasa de conversión de urea, elevando así los niveles de urea sérica. El control del vector se realizó con Fluralaner 112.5 mg, la terapia hemopatogenicida con Doxiciclina y la terapia hematopoyética y hepatoprotector se realizó con suplementos orales, soluciones inyectables hematopoyética y hepatoprotector.

Palabras Clave: Hemobacteria, Ixodoideos, Inmunodiagnóstico y Terapia.

ABSTRACT

The case study was carried out at the Clinical Laboratory "Veterinary Division" of the City of Managua from April to June of the year 2019. The main objective was to evaluate the evolution of a case of hemopathogen coinfection in a three-month-old female canine; In addition, the tick species was determined and the total population was quantified, as well as the identification of the responsible etiological agent, was performed through blood smear, immunochromatography and isolated isothermal polymerase chain (iiPCR). Hematological alterations were also evaluated by means of complete blood biometry and hepatic and renal biochemical alterations through TGP, TGO, Urea, BUN and Creatinine, analyzes performed monthly in the Pre and post treatment, in order to establish a pharmacological protocol. For the control of vectors and the etiological agent, in addition to restoring the patient's hematology, liver and kidney values. All the data obtained in the study were recorded in a matrix of the Excel 2010 Statistical software. The patient was admitted presenting an infestation of ectoparasites, cachexic, without fever, complete anorexia and depression. The vector found was identified as *Rhipicephalus sanguineus* and the ectoparasitic load was 1,327 ticks. A co-infection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma* spp was identified; Among the hematological changes, marked cytopenias were found before treatment. Once the therapeutic protocol was established, hematological values were restored to the physiological reference constants. Regarding the biochemical alterations registered, no renal damage was reported, but a transitory alteration of liver function was reported, since it drastically decreased the urea conversion rate, thus raising serum urea levels. Vector control was performed with Fluralaner 112.5 mg, hemopathogenic therapy with Doxycycline, and hematopoietic and hepatoprotective therapy was performed with oral supplements, hematopoietic and hepatoprotective injectable solutions.

Key Words: Hemobacteria, Ixodoids, immunodiagnosis and Therapy.

I. INTRODUCCIÓN

Los hemopatógenos pertenecen al grupo de las enfermedades transmitidas por vectores (CVBD), cada país en el mundo tiene su ocurrencia específica de CVBD, dependiendo del clima y los vectores endémicos. Estas enfermedades son transmitidas por un grupo diverso de artrópodos como las garrapatas, moscas, pulgas, moscas de arena y mosquitos (Bayer, 2012).

Según el Mapa Mundial de Ocurrencias de CVBD, Nicaragua está clasificado como un país de baja ocurrencia, es decir que presenta de una a dos enfermedades endémicas (Bayer, 2012). Sin embargo, durante los últimos quince años, se han publicado diversos estudios realizados en caninos procedentes de León, Managua y Boaco, donde se reportó la presencia de cinco hemopatógenos: *Ehrlichia spp*, *Anaplasma spp*, *Babesia spp*, *Haemobartonella canis* y *Dirofilaria immitis* (Angulo y Rodríguez, 2005; Mairena y Rojas, 2014; Solís y Villagra, 2015; Meza y Somarriba, 2015; Arostegui y Maldonado, 2017; Mejías y Fargas, 2017; Olivares y Altamirano, 2019).

El único responsable de la transmisión de estas enfermedades a los caninos, pertenece a la familia Ixodidae, la cual es endémica de países con regiones tropicales y subtropicales, resultando biológicamente beneficiado por varios factores ecológicos, como son la temperatura, humedad, tipo de suelo y vegetación para llevar a cabo su ciclo de vida (Leschnik, Kirtz, Tichy y Leidinger, 2008).

Los ixodoideos pueden parasitar a más de un hospedero, lo que los clasifica como un reservorio de alta peligrosidad, no solamente por los daños directos que ocasiona en los animales, sino también por la amplia gama de posibilidades de albergar a más de un hemopatógeno, además de ser longevos, capaces de mantenerse vivos por periodos prolongados de tiempo, en cualquier etapa de su estadio de desarrollo; también se caracterizan por ser altamente prolíferos durante casi todo el año, y dado sus hábitos alimenticios; en el caso de las garrapatas infectadas el modo de transmisión de los hemopatógenos es transestadial pero no trasovarial (Jongejan y Uilenberg, 2004).

El vector es infectado durante el estadio de larva o ninfa cuando éstas ingieren sangre de un hospedero enfermo; en el interior de la garrapata los microorganismos ingeridos se multiplican en células del intestino medio y posteriormente tras alimentarse, las garrapatas infectadas transfieren al nuevo hospedero un espectro de organismos patógenos a través de las secreciones de las glándulas salivales, inoculando así a los hemopatógenos en el torrente sanguíneo del anfitrión (Aguilar, Cavalcante, Pinter, Gennari, Camargo y Labruna, 2007).

Los hospederos contagiados, pueden entrar en una fase subclínica de infección en la que permanecen infectados crónicamente durante meses o años, pero sin signos clínicos; deteriorando progresivamente la salud del paciente, tales perros a menudo tienen trombocitopenia leve pero no hay otra evidencia de la patología (Villaescusa, Tesouro, García, Ayllón, Rodríguez y Sainz, 2012).

Dentro de las anomalías hematológicas más frecuentes destacan recuentos bajos de serie roja (anemia), recuento alto o bajo de glóbulos blancos (linfopenia o linfocitosis, neutrofilia o neutropenia como monocitosis y monocitopenia), recuento bajo de plaquetas (trombocitopenia) y las anormalidades bioquímicas, como el aumento de las enzimas hepáticas (TGP, TGO) y aumento en las concentraciones de urea y creatinina.

La confirmación del agente etiológico puede lograrse mediante serología, PCR y extendido de sangre periférica. Sin embargo las pruebas de laboratorio nos sirven también para determinar el estado general de salud y las posibilidades de sobrevivir de nuestro paciente, lo que nos ayudará a intervenir a tiempo y a adoptar el protocolo de emergencia más idóneo acorde a la situación.

En este estudio se reportó un caso de un canino con una coinfección de ehrlichiosis y anaplasmosis diagnosticado a través de un seguimiento clínico, pruebas hematológicas, bioquímicas y serológicas en el Laboratorio Clínico División Veterinaria (Divet).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Evaluar la evolución de un paciente diagnosticado con una coinfección de Anaplasmosis y Ehrlichiosis canina en el Laboratorio Clínico “División Veterinaria”.

2.2 Objetivos específicos

- Valorar clínicamente el estado general del paciente al ingresar al consultorio veterinario.
- Cuantificar la población total de garrapatas que parasitan al paciente.
- Determinar la especie de garrapata presente en el paciente.
- Identificar el agente etiológico mediante frotis sanguíneo, inmunocromatografía y Reacción de cadena polimerasa isotermal aislada.
- Interpretar mensualmente las alteraciones hematológicas y bioquímicas (hepáticas – renales) en el Pre y pos tratamiento.
- Instaurar un protocolo farmacoterapéutico enfocado en el control de la carga ectoparasitaria y del agente etiológico responsable de la patología.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

El paciente fue seleccionado del Barrio Acahualinca, durante una evaluación enfocada en la población de canes afectados con altas cargas ectoparasitaria. El estudio se realizó en dos sitios, el primero se efectuó en el Laboratorio Clínico “División Veterinaria” y el segundo lugar fue donde habita el paciente en el que se realizó el seguimiento terapéutico.

Se evaluó en los meses de abril a junio del año 2019 y se realizaron citas programadas mensualmente al laboratorio para la recolección de muestras de sangre e inspección clínica del paciente.

3.2 Descripción de los sitios

3.2.1 Laboratorio veterinario

El Laboratorio Clínico DIVET, está situado en el Reparto Las Palmas, Distrito II Departamento de Managua.



Figura 1. Ubicación topográfica del Laboratorio Clínico “Divet”
Fuente: Google, 2019

Infraestructura

- Área de recepción y sala de espera

La recepción, es el lugar donde se reciben a los pacientes y solicitudes de exámenes; así como también las muestras que envían de otros lugares; se encarga de la entrega de los resultados, el cobro por los servicios brindados y se resuelven en general todos los problemas de atención al cliente.

Esta área cuenta con una sala de espera provista de muebles necesarios para una correcta atención a los usuarios y sus mascotas. Ambas zonas se encuentra en un lugar intermedio y con acceso directo desde el exterior.

- Área de toma de muestras

Es donde se realiza la extracción de la muestra para el examen solicitado, esta área se encuentra equipada con una mesa de exploración de acero inoxidable, una báscula digital y un estante basto provisto de todos los materiales y medios necesarios para realizar la extracción de los diferentes tipos de muestras biológicas; también se dispone de material para la exploración clínica del paciente como estetoscopios, termómetro, bozales, guantes de exploración, así como para la desinfección de la mesa de exploración.

En este sitio también se realiza la separación y distribución de muestras, donde se procede a la verificación, clasificación y preparación de las muestras y se organiza para ser llevadas al área de procesamiento de muestras.

- Área de procesamiento de muestras

La zona de procesado de las muestras se ha diseñado como una sala que permite la distribución del trabajo en cadena. Este lugar designado para la realización de los procesamientos de las diferentes muestras, equipados con los aparatos, materiales, soluciones y reactivos necesarios para dicho fin, se organiza en cuatro secciones separadas físicamente pero contiguas; según los análisis y muestra con que se trabaje, se pueden dividir en diferentes áreas, como son las siguientes: Hematología, Urianálisis, Microbiología, Bioquímica Sanguínea, Serología, Enzimología, Parasitología entre otros.

- Área de internación

Esta área se encuentra entre la recepción y el área de procesamiento de muestras, cuenta con una serie de 6 jaulas en el mismo armazón delimitado e independiente equipado con unas bandejas plásticas bajo cada uno de los compartimentos, para tener mayor control y limpieza del lugar donde se encuentra el paciente en observación.

Personal encargado del laboratorio

Dr. Omar Navarro Reyes (propietario y gerente general del laboratorio clínico Divet)

Dra. Anielka Ruíz (recepción y especialista en Biología molecular y Bioquímica sanguínea)

Dr. Christopher Salinas (especialista en hematología y encargado de tomar las muestras a domicilio)

Dra. Jimena Barrios (especialista de Analítica y Uroanálisis)

Servicios que ofertan

- Laboratorio Clínico Veterinario: Es el laboratorio más completo de Nicaragua y la región centroamericana, cuenta con una vasta gama de análisis para el diagnóstico clínico en hematología, microbiología, parasitología, bioquímica, biología molecular, además ofrecen el servicio de toma de muestras a domicilio en todo el país.
- Pruebas rápidas: Es representante y distribuidor oficial de Pruebas rápidas BIONOTE y pruebas de PCR en Nicaragua.
- Odontología: Realizan limpiezas dentales, con lo más reciente en tecnología de odontología veterinaria y personal altamente calificado.
- Banco de sangre: Facilita a los veterinarios en Managua y las zonas circundantes sangre y componentes de sangre canina que se utilizan para tratar pacientes con necesidad de transfusión, proporcionando una alternativa terapéutica vital en casos de emergencia.

- Trámite de exportación de mascotas: Realizan todo el papeleo en un tiempo que va desde 24 hasta 48 horas máximo.
- Educación Continua Veterinaria: Colabora con profesionales y estudiantes en su búsqueda de conocimiento y perfeccionamiento de la práctica veterinaria en la región y el mundo. También ofrecen cursos de actualización veterinaria, incluyendo laboratorio, está respaldado VATUC (Viajes Académicos y Turismo Científico) y La Sociedad Latinoamericana en Dermatología Veterinaria y la Universidad UC Davis.
- Extensión y Servicio Social Veterinario: es colaborador directo del Zoológico Nacional a quienes le realizan exámenes clínicos veterinarios gratuitos, como parte de su Responsabilidad Social Empresarial.

3.2.2 Lugar donde habita el paciente

Macroambiente

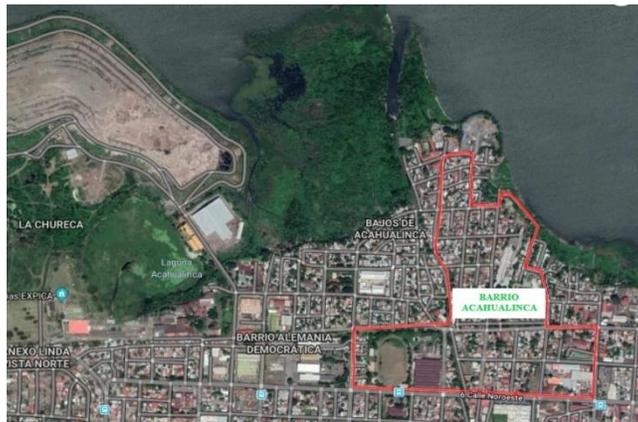


Figura 2. Ubicación topográfica del Barrio Acahualinca
Fuente: Google, 2019

El estudio en campo se realizó en el departamento de Managua, Distrito II, Barrio Acahualinca, localizado en el sector noroeste de la ciudad, teniendo como límites al sur con el Barrio Cuba; al norte el Lago Xolotlán; al este con el Barrio La Cruz, y al oeste con La Chureca. El barrio Acahualinca, se ubica espacialmente en lo que fue el antiguo centro de Managua, es un lugar que se ha venido consolidando a través del tiempo, ya que fue uno de los primeros espacios geográficos en poblarse (Jiménez y Robleto, 2009).

Suelen observarse en el barrio Acahualinca, perros callejeros, gatos, zopilotes, ratas e insectos, provocando una situación de insalubridad mayor que en cualquier otra parte de la ciudad (Aguilar, 2017).

Microambiente



Figura 3. Ubicación topográfica del hogar del paciente
Fuente: Google, 2019

El paciente seleccionado para este estudio habita en el Barrio Acahualinca, Del Museo arqueológico “Huellas de Acahualinca” cuatro cuadras y media al norte. La persona que lo adoptó no cuenta con las condiciones económicas para incurrir en gastos médicos.

La casa donde habita el paciente está provista de piso de loza o cerámica, paredes de bloque y techo de zinc, lo que la define como una vivienda adecuada, pero sobrepoblada y propensa a inundaciones durante la estación húmeda del año. El patio es de concreto y se encuentra cerrado, no cuenta con vegetación, no está techado y es muy pequeño, además, en éste se ubica el lavadero (Anexo 1 y 2), siendo un lugar donde se acumula mucha agua y artefactos en desuso de la familia, brindando el medioambiente ecológico adecuado para el ectoparásito y llevar a cabo su ciclo de vida.

El paciente tiene movimiento limitado en el patio y eventualmente se le restringe el acceso a la casa permaneciendo la mayor parte del tiempo en el patio, aunque en otras ocasiones a causa del descuido de los niños al dejar la puerta de la casa abierta, tiene acceso libre a la calle, más aun sabiendo que los dueños del paciente no le dedican tiempo de recreación a su mascota.

3.3 Diseño metodológico

Se realizó un estudio de caso en un paciente canino diagnosticado con una coinfección de hemopatógenos en el Laboratorio Clínico “División Veterinaria” del mes de abril a junio del 2019. El desarrollo del diseño metodológico constó de cuatro etapas: Etapa I planificación, Etapa II fase de campo, Etapa III fase de laboratorio y Etapa IV análisis de datos.

3.3.1 Etapa I: Planificación del trabajo

Colaboración interinstitucional

El estudio realizado fue sometido a la aprobación de las empresas Laboratorio Clínico División Veterinaria y Escalante Sánchez (ESCASAN), para ser llevado a cabo bajo la dirección del Dr. Omar Navarro Reyes, en colaboración con los especialistas del laboratorio.

Selección del sitio estudiado

El sitio se seleccionó en base al nivel socioeconómico que caracteriza a las zonas pobres, lo que aumenta la vulnerabilidad y exposición que tienen los caninos al contacto con los vectores. Para la selección del paciente no se tomó en cuenta la raza del animal, partiendo de la condición que debía estar expuesto a los ixodoideos y presentar altas cargas ectoparasitarias durante la examinación para poder clasificar en el estudio.

Basado en estos criterios, el paciente que fue seleccionado es una hembra canina, de tres meses, mestiza de Doberman, perteneciente al Barrio Acahualinca localizado en el distrito II del Departamento de Managua. Una vez seleccionado el paciente, se procedió a explicarle a los propietarios del canino; en qué consistía el estudio, cuando comenzaría, el tiempo de duración, los análisis que se llevarían a cabo, la frecuencia y duración en que se administraría el protocolo terapéutico basado en evidencias; luego de la aclaración, el dueño del paciente accedió y se comprometió a colaborar con nosotros durante la duración del estudio.

Diseño metodológico para el levantamiento de datos

En esta sección, el tutor previo al diagnóstico definió la metodología apropiada para el estudio del caso clínico dentro de la cual se incluye:

- Valoración del estado general del paciente al ingresar al consultorio del laboratorio.
- Determinación de la especie de garrapata presente en el paciente.
- Cuantificación de la población total de garrapatas que parasitan al paciente.
- Identificación del agente etiológico mediante frotis sanguíneo, inmunocromatografía y reacción de cadena polimerasa isotermal aislada (iiPCR).
- Evaluación mensual de las alteraciones hematológicas y bioquímicas (hepáticas – renales).
- Instauración de un protocolo farmacoterapéutico para el control de la carga ectoparasitaria y el agente etiológico responsable de la patología.
- Restablecimiento de los valores hematológicos, hepáticos y renales del paciente, a través de una terapéutica específica.

3.3.2 Etapa II: Fase de campo

En esta etapa de la investigación se utilizaron herramientas para la recolección de información preliminar sobre el paciente, a través de la entrevista realizada en el censo de campo y la anamnesis del paciente en el laboratorio, así como también el seguimiento de la evaluación evolutiva física del paciente, luego de iniciada la terapia indicada para su caso en particular por medio del llenado de la Hoja clínica veterinaria; con el fin de llevar un registro del tratamiento suministrado y de los exámenes de laboratorio realizados en el paciente durante el estudio.

Anamnesis del paciente

Previo al estudio se informó al propietario que para poder realizar cualquier intervención, necesitábamos de su consentimiento firmado, donde él hizo constar que estuvo de acuerdo con los procedimientos realizados por el médico veterinario a cargo del caso y del Laboratorio Clínico DIVET, además se comprometió a colaborar con nosotros durante el estudio.

El día que dio inicio el estudio de caso, el paciente fue llevado al Laboratorio Clínico DIVET, acompañado por la persona a su cargo, con el fin de realizar una anamnesis completa donde se recolectó información sobre aspectos generales y específicos del paciente, por medio de preguntas realizadas al propietario de la mascota, también se indagó sobre el historial clínico anterior del paciente.

Llenado de la hoja de Historia Clínica

Se llevó a cabo mediante el llenado de formatos utilizados en el Laboratorio Clínico DIVET (Anexo 3 y 4), donde se realizó el estudio, a fin de plasmar información referente a aspectos generales del paciente, estado físico, estado fisiológico, evolución y hallazgos clínicos.

Examen físico del paciente

Consiste en la revisión general del paciente y su condición física, por medio de técnicas exploratorias como la palpación, auscultación, inspección y percusión, utilizando los materiales de exploración clínica convencionales (Anexo 6 y 7); se tomaron como datos relevantes los obtenidos de los siguientes aspectos: peso, triada clínica (T °C, ppm, rpm), condición corporal, mucosas, sensorio y actitudes de la piel y subcutáneo, exploración e inspección (Radostits , 2002)

Internación del paciente en el laboratorio

Luego de la anamnesis y explicarle los detalles e implicaciones del estudio tanto terapéuticas como laboratoriales al dueño, también se notificó que el paciente requeriría pasar un periodo de observación en el laboratorio durante al menos tres días, con el objeto de cuantificar la carga ectoparasitaria y realizar los análisis hematológicos previos al tratamiento.

