



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

PREVALENCIA DE *Anaplasma phagocytophylum* EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*)
CLÍNICAMENTE SANOS MEDIANTE EL MÉTODO DE ELISA INDIRECTA

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médica Veterinaria

AUTORA: ANGIE ELIZABETH ARMIJOS ACARO

TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, Mgtr.

Cuenca - Ecuador

2025

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Angie Elizabeth Armijos Acaro con documento de identificación N° 1900682459 manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 5 de agosto del 2025

Atentamente,



Angie Elizabeth Armijos Acaro
1900682459

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Yo, Angie Elizabeth Armijos Acaro con documento de identificación N° 1900682459, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Prevalencia de *Anaplasma phagocytophylum* en caninos (*Canis lupus familiaris*) clínicamente sanos mediante el método de ELISA indirecta”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médica Veterinaria, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 5 de agosto del 2025

Atentamente,



Angie Elizabeth Armijos Acaro
1900682459

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mauricio Xavier Salas Ruedas con documento de identificación N° 0603329681, docente de la Universidad Politécnica Salesiana declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: PREVALENCIA DE *Anaplasma phagocytophylum* EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*) CLÍNICAMENTE SANOS MEDIANTE EL MÉTODO DE ELISA INDIRECTA, realizado por Angie Elizabeth Armijos Acaro con documento de identificación N° 1900682459, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 5 de agosto del 2025

Atentamente,


Mauricio Xavier Salas Ruedas
0603329681

DEDICATORIA

Quiero dedicar este logro en primer lugar, a Dios quien me ha bendecido en cada paso del camino y me ha dado fuerzas cada día.

También agradezco profundamente a mi mamá Cecilia Acaro y mi papá Holger Armijos, por apoyarme incondicionalmente por confiar plenamente en mí y también por enseñarme que, cuando uno quiere y se propone todos los sueños, metas y logros se llegan alcanzan.

También dedicarle mi logro a mis pusulitos Chester y Bianca que han estado desde que comencé la carrera y se quedaban conmigo velando mis noches y sirviéndome de modelos para estudiar, por último, agradecer a mis abuelitos que desde pequeña me criaron con afanes de amar y cuidar a los animales.

AGRADECIMIENTO

Primeramente, quiero agradecer a Dios y a la virgencita que me han acompañado en este camino, a mi padre Holger Armijos que estando tan lejos me ayudó para seguir estudiando y culminar con mis estudios, a mi madre Cecilia Acaro que estuvo conmigo en las buenas y en las malas ayudándome con palabras de aliento.

A mis docentes: Dra. Mónica Brito, Dr. Patricio Garnica, Dra. María Paz Galarza, Ing. Mauricio Salas y Ing. Pedro Webster, por compartir y tener paciencia para enseñar cada conocimiento y sabiduría, para crecer profesional y personalmente. A mi tutor el Ing. Mauricio Salas por su ayuda, apoyo para ejecutar esta investigación y culminar con mis estudios.

Agradecer a cada persona que conocí en el transcurso de mis estudios, las personas que estuvieron ahí entre riza y riza y a mis amigos que fueron un pilar que no me dejaban caer y demostrar que mis problemas no son un impedimento para seguir adelante.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1 Problema.....	17
1.2 Delimitación.....	18
1.2.1 Delimitación espacial.....	18
1.2.2 Delimitación temporal.....	18
1.2.3 Delimitación Académica.....	19
1.3 Explicación del problema.....	19
1.4 Objetivos.....	19
1.4.1 Objetivo General.....	19
1.4.2 Objetivo Específicos.....	19
1.5 Hipótesis.....	20
1.5.1 Hipótesis Nula.....	20
1.5.2 Hipótesis Alternativa.....	20
1.6 Fundamentación teórica.....	20
2. REVISIÓN Y ANALISIS BIBLIOGÁFICO Y DOCUMENTAL.....	21
2.1 Generalidades.....	21

2.1.1	Taxonomía.....	22
2.1.2	Vector	23
2.1.3	Etiología	25
2.1.4	Epidemiología	25
2.1.5	Distribución.....	25
2.1.6	Ciclo biológico	26
2.1.7	Patogenia.....	27
2.1.8	Sintomatología	28
2.1.9	Diagnóstico.....	29
2.1.10	Tratamiento	29
2.1.11	Prevención.....	30
2.2	Técnica de ELISA	30
2.3	Tipos de ELISA.....	31
2.3.1	ELISA directa.....	31
2.3.2	ELISA indirecta.....	32
2.3.3	ELISA sándwich	33
2.3.4	ELISA competitiva.....	34
2.4	Resumen del estado del arte del estudio del problema.....	35
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	37

3.1	Materiales	37
3.2	Metodología	38
3.3	Diseño estadístico.....	39
3.4	Población y muestra	39
3.5	Investigación de campo.....	40
3.6	Investigación de laboratorio	41
3.7	Procedimiento de técnica de ELISA indirecta	41
3.7.1	Preparación de los reactivos.....	41
3.7.2	Toma y preparación de las muestras	41
3.7.3	Procedimiento.....	42
3.8	Operación de variables	43
3.9	Consideraciones éticas	43
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1	Prevalencia total	45
4.2	Prevalencia por peso.....	46
4.3	Prevalencia por raza	47
5.1	Prevalencia por sexo.....	49
5.2	Prevalencia por edad	50
5.3	Prevalencia por zona	51

5.4	Prevalencia por mucosas	51
5.5	Prevalencia por exposición al exterior	52
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
6.1	Conclusiones	53
6.2	Recomendaciones.....	54
7.	BIBLIOGRAFIA	55
8.	ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Taxonomía de Anaplasma phagocytophila</i>	23
Tabla 2. <i>Recursos biológicos</i>	37
Tabla 3. <i>Recursos de laboratorio</i>	37
Tabla 4. <i>Recursos de oficina</i>	38
Tabla 5. <i>Variable Dependiente (Muestras Sanguíneas)</i>	43
Tabla 6. <i>Variable Independiente (Caninos)</i>	43
Tabla 7. <i>Prevalencia total de Anaplasma phagocytophilum en el cantón Gualaquiza</i>	45
Tabla 8. <i>Prevalencia total de Anaplasma phagocytophilum en relación con el peso</i>	46
Tabla 9. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum de acuerdo con la raza</i>	47
Tabla 10. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum con respecto al sexo</i>	49
Tabla 11. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum de acuerdo con la edad</i>	50
Tabla 12. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum de acuerdo con la zona</i>	51
Tabla 13. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum por presencia de mucosas anormales</i> ..	51
Tabla 14. <i>Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum en relación con la exposición del canino al exterior</i>	52

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Croquis del Cantón Gualaquiza	18
<i>Figura 2.</i> <i>Ixodes scapularis</i>	24
<i>Figura 3.</i> Ciclo Biológico	27
<i>Figura 4.</i> ELISA indirecta	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. <i>Ficha clínica del paciente</i>	59
Anexo 2. <i>Toma de muestras a los caninos en el cantón Gualaquiza</i>	59
Anexo 3. <i>Centrifugación de sangre entera</i>	60
Anexo 4. <i>Extracción de suero de muestras sanguíneas</i>	61
Anexo 5. <i>Elaboración de la Técnica de ELISA</i>	61
Anexo 6. <i>Resultados de ELISA</i>	62