Evaluación de la carga ectoparasitaria del paciente

Para la cuantificación de la carga ectoparasitaria total, se hizo uso de un fármaco ectoparasiticida de acción prolongada, llamado fluralaner. Generalmente se emplea para el tratamiento y prevención de infestaciones con pulgas y garrapatas, limitando así la exposición del perro a la garrapata, disminuyendo la carga ectoparasitaria y su aparición en el ambiente.

La dosificación del ectoparasiticida Fluralaner en comprimido masticable, se realizó en base a las presentaciones estipuladas por kg de peso corporal según la escala de talla.

Cuadro 1. Dosificación del fluralaner en perros según su peso

Peso corporal del perro	Número de comprimidos para administrar				
	112.5 mg	250 mg	500 mg	1,000 mg	1,400 mg
2-4.5 kg	1	-	-	-	-
> 4.5-10 kg	-	1	-	-	-
> 10-20 kg	-	-	1	-	-
> 20-40 kg	-	-	-	1	-
> 40-56 kg	-	-	-	-	1

Fuente: Merck Sharp y Dohme Corp., 2018

La administración enteral se ofreció al paciente *ad libitum*, ya que el comprimido presenta un sabor a carne de cerdo de alta palatabilidad para los caninos. Una vez que lo ingirió, se tomó registro de la hora exacta de administración y se comenzó a contabilizar la cantidad e intervalos de tiempo en el que se observó el desprendimiento de los ixodoideos de la superficie cutánea del paciente.



Figura 4. Administración *ad libitum* del ectoparasiticida
Fuente: Cuadra, 2019

El paciente se mantuvo dentro de una jaula para observar el tiempo inicial de acción del fluralaner sobre los ectoparásitos, de acuerdo a los intervalos de tiempo en dos, ocho y doce horas (Merck Sharp y Dohme Corp., 2018). Dentro de las jaulas de internación (Anexo 8), se dispuso encima de las bandejas de recolección de desechos correspondiente a cada compartimento, una hoja de papel toalla u otro cobertor fondo blanco desechable para facilitar la visualización de los ectoparásitos desprendidos (Anexo 9), los cuales fueron recolectados en envases de muestras de 100 ml y posteriormente contabilizada la población total de garrapatas, se sumergieron en embaces con alcohol al 70%, para ser conservados y luego identificar la especie de garrapata.



Figura 5. Paciente en observación post administración del ectoparasiticida
Fuente: Cuadra, 2019

Una vez, constatado el desprendimiento de toda la población de garrapatas durante el periodo de observación en el laboratorio, se siguió inspeccionando la superficie cutánea del paciente durante el tiempo de efectividad ectoparasiticida estipulado en el prospecto del fármaco, en el periodo correspondiente al estudio de caso.

3.3.3 Etapa III: Fase de laboratorio

Esta etapa de la investigación se basó en la realización de pruebas laboratoriales específicas, con el fin de identificar el agente causal de la enfermedad, además de determinar las alteraciones hematológicas y bioquímicas del paciente e instaurar un tratamiento basado en evidencias.

Toma y procesamiento de las muestras hematológicas, bioquímicas, coprológica y entomológicas

Previo a la realización de cualquier procedimiento, el área de recepción recibe al paciente y se encarga de completar la hoja de remisión de exámenes (Anexo 5) con los datos del propietario y del animal, así como del análisis de laboratorio solicitado para el estudio; esta hoja informa al médico veterinario del procedimiento a realizar en dicho paciente.

La extracción de muestras se realizó en el cuarto de toma de muestras del laboratorio por el médico veterinario de turno, especialista en dicho procedimiento, donde dispuso previamente de todos los materiales necesarios para esta práctica (Anexo 10).

Para realizar una excelente obtención de la muestra se debió cumplir protocolos de bioseguridad establecidos por el laboratorio veterinario, donde está comprometido desde el cuarto de toma de muestra hasta las medidas de higiene del flebotomista (Ruiz y Salinas, 2017); previo a la manipulación se le colocó cuidadosamente el bozal y determino el tipo de muestras que se extraería, además el paciente durante cualquier manipulación estuvo sujeto por una persona que fungiese como auxiliar pasante.

- Hematología

El paciente fue puesto sobre la mesa de exploración, en posición decúbito esternal; el médico veterinario rasuró el área de venopunción, luego procedió a desinfectar la zona de punción con motas de algodón embebidas de alcohol al 70%, dejándolo evaporar antes de realizar la punción. Procedió a colocar un torniquete vacuette en la porción distal de la articulación del codo de la extremidad a puncionar y con ayuda de un auxiliar se inmovilizó temporalmente al paciente durante el procedimiento.

Al momento que se realizó la venopunción, la aguja fue introducida en un ángulo de 20 grados, una vez posicionada en la vena, se eliminó la presión ejercida por el torniquete vacuette y dejó fluir la sangre por presión venosa positiva hacia el tubo recolector de muestra. Luego de que extrajo la sangre necesaria, se procedió a retirar la aguja y rápidamente se aplicó presión digital con un algodón seco sobre el sitio de punción, en forma simultánea para evitar hemorragias o formación de hematomas.

Existen diferentes métodos para realizar la extracción de sangre (goteo, vacutainer o jeringa), en este caso como nuestro paciente era un cachorro de talla pequeña, el método por goteo fue el más idóneo para la extracción de la muestra. Se colocó bajo la parte posterior de la aguja el tubo colector de la muestra, de manera que la sangre cayera gota a gota, se retiró la aguja una vez obtenida la cantidad de sangre necesaria y se hizo presión digital sobre el sitio de venopunción (Ruiz y Salinas, 2017).

- Sitios de extracción de sangre utilizados en el paciente

- Vena femoral

Esta vena fue la que menos se utilizó durante el estudio, dado que el temperamento inquieto del paciente dificultaba acceder a esta vena. En esa ocasión el canino se encontraba con un nivel 2 en la escala de deshidratación y no se pudo extraer sangre de la vena cefálica, por lo que se optó por decidir extraer la muestra de la vena femoral; a lo cual procedimos a sujetar los tres miembros del paciente y extender una de las extremidades posteriores para que el veterinario encargado localizará la vena y tomará la muestra de sangre.

- Vena cefálica

Esta vena fue la que se utilizó para extraer con mayor frecuencia las muestras de pequeñas cantidades de sangre en el paciente. Al constreñir el área del aspecto dorsal de la extremidad anterior a nivel del codo se puede elevar la vena cefálica, empezando justo por encima de la articulación carpiana. No se rasuro el área y luego se colocó el torniquete para facilitar la fijación y la visualización de la vena (Gallo, 2014).

Para la toma de las muestras, se hizo uso de dos diferente tubos colectores de sangre:

Tubo K3E KBEDTA: posee un tapón lila, la capacidad del tubo depende de la cantidad de sangre requerida, este envase contiene un anticoagulante, llamado EDTA (ácido etilendiaminotetraacético); esta sangre fue procesada para las evaluaciones de biometría hemática completa, frotis sanguíneo, reacción de cadena polimerasa isothermal aislada (iiPCR) e inmunocromatografía.

Tubo seco Z Serum Sep Clot Activator: posee un tapón rojo y las muestras colectadas no contiene ningún preservante; esta sangre fue procesada para las evaluaciones de Bioquímica sanguínea (TGP, TGO, Urea, BUN y Creatinina).

Una vez obtenida la sangre, fue llevada al área de procesamiento de muestras hematológicas, donde un médico veterinario del Laboratorio Clínico DIVET, realizó los análisis solicitados para el estudio del paciente.

- Biometría Hemática Completa

En lo que la determinación del hematocrito respecta, esta se realizó de la siguiente manera (Olivares y Altamirano, 2019):

- Se llenó la $\frac{3}{4}$ parte del tubo capilar, con sangre venosa bien homogeneizada.
- Se cerró la punta del tubo capilar sellando con cera.
- Se centrifugó por 5 minutos a 10,000 revoluciones por minuto (rpm).



Figura 6. Se introdujo el tubo capilar en la microcentrífuga y se cerró el equipo programado a 10,000 rpm

Fuente: Divet, 2019

- Se leyó el resultado en una escala comercial, de la siguiente manera: se sostuvo el tubo capilar frente a la escala, de manera que el fondo de la columna de eritrocitos quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente al cero.
- Se desplazó el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 100 quedara al nivel del tope de la columna de plasma. Se Vigiló que el fondo de la columna de eritrocitos continúe sobre la línea cero. El tubo debía encontrarse completamente en posición vertical.
- La línea que pase al nivel del tope de la columna de eritrocitos nos indicaba la fracción de volumen de éstos.



Figura 7 A y B. Extracción del tubo capilar de la microcentrifugadora (A) para la lectura del hematocrito en el lector comercial (B)

Fuente: Divet, 2019

De acuerdo con Navarro (2018), para el conteo de plaquetas y glóbulos blancos se utilizó la cámara de Neubauer.

El conteo de plaquetas, fue llevado a cabo de la siguiente manera:

- En un tubo de borosilicato (2 ml) con una pipeta se agregó 280 microlitros de reactivo de plaquetas (Oxalato de calcio) y 20 microlitros de sangre total, homogenizada con efecto vórtice y se cargó la cámara por capilaridad he incubar en humedad por 15 minutos y se observó en objetivo 40X en cinco cuadrantes.
- El conteo obtenido se multiplicó por 1,000, equivalente a la profundidad de la cámara.

El conteo de glóbulos blancos se realizó de la siguiente manera:

- En un tubo de borosilicato (2 ml) con una pipeta se agregó 280 microlitros de reactivo de Turk y 20 microlitros de sangre total, se homogenizó con efecto vórtice y se cargó la cámara por capilaridad y observó en objetivo 10X en cuatro cuadrantes.
- El conteo obtenido se multiplicaba por 50, equivalente a la profundidad de la cámara.
 - Bioquímica sanguínea

El laboratorio clínico DIVET, cuenta con un fotómetro semiautomatizado HumaLyzer Primus – HUMAN (Anexo 14), en cual midió dos enzimas hepáticas, el Piruvato Transaminasa Glutámica y la Transaminasa Glutámica Oxaloacética, en cuanto a las alteraciones renales se procedió a analizar los niveles de creatinina plasmática, Nitrógeno ureico en sangre y la Urea; el procedimiento fue llevado a cabo por médicos veterinarios especialistas del laboratorio y los resultados fueron interpretados para dar un tratamiento adecuado al paciente.

- Piruvato Transaminasa Glutámica

Las mediciones de aminotransferasa son investigaciones básicas para el diagnóstico y monitoreo del daño hepático y muscular. Se realizó la TGP (ALAT) IFCC mod. liquiUV, para la determinación cuantitativa de GPT / ALAT en suero y plasma.

- Transaminasa Glutámica Oxaloacética

Las mediciones de aminotransferasa son investigaciones básicas para el diagnóstico y monitoreo del daño hepático y muscular. Prueba enzimática para la determinación cuantitativa de GOT / ASAT en suero o plasma, es la GOT (ASAT) IFCC mod. liquiUV.

- Creatinina plasmática

Las mediciones de creatinina se realizaron con la Prueba fotométrica colorimétrica de reacción de Jaffé, para la determinación cuantitativa de creatinina en suero, plasma y orina.

Método: La creatinina se forma en una solución alcalina y en un complejo de color rojo anaranjado con ácido pícrico. La absorbancia de este complejo es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

- Urea y Nitrógeno ureico en sangre

Las mediciones de urea (UREA, BUN) se realizaron con la Prueba colorimétrica enzimática, llamada “Urea liquicolor” para la determinación cuantitativa de urea en suero, plasma e orina.

Método: La urea se hidroliza en presencia de agua y la ureasa (enzima) produce amoníaco y dióxido de carbono. En una reacción de Berthelot modificada, los iones de amonio reaccionan con hipoclorito y salicilato para formar un tinte verde. El aumento de la absorbancia a 546 o 578 nm es proporcional a la concentración de urea en la muestra.

Por otro lado, para la obtención de los resultado del BUN se multiplico el valor de la urea por 0.47 (Navarro, 2018)

o Hisopado coproparasitológico

Este procedimiento se realizó mediante la técnica de colección de muestras con hisopos de algodón estéril y solo se tomó una vez al iniciar el estudio de caso (Feldman y Nelson, 2000). La técnica consistió en introducir el hisopo dentro del esfínter anal lentamente, el hisopo de algodón se humedeció previamente con solución salina, luego se giró lentamente rotándolo con los dedos índice y pulgar, y se retiró con cuidado para no contaminarlo con otras partículas; una vez tomada la muestra se introdujo el hisopo hasta el fondo de un tubo de borosilicato con solución salina que debe estar bien tapado.

Después el especialista en el área de procesamiento de muestras, rodó el hisopo sobre una laminilla, ejerciendo una ligera presión con el dedo sobre la varilla para hacer impresiones lineales. Se recomienda realizar dos o tres impresiones en cada laminilla para su posterior lectura.

- Muestras entomológicas del paciente

Previo a cualquier procedimiento y a la administración del ectoparasiticida fluralaner, se extrajeron tres ejemplares de garrapatas con el fin de realizarle estudios a la hemolinfa de la garrapata, para determinar si presentaban o no evidencia de algún agente patógeno.

Identificación del agente etiológico

- Frotis sanguíneo

Ehrlichia canis y *Anaplasma spp*, son bacterias intracelulares obligadas que parasitan las plaquetas, células del sistema mononuclear fagocitario (SMF) y más concretamente los monocitos y algunos tipos de linfocitos circulantes. El diagnóstico se basa en la observación microscópica de inclusiones citoplasmáticas en forma de mórulas en el interior de dichas células; aunque solo son detectadas durante la fase aguda de la patología, por lo tanto la baja sensibilidad es el gran inconveniente de este método. (Sánchez, 2001).

El diagnóstico por medio de esta técnica, se realizó con la muestra de sangre entera extraída del tubo colector K3E KBEDTA, previamente antes de la administración de cualquier tratamiento y durante la farmacoterapéutica instaurada hasta la culminación del estudio.

La identificación del agente patógeno se realizó por el Método del Portaobjetos, cuyo procedimiento no ha sufrido modificaciones. Los portaobjetos que se utilicen, deben estar limpios y exentos de grasa, sin rayas ni otras señales. Conservarse sumergidos en alcohol 95%, secando con papel o lienzo exento de hilachas antes de su uso; los portaobjetos y cubreobjetos deben manipularse por los bordes, para que no se manchen (Gallo, 2014)

Método del Portaobjetos (Gallo, 2014; Olivares y Altamirano, 2019)



Figura 8. Materiales utilizados durante el método del portaobjetos

Fuente: Cuadra, 2019

- Una vez homogenizada la muestra, se tomó sangre con un tubo capilar o un aplicador de alrededor de 2 – 3 mm de diámetro.
- Se depositó una gota pequeña sobre un extremo del portaobjetos para frotis, el cual debe descansar en una superficie plana.



Figura 9. Paso 1 se depositó la sangre

Fuente: Naranjo, 2020

- Se apoyó el extremo del portaobjeto extensor con firmeza con la mano dominante a un ángulo de 30 – 45° sobre la superficie del portaobjetos para frotis, y por delante de la gota de sangre.
- Se hizo retroceder el portaobjetos extensor hacia la gota de sangre, sin separarlo de la superficie del portaobjetos para frotis.

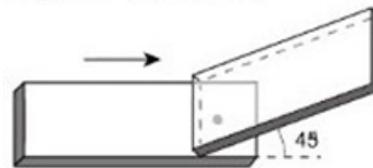


Figura 10. Paso 2 se colocó el portaobjeto extensor y desplazarlo

Fuente: Naranjo, 2020

- Una vez que el portaobjetos extensor hizo contacto con la sangre, y está ha corrido por capilaridad en el borde inferior del portaobjetos, luego este se inclinó, de modo que ambos formen un ángulo de 30 – 45° y se procedió a la extensión.

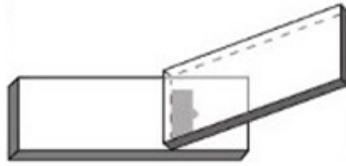


Figura 11. Paso 3 se dejó que se extendiera la sangre
Fuente: Naranjo, 2020

- El frotis se realizó con un movimiento rápido, continuo y uniforme, se extendió el portaobjetos extensor hacia delante, cubriendo 2/3 del portaobjetos para frotis.

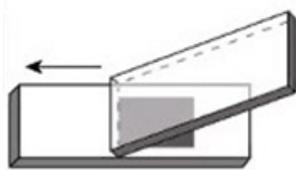


Figura 12. Paso 4 se deslizó el portaobjetos extensor
Fuente: Naranjo, 2020

- Se secó rápidamente moviéndolo en el aire; pero nunca se aplicó calor ni se sopló, ya que la lentitud del secado produciría cambios morfológicos en los eritrocitos; luego se rotuló con el nombre del paciente.



Figura 13. Paso 5 se dejó secar la extensión y después se rotuló
Fuente: Naranjo, 2020

- Se fijó con metanol el extendido sanguíneo.
- Se procedió a la tinción del frotis sanguíneo con la técnica de Diff Quick ®.
- Se lavó con agua potable del grifo cuidadosamente el extendido.
- Se limpió el dorso del portaobjetos con una gasa o algodón humedecido en alcohol para eliminar cualquier resto de colorante.
- Se secó al aire y observó en el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo 100x, primero se realizó el recuento de neutrófilos y linfocitos con ayuda de un contador manual y por último se procedió a buscar presencia de inclusiones intracitoplasmáticas en las células.

- Inmunocromatografía

Es la detección de la presencia de un agente infeccioso por medio de la valoración de la respuesta inmunitaria del hospedador. El organismo, ante la presencia del parásito producirá anticuerpos, y éstos son fácilmente detectados por la prueba. El anticuerpo antinmunoglobulina animal lleva, en este caso, una enzima conjugada; la formación del complejo antígeno-anticuerpo-conjugado se revela, tras la adición del sustrato para la enzima conjugada, por la formación de un producto coloreado indicativo que la activación enzimática se ha desarrollado. El veterinario, observa si aparece color en la banda correspondiente a la muestra del paciente, sabrá que el animal presenta una serología positiva, si la banda no se colorea será negativo (Sánchez, 2001).

Esta prueba se corrió con la muestras de sangre extraída del tubo colector de sangre K3E KBEDTA previamente antes de la administración del Fluralaner. La identificación de la hemopatógenos por serología se realizó mediante una prueba rápida inmunocromatográfica llamada Kit Anigen Rapid CaniV-4 de laboratorios BIONOTE (Anexo 14).

Asimismo, según (BIONOTE, 2018) el kit de prueba Anigen Rapid CaniV-4 el cuál es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno *Dirofilaria immitis*, el anticuerpo *Ehrlichia canis*, el anticuerpo *Borrelia burgdorferi* y el anticuerpo *Anaplasma phagocytophilum* / *Anaplasma platys* en el suero canino, el plasma o la sangre completa.

El procedimiento de la prueba (BIONOTE, 2018) se realizó de la siguiente manera:

- Todos los reactivos y muestras debían estar a temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de ejecutar el ensayo.
- Se retiró el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio y se colocaba sobre una superficie plana y seca.
- Con un tubo capilar desechable, se agregó 20 µL de sangre total en cada orificio de muestra ó 10 µL de suero / plasma en cada orificio de muestra usando una micro pipeta.

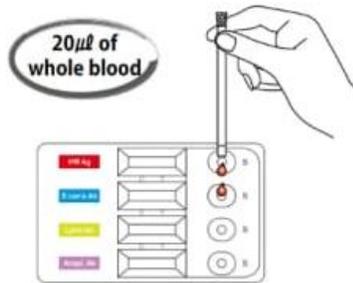


Figura 14. 20 µL de sangre total
Fuente: Bionote, 2018

- Se dispensó 3 gotas de diluyentes de ensayo en cada orificio de muestra.