RESUMEN

En zonas tropicales alrededor de todo el mundo las garrapatas son vectores primarios para la transmisión de enfermedades hemoparasitarias. La Anaplasmosis es una de las enfermedades más comunes en caninos, por ello se realizó esta investigación en el cantón Gualaquiza perteneciente a la provincia de Morona Santiago, en la región Amazónica del Ecuador. Este proyecto tuvo como objetivo la identificación de *Anaplasma phagocytophylum* mediante la técnica de ELISA indirecta en caninos, para ello se obtuvieron 92 muestras de sangre de caninos aparentemente sanos de la zona. Para ello se tomaron muestras de las venas yugulares, safena y cefálica antebraquial para después ser colocada en un tubo sin anticoagulante dejándolo reposar de 30 a 45 minutos para la obtención del suero. Los resultados presentaron variaciones en los porcentajes según las variables que llegamos analizar. En cuanto a los resultados generales se identificó un 8,70% (8/92) en caninos positivos y un 71,30% (84/92) casos de negativos. Llegamos a visualizar mayor prevalencia en animales mestizos de 87,50% (7/8) en comparación con las razas, en cuanto a la edad los animales adultos 75,00% (6/8) y geriátricos 25,00% (2/8) son los animales más predisponentes a la enfermedad.

Palabras clave: Caninos, Kit ELISA, *Anaplasma phagocytophylum*.

ABSTRACT

In tropical regions around the world, ticks are primary vectors for the transmission of hemoparasitic diseases. Anaplasmosis is one of the most common diseases in canines; therefore, this study was conducted in the canton of Gualaquiza, located in the province of Morona Santiago, in the Amazon region of Ecuador. The objective of this project was to identify *Anaplasma phagocytophilum* using the indirect ELISA technique in canines. For this purpose, 92 blood samples were collected from apparently healthy dogs in the area.

Blood was drawn from the jugular, saphenous, and antebrachial cephalic veins, then placed in tubes without anticoagulant and left to rest for 30 to 45 minutes to allow serum separation. The results showed variations in percentage values depending on the variables analyzed.

Overall, 8.70% (8/92) of the dogs tested positive, while 71.30% (84/92) tested negative. A higher prevalence was observed in mixed-breed dogs, accounting for 87.50% (7/8) of the positive cases compared to pure breeds. Regarding age, adult dogs made up 75.00% (6/8) of positive cases, while geriatric dogs accounted for 25.00% (2/8), indicating these groups are more predisposed to the disease.

Key words: Canine, ELISA Kit, *Anaplasma phagocytophilum*.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad en Medicina Veterinaria las enfermedades transmitidas por vectores constituyen un importante problema de salud para los animales, como en humanos, debido a su capacidad para propagarse rápidamente y causar afecciones severas. En este contexto, *Anaplasma phagocytophilum* es un patógeno intracelular obligado, que se transmite principalmente por garrapatas, que afectan a una amplia variedad de mamíferos, incluidos los caninos.

La anaplasmosis representa un problema significativo en las poblaciones de los caninos, ya que los hemoparásitos responsables de la enfermedad son muy comunes. Se los encuentra principalmente en regiones tropicales y subtropicales afectando a la mayoría de los animales susceptibles a esta infección. Estos parásitos utilizan a las garrapatas como vectores para su transmisión. La enfermedad puede causar cuadros clínicos graves en los animales afectados y, si no se trata a tiempo, puede causar la muerte del animal.

Anaplasma phagocytophilum presenta un amplio rango de hospedadores y puede causar enfermedades graves en varias especies de mamíferos, incluidos los seres humanos. Sin embargo, los síntomas clínicos varían desde cuadros subclínicos hasta condiciones fatales, y se sospecha una subestimación considerable de los casos clínicos tanto en medicina humana como veterinaria. (Stuen, Granquist y Silaghi, 2013).

La Anaplasmosis es una de las enfermedades más comunes transmitidas por la garrapata y al igual que el resto de las enfermedades que transmiten presentan el mismo patrón de síntomas prematuros, razón por la cual es muy fácil confundirla con otras enfermedades como la Ehrlichiosis y/o

Babesiosis. Las pruebas de laboratorio, los síntomas y la presencia de garrapatas son variables de gran importancia al momento de establecer la presencia del *A. phagocytophilum*. (Sigüenza, 2018).

Una investigación realizada en perros en la Ciudad de Cuenca tuvo como objetivo determinar la prevalencia de hemoparásitos (*Ehrlichia canis*, *Babesia canis* y *Anaplasma phagocytophilum*) tomando en cuenta la raza, sexo, y edad de los caninos utilizando el método de frotis directo de sangre con tinción de Giemsa de lo cual se tomó 560 muestras de la población. Consecuentemente la mayor prevalencia se presenta en *Ehrlichia canis* (56,25%) seguido de *Babesia canis* (40,63%) y finalmente *Anaplasma phagocytophilum* (3,13%). (Domínguez, 2011).

1.1 Problema

En la actualidad las enfermedades parasitarias se han vuelto una problemática en la cual pueden llegar afectar no solo a los animales domésticos, sino que también a los seres humanos generando enfermedades zoonóticas, existe una gran cantidad de hemoparásitos que pueden afectar a varias especies de animales.

Este estudio se enfoca en el cantón objeto de análisis y servirá como punto de partida para investigaciones en zonas tanto tropicales como subtropicales del país. La anaplasmosis es una enfermedad que puede transmitirse tanto en áreas urbanas como rurales, y muchas personas aún la desconocen. A través de este estudio, se busca generar conciencia sobre la importancia de prevenir y tratar esta enfermedad en los caninos.

Según Cubas (2021) realizó un estudio con el objetivo de medir la prevalencia de *Anaplasma sp*, en Tarapoto y nos indica que hay $43 \pm 12.52\%$.

Los estudios realizados constituyen un punto de partida para confirmar la presencia de *Anaplasma* en perros en el territorio ecuatoriano. Dada la incidencia de esta enfermedad en

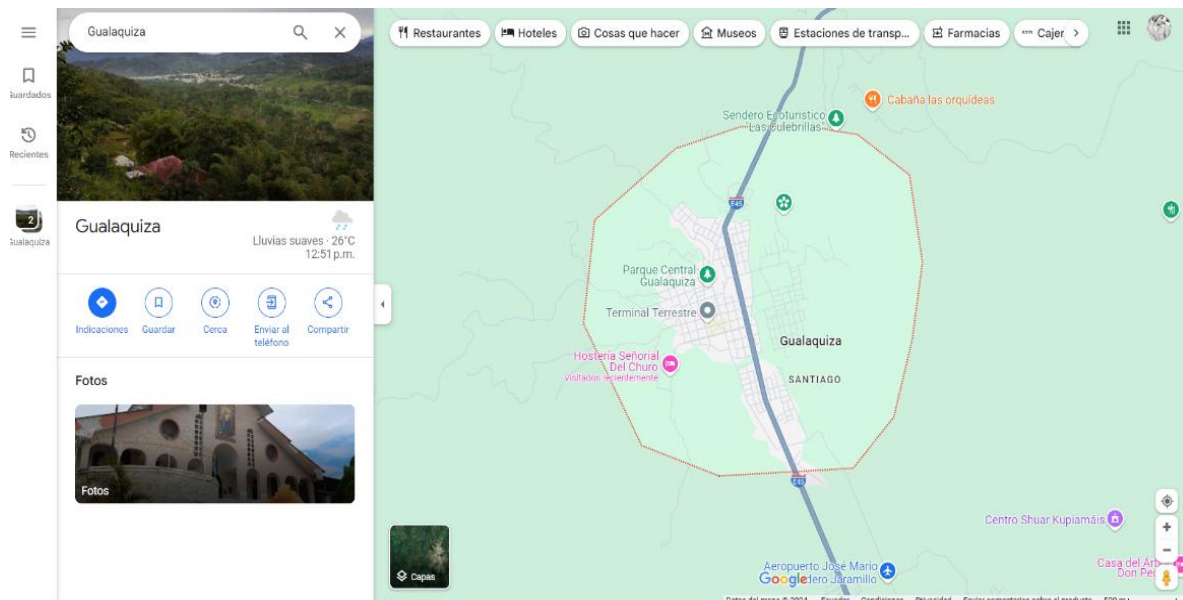
diversas regiones del país, surge la necesidad de desarrollar una investigación específica en esta zona, con el fin de aportar datos relevantes para su prevención, diagnóstico y control.