Figura 15. 3 gotas de los diluyentes de ensayo 20 µL de sangre total
Fuente: Bionote, 2018

- Iniciaba el temporizador. La muestra fluyó a través de la ventana de resultados. Si no aparecía después de 1 minuto, se agregaba una gota más de diluyentes de ensayo al orificio de la muestra.

- Se interpretó los resultados de la prueba a los 15 minutos.

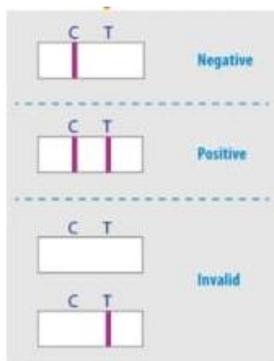


Figura 16. Interpretación de los resultados
Fuente: Bionote, 2018

Los resultados positivos se leyeron de la siguiente forma: la línea de prueba ("T") y la línea de control ("C") dentro de la ventana de resultados indicaran la presencia de los objetivos como antígenos y / o anticuerpos. Es importante destacar que la tira de prueba Anaplasma Ab no puede diferenciar entre *A. phagocytophilum* y *A. platys*: un resultado positivo indicaba la presencia de anticuerpos contra *A. phagocytophilum* y / o *A. Platys*.

Siempre que exista un resultado negativo dudoso habrá que buscar una seroconversión. La seroconversión se refiere a una respuesta tardía del organismo, en cuanto a su sistema inmune, frente a un agente patógeno. Esto significa que en los primeros momentos de los estadios agudos de una enfermedad, ni siquiera se llega a detectar anticuerpos. Al cabo de un tiempo (14-28 días postinfección), éstos alcanzan niveles que pueden ser fácilmente detectados.

En el caso de obtener un título negativo, bajo la sospecha de una ehrlichiosis, se debe repetir la prueba al mes del primer análisis, incluso en el caso de haber instaurado un tratamiento específico, con el fin de confirmar o descartar el proceso. Si el resultado fuera nuevamente negativo, podríamos pensar que el proceso se debe a otra enfermedad, o que la especie infectante es distinta a la que estamos testando (Sánchez, 2001).

- Reacción en cadena de polimerasa isotermal aislada (iiPCR)

Es una técnica de biología molecular, que se basa en la posibilidad de amplificar mínimas cantidades de ADN o ARN de manera específica, lo que permite detectar antígenos de difícil cultivo, o infecciones recientes donde aún no se han desarrollado suficiente cantidad de anticuerpos (Diagnostest, s.f).

El iiPCR se realizó con el equipo analizador de ácido nucleico POCKIT™ Micro Plus (Anexo 9), el cual es un sistema cualitativo de amplificación y detección de ADN, que aplicó el concepto de convección de Rayleigh – Benard para impulsar la PCR mediante una única fuente de calentamiento en el fondo de los tubos de reacción. A diferencia de la PCR convencional, que requiere varios ciclos de calentamiento y enfriamiento, el iiPCR se logra a través del gradiente de temperatura generado por la convección térmica con un tiempo de reacción significativamente reducido (Genereach, s.f).

Esta prueba se llevó a cabo bajo un protocolo de dos fases: la primera fase consistió en la extracción del ADN, para ello se usó el Kit de preparación conjunta de ácido nucleico PetNAD™ y la segunda fase consistió en amplificación para detectar la secuencia específica de ácido nucleico de *Ehrlichia canis*, la cual se llevó a cabo haciendo uso del Set de reactivos *Ehrlichia canis* de POCKIT™ en el equipo analizador de ácido nucleico POCKIT™ Micro Plus.

Fase 1: Protocolo de extracción PetNAD™.

El kit de co-preparación de ácido nucleico PetNAD™ es un sistema de co-extracción de ADN / ARN competente grabado como plantilla para la amplificación o la transcripción inversa, basado en columna giratoria (GeneReach Biotechnology Corporation, 2015).



Figura 17. Materiales proporcionados en el Kit de preparación conjunta de ácido nucleico PetNAD™

Fuente: GeneReach Biotechnology Corp, 2019

El kit PetNAD™, está compuesto por 5 frascos con Phosphate buffer (tampón fosfato), una bolsa con 50 juegos de Columna giratoria y tubo de recogida y un manual de usuario (GeneReach Biotechnology Corporation, 2015). Durante este procedimiento se debió utilizar una bata de laboratorio adecuada y guantes de nitrilo desechables y tapa bocas.



Figura 18. Materiales para la extracción del ADN. Guantes (1), Micropipeta y puntas con filtro de 1 ml (2), puntas de 50 µl (3) y tubos de mini-centrífuga para usar (4)

Fuente: Divet, 2019

Antes de utilizar por primera vez el kit agregue el volumen apropiado de etanol como se indica a continuación y asegúrese de marcar el frasco de reactivos después de la adición de etanol:

Cuadro 2. Materiales proporcionados en el kit PetNAD™

Artículo	Volumen	Nota: antes del primer uso
PB1	36 ml/ frasco, 1 frasco	
PB2	1 ml/ frasco, 1 frasco	Agregue 35 ml de etanol al 95% antes de usar
PB3	20 ml/ frasco, 1 frasco	Agregue 20 ml de etanol al 95% antes de usar
PB4	15 ml/ frasco, 1 frasco	Agregue 25 ml de etanol al 95% antes de usar
PB5	12 ml/ frasco, 1 frasco	
Columna giratoria y tubo de recogida	50 juegos, bolsa, 1 bolsa	
Manual de usuario	1 copia	

Nota: Después de agregar etanol, asegúrese de que las botellas estén bien selladas después de cada uso.

Procedimiento: Esta prueba se corrió de una muestra de sangre entera del tubo colector de sangre K3E KBEDTA extraída previamente antes de la administración de cualquier tratamiento.



Figura 19. Se usó una nueva punta desechable al eje de la pipeta, se presionó lo suficiente para hacer un sello hermético

Fuente: Divet, 2019

Cuadro 3. Cantidad de muestra del ácido nucleico extraído

Tipo de muestra	Tamaño de muestra
Sangre entera	200 µl



Figura 20. Se transfirió 200 μ l de sangre fresca a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, luego se agregó 600 μ l de PB1 y mezcló bien durante 1 minuto
Fuente: Divet, 2019



Figura 21. Se agregó 600 μ l de PB2 y luego se mezcló bien durante 10 segundos
Fuente: Divet, 2019



Figura 22 A, B y C. Se transfirió 600 μ l de la mezcla a la columna(A y B), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto y desecho el flujo(C)
Fuente: Divet, 2019

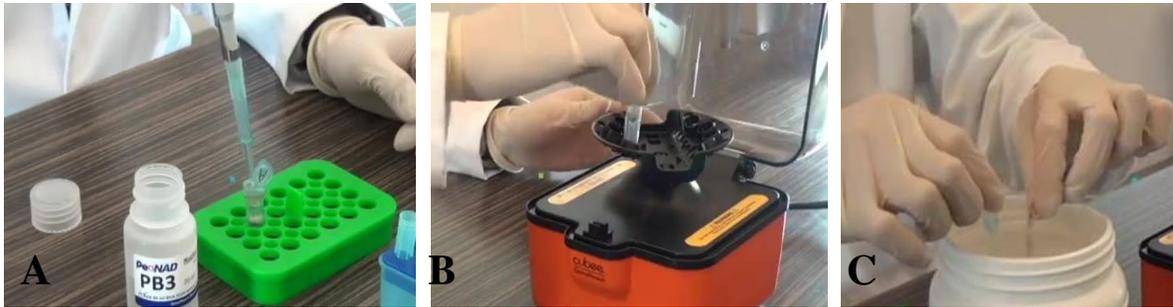


Figura 23 A, B y C. Se transfirió 600 µl de PB3 a la columna (A), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto (B) y desecho el flujo (C)

Fuente: Divet, 2019



Figura 24 A, B y C. Se transfirió 600 µl de PB4 a la columna (A), luego se giró a toda velocidad durante 1 minuto (B) y desecho el flujo (C). Posteriormente se giró a toda velocidad durante otros 3 minutos para eliminar el etanol residual

Fuente: Divet, 2019



Figura 25 A, B y C. Se colocó la columna en un tubo limpio de 1.5 ml de microcentrífuga y agregó 50 µl de PB5 a la columna (A), se dejó incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto y luego se giró a toda velocidad durante 1 minutos (B), posteriormente se descartó la columna (C)

Fuente: Divet, 2019

Fase 2: Protocolo de lectura para detectar la secuencia específica de ácido nucleico de *Ehrlichia canis*

Este protocolo tiene como principal función detectar la secuencia específica de ácido nucleico de *Ehrlichia canis*. En iPCR, la química basada en la sonda de hidrólisis se usa para generar señal fluorescente durante la amplificación del ADN objetivo. Los cebadores y la sonda se dirigen al gen *gltA* y no reaccionan de forma cruzada con el ácido nucleico del huésped y otros patógenos caninos (GeneReach Biotechnology Corporation, 2016).

El set de reactivos *Ehrlichia canis* de POCKIT está compuesto por:

A. Materiales proporcionados

Cuadro 4. Juego de reactivo POCKIT™ *Ehrlichia canis*

Componente	Contenido del componente	Cantidad
Premix Pack	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>E. canis</i> Premix (gránulo liofilizado) que contiene dNTP, cebadores, sonda y enzima para amplificación. ▪ paquete de agente desecante 	Paquete de agente desecante: 6 bolsas (8 viales de <i>E. canis</i> Premix y 1 agente / bolsa de desecación)
Premix Buffer B	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampón para volver a disolver los viales de pellet 	2 liofilizados (1,3 ml / vial)
P(+) Control	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Plásmido seco que contiene la secuencia parcial de <i>E. canis</i> como control positivo 	1 vial
P(+) Control Buffer	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampón de reacción para volver a disolver el control P (+). 	1 vial (110 µl / vial)
Manual de usuario		1 copia

Tubo R, 48 tubos / caja

Cuando manipule los R-tubos debe usar guantes de nitrilo, después de la reacción no manipule los tubos para evitar la contaminación por arrastre. Se recomienda etiquetar la muestra analizada en este tubo en parte superior del tapón y no en el área de detección del tubo, además de no reutilizar el tubo R y la premezcla (GeneReach Biotechnology Corporation, 2016).



Figura 26. Tubos de reacción para iiPCR
Fuente: Divet, 2019

B. Materiales y equipos requeridos, pero no proporcionados

Analizador de ácido nucleico POCKIT™

Antes de preparar las reacciones para la prueba iiPCR, active el equipo POCKIT™ para iniciar la calibración del instrumento. El dispositivo completará la autocomprobación en 5 minutos (GeneReach Biotechnology Corporation, 2016).



Figura 27. POCKIT™ - Instrumento compatible
Fuente: Divet, 2019

Agitador de tubos



Figura 28. Agitador Vortex Mixer, 3150 rpm
Fuente: Divet, 2019

Micropipeta automática y puntas desechables

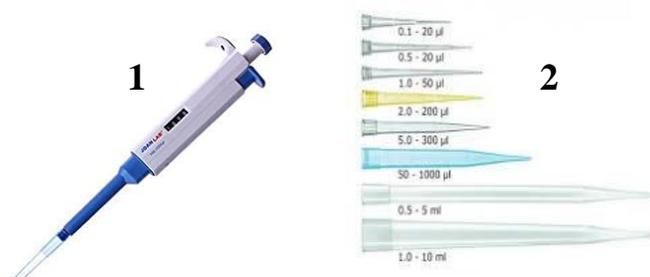


Figura 29. Micropipeta (1) y puntas de filtro (2)
Fuente: Joan lab, 2019

Procedimiento: Esta prueba se corrió con el extracto de ácido nucleico, el cual debe usarse de inmediato, de lo contrario, manténgalo a 4 °c durante 1 hora. Y se recomienda que tanto los procesos de extracciones y procedimientos de amplificación deben realizarse por separado en dos espacios independientes para evitar cualquier posible contaminación.

Este conjunto de reactivos está destinado a analizar ácidos nucleicos extraídos de sangre completa. Se recomienda el siguiente tamaño de muestra:

Antes de usar por primera vez, el kit agregue 100 µl de P (+) Control Buffer al control P (+) Control, para la calibración del equipo POCKIT™ Micro Plus.



Figura 30 A, B y C. Al tubo de Premix (A) se le agregó 50 µl de Premix Buffer B (B y C)
Fuente: Divet, 2019

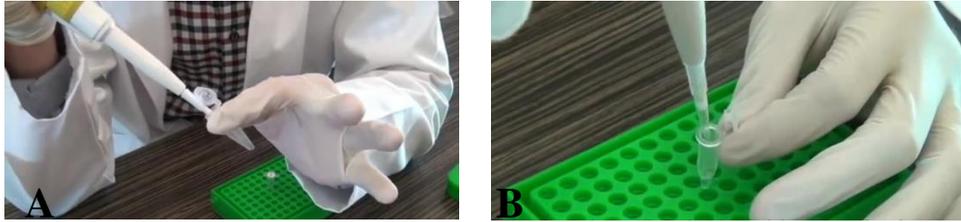


Figura 31 A y B. Se agregó 5 μ l de extracto de ácido nucleico (A) o control P (+) al tubo de premezcla (B). Se giró el tubo de premezcla durante 10 segundos en una minicentrífuga
Fuente: Divet, 2019



Figura 32 A, B y C. Se transfirió 50 μ l de premezcla / mezcla de muestra al tubo R, se selló la parte superior de cada tubo R con una tapa y asegúrese de que el tubo R esté bien tapado
Fuente: Divet, 2019

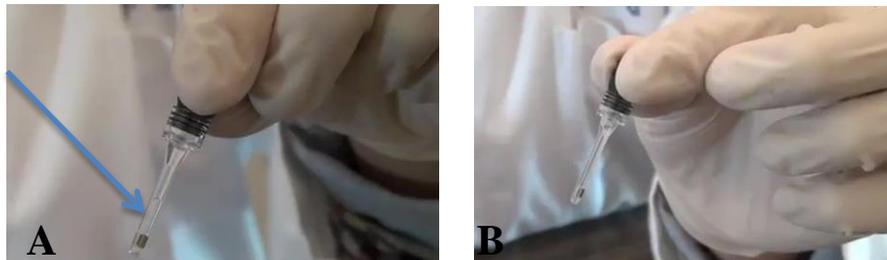


Figura 33 A y B. Tubo R con burbuja en el área de detección(A), se agitó el tubo R para remover la burbuja del área de detección del tubo de reacción (B)
Fuente: Divet, 2019



Figura 34 A, B y C. Se colocó el tubo R (control positivo) en el aparato (A), resultados cualitativos y iiPCR POCKIT plus (B y C)
Fuente: Divet, 2019

3.3.4 Etapa IV: Datos evaluados

Se recolectaron los datos durante el periodo del 12 de abril al 22 junio del 2019. Para el análisis y obtención de datos se llenó una hoja de historia clínica veterinaria, correspondiente a cada visita mensual, la cual consta de exploración clínica, anamnesis; también de la toma de muestras de sangre para la realización de las evaluaciones hematológicas y de bioquímica sanguínea.

El estudio tuvo una duración aproximada de tres meses en los cuales también se tomaron en cuenta la persistencia del efecto del fluralaner durante este tiempo y su acción ectoparasiticida, además de monitorear los valores hematológicos mediante biometría hemática completa, la presentaciones de alteraciones hepáticas mediante la interpretación de dos enzimas hepáticas, el Piruvato Transaminasa Glutámica y la Transaminasa Glutámica Oxaloacética, en cuanto a las alteraciones renales se procedió a analizar los niveles de creatinina plasmática, Urea y el Nitrógeno ureico en sangre.

Análisis de datos

Para la valoración clínica del paciente se tomaron en cuenta los datos obtenidos a través de la exploración clínica, el llenado de la historia clínica, los exámenes complementarios y la evolución del paciente post tratamiento.

Todos los datos de la valoración clínica fueron registrados en una matriz del software Estadístico Excel 2010. Estos resultados recopilados en la historia clínica permitió el establecimiento del diagnóstico presuntivo, el cual sumado a los resultados de los exámenes de laboratorio ayudo al establecimiento del diagnóstico definitivo en el paciente.

Variables a evaluar

Cuadro 5. Variables y subvariables según los objetivos específicos

Objetivos específico	Variable conceptual	Subvariables o dimensionales	Variables operativas o indicadores	Técnica de recolección de la información
Valorar el estado general del paciente al ingresar al consultorio veterinaria	Anamnesis	Peso y condición corporal Nivel de deshidratación Constantes fisiológicas Linfadenopatía	Pérdida del apetito Aumento de la temperatura ambiente Fase infectiva de la bacteriemia	Hoja clínica veterinaria
Carga ectoparasitaria	Identificación del ectoparásito	Cuantificación de ectoparásitos desprendidos en diferentes intervalos de tiempo	Efectividad prolongada del ectoparasiticida	Observación del paciente y remisión de muestra de especímenes a un parasitólogo veterinario
Identificación del agente etiológico	Evidencia del hemopatógeno	Taxonomía de la especie patógena	Extracción de muestra de sangre	Frotis sanguíneo iiPCR inmunocromatografía
Evaluar las alteraciones hematológicas y bioquímicas	Interpretación de los resultados	Aumento o disminución de los valores hematológicos y bioquímicos	Respuesta fisiológica a la bacteriemia	Resultados de laboratorio

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Descripción del caso clínico



Figura 35. Estado inicial del paciente
Fuente: Cuadra, 2019

Nombre del propietario: Yordan Ojera

Dirección del domicilio: Del Museo arqueológico “Huellas de Acahualinca” cuatro y media cuadras al norte.

4.1.1 Reseña del paciente

Nombre: Kyla

Especie: Canino

Raza: Mestiza de Doberman

Edad: 3 meses

Talla: Pequeña

Peso: 3 Kg

Sexo: Hembra

Capa y Señales: Marrón con manchas de fuego

Empleo del animal: Mascota

4.1.2 Motivo de la consulta

El paciente fue remitido el día 12 de abril del 2019 del Barrio Acahualinca por el estudiante que desarrollo el estudio de caso, tras el ingreso al consultorio del laboratorio, luego de la inspección clínica se evidenció infestación de ectoparásitos, caquética, anorexia completa y deprimida.

4.1.3 Anamnesis

Fecha de nacimiento: Desconocida

¿Ha iniciado el programa vacunación? No

Su mascota ha presentado alguna reacción adversa a algún medicamento? No

¿Cuándo fue la última desparasitación?: marzo 2019

Dieta y frecuencia: Casera tres veces al día

Estado reproductivo: Entero

Enfermedades anteriores: Sin antecedentes

Habitad: Patio de la casa

¿Existe alguna otra mascota en casa? Dos Perros adultos (un macho y una hembra)

¿Se le ha administrado algún tratamiento para su problema actual? Solo le aplicaron Fipronil para el control de pulgas y garrapatas en el mes de marzo, correspondiente a su última visita al médico veterinario.

4.1.4 Exploración clínica del paciente

Una buena anamnesis e historial clínico representa la mitad del diagnóstico y evita procedimientos innecesarios, ayuda a identificar, confirmar, documentar o excluir una enfermedad, además de establecer un tratamiento racional (Radostits, Mayhew y Tyler, 2002).

Cuadro 6. Constantes fisiológicas del paciente

Triada clínica				
Constantes fisiológicas	Valores normales	12/04/19	28/05/19	22/06/19
Temperatura	37.5 – 38.5 ° C	38.3 ° C	38.1° C	37.8 ° C
Frecuencia cardiaca	60 – 120 ppm	192 ppm	164 ppm	136 ppm
Frecuencia respiratoria	10 – 30 rpm	48rpm	32 rpm	40 rpm

Se realizó la primera inspección clínica al paciente el día 12 de abril del 2019, en la cual no se encontró ninguna alteración patológica en sus constantes fisiológicas, la temperatura se encontró dentro de los valores de referencia, pero sí hubo aumento de la frecuencia cardiaca y respiratoria, correspondiente al estrés causado por encontrarse en un entorno desconocido y también al curso de la enfermedad.

En la segunda valoración el día 28 de mayo del 2019, sus constantes fisiológicas se encontraban dentro del rango, mostrando un leve descenso en la frecuencia cardiaca y respiratoria en comparación con los datos anteriores, como respuesta al reconocimiento del entorno y a los resultados positivos del tratamiento. En la última inspección el día 22 de junio del 2019, no se reportó ninguna variación alarmante en su triada clínica, esto debido a la progreso positivo de la calidad de vida del paciente, mediante la terapia, la cual ayudó a liberarse de estrés causado por la sintomatología de la enfermedad.

Cuadro 7. Examen físico practicado al paciente

Fechas de evaluación	12/04/19	28/05/19	22/06/19
Condición corporal	2	3	3
Peso	3 kg	5.5 kg	7.5 kg
Mucosas	Pálidas	Rosadas	Rosadas
Porc. deshidratación	7%	Indetectable	Indetectable
Sensorio y actitudes	Deprimido	Activo	Activo

Cuadro 7. Continuación...

Piel y subcutáneo	Petequias en la región de la ingle Piel seca Pelaje seco, sin brillo y quebradizo	Las petequias presente en la región de la ingle se empezaron a desvanecer Piel sana y sin alteraciones Pelaje brillante	Piel sana y sin alteraciones Pelaje brillante
Exploración/ Inspección,	Linfadenopatía (mandibulares y parotídeos) Anorexia completa Ligero dolor abdominal Presencia de ectoparásitos	Anorexia parcial Sin linfadenopatía Ausencia de ectoparásitos	Ingiere alimentos de forma normal Sin linfadenopatía Ausencia de ectoparásitos

Se valoró al paciente encontrándose los siguientes hallazgos:

Condición corporal

El día 12 de abril del 2019 se observó durante el examen físico que el paciente presentaba un estadio 2 en la escala del sistema de valoración del estado corporal de cinco puntos; correspondiente a delgadez, presencia de poca grasa cobertura, costillas y vértebras lumbares fácilmente visibles con pérdida mínima de masa muscular. El día 22 de junio del 2019 finalizó el tratamiento, tras la valoración practicada al paciente se le clasifico en el estadio tres en la escala de condición corporal, ya que se logró constatar notables mejorías como respuesta al cambio en la calidad de los suplementos nutricionales del paciente.

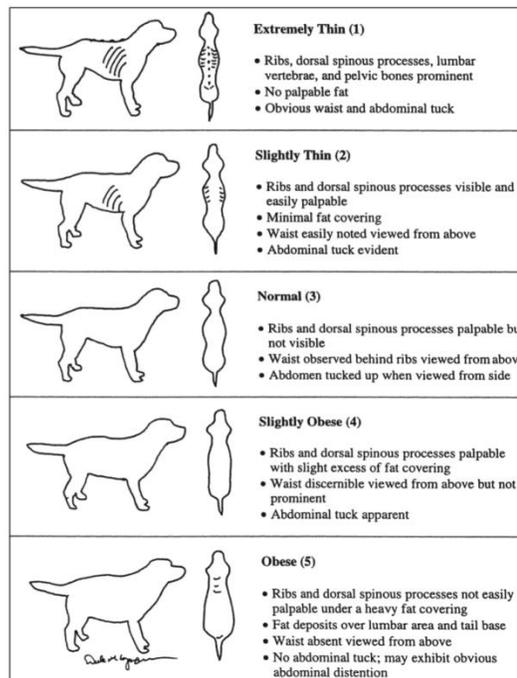


Figura 36. Sistema de valoración del estado corporal de cinco puntos
Fuente: Dorsten y Cooper, 2004

Peso

El peso inicial del paciente tomado el día 12 de abril del 2019 fue de 3 kg, en la segunda valoración el día 28 de mayo del 2019 registro un incremento de 2.5 kg, en la tercera y última exploración el día 22 de junio del 2019 el paciente registro una ganancia de peso de 2 kg.

Los cachorros mestizos no tienen pautas de crecimiento estándar registradas, ya que estas pautas varían según la raza, a menos que el médico veterinario pueda obtener información sobre de los padres del cachorro, de lo contrario las ganancia de peso de las cría será variable (Peterson, 2011).

Mucosas

Durante la primera exploración el día 12 de abril del 2019, las membranas mucosas oral, conjuntiva y vulva del paciente se encontraban pálidas; en la segunda inspección el día 28 de mayo del 2019, se encontró un cambio ligeramente notorio en la coloración de las mucosas del paciente pasando estas a una tonalidad rosada pálida; en la tercera y última inspección el día 22 de junio del 2019, la coloración de las mucosas del paciente se encontraba rosadas.

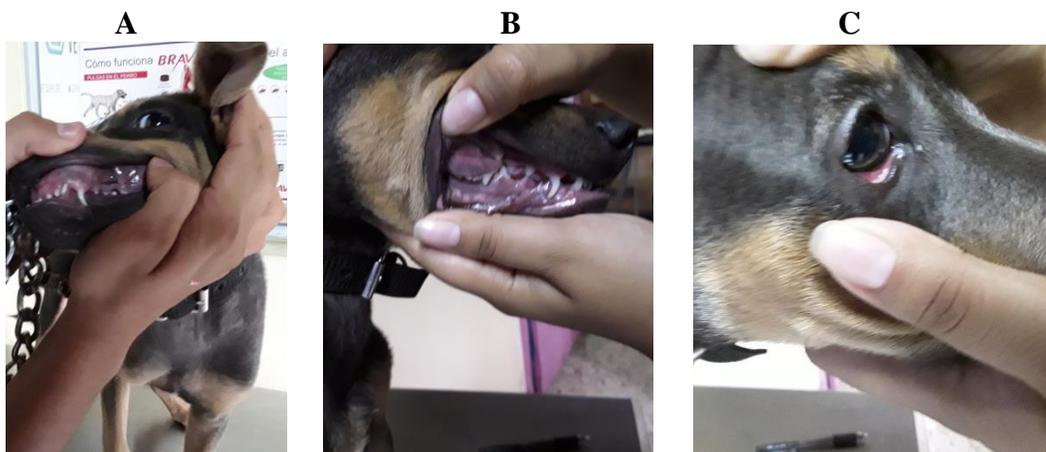


Figura 37 A, B y C. Inspección de las mucosas oral y conjuntiva, correspondiente al 28 de mayo del 2019 (A) y al 22 de junio del 2019 (B y C)

Fuente: Cuadra, 2019

Porcentaje de deshidratación

Este parámetro se tomó mediante la prueba de pellizco o turgencia cutánea observándose durante el primer examen físico que la piel empezó a perder elasticidad retornando lentamente 3 segundos después a la su posición normal, determinando que el paciente presentaba un porcentaje de deshidratación del 7%.

Cuadro 8. Hallazgos físicos en la deshidratación

Porcentaje de deshidratación	Signos clínicos
<5	Indetectable
5 – 6	Pérdida sutil de elasticidad de la piel
6 – 8 (1 – 3 seg)	Retraso definitivo en el retorno de la piel a su posición normal Ligera prolongación del tiempo de llenado capilar. Ojos posiblemente hundidos en órbitas Posiblemente membranas mucosas secas
10 – 12 (± 3 seg)	La piel pierde elasticidad, tarda bastante en recuperarse Prolongación definitiva del tiempo de llenado capilar. Ojos hundidos en órbitas Membranas mucosas secas
12 – 15 (> 3 seg)	Posiblemente signos de shock (taquicardia, extremidades frías, pulsos rápidos y débiles) Signos definitivos de shock Muerte inminente

Fuente: Kirk RW, s.f

No fue necesaria la administración de fluidoterapia intravenosa durante la internación ya que mostró gran aceptación cuando se le suministro agua *ad libitum*, recuperándose del déficit de hidratación rápidamente. Durante el segundo y tercer examen físico no se detectó clínicamente la presencia de deshidratación por medio de esta técnica.

Sensorio y actitudes

Se observó durante la exploración clínica el estado mental o de conciencia, temperamento y la actitud del paciente; el día 12 de abril del 2019 mostró estar levemente alerta y deprimido, pero con un temperamento nervioso sin agresividad y su posible resistencia a la manipulación se debió al miedo por la presencia de personas o cualquier otro estímulo en el medio ambiente desconocido. El día 28 de mayo del 2019 se observó activo y alerta con deseo de olfatear y sondear toda la sala de exploración clínica, pero con un temperamento equilibrado con ligera resistencia a la manipulación sin agresividad. El día 22 de junio del 2019 el paciente estuvo activo, alerta con deseos de explorar todo el edificio del laboratorio, siendo esta una respuesta positiva a la estimulación externa, sin agresividad y sin nerviosismo al manipularlo, completamente cómodo en su entorno.

Piel y Subcutáneo

Se realizó por simple inspección, el día 12 de abril del 2019 se observó la piel seca y sucia, pelaje seco opaco y quebradizo, evidencia de Petequias en la región de la ingle, además de la presencia de ectoparásitos principalmente en la región del conducto auricular externo, interdigital de región palmar y plantar del paciente.

En la segunda inspección correspondiente al día 28 de mayo del 2019 se observó que las Petequias presentes en la región de la ingle se empezaron a desvanecer, la piel sana y sin alteraciones morfológicas, pelaje brillante y disminución de la población de ectoparásitos, es decir de dos – ocho ixodoideos se encontraban durante la exploración.



Figura 38. Petequias en la región de la ingle
Fuente: Cuadra, 2019

En la tercera inspección realizada el día 22 de junio del 2019 se observó la piel sana y sin alteraciones, pelaje brillante y ausencia de ectoparásitos.

Exploración/Inspección

El día 12 de abril del 2019 el paciente ingreso presentando una infestación de ectoparásitos, caquético, anorexia completa y deprimida. En el examen físico realizado se reveló deshidratación, linfadenopatía (mandibulares y parotídeos), ligero dolor abdominal, petequias en la región inguinal, mucosas pálidas, altas carga ectoparasitarias en el pabellón auricular, conducto auditivo externo, en la zona interdigital y almohadilla metacarpiana.

4.1.5 Diagnóstico presuntivo

Tras el reconocimiento de la sintomatología observada en el paciente, se establece como diagnóstico presuntivo: Enfermedades transmitidas por garrapatas como la Anaplasmosis, Babesiosis, Ehrlichiosis, Rickettsiosis y Hepatozoonosis.

Estas enfermedades se presentan de manera asintomática durante meses o años, transmitiendo la infección a las garrapatas tras alimentarse de su sangre y cuando se evidencia sintomatología en el portador generalmente es muy inespecífica. Estas patologías no tienen predilección por la edad o el sexo y ponen en peligro los sistemas orgánicos del huésped de manera diferente y con distintos grados de severidad; a su vez ni la época del año ni la ausencia de garrapatas durante la inspección deben eliminar la sospecha de hemopatógenos en un paciente individual (Gutiérrez , Pérez y Agrela, 2016)

4.1.6 Internación del paciente

Cuadro 9. Monitoreo del paciente durante la internación

Fecha	Descripción
12/04/19	<p>No se obtuvieron datos precisos sobre el paciente durante la anamnesis (Edad estimada, principales síntomas, tiempo con la infestación de ixódidos, nutrición).</p> <p>Se desconocía su historial clínico anterior, ya que fue adoptado a los dos meses de edad, ni tampoco de la procedencia de sus progenitores. Por lo cual, se procedió a llenar la historia clínica a partir de los datos que se obtuvieron.</p> <p>Se extrajeron las muestras de sangre en el tubo K3E KBEDTA y el tubo Seco Z Serum Sep Clot Activator, para la realizarle exámenes hematológicos, bioquímica sanguínea, iiPCR, frotis sanguíneo, inmunocromatografía; también una muestra de heces para Coproparasitología.</p> <p>Se extrajeron tres ejemplares de garrapatas para la realización de iiPCR.</p> <p>Se le administró la tableta masticable de fluralaner 112.5 mg <i>ad libitum</i> y se internó por tres días con el objeto de contabilizar y almacenar la carga ectoparasitaria total.</p>
13/04/19	<p>Se recolectaron en envases de muestras (100 ml) las garrapatas desprendidas durante la noche del día anterior, que quedaron sobre las bandejas de desecho de la jaula.</p> <p>Se realizó el examen serológico con la primera muestra de sangre extraída en el tubo colector de sangre K3E KBEDTA, mediante una prueba inmunocromatográfica llamada Kit Anigen Rapid CaniV-4 de laboratorios BIONOTE.</p> <p>El laboratorio brindo los resultados de los análisis de iiPCR, inmunocromatografía y Coproparasitología.</p>

Cuadro 8. Continuación...

14/04/19 El paciente paso en observación dentro de la jaula de internación, se le brindo agua y comida *ad libitum*.

15/04/19 Se desprendieron manualmente las garrapatas que murieron adheridas al paciente y fueron contabilizadas y almacenadas en envases de muestras de 100 ml con alcohol al 70%.

El laboratorio brindo los resultados de los análisis de biometría hemática completa y bioquímica sanguínea (TGP, TGO, Urea, BUN y creatinina)

El paciente retorno a su hogar con mejor ánimo, pero aún con debilidad aparente, durante su estancia concerniente al periodo de internación comió y bebió *ad libitum* pero en pequeñas cantidades.

Se le administró la primera dosis del protocolo del tratamiento, que tuvo una duración de cuarenta y cinco días y fue suministrada personalmente por el médico tratante hasta la casa del paciente.

4.1.7 Carga ectoparasitaria del paciente

El objetivo de esta etapa del caso fue contabilizar la carga ectoparasitaria, para determinar la población total sobre la paciente y el almacenamiento de los mismos para su debida identificación.

El paciente fue remitido el día 12 de abril del 2019 del Barrio Acahualinca por el estudiante que desarrollo el estudio de caso, tras el ingreso al consultorio del laboratorio, luego de la inspección clínica se evidenció el grado de infestación ectoparasitaria del paciente, clasificándola como alta, siendo esta de 1,327 especímenes en total; el vector encontrado a simple vista fue reconocido como una garrapata dura. Posteriormente fue identificado por el especialista del laboratorio como *Rhipicephalus sanguineus*, conocido como la garrapata marrón del perro, perteneciente a la familia Ixodidae.

El paciente durante la recolección de los especímenes (Anexo 9), se mantuvo dentro de una jaula donde se tomó registro de la hora exacta de administración del ectoparasiticida y a partir de ese dato se comenzó a contabilizar la cantidad e intervalos de tiempo en el que se observó el desprendimiento de los ixodoideos de la superficie cutánea (Cuadro 10). Las garrapatas desprendidas fueron recolectadas de las bandejas de desechos correspondientes a cada compartimento, que contenía encima una hoja de papel toalla u otro cobertor fondo blanco desechable para facilitar la visualización de los ectoparásitos desprendidos, los cuales fueron recolectados en envases de muestras y posteriormente contabilizados.

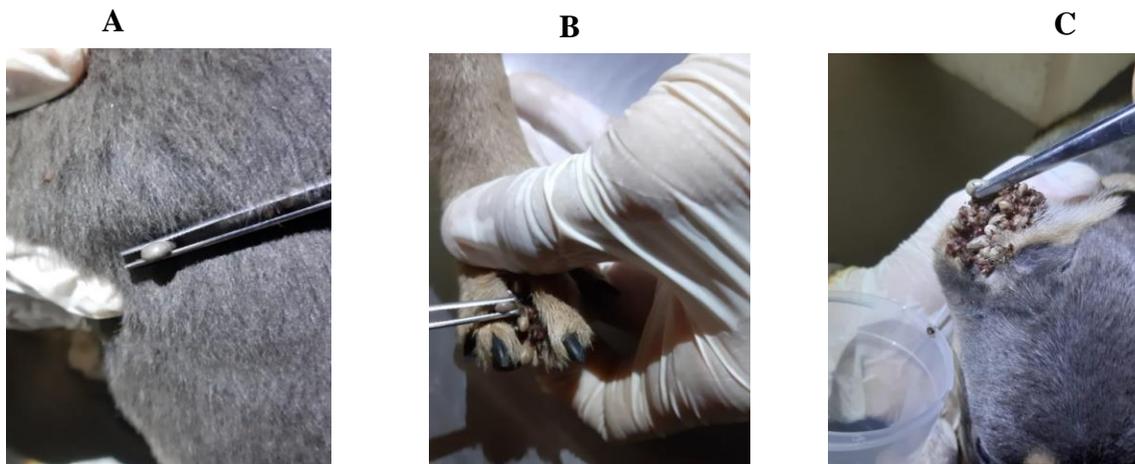


Figura 39 A, B y C. Toma de muestra de ectoparásitos de las áreas infestadas previas a la administración de fluralaner para realizar PCR en las garrapatas

Fuente: Cuadra, 2019

Cuadro 10. Monitoreo de las primeras 12 horas postratamiento ectoparasiticida

12 de Abril del 2019		
Hora	Intervalo de tiempo	Descripción
4:30 pm	0 horas	Administración de fluralaner 112.5 mg
5:30 pm	1:00 hora	1 ^{ra} garrapata desprendida viva
6:30 pm	2:00 horas	10 garrapatas desprendidas vivas
7: 30 pm	3:00 horas	En 9 de las 10 garrapatas vivas recolectadas se evidencia alteración de la motricidad
9: 30 pm	5:00 hora	Se recolectó 150 garrapatas desprendidas
11: 30 pm	7:00 horas	Se recolectó 306 garrapatas desprendidas
13 de Abril del 2019		
2:30 am	10:00 horas	Se recolectó 131 garrapatas desprendidas
10:00 am	18:00 horas	Se recolectó 360 garrapatas que aún estaban adheridas a la superficie cutánea del paciente, encontrándose muertas y deshidratadas

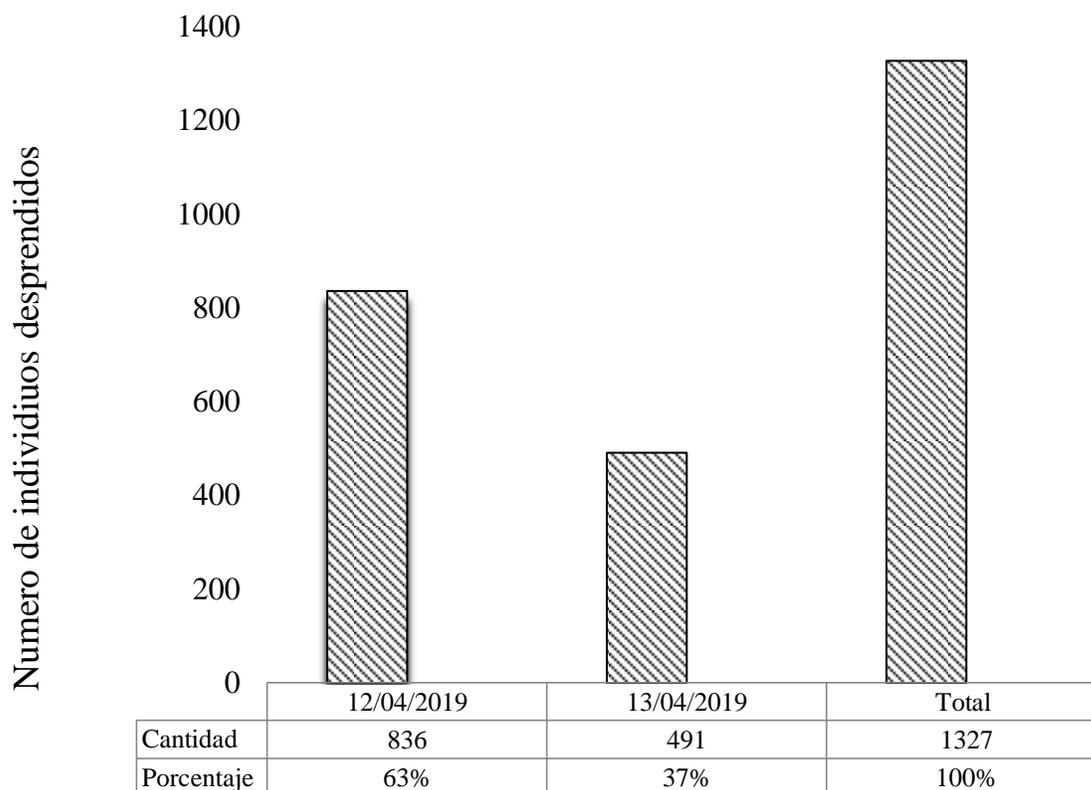


Figura 40. Especímenes vivos de garrapatas recolectados durante la primera hora post tratamiento ectoparasiticida con fluralaner 112.5 mg
Fuente: Cuadra, 2019

Se pudieron observar que las garrapatas estaban en diferentes fases de su ciclo de vida (figura 40) desde larvas, ninfas y adultos tanto machos como hembras, las áreas de la superficie corporal del paciente que se encontraron pobladas con garrapatas fueron el pabellón auricular, el conducto auditivo externo, las patas en la zona interdigital, almohadillas metacarpiana y metatarsiana, también se observó en el dorso del paciente.

Una vez recolectados los últimos especímenes aun adheridos a la superficie cutánea del paciente, se contabilizó el total de la carga ectoparasitaria de *Rhipicephalus sanguineus* sobre el paciente, el primer día 12 de abril del 2019 se recolectaron 836 garrapatas correspondiente al 63 % de la población y el segundo día concerniente al 13 de abril del 2019 se recolectaron 491 garrapatas correspondiente al 37% de la población, siendo el cien por ciento de los individuos desprendidos de 1,327 especímenes.

Figura 41. Porcentaje y cantidad de la carga ectoparasitaria presente en el paciente



Porcentaje de individuos desprendidos de la superficie cutánea del paciente

4.1.8 Evaluación periódica del paciente

Cuadro 11. Monitoreo Mensual del paciente

Fecha	Descripción
12/04/19	<p>No se obtuvieron datos precisos sobre el paciente durante la anamnesis (Edad estimada, principales síntomas, tiempo con la infestación de ixódidos, nutrición). Se desconocía su historial clínico anterior, ya que fue adoptado a los dos meses de edad, ni tampoco de la procedencia de sus progenitores. Por lo cual, se procedió a llenar la historia clínica a partir de los datos que se obtuvieron.</p> <p>Se extrajeron las muestras de sangre en el tubo K3E KBEDTA y el tubo Seco Z Serum Sep Clot Activator, para la realizarle exámenes hematológicos, bioquímica sanguínea, iiPCR, Frotis sanguíneo, inmunocromatografía; también una muestra de heces para Coproparasitología.</p> <p>Se extrajeron tres ejemplares de garrapatas para la realización de iiPCR.</p> <p>Se le administró la tableta masticable de Fluralaner 112.5 mg <i>ad libitum</i> y se internó por tres días con el objeto de contabilizar y almacenar la carga ectoparasitaria total.</p>
28/05/19	<p>El paciente mostró mejor ánimo, evidenciando las primeras señales positivas después de iniciado el protocolo terapéutico, pero aún presentaba inapetencia parcial.</p> <p>Se realizó el seguimiento al paciente, mediante el llenado de la hoja de historia clínica y la toma de muestra de sangre para la realización de los exámenes hematológicos y de bioquímica sanguínea.</p>
22/06/19	<p>Se realizó el seguimiento al paciente, mediante el llenado de la hoja de historia clínica y la toma de muestra de sangre para la realización de los exámenes hematológicos y de bioquímica sanguínea.</p> <p>El paciente se encontró totalmente recuperado y no presentó síntomas, ni secuelas de la enfermedad por la cual fue tratado, no se observó ninguna repercusión a causa del tratamiento administrado.</p>

4.2 Métodos de diagnósticos

Clásicamente se describen tres fases de la enfermedad aguda, subclínica y crónica. El rigor y la importancia de establecer, desde un primer momento, un diagnóstico correcto, es necesario que toda sospecha clínica deba ser complementada y confirmada con pruebas analíticas específicas. Esta confirmación se hace aún mucho más imprescindible si se tiene en cuenta, primero, que enfermedad es; segundo, que no siempre los signos típicos de la enfermedad suelen estar presentes; y tercero, que la mejor forma de garantizar el mejor estado sanitario de los animales y de obtener el mayor éxito terapéutico, es intentando establecer un diagnóstico precoz (Sánchez, 2001).

Para la identificación del agente etiológico que ocasionaba el cuadro clínico, se emplearon tres métodos de diagnóstico laboratorial:

Cuadro 12. Resultados del diagnóstico de laboratorio

Fecha	Métodos de diagnóstico			
	Frotis sanguíneo	Inmunocromatografía	iiPCR	Coproparasitológico
12/04/2019	No se observó		Positivo a <i>Ehrlichia canis</i>	Negativo
13/04/2019	-	Positivo a <i>Anaplasma spp</i>	Las garrapatas resultaron negativas a hemopatógenos	-
22/04/2019	No se observó	En tratamiento	En tratamiento	-
28/05/2019	Positivo a <i>Ehrlichia canis</i>	En tratamiento	En tratamiento	-
22/06/2019	No se observó	-	-	-

Fuente: Cuadra, 2019



Figura 42. Resultado de la inmunocromatografía del paciente
Fuente: Divet, 2019

4.3 Biometría Hemática completa

Los resultados fueron interpretados en base a los valores de referencia concernientes al laboratorio Divet:

❖ Hematocrito:

- Hematocrito aumentado cuando se encontraba por encima del 55%
- Hematocrito disminuido cuando se encontraban por debajo del 37%

❖ Leucocitos:

- Leucocitosis cuándo se encontraban por encima de 10,000 mm³
- Leucopenia cuándo se encontraban por debajo de 6.000 mm³

❖ Neutrófilos:

- Neutrofilia
 - *Segmentados desviados a la derecha:* cuando se encontraban por encima del 77%
 - *Bandas desviadas a la izquierda:* cuando se encontraban por encima del 1%
- Neutropenia cuando los neutrófilos segmentados se encontraban por debajo del 60%

❖ Linfocitos:

- Linfocitosis cuando se encontraban por encima del 12%
- Linfocitopenia cuando se encontraban por debajo del 3%

❖ Plaquetas:

- Trombocitosis cuando se encontraban por encima de 500,000 mm³
- Trombocitopenia cuando se encontraban por debajo de 150,000 mm³

4.3.1 Serie Roja

El hematocrito durante el primer análisis correspondiente al día 12 de abril del 2019 se encontraba en 15% por debajo del valor mínimo al igual que la hemoglobina y el valor eritrocitario (gráfica 2. Resultados cronológicos de la serie roja) y según el valor de las constantes corpusculares el paciente presentaba anemia macrocítica normocrómica regenerativa (gráfica 3. Resultados cronológicos de las constantes corpusculares), además se evidenciaba eritrocitopenia y en consecuencia también hemoglobina baja. El día 28 de mayo del 2019 el hematocrito se registró en 37% encontrándose dentro de los valores de referencia, también hubo un aumento en el valor eritrocitario a 5.4 M/ μ L, pero aún dentro del valor mínimo al igual que la hemoglobina. En el último análisis realizado el 22 de junio del 2019 se evidenció un ligero descenso del 1% en el hematocrito, así como en eritrocitos y hemoglobina.

Figura 43. Resultados cronológicos de la serie roja

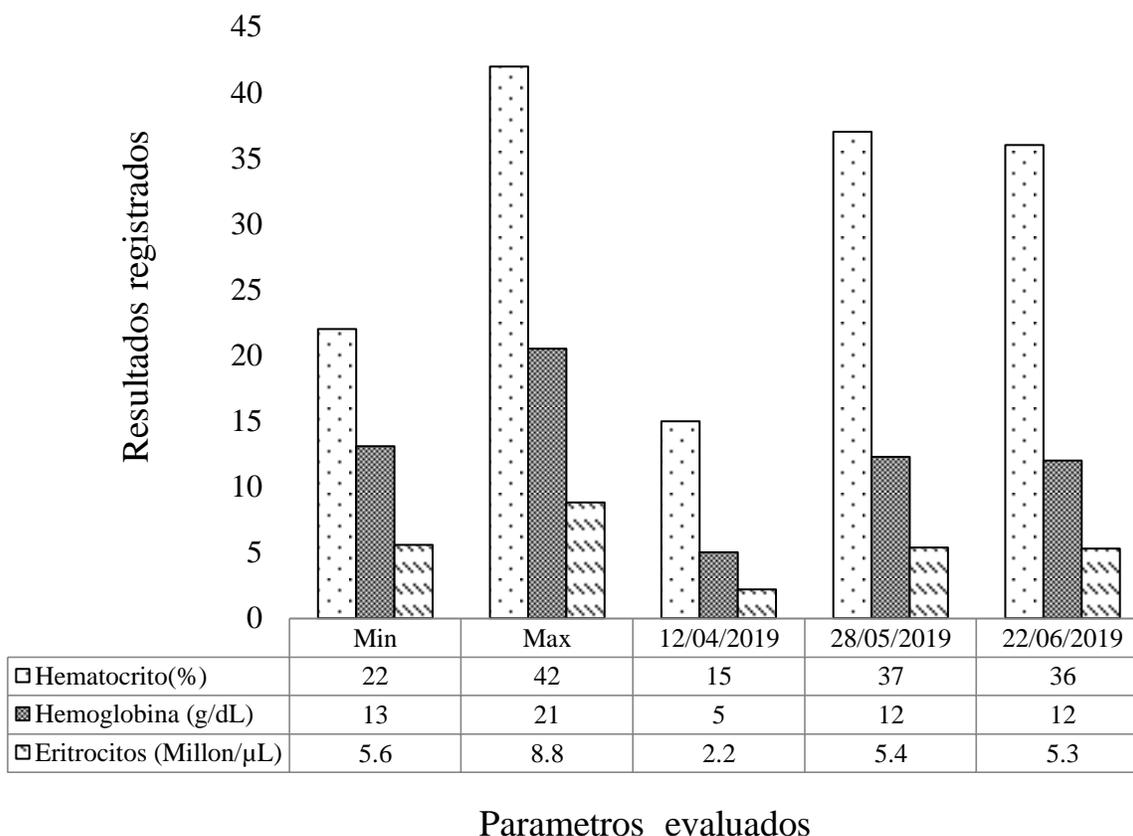
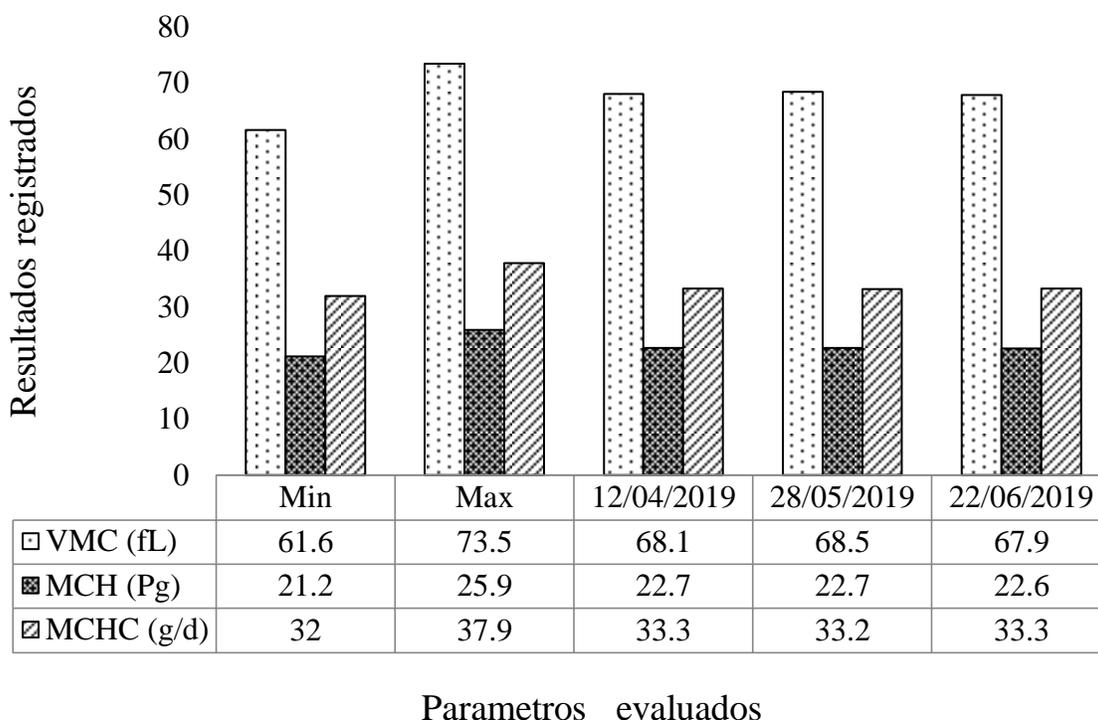


Figura 44. Resultados cronológicos de las constantes corpusculares



La anemia presente en el caso se clasifico como anémica hemolítica regenerativa; según algunos estudios suele ser un hallazgo frecuente durante la fase aguda del curso de la ehrlichiosis canina, la anemia se adjudica al aumento de la destrucción de los hematíes por mecanismos inmunológicos. Lo cual se debe a la unión inespecífica de inmunoglobulinas a los eritrocitos o de un proceso autoinmune específico por la existencia de anticuerpos sobre la superficie eritrocitaria, lo cual podría contribuir a la instauración de un cuadro hemolítico agudo en algunos perros con ehrlichiosis. Posteriormente, en la fase crónica, la anemia será no regenerativa debido a la destrucción continuada de eritrocitos, la pérdida crónica de sangre y la existencia de hipoplasia o aplasia medular (Rodríguez y Tesouro, 2001).

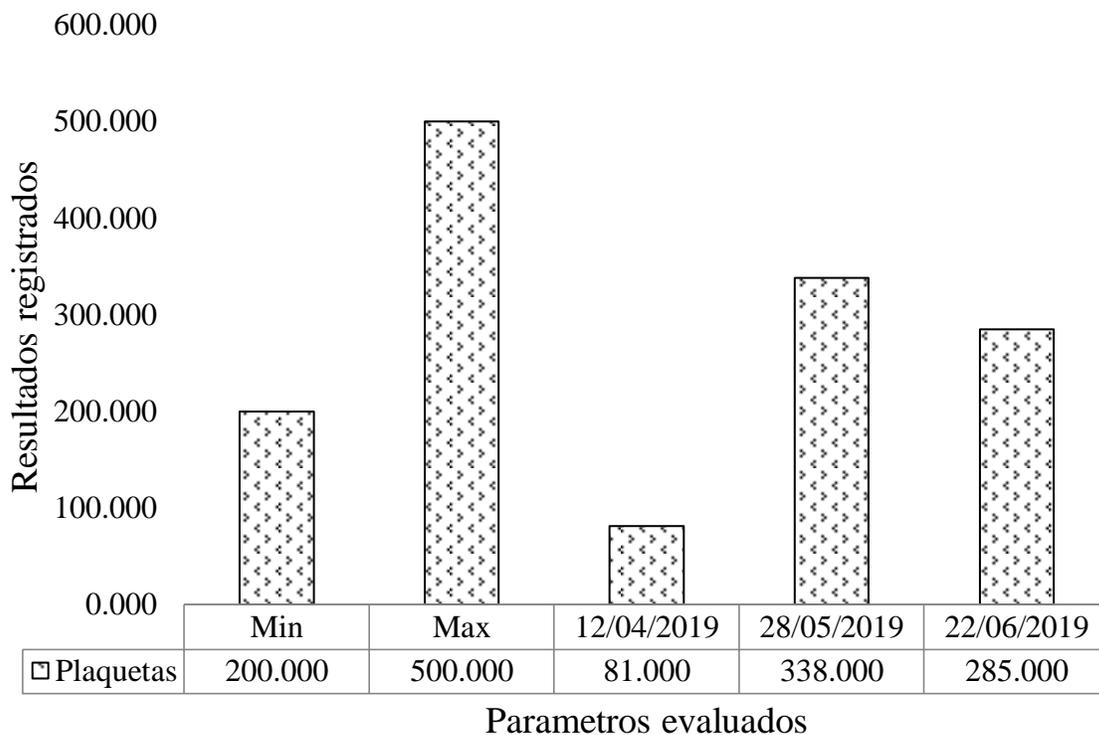
Se ha reportado que los estudios donde se observó coinfección de *Anaplasma platys* y *Ehrlichia canis* se produce anemia y trombocitopenia más graves que la infección con cualquier patógeno solo (Gaunt, Beall, Stillman, Lorentzen, Diniz, Chandrashekar, y Breitschwerdt, 2010).

Además de la trombocitopenia, los perros con infección por *A. platys* pueden desarrollar anemia no regenerativa, leucopenia, hipoalbuminemia, hipocalcemia e hipergammaglobulinemia (Little, 2010). Además que la inhibición de la agregación plaquetaria puede contribuir a las diátesis hemorrágicas cuando ocurren (Waner *et al*, 2000).

4.3.2 Plaquetograma

Las plaquetas durante el primer análisis correspondiente al día 12 de abril del 2019, se encontraba en $81,000 \text{ mm}^3$ por debajo del valor mínimo (gráfica 4. Resultados cronológicos de las plaquetas), evidenciándose trombocitopenia marcada, petequias y aumento en el tiempo de coagulación. En el segundo análisis correspondiente al día 28 de mayo del 2019 se registró un aumento en las plaquetas a $338,000 \text{ mm}^3$, encontrándose dentro de los valores de referencia. En el último análisis realizado el día 22 de junio del 2019 se evidenció un ligero descenso del $53,000 \text{ mm}^3$, pero se registró dentro de los valores de referencia.

Figura 45. Resultados cronológicos del Plaquetograma



La *Ehrlichia canis*, induce trombocitopenia en asociación con el desarrollo de anticuerpos antiplaquetarios; en comparación con *Anaplasma platys* que infecta directamente las plaquetas, ya que tiene tropismo por parasitarlas, en vez de a los leucocitos. Lo cual puede tener un efecto más inmediato en la vida media circulante de las plaquetas (Gaunt et al, 2010).

Los ciclos de trombocitopenia y bacteriemia se producen a intervalos de 7 a 14 días, después de la infección y la trombocitopenia persisten en algunos perros durante todas las fases de la enfermedad, pero las mórulas o inclusiones se vuelven más difíciles de detectar dentro de las plaquetas (Harvey, 2012).

La patogenia de la trombocitopenia es compleja y multifactorial, se han propuesto múltiples mecanismos para la trombocitopenia asociada con las infecciones por *E. canis*, incluido un mayor consumo de plaquetas, secuestro esplénico y mecanismos inmunomediados asociados con una mayor destrucción de plaquetas. En la fase aguda de la infección, la trombocitopenia es generada por una disminución de la vida media plaquetaria más que por un descenso en la producción de plaquetas (Brandão, Hasegawa, Hagiwara y Kohayagawa, 2008).

En cambio en la fase crónica de la enfermedad, la principal causa de trombocitopenia se asocia a la hipoplasia de médula ósea (Mylonakis, Koutinas, Breitschwerdt, Hegarty, Billinis, Leontides y Kontos, 2004).

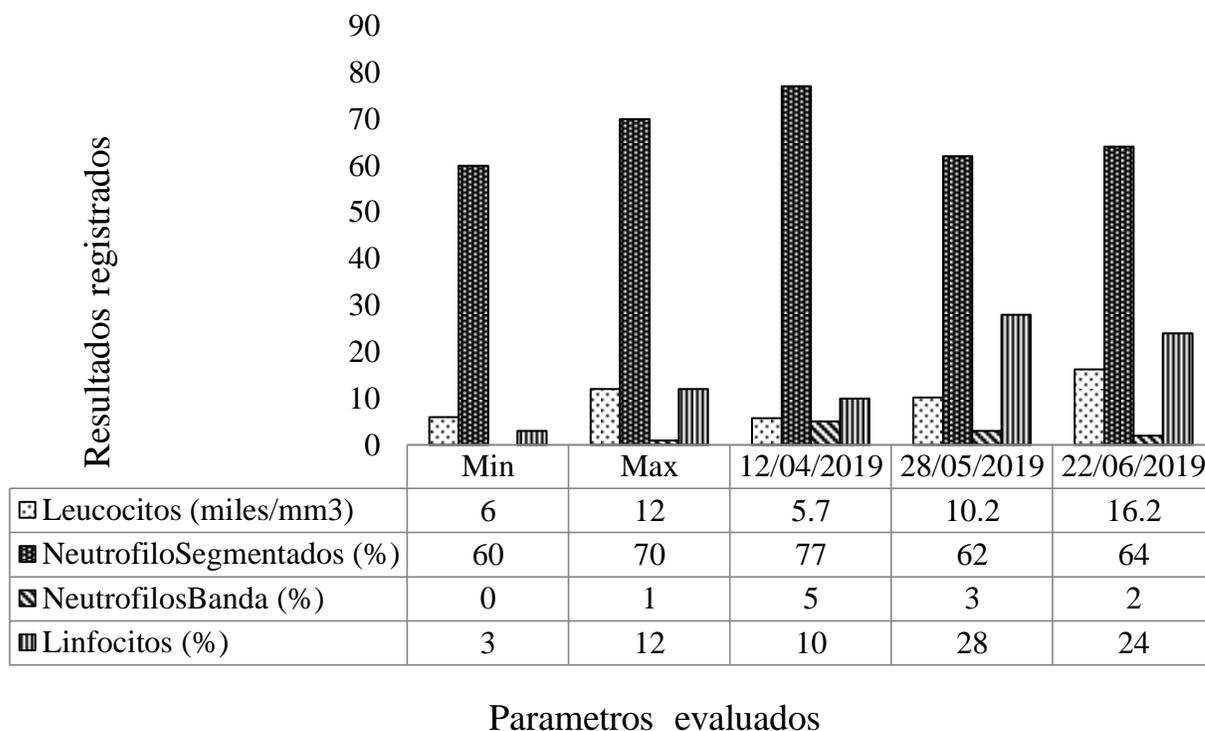
En un estudio, se observó una respuesta reducida de agregación plaquetaria en perros coinfectados con *Ehrlichia canis* (Cortese et al., 2006). La disfunción plaquetaria podría estar relacionada con el daño después de la unión de anticuerpos específicos dirigidos contra las glicoproteínas plaquetarias. También es posible que las moléculas de plaquetas de la superficie reconocidas por los anticuerpos puedan ser receptores funcionales que afecten significativamente la función plaquetaria o que se produzca una disfunción plaquetaria más grave debido al reconocimiento diferente del receptor (Cortese et al., 2011).

Según Rodríguez y Tesouro (2001) alrededor del 80% de los casos de Anaplasmosis y Ehrlichiosis se presentan con trombocitopenia. El recuento plaquetario no siempre se correlaciona con la gravedad de las hemorragias describiéndose, en ocasiones, importantes variaciones en este parámetro analítico. Durante esos casos observaron algunos perros con recuentos de plaquetas inferiores a 10.000 mm³ sin hemorragias mientras que otros con recuentos normales tuvieron síntomas de este tipo debido a alteraciones en la funcionalidad plaquetaria asociada al factor de inhibición de migración plaquetaria.

4.3.3 Serie Blanca

Los resultados obtenidos del leucograma durante el primer análisis correspondiente al día 12 de abril 2019 se encontraron leucopenia, neutrofilia con desviación a la izquierda y los linfocitos se encontraban dentro de los valores de referencia (gráfica 5. Resultados cronológicos de la serie blanca); alteraciones concernientes a la hemoparasitemia por *Ehrlichia canis*.

Figura 46. Resultados cronológicos de la serie blanca



El día 28 de mayo del 2019 se evidenció leucocitos normales, ligero descenso de la neutrofilia con desviación a la izquierda y linfocitosis. En el último análisis el día 22 de junio del 2019 se evidenció leucocitosis, neutrofilia con un ligero descenso en su desviación a la izquierda y linfocitosis.

A diferencia del *Anaplasma platys*, la *Ehrlichia canis* parasita exclusivamente a los monocitos, linfocitos y neutrófilos (Colville y Berryhill, 2007). El recuento de leucocitos en sangre es variable, encontrando inicialmente una ligera leucopenia debida al secuestro de leucocitos motivado por procesos inmunológicos e inflamatorios. Esta leucopenia puede transformarse posteriormente en leucocitosis (Rodríguez y Tesouro, 2001).

La leucopenia observada en el curso de la ehrlichiosis, motivada por una depleción del número de neutrófilos, se puede presentar con un aumento de células inmaduras que carecen de capacidad fagocitaria y de combustión respiratoria óptima lo que incrementa la susceptibilidad de estos pacientes a otras infecciones (Whist *et al*, 2003). La función de los leucocitos también puede verse alterada, así, los linfocitos de perros con ehrlichiosis pueden producir un factor con efecto citotóxico sobre monocitos autólogos (Whist *et al*, 2002).

Se ha descrito una inversión de la formula leucocitaria en perros con ehrlichiosis, con presentación de una neutropenia y una linfocitosis relativa, también se ha reseñado la existencia de linfocitosis granular (Heeb *et al*, 2003). La presencia de linfocitosis Tc (CD8 +) en perros con *E. canis*, se ha descrito en algunos casos clínicos en sangre y ganglios de perros infectados experimentalmente, y la condición parece desarrollarse aproximadamente 6 semanas después de la inoculación y podría representar la respuesta a un patógeno intracelular obligado linfáticos (Hess *et al*, 2006; de Castro *et al*, 2004).

4.4 Bioquímica sanguínea

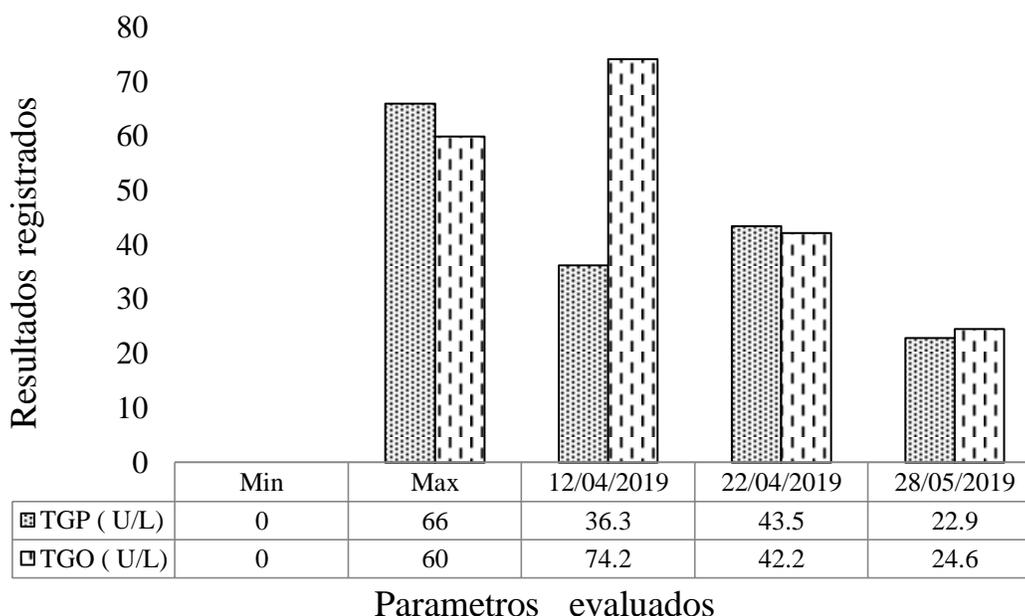
Los resultados fueron interpretados en base a los valores de referencia concernientes al laboratorio Divet:

- ❖ Piruvato Transaminasa Glutámica (TGP)
 - TGP aumentado cuando se encontraba por encima de 66 U/L
- ❖ Transaminasa Glutámica Oxaloacética (TGO)
 - TGO aumentado cuando se encontraba por encima de 60 U/L
- ❖ BUN
 - BUN aumentado cuando se encontraba por encima de 27. 2 mg/dl
 - BUN disminuido cuando se encontraban por debajo de 4.7 mg/dl
- ❖ Urea
 - Urea aumentada cuando se encontraba por encima de 7. mg/dl
 - Urea disminuido cuando se encontraban por debajo del 23 mg/dl
- ❖ Creatinina
 - Creatinina aumentado cuando se encontraba por encima del 0.3 mg/dl
 - Creatinina disminuido cuando se encontraban por debajo del 0.4 mg/dl

4.4.1 TGP y TGO

Durante el primer análisis correspondiente al día 12 de abril del 2019 se encontró el TGP dentro de los valores de referencia (gráfica 6. Resultados cronológicos de las transaminasas), en cambio el TGO se encontró aumentando, en la literatura esto se ha asociado a daño hepático y a hemolisis, en el día 28 de mayo y el 22 de junio del 2019 ambas enzimas se encontraron dentro de los valores de referencia pero durante el estudio las transaminasas presentaron marcadas fluctuaciones, generando al hipótesis de que hubo daño hepático reversible.

Figura 47. Resultados cronológicos de las transaminasas



El TGO se encuentra en los eritrocitos y la adición de eritrocitos lisado al suero aumenta la actividad aparente, también se encuentra en el citosol pero está en concentraciones más altas en las mitocondrias; el aumento del TGO se ha asociado con lesiones reversibles e irreversibles a los hepatocitos y miocitos (Hoffmann y Solter, 2008).

Los mayores valores en la TGP sérico se observan con inflamación hepatocelular y necrosis, y puede aumentar más de 100 veces en 24 a 48 h, alcanzando su punto máximo durante los primeros 5 días posteriores a la lesión. Si se elimina la fuente de la lesión, la actividad TGP volverá a la normalidad más gradualmente en 2 a 3 semanas (Tennant y Centro, 2008).

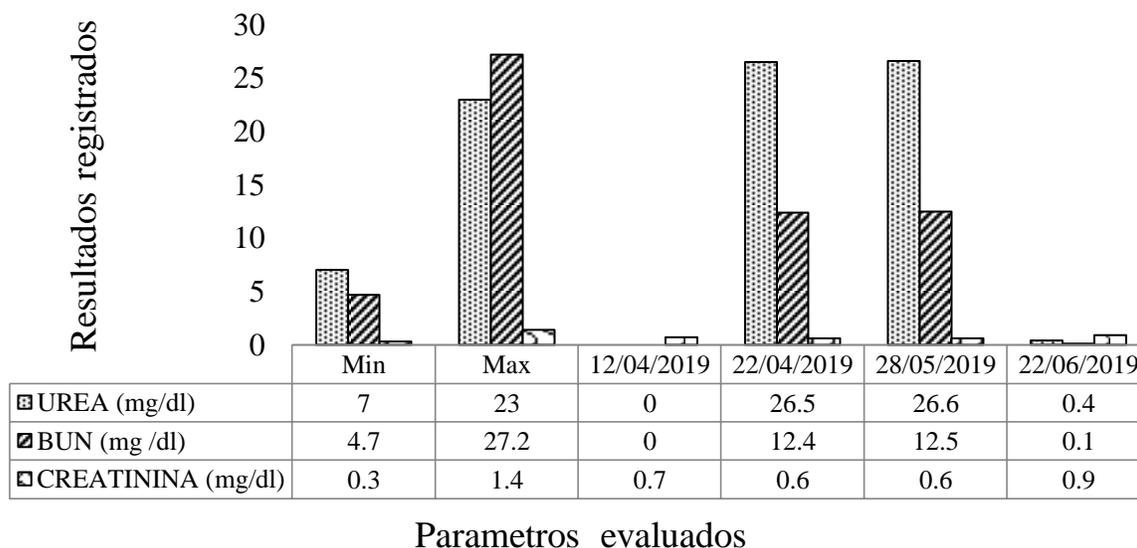
Las disminuciones progresivas en la actividad de TGP pueden ser un signo de recuperación, y una reducción del 50% o más en la actividad sérica durante varios días se considera un signo de pronóstico favorable. Sin embargo, algunos animales con enfermedad hepática grave con niveles de TGP sérico normal, y la disminución de la actividad de TGP en suero puede representar una reducción del número de hepatocitos viables o una reducción en la síntesis de transaminasas, más que a una recuperación. Posteriormente, un aumento sostenido en la actividad de TGP puede indicar el desarrollo de hepatitis crónica (Tennant y Centro, 2008).

También se han descrito aumentos de la TGP y de la fosfatasa alcalina, fundamentalmente en fase aguda, que pueden también acompañarse de hiperbilirrubinemia (do Carmo *et al*, 2015). Estos valores suelen disminuir hasta niveles fisiológicos con la instauración de una terapia apropiada, excepto en aquellos animales en los que, como consecuencia de la ehrlichiosis, se ha producido una lesión hepática o renal irreversible (Mylonakis *et al*, 2010).

4.4.2 Urea, BUN y Creatinina

Durante el primer análisis correspondiente al día 12 de abril del 2019 sólo se midió la creatinina, como principal indicador de daño renal, parámetro que se encontró dentro de los valores de referencia (gráfica 7. Resultados cronológicos del BUN, Urea y Creatinina), en el segundo análisis del día 22 abril del 2019, además de la creatinina se decidió tomar en cuenta la Urea y el BUN, para evaluar si había o no alteraciones de los valores de estos parámetros tras la administración del protocolo, donde el BUN y la creatinina se encontraban dentro de los valores de referencia, pero la urea estaba aumentada.

Figura 48. Resultados cronológicos de Urea, Bun y Creatinina



En el tercer análisis correspondiente al día 28 de mayo del 2019, no hubo descenso del valor de la urea, lo que se adjudicó a la dieta, deshidratación y a la hipótesis de que si existió daño hepatocelular reversible, lo que disminuyó drásticamente la tasa de conversión de urea, elevando así los niveles de urea sérica. A las 3 semanas el día 22 de junio del 2019, se volvieron a realizar los análisis cuyos resultados concluyeron que la Urea, BUN y creatinina se encontraron normales, descartando así daño renal.

Según algunos estudios los aumentos en la urea y la creatinina por encima de los valores fisiológicos de referencia pueden tener un origen prerrenal (deshidratación) o renal, habiéndose observado casos de uremia asociados a glomerulonefritis y a plasmocitosis intersticial renal (Braun y Lefebvre, 2008).

4.5 Protocolo terapéutico

4.5.1 Terapia ectoparasitocida

El programa óptimo de control de garrapatas requiere la eliminación rápida de las infestaciones establecidas al tiempo que proporciona protección continua contra la infestación con nuevos vectores que emergen del medio ambiente. Por lo tanto, los atributos deseables de un producto efectivo para el control de los ectoparásitos incluyen la capacidad de eliminar de forma rápida, continua y evitar que se produzcan huevos viables que infestan el medio ambiente (Letendre, Larsen y Soll, 2018).

La terapia ectoparasitocida se realizó mediante la administración de Fluralaner 112.5 mg (Anexo.14) en la presentación de comprimido masticable, cuyo principio activo es Fluralaner; el cual tiene un espectro farmacológico contra pulgas y garrapatas invivo de 12 semanas continuas. Esta isoxazolina tiene una alta unión a las proteínas plasmáticas, un alto volumen de distribución y un bajo aclaramiento plasmático, resultando en una vida media prolongada, lo que permite niveles de fármaco eficaces extendidos (Kilp *et al*, 2016).

Según Susanne Kilp, la principal ruta de eliminación del fluralaner es probablemente hepática, porque la alta unión a proteínas plasmáticas sugiere que la eliminación por filtración renal es menor; por lo tanto, se puede suponer que el aclaramiento plasmático es equivalente al aclaramiento hepático. Además se estimó que la proporción de extracción hepática es de 0.3% resultando baja (0,14 L/ kg / día) y junto con la distribución relativamente alta a los tejidos (3.1 L/kg), se puede explicar la disponibilidad sistémica duradera del fluralaner de hasta 112 días en el perro.

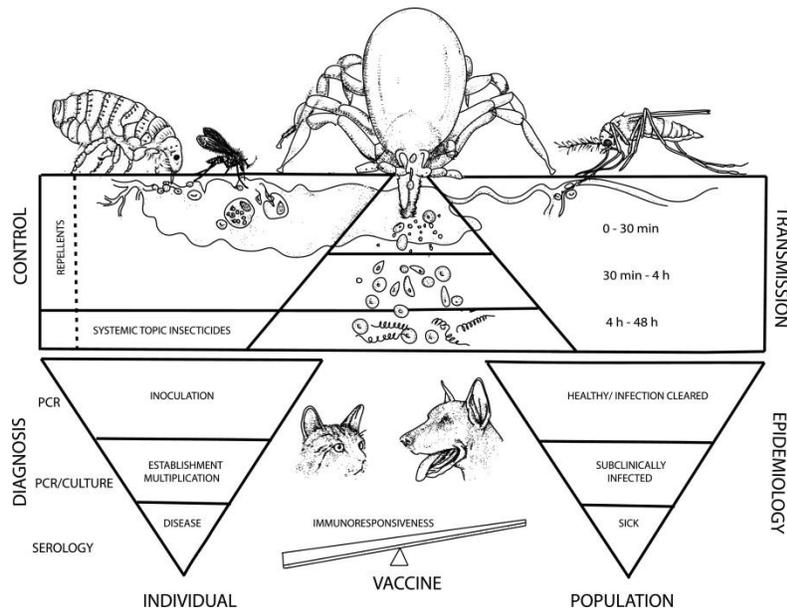


Figura 49. Representación esquemática de los tiempos de transmisión de patógenos de telmophagous (pulgas, moscas de la arena y garrapatas) y (mosquitos) solenophagous artrópodos vectores
Fuente: Otranto, 2018

Estudios recientes corroboran que la transmisión de los patógenos por la picadura de la garrapata, está asociada al tiempo de alimentación del vector, por lo cual la rápida velocidad de muerte por el ectoparasiticida administrado es de vital importancia; reduciendo efectivamente las posibilidades de supervivencia y / o alimentación de las garrapatas durante el período crítico requerido para la transmisión de las patologías (Woods y McTier, 2018).

Es decir, que el vector requiere un apego inicial y una alimentación de al menos 24 – 48 h antes de que pueda ocurrir la transmisión de la mayoría de los patógenos transmitidos por garrapatas, un período durante el cual tiene lugar la reactivación de los patógenos y que para prevenirse la muerte debe ocurrir dentro de ese periodo de tiempo (Little , 2007).

Posterior a la internación, es decir una vez que retorno a su hogar se logró observar algunas garrapatas del ambiente parasitando al paciente, tras márcalas y buscarlas al día siguiente se encontraban muertas o no se observaron, por lo cual deducimos que una vez que el vector ingirió la dosis letal del fluralaner lo que ocasiono su muerte y consecuente el desprendimiento.

4.5.2 Terapia hemopatogénica

La terapia hemopatogénica tuvo como principal objetivo eliminar la replicación de las bacterias intracelulares obligadas como son: *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*.

Hiclato de Doxiciclina (Anexo 17)

La Doxiciclina pertenece a la familia de las Tetraciclinas, son drogas liposolubles, bacteriostáticas, que inhiben la síntesis proteica; para desarrollar su acción penetran por difusión en la célula bacteriana en forma activa por medio de un sistema dependiente de energía y alcanzan así concentraciones muy elevadas en el interior. Al unirse a la subunidad 30S del ribosoma, impiden la unión del ARM m y el ARN t y, por consiguiente, la incorporación de nuevos aminoácidos, deteniéndose así la formación de la cadena peptídica (Boggio, 2009)

La posología del Hiclato de Doxiciclina es de 5 – 10 mg por kg, oral cada 12 horas durante un periodo variable de 10 – 28 días (Plumb, 2010). El tratamiento tuvo una duración de 45 días desde el 15 de abril culminando el 30 de mayo del 2019. Se realizó mediante la administración de Doxiclin-lisan 300 mg en la presentación tabletas de ranuradas, de laboratorios Lisan; reajustando la dosis de acuerdo al peso registrado durante el examen clínico mensual realizado. Es decir que la primera dosis fue 30 mg PO cada 24 horas, en base a su peso de 3 kg a la edad de 3 meses, el segundo ajuste de la dosis se realizó el 28 de mayo y fue de 55 mg/kg/día a la edad de 4 meses.

4.5.3 Terapia hematopoyética y hepatoprotectora

Esta terapia consistió en la administración oral y parenteral de minerales, aminoácidos y vitaminas, la cual tuvo como principal objetivo restablecer los valores hematológicos y hepáticos del paciente.

Fármaco en solución oral (Anexo 18)

Cuadro 13. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución oral

Cada 100 ml contiene:	
Buclizina	5,00 mg
Tiamina (vitamina B1)	1,00 mg
Sulfato Ferroso	140,00 mg
Riboflavina (vitamina B2)	1,00 mg
Piridoxina (vitamina B6)	0,50 mg
Cianocobalamina (vitamina B12)	5,00 mcg
Niacinamida (vitamina B3)	5,00 mg
Ácido pantoténico (D pantenol)	1,00 mg
Ácido ascórbico (vitamina C)	35,00 mg

Fuente: Farbiopharma, 2019

Vía de administración: Enteral.

Dosis sugerida del fármaco: 0.16 ml por kg de peso vivo en caninos cada 24 horas.

Dosificación del paciente: El tratamiento tuvo una duración de 4 semanas desde el 15 de abril hasta el 13 de mayo del 2019. Se administró una dosis de 0.5 ml hasta el 22 de abril del 2019, luego se reajustó la dosis a 0.9 ml, en base al nuevo peso registrado durante los últimos 15 días restantes del tratamiento.

Fármaco en solución inyectable 1 (Anexo 18)

Cuadro 14. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución inyectable 1

Cada 100 ml contiene:

Cianocobalamina (Vitamina B12)	0,0015 g
Cloruro de Cobalto Hexahidrato	0,05 g
Triptófano	0,25 g
Histidina Clorhidrato	0,50 g
L-Metionina	1,00 g
Citrato de Hierro Amoniacal	2,00 g
Cacodilato de sodio	3,00 g
Glicerofosfato de Magnesio	1,50 g

Fuente: Laboratorio Microsules, 2019

Vía de administración: Parenteral por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Dosis sugerida del fármaco: 1 ml cada 5 kg de peso vivo, cada dos días en animales jóvenes.

Dosificación del paciente: El tratamiento tuvo una duración de 4 semanas desde el día 15 de abril del 2019 hasta el 13 de mayo del 2019; se administró una dosis de 0.6 ml dos veces por semana en base a su peso de 3 kg a la edad de tres meses.

Fármaco en solución inyectable hepatoprotector (Anexo 19)

Cuadro 15. Formulación cualitativa y cuantitativa del fármaco en solución inyectable hepatoprotector

Cada 1 ml contiene:	
Ácido tióctico (ácido alfa lipoico)	15 mg
Ácido Orótico	5 mg
DL-Metionina	20 mg
Ácido Fólico	0.5 mg
Nicotinamida	10 mg
D-pantenol	3 mg
Piridoxina HCl	2 mg
N-acetil-L-Metionina	50 mg
Cloruro de Colina	40 mg
Inositol	20 mg
Betaína HCl	2 mg
Vit.B12 (cianocobalamina)	0.04 mg

Fuente: Agrovvet Market, 2014

Vía de administración: Parenteral por vía intramuscular y endovenosa lenta, de preferencia diluido en suero.

Dosis sugerida del fármaco: 2 a 3 ml diario por 6 días.

Dosificación del paciente: El tratamiento tuvo una duración de 6 días desde el 28 de mayo al 02 de Junio del 2019, se administró 1.5 ml vía intramuscular diluido en solución salina, fue un fármaco adyuvante utilizado en el protocolo para restablecer los valores hepáticos del paciente.

El mecanismo de acción es mantener las actividades bioquímicas fundamentales del tejido hepático y facilitar sus capacidades regenerativas. El ácido tióctico participa en numerosas reacciones metabólicas, siendo este probablemente el mecanismo de sus efectos detoxicantes y regeneradores hepáticos; por otro lado el ácido Orótico, actúa sobre el metabolismo proteico, mejorando la síntesis de proteínas y enzimas.

La presencia de Piridoxina y cianocobalamina favorecen la regeneración hepática y el complejo B, ejerce una función precursora de varias coenzimas. La betaína funciona conjuntamente con la colina, el ácido fólico y la cianocobalamina. Además la betaína también participa en la síntesis de carnitina y protege a los riñones de ciertos daños (Agrovet Market, 2014).

V. CONCLUSIONES

- En la paciente evaluada se logró reconocer, mediante los métodos diagnósticos la fase del cuadro clínico que cursaba. Revelándose en la prueba de iiPCR, Ehrlichiosis canina en fase aguda, dada la presencia del ADN patógeno. En la inmunocromatografía, se determinó que la paciente presentaba Anaplasmosis en fase crónica, debido a la presencia de anticuerpos en el test.

Sin embargo, a pesar de que el frotis sanguíneo es una técnica de diagnóstico rutinaria, sólo resulta útil en la etapa aguda cuando se encuentra en forma de inclusiones citoplasmáticas en las células sanguíneas e insensibles durante la etapa crónica de la patología donde los hemopatógenos se infiltra en las células de órganos como hígado, bazo y riñón.

- Se estimó que la carga ectoparasitaria de *Rhipicephalus sanguineus* que sufría el paciente posterior a su adopción, fue clasificada como alta (1,327 especímenes).
- Las alteraciones hematológicas registradas en el paciente, durante el primer análisis fueron hematocrito bajo con eritrocitopenia y hemoglobina baja, trombocitopenia marcada, leucopenia y neutrofilia con desviación a la derecha y linfocitos dentro del valor de referencia. En el segundo análisis se reportó un aumento en los niveles de eritrocitos y la hemoglobina, pero aún se encontró por debajo del valor mínimo de referencia, aumento sérico de las plaquetas dentro del rango de referencia, leucocitos y neutrófilos segmentados sin alteraciones, pero con un ligero descenso de los neutrófilos de banda, se evidenció linfocitosis.

Durante el último análisis se encontró a los eritrocitos y la hemoglobina sin variación en comparación con los datos anteriores, leucocitosis, neutrófilos sin alteraciones y linfocitosis con la variante de un ligero descenso en comparación con los análisis anteriores.

- Durante el monitoreo de la bioquímica sanguínea, en la evaluación de las transaminasas hepáticas, se registró en el primer análisis un aumento de los niveles de TGO y el TGP se encontró dentro de los valores de referencia. En el segundo, tercero y cuarto análisis los niveles de TGO y TGP se encontraron dentro de los valores de referencia pero se registraron constantes fluctuaciones, por lo cual se sospechó de una alteración transitoria de la función hepática, ya que la disminución de la actividad sérica, luego de un nivel de actividad elevado previo; puede asociarse a una reducción del número de células hepáticas por destrucción, más que a una recuperación.
- Durante el monitoreo de la bioquímica sanguínea, en la evaluación el perfil renal, en el primer análisis la creatinina se encontró dentro de los valores de referencia, en el segundo y tercer análisis se registró un aumento de la Urea, el BUN y creatinina se encontró sin alteraciones. En el cuarto análisis se registró un descenso drástico de los niveles de Urea, BUN y creatinina por debajo de los valores de referencia.
- Cuando se trata con hemobacterias en la clínica diaria, nulamente se toma en cuenta el papel de la garrapata en la transmisión de la patología, omitiéndose esta parte y procediendo al establecimiento del tratamiento. A diferencia de lo anteriormente mencionado, durante este estudio se estimó indispensable que para tener éxito en la recuperación del paciente no solo se debía atacar a los hemopatógenos, sino también combatir los vectores. La terapia ectoparasiticida fue instaurada con el propósito de disminuir la exposición del paciente con las garrapatas y así evitar una reinfección de hemobacterias.
- Además, se evidencio que la carga ectoparasitaria tuvo un efecto directo en estado de la salud del paciente, ya que dos días después que dio inició la terapia ectoparasiticida, se registró ligeros cambios en el estado de ánimo del animal y mejoró su apetito paulatinamente hasta que su restablecimiento.

- La terapéutica hemopatógena de elección fue Doxiciclina hclato indicada durante 45 días, debido a que se ha demostrado que una administración inferior a los 15 días, ocasiona recidivas en los pacientes diagnosticados con Ehrlichiosis y Anaplasmosis, observando la eliminación de los agentes patógenos y no ser perjudicial para el paciente.

- Una vez instaurada la terapia hematopoyética, las alteraciones hematológicas observadas en la Biometría hemática completa, fueron desapareciendo paulatinamente durante los tres meses del estudio, mejorando así la calidad de vida del paciente.

- La terapia hepatoprotectora, fue instaurada bajo la sospecha de una alteración transitoria de la función hepática, ya que se registró una disminución de la tasa de conversión de urea, elevando así los niveles de nitrógeno ureico sérico, que tras la administración del fármaco hepatoprotector, los niveles de urea disminuyeron drásticamente hasta sus valores de referencia después de presentar niveles elevados de actividad previa.

VI. RECOMENDACIONES

- Implementar medidas perennes y efectivas para el control de las garrapatas dentro del hogar y sobre el paciente durante todo el año. La primera medida y la más económica es la fumigación del medio ambiente, la cual puede realizarse con cipermetrina, amitraz y dichlorvos. Se recomienda alternar el uso de estos productos; el protocolo recomendando consiste en el empleo de estas sustancias durante cuatro meses seguidos.
- Los expertos recomiendan continuar fumigando durante todo el año una vez al mes, además del uso profiláctico de otros productos que actúen sobre el paciente, ya sea en collares, spray o en fórmulas depot y ectoparasiticidas orales como Fluralaner. Resultando en la única estrategia que puede contener la transmisión de estos agentes a otras zonas del país donde no es endémico y la subsecuente aparición de casos en perros.
- Asociar la sospecha clínica de hemopatógenos con la implementación de métodos de diagnóstico de laboratorio como iiPCR e inmunocromatografía, con el propósito de instaurar un protocolo terapéutico basado en evidencias, ya que está demostrado que son las pruebas más efectivas para identificar una bacteriemia por hemopatógenos.
- El monitoreo hematológico, hepático y renal, permite estimar no solamente el estado general de salud, sino también la respuesta y posibilidades de sobrevivir de nuestro paciente, lo que nos advierte como intervenir.

VII. LITERATURA CITADA

- Agrovvet Market. (2014). Agrovvet Market Animal Health. Recuperado el día 23 de Noviembre de 2019, de <https://www.agrovvetmarket.com/productos-veterinarios/hepato-ject-acido-tioctico-orotico-metionina-cianocobalamina>
- Aguiar, M., Cavalcante, G., Pinter, A., Gennari, S., Camargo, L., y Labruna, M., (2007). Prevalence of Ehrlichia canis (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. Journal of Medical Entomology, 44 (1), 126 – 132, Recuperado el día 10 de Julio del 2019, de [https://bioone.org/journals/journal-of-medical-entomology/volume-44/issue-1/0022-2585\(2007\)44%5B126%3APOECRA%5D2.0.CO%3B2/Prevalence-of-Ehrlichia-canis-Rickettsiales--Anaplasmataceae-in-Dogs-and/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[126:POECRA\]2.0.CO;2.short](https://bioone.org/journals/journal-of-medical-entomology/volume-44/issue-1/0022-2585(2007)44%5B126%3APOECRA%5D2.0.CO%3B2/Prevalence-of-Ehrlichia-canis-Rickettsiales--Anaplasmataceae-in-Dogs-and/10.1603/0022-2585(2007)44[126:POECRA]2.0.CO;2.short)
- Aguilar, D. (2017). Impactos socioeconómicos de la planta EMTRIDES en el barrio Acahualinca. Tesis licenciado en química ambiental. Facultad de Ciencias e ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Recuperado el día 12, de diciembre del 2019, de <http://repositorio.unan.edu.ni/4507/1/97024.pdf>
- Angulo, J., y Rodríguez, L. (2005). Diagnóstico situacional de cuatro hemoparasitos en canes menores de un año, en cinco barrios del distrito VI-2 de Managua. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional Agraria. Recuperado el día 15 de Septiembre del 2019, de <https://repositorio.una.edu.ni/1316/1/tnl10a594.pdf>
- Arostegui, H., y Maldonado, M. (2017). Alteraciones sistémicas asociados a hemoparásitos transmitidos por la garrapata marrón (Rhipicephalus sanguineus) en caninos, atendidos en la clínica veterinaria Obregón, en el periodo de mayo a octubre del año 2016. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional Agraria. Recuperado el día 15 de Septiembre del 2019, de <https://repositorio.una.edu.ni/3621/1/tnl73a769.pdf>

- Bayer, AG. (2012). Mapas de ocurrencia de CVBD. Recuperado el día 03 de Julio del 2019, de <http://www.cvbd.org/en/occurrence-maps/world-map/>
- Bayer. AG. (2012). Companion Vector Borne Diseases. Recuperado el día 13 de Octubre del 2019, de <http://www.cvbd.org/en/occurrence-maps/world-map/>
- Bionote. (2018). Rapid CaniV-4 Test Kit (RC21-20DD), Catálogo. Recuperado el día 13 de Octubre del 2019, de [http://bionote.co.kr/eng/common/asp/download.asp?file=/board/RAPID/\[Catalog\]_CaniV-4_EN.pdf&target=TB_BOARD_ALL&num=1338](http://bionote.co.kr/eng/common/asp/download.asp?file=/board/RAPID/[Catalog]_CaniV-4_EN.pdf&target=TB_BOARD_ALL&num=1338)
- Boggio, J. C., (2009). Capítulo 49. Antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis proteica. En Rubio, M. R. y Boggio, J. C (Ed). Farmacología Veterinaria (pp. 533 - 534). Madrid, España: Editorial Universidad Católica Córdoba. Recuperado el día 12 de Noviembre del 2019, de <https://es.scribd.com/document/84398477/Rubio-Completo>
- Brandão, L. Hasegawa, M. Hagiwara, M. Kohayagawa, A. (2008). Platelet aggregation studies in acute experimental canine ehrlichiosis. *Veterinary Clinical Pathology*, 35 (1), 78 – 81). Recuperado el día 10 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00091.x>
- Braun, J. y Lefebvre, H. (2008). Capítulo 16 - Función renal y daño. En Kaneko, J.J., Harvey, J.W. y Bruss, M.L. (6ta Ed). *Bioquímica Clínica de Animales Domésticos* (pp. 379 - 412). Gainesville, Florida: Academic Press. Recuperado el día 23 de Julio del 2019, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00016-7>
- Colville, J. y Berryhill, D. (2007). Ehrlichiosis. En Colville, J. y Berryhill, D (ed). *Manual de Zoonosis, Identificación y Prevención*. (pp 77 – 82). Dakota Norte, EEUU. Elsevier Inc, Recuperado el día 23 de Julio del 2019, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-04478-3.50023-3>
- Cortese, L. Pelagalli, A. Piantedosi, D. Mastellone, V. Manco, A. Lombardi, P. Ciaramella, P. y Avallone, L. (2006). Agregación plaquetaria y respuesta hemostática en perros coinfectados naturalmente por *Leishmania infantum* y

Ehrlichia canis. Revista de Medicina Veterinaria Serie A, 53 (10). 546-548. Recuperado el día 10 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00883.x>

Cortese, L. Terrazzano, G. Piantedosi, D. Sica, M. Prisco, M. Ruggiero, G y Ciaramella, P. (2011). Prevalencia de anticuerpos antiplaquetarios en perros coinfectados naturalmente por *Leishmania infantum* y *Ehrlichia canis*. El diario veterinario, 188 (1), 118 – 121. Recuperado el día 09 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.015>

de Castro, M. Machado, R. Cury, Aquino, L. Alessi, C. Costa, M. (2004). Ehrlichiosis monocítica aguda canina experimental: hallazgos clinicopatológicos e inmunopatológicos. *Veterinary Parasitology*, 119 (1), 73 – 86. Recuperado el día 10 de Mayo del 2020, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401703004357>

Diagnostest. (s.f). Laboratorio Veterinario Diagnostest. Recuperado el 12 de Octubre de 2019, de <https://labdiagnostest.com/deteccion-de-antigeno-por-iipcr/>

do Carmo, G., Crivellenti, L., Bottari, N., Machado, G., Crivellenti, S., Moresco, R., Duarte, T., Duarte, M., Tinucci-Costa, M., Morsch, V., Schetinger, M., Stefani, L. y Da Silva, A. (2015). La butirilcolinesterasa como marcador de inflamación y daño hepático en las fases aguda y subclínica de la erliquiosis canina. *Inmunología comparada, microbiología y enfermedades infecciosas*, 43(1), 16 – 21. Recuperado el día 14 de Noviembre del 2019, de <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2015.09.005>

Dorsten, C. y Cooper, D. (2004). Use of body condition scoring to manage body weight in dogs (Figura). Recuperado de <https://nutricionanimal360.blogspot.com/2018/04/valoracion-de-la-condicion-corporal-en.html>

Farbiopharma S.A. (2019). farbiopharma.com. Recuperado el 23 de Noviembre de 2019, de <https://farbiopharma.com/wp-admin/images/FICHAS%20TECNICAS/APETOVIT.pdf>

Fieldman, C.E. y Nelson, W.R., (2000). Endocrinología y reproducción en perros y gatos (pp. 856). McGraw – Hill. Recuperado el día 27 de Julio del 2019, de <https://es.slideshare.net/Michigan91/manual-practico-de-toma-de-muestra-en-caninos-y-felinos1>

Gallo Lamping, C. A. (2014). Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario. Tesis Licenciado en Medicina veterinaria. Facultad de ciencia animal. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. Recuperado el día 24 de Septiembre del 2019, de <http://repositorio.una.edu.ni/2745/1/tnl70g172m.pdf>

Gaunt, S. Beall, M. Stillman, B. Lorentzen, L. Diniz, P. Chandrashekar, R y Breitschwerdt, E (2010). Infección experimental y coinfección de perros con Anaplasma platys y Ehrlichia canis: hallazgos hematológicos, serológicos y moleculares. Vectores de parásitos 3 (1), pág. 33. Recuperado el día 12 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-33>

GeneReach Biotechnology Corporation (2015). User manual PetNAD™ Nucleic Acid Co-prep Kit. Recuperado el día 10 de Mayo del 2019, de www.petnad.com

GeneReach Biotechnology Corporation (2016). POCKIT Ehrlichia canis Reagent Set. Recuperado el día 10 de Mayo del 2019, de www.genereach.com

Genereach, (s.f). GeneReach Biotechnology Corporation. Recuperado el día 12 de octubre del 2019, de <https://www.genereach.com/index.php?func=technology>

Google, (2019). Mapa de Nicaragua, Managua en Google Maps. Recuperado el 13 de Octubre de 2019, de Barrio Acahualinca: <https://www.google.com/maps/place/Barrio+Acahualinca,+Managua/@12.1614712,-86.3020171,15z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x8f71565e4fdac35b:0xefa6c45fd890a345!8m2!3d12.1606897!4d-86.2926598>

Google. (2019). Mapa de Nicaragua, Managua en Google Maps . Recuperado el 2019 de Octubre de 13, de Reparto Las Palmas, División Veterinaria, DIVET: <https://www.google.com/maps/place/Divisi%C3%B3n+Veterinaria,+DIVET/@12.1>

440952,86.2971513,17z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x8f71567e7a3d97b3:0xcafbbf53330e96b6!8m2!3d12.14409!4d-86.294968

Gutiérrez, C., Pérez Ybarra, L., y Agrela, I. (2016). EHRlichiosis CANINA. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, 28(4). Recuperado el día 10 de julio del 2019, de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/4277/427751143001/html/index.html>

Harvey, J. (2012). Evaluación de la hemostasia: trastornos de la coagulación y plaquetas. En Harvey, J. (Ed). Hematología veterinaria: Una guía de diagnóstico y un atlas de color (pp. 191-233). Gainesville, Florida: Editorial Elsevier Inc. Recuperado el día 03 de Enero del 2020, de <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0173-9.00007-5>

Heeb, H., Wilkerson, M., Chun, R., y Ganta, R. (2003). Linfocitosis granular grande, inversión de subconjunto de linfocitos, trombocitopenia, disproteinemia y serología positiva de Ehrlichia en un perro. Journal of the American Animal Hospital Association, 39 (4), 379-384. Recuperado el día 18 de Julio del 2019, de <https://doi.org/10.5326/0390379>

Hess, P. English, R. Hegarty, B. Brown, G. Breitschwerdt, E. (2006). La infección experimental por Ehrlichia canis en el perro no causa inmunosupresión. Inmunología Veterinaria e Inmunopatología, 109 (1-2), 117 – 125. Recuperado el día 10 de Mayo del 2019, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242705002539>

Hoffmann, W. y Solter, P. (2008). Capítulo 12 - Enzimología diagnóstica de animales domésticos En Kaneko, J.J., Harvey, J.W. y Bruss, M.L. (6ta Ed). Bioquímica Clínica de Animales Domésticos (pp. 379 - 412). Gainesville, Florida: Academic Press. Recuperado el día 23 de Julio del 2019, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00012-X>

Jiménez Mendoza, A. D., y Robleto Zúñiga, N. G., (2009). Representaciones sociales y apropiación de espacios públicos recreativos por las y los jóvenes del sector Norte del Barrio Acahualinca. Tesis master en gestión urbana y vulnerabilidad social.

- Facultad de humanidades y comunicación. Universidad Centroamericana Managua, Nicaragua. Recuperado el día 12 de Octubre del 2019, de <http://repositorio.uca.edu.ni/1306/1/UCANI3219.pdf>
- Joan Lab (2019). Micropipeta y puntas desechables (Figura). Recuperado de <https://spanish.alibaba.com/product-detail/joan-lab-digital-micropipette-price-1744895392.html>
- Jongejan, F. y Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129 (Supl.): S3-S14. Recuperado el día 12 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>
- Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., y Roepke, R. K., (2016). Farmacocinética comparativa de fluralaner en perros y gatos después de una sola administración tópica o intravenosa. *Parasitos y vectores* 9, 296. Recuperado el día 12 de Diciembre del 2019, de <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1564-8>
- Kirk, RW. (s.f). Estimación del grado de deshidratación (Figura). Recuperado de <https://www.slideshare.net/julrogelio/balance-electrolitico-y-terapia-de-fluidos>
- Laboratorio Microsules. (2019). Recuperado el 20 de Noviembre de 2019, de Catálogo de productos: <http://www.laboratoriosmicrosules.com/producto/hematomic-plus/>
- Leschnik, M., Kirtz, G., Tichy, A., Leidinger, E., (2008). Seasonal occurrence of canine babesiosis is influenced by local climate conditions. *International Journal of Medical Microbiology*, 298 (1), 243 – 248, Recuperado el día 12 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.03.008>
- Letendre, L., Larsen, D., y Soll, M. (2018). 14. Development of Afoxolaner as a New Ectoparasiticide for Dogs. En Meng, C. Q. y Sluder, A. E (Ed). *Ectoparasites: Drug Discovery Against Moving Targets* (pp. 273 - 295). Weinheim, Alemania: Wiley-VCH. Recuperado el día 18 de Diciembre del 2019, de http://login.research4life.org/tacsgr1doi_org/10.1002/9783527802883.ch14

- Little, S. (2010). Ehrlichiosis y Anaplasmosis en Perros y Gatos. *Clínicas veterinarias de América del Norte: práctica con animales pequeños* 40(6),1121-1140. Recuperado el día 11 de julio del 2019, de <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.07.004>
- Little, S. E. (2007). Changing paradigms in understanding transmission of canine tick-borne diseases: the role of interrupted feeding and intrastadial transmission. 2nd Canine Vector- Borne Disease (CVBD) Symposium, Mazara del Vallo, (pp. 30–34). Sicily, Italy. Recuperado el día 20 de Octubre del 2019, de http://www.cvbd.org/fileadmin/media/cvbd/Proceedings_CVBD_2007_FINAL23042007.pdf
- Mairena, D., y Rojas, L. (2014). Prevalencia de Ehrlichia y Haemobartonella en caninos domésticos de la comunidad de Puerto Sandino, municipio de Nagarote departamento de León. En el periodo abril-julio del 2014. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Escuela de Medicina veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Recuperado el día 12 de Septiembre del 2019, de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6618/1/228623.pdf>
- Mejía, R., y Fargas, L. (2017). Análisis de prevalencia de hemoparásitos en canes del municipio de Camoapa, departamento de Boaco, durante Junio, 2017. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Universidad Nacional Agraria sede Camoapa. Recuperado el día 15 de Septiembre del 2019, de <https://repositorio.una.edu.ni/3640/1/tnl73m516.pdf>
- Merck Sharp y Dohme Corp. (2018). Bravecto. MSD Salud animal. Recuperado el día 14 de septiembre del 2019, de <https://www.msd-salud-animal.com.ar/productos/bravecto/>
- Meza, J., y Somarriba, M. (2015). Determinación de la prevalencia de ehrlichiosis canina en perros de la ciudad de León mediante frotis de serie blanca teñidos con Giemsa en el período noviembre-diciembre 2014. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Escuela de Medicina veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Recuperado el día 12 de Septiembre del 2019, de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3303/1/228206.pdf>

- Mylonakis, M. Koutinas, A. Breitschwerdt, E. Hegarty, B. Billinis, C. Leontides, L. y Kontos, V. (2004). Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40 (3), 174 – 184. Recuperado el día 03 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.5326/0400174>
- Mylonakis, M. Kritsepi, M. Dumler, J. Diniz, P. Day, M. Siarkou, V. Breitschwerdt, Psychas, E. Petanides, T. Koutinas, A. (2010). Hepatitis severa asociada con infección aguda por *Ehrlichia canis* en un perro. *Journal of Veterinary International Medicine*, 24 (3), 633 – 638. Recuperado el día 08 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0501.x>
- Naranjo, M. (2020). Frotis y tinción Giemsa (Figura). Recuperado de <https://www.veterinariosenweb.com/>
- Navarro, O. (2018). Comunicación personal. 12 de Junio del 2019.
- Olivares, D., y Altamirano, J. (2019). Prevalencia de hemoparasitosis en caninos (*canis lupus familiaris*) en el municipio de Managua en el período de enero a diciembre 2018. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional Agraria. Recuperado el día 15 de Septiembre del 2019, de <https://repositorio.una.edu.ni/3875/1/tnl73o48p.pdf>
- Otranto, D. (2018). Arthropod-borne pathogens of dogs and cats From pathways and times of transmission to disease control (figura). Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401717305332>
- Peterson, M. (2011). Capítulo 5. Crecimiento. En Peterson, M.E., y Kutzler, M. A. *Pediatría en animales pequeños: los primeros 12 meses de vida*, (pp.34 – 43). Corvallis, Oregon, EEUU: Elsevier Inc.
- Plumb, D. C. (2010). Doxiciclina. En D. C. Plumb, *Manual de Farmacología Veterinaria* (pp. 387 - 390). Buenos aires, Argentina: Intermedical. Recuperado el día 11 de Agosto del 2019, de <https://es.scribd.com/document/403504261/Manual-de-Farmacologia-Veterinaria-6ta-Donald-C-Plumb-Intermedica-2010>

- Radostits, O. M. (2002). Capítulo 3: Técnicas de Exploración clínica. En Radostits, O. M., Mayhew, I. G. y Houston, D. M (Ed). Examen y Diagnóstico Clínico en Veterinaria (pp. 53 - 67). Madrid, España: Harcourt Health Science.
- Radostits, O. M., Mayhew, I. G., y Tyler, J. W. (2002). Capítulo 2: Elaborar un diagnóstico. En Radostits, O. M., Mayhew, I. G. y Houston, D. M (Ed). Examen y Diagnóstico Clínico en veterinaria (pp. 11- 52). Madrid, España: Harcourt Health Science.
- Rodríguez, A. y Tesouro, M. (2001). Capitulo III. Alteraciones biopatológicas: Hematológica, Bioquímica sanguínea y Urianálisis. *Canis et felis*, 51, 32 – 37. Recuperado el día 18 de Agosto del 2019, de <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/264411>
- Ruiz, A.G. y Salinas, C. J. (2017). Estudio comparativo entre las técnicas, Frotis sanguíneo, Inmunocromatografía y Biología molecular para la identificación de Ehrlichia Canis. Licenciatura thesis, Universidad Nacional Agraria. Recuperado el día 28 de Julio del 2019, de <http://repositorio.una.edu.ni/3649/1/tnl73r934e.pdf>
- Sánchez Viscoti, G. (2001). Capitulo IV: Diagnóstico de Ehrlichiosis. *Canis et felis* (51), 40. Recuperado el día 18 de Agosto del 2019, de <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/264411>
- Solís, P. y Villagra, M. (2015). Determinación de la prevalencia de babesiosis en caninos de la ciudad de León en el periodo de noviembre – diciembre 2014, utilizando la técnica de tinción de Giemsa. Tesis licenciado en medicina veterinaria. Escuela de Medicina veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. Recuperado el día 12 de Septiembre del 2019, de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3302/1/228207.pdf>
- Tennant, B. y Centro, S. (2008). Capítulo 13 - Función hepática. En Kaneko, J.J., Harvey, J.W. y Bruss, M.L. (6ta Ed). *Bioquímica Clínica de Animales Domésticos* (pp. 379 - 412). Gainesville, Florida: Academic Press. Recuperado el día 23 de Julio del 2019, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00013-1>

- Villaescusa, A. Tesouro, M. García, M. Ayllón, T. Rodríguez, F. Sainz, A. (2012). Evaluation of lymphocyte populations in dogs naturally infected by *Ehrlichia canis* with and without clinical signs. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3 (5 – 6): 279 – 282. Recuperado el día 10 de Mayo del 2020, de <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.034>
- Waner, T., Leykin, I., Shinitzky, M., Sharabani, E., Buch, H., Keysary, A., y otros. (2000). Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77(1), 145-150. Recuperado el día 20 de Julio del 2019, de [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(00\)00225-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00225-7)
- Whist, S., Storset, A., Johansen , G., y Larsen , H. (2003). Modulación de poblaciones de leucocitos y respuestas inmunes en ovejas infectadas experimentalmente con *Anaplasma* (anteriormente *Ehrlichia*) *phagocytophilum*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94 (3-4), 163-175. Recuperado el día 18 de Julio del 2019, de [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(03\)00101-6](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(03)00101-6)
- Whist, S., Storset, A., y Larsen, H. (2002). Funciones de neutrófilos en ovejas infectadas experimentalmente con *Ehrlichia phagocytophila*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 86(3-4), 183-193. Recuperado el día 18 de Julio del 2019, de [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(02\)00038-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(02)00038-7)
- Woods, D. J., y McTier, T. L. (2018). 15. Discovery, Development, and Commercialization of Sarolaner (Simparica®), A Novel Oral Isoxazoline Ectoparasiticide for Dogs. En Meng, C. Q y Sluder, A (ed). *Ectoparasites: Drug Discovery Against Moving Targets* (pp. 295 - 319). Weinheim, Alemania : Wiley VCH. Recuperado el día 20 de Agosto del 2019, de <https://doi.org/10.1002/9783527802883.ch15>

VIII. ANEXOS



Anexo 1. Patio de la casa donde habita el paciente, evidenciando la presencia del lavadero
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 2 A y B. Patio de la casa destacando la presencia de artefactos en desuso de los propietarios del paciente
Fuente: Cuadra, 2019

Anexo 3. Formato de Hoja Clínica 1
Fuente: Divet, 2019



HOJA CLINICA VETERINARIA

FECHA: _____ HORA: _____ CODIGO# _____
 NOMBRE DEL PROPIETARIO: _____
 CONTACTO PROPIETARIO: _____
 DIRECCIÓN DEL PACIENTE: _____
 NOMBRE DEL PACIENTE: _____ EDAD: _____ SEXO: _____
 ESPECIE: _____ RAZA: _____ CATEGORIA: _____ PESO: _____

PARAMETROS	VALOR DE REFERENCIA			HORA
TEMPERATURA 1:	37.5 - 38.5 ° C			
TEMPERATURA 2:				
TEMPERATURA 3:	DVR	HIPOTERMIA		FIEBRE
F. RESPIRATORIA 1:		10 – 30 EPM		
F. RESPIRATORIA 2:				
F. RESPIRATORIA 3:	DVR	DISNEA	BRADIPNEA	POLINEA
F. CARDIACA 1:		60 -120 PPM		
F. CARDIACA 2:				
F. CARDIACA 3:	DVR	BRAQUICARDIA		TAQUICARDIA
MUCOSAS: ROSADAS		PALIDAS		ICTERICAS
ESTADO CORPORAL: 1 2 3 4 5				OBESIDAD
NIVEL DE DESHIDRATACIÓN: 1 2 3				RESERVADO

Ganglios Linfáticos	Normal	Linfoadenopatía
G. Mandibulares		
G. Sublinguales		
G. Parotídeos		
G. Axilares		
G. Inguinal Profundo		
G. Propíleo		

MOTIVO DE LA CONSULTA:

SIGNOS SINTOMAS:

Anexo 4. Formato de Hoja Clínica 2
Fuente: Divet, 2019



	Exámenes complementarios	
BHC		
EGO		
EGH		

DIAGNOSTICO PRESUNTIVO:

TRATAMIENTO:

PROXIMA CITA:

COMENTARIOS:

Anexo 5. Formato de remisión de exámenes
Fuente: Divet, 2019

LABORATORIO CLINICO VETERINARIO



**DIVISION
VETERINARIA**

HOJA DE REMISION DE EXAMENES



**BANCO DE
SANGRE**
DIVISION VETERINARIA

Propietario: Fecha:

Nombre animal: Edad:

E-mail / Teléfono: Sexo:

Centro veterinario / Dr. Dra.: Especie:

Raza:

- | | | |
|---|--|--|
| <p>HEMATOLOGÍA</p> <p><input type="checkbox"/> BHC+HMP</p> <p><input type="checkbox"/> Hemograma+HMP</p> <p><input type="checkbox"/> Plaquetas</p> <p><input type="checkbox"/> Frotis para hemoparásitos</p> <p><input type="checkbox"/> Conteo reticulocitos</p> <p><input type="checkbox"/> Otros</p> <p>BIOQUÍMICA</p> <p><input type="checkbox"/> TGP TGO</p> <p><input type="checkbox"/> ALP</p> <p><input type="checkbox"/> GGT</p> <p><input type="checkbox"/> Creatinina Urea</p> <p><input type="checkbox"/> BUN</p> <p><input type="checkbox"/> Pcr</p> <p><input type="checkbox"/> Proteína total</p> <p><input type="checkbox"/> Proteína fraccionada</p> <p><input type="checkbox"/> Bilirrubina total</p> <p><input type="checkbox"/> Bilirrubina fraccionada</p> <p><input type="checkbox"/> Relación A/G</p> <p><input type="checkbox"/> Glucosa</p> <p><input type="checkbox"/> TP</p> <p><input type="checkbox"/> Sodio</p> <p><input type="checkbox"/> Calcio</p> <p><input type="checkbox"/> Magnesio</p> <p><input type="checkbox"/> Potasio</p> | <p>SEROLOGÍA</p> <p><input type="checkbox"/> E. canis</p> <p><input type="checkbox"/> E. canis/Anaplasma</p> <p><input type="checkbox"/> CaniV4 Leish</p> <p><input type="checkbox"/> CDV Ag</p> <p><input type="checkbox"/> CPV Ag</p> <p><input type="checkbox"/> CIR3</p> <p><input type="checkbox"/> CPV/CCV/GIARDIA</p> <p><input type="checkbox"/> Filv/FeLV</p> <p><input type="checkbox"/> Toxoplasma</p> <p><input type="checkbox"/> IgE</p> <p><input type="checkbox"/> CPV Ab</p> <p><input type="checkbox"/> CDV Ab</p> <p><input type="checkbox"/> Otros</p> <p>HORMONAS</p> <p><input type="checkbox"/> Progesterona</p> <p><input type="checkbox"/> T3 T4</p> <p><input type="checkbox"/> TSH</p> <p><input type="checkbox"/> Cortisol am: pm:</p> <p><input type="checkbox"/> Otros</p> <p>ESPECIALES:</p> <p><input type="checkbox"/> Tipificación canina</p> <p><input type="checkbox"/> Compatibilidad</p> <p><input type="checkbox"/> iiPCR</p> <p><input type="checkbox"/> ECG</p> <p><input type="checkbox"/> Fertilidad</p> <p><input type="checkbox"/> Citología vaginal</p> <p><input type="checkbox"/> Espermatograma</p> | <p>COPROPARASITOLOGÍA</p> <p><input type="checkbox"/> EGH</p> <p><input type="checkbox"/> Citología Fecal</p> <p><input type="checkbox"/> HPG OPG</p> <p><input type="checkbox"/> Otros:</p> <p><input type="checkbox"/> EGO</p> <p><input type="checkbox"/> Dermatología</p> <p><input type="checkbox"/> Raspado</p> <p><input type="checkbox"/> Citología</p> <p><input type="checkbox"/> Fluorescencia de Wood</p> <p>PERFILES</p> <p><input type="checkbox"/> P. Hepatico</p> <p><input type="checkbox"/> P. Renal</p> <p><input type="checkbox"/> P. Tiroideo</p> <p><input type="checkbox"/> P. Intoxicacion</p> <p><input type="checkbox"/> Cultivos</p> <p><input type="checkbox"/> Urocultivo</p> <p><input type="checkbox"/> Coprocultivo</p> <p><input type="checkbox"/> Cultivo otico</p> <p><input type="checkbox"/> Hemocultivos</p> <p><input type="checkbox"/> Otros</p> |
|---|--|--|

Anexo 7. Báscula digital
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 6. Estetoscopio, termómetro infrarrojo y foco frontal de inspección utilizado durante el examen clínico del paciente
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 9. Bandeja de recolección de desechos cubierta con papel toalla, para facilitar la visualización de los ectoparásitos desprendidos
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 8. Batería de jaulas de internación provistas de bandejas de recolección de desechos
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 11. Papel toalla, envase de recolección, pinza, cronometro y foco frontal utilizado en el monitoreo de la carga ectoparasitaria durante la internación
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 10. Torniquete, Tubos de recolección de muestras sanguíneas, aguja de doble punta estéril y guantes de nitrilo utilizados durante la extracción de sangre
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 13. Kit Anigen Rapid CaniV-4 utilizado para la inmunocromatografía
Fuente: Divet, 2019



Anexo 12. Pockit TM Microplus, utilizado para iiPCR
Fuente: Divet, 2019



Anexo 14. HumaLyzer Primus - HUMAN utilizado para la bioquímica sanguínea
Fuente: Divet, 2019



Anexo 15. Human Count 30 TM utilizado para la hematología
Fuente: Divet, 2019



Anexo 17. Fármaco utilizado en la terapia hemopatogénica
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 16. Fármaco utilizado en la terapia ectoparasitocida
Fuente: Divet, 2019



Anexo 18. Fármacos utilizados durante la terapia hematopoyética
Fuente: Cuadra, 2019



Anexo 19. Fármaco utilizado en la terapia hepatoprotectora
Fuente: Cuadra, 2019