1.2 Delimitación

1.2.1 Delimitación espacial

El presente trabajo tuvo efecto en el cantón Gualaquiza se encuentra ubicado en la Provincia de Morona Santiago, Ecuador cuyas coordenadas son son $3^{\circ}24'05''S$ $78^{\circ}34'52''W$. (Google maps, 2024).

Figura 1 Croquis del cantón Gualaquiza



Fuente: (Google maps, 2024)

1.2.2 Delimitación temporal

El proceso investigativo tuvo una duración de 400 horas, las cuales están divididas en cuatro meses, el primero realizar la parte experimental y la segunda la parte que contiene la tabulación de datos y redacción del documento final.

1.2.3 Delimitación Académica

Esta investigación se realizó en el ámbito de la Salud Animal y la Epidemiología, con el objetivo de evaluar la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en una población determinada. Los resultados obtenidos permitirán generar datos precisos que contribuyan tanto al trabajo del médico veterinario como a la toma de decisiones en salud pública.

1.3 Explicación del problema

Este presente trabajo tuvo como fin la identificación de *Anaplasma phagocytophilum* con la técnica de ELISA indirecta en caninos de diferentes edades.

Esta investigación se llevó a cabo en el cantón Gualaquiza, debido a que presenta condiciones climáticas y de hábitat propicias para la presencia de posibles vectores. En esta zona, muchas personas no mantienen un adecuado cuidado de sus mascotas, las cuales suelen vivir en contacto con animales de campo, cultivos de plátano y otros entornos donde es común encontrar al vector.

El cuidado de las mascotas debe ser constante para evitar que se infecten con esta enfermedad, ya que podría complicarse y provocar cuadros clínicos graves, e incluso la muerte. Por ello, los propietarios deben contar con un plan sanitario adecuado, que incluya, entre otras medidas, la administración regular de antiparasitarios para el control de ectoparásitos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos mediante el método ELISA indirecta en el cantón Gualaquiza.

1.4.2 Objetivo Específicos

Identificar anticuerpos de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos del cantón Gualaquiza.

Determinar la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* clínicamente sanos en caninos mediante el método de ELISA indirecta.

Calcular la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis Nula

Es baja la prevalencia de *Anaplasma Phagocytophilum* en caninos del cantón Gualaquiza.

1.5.2 Hipótesis Alternativa

Es alta la prevalencia de *Anaplasma Phagocytophilum* en caninos del cantón Gualaquiza.

1.6 Fundamentación teórica

El presente trabajo experimental tiene como objetivo obtener resultados sobre la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* mediante la aplicación de la técnica ELISA indirecta. De esta manera, se busca identificar la enfermedad con mayor precisión y contribuir a la problemática de esta enfermedad.

2. REVISIÓN Y ANALISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1 Generalidades

La parasitología es la rama de la biología que estudia los organismos que viven a expensas de otros seres vivos. En esta disciplina se abordan diversos tipos de parásitos, entre los que se incluyen los gastrointestinales, nerviosos, cardíacos, pulmonares y hemoparásitos, entre otros. Dentro de esta amplia variedad, encontramos a los hemoparásitos, como *Anaplasma phagocytophilum*, el cual es un microorganismo que puede causar enfermedades en diferentes especies de caninos.

Las enfermedades transmitidas por vectores que afectan a caninos y felinos son causadas por un amplio rango de patógenos que comprenden virus, bacterias, protozoos y helmintos, transmitidos a perros y gatos por diferentes especies de vectores artrópodos. Algunos de estos pueden representar una seria amenaza para la salud y el bienestar animal. (Tasayco y Vásquez, 2021).

“La Anaplasmosis es el nombre con el que se denomina a la enfermedad causada por varias especies de *Anaplasma*, siendo las más comunes *A. marginale*, *A. ovis* y *A. phagocytophilum*.” (Coronado, 2014).

La anaplasmosis canina es una enfermedad causada por una bacteria transmitida por la picadura de garrapatas, vector que infecta tanto a perros como a humanos y otras especies domésticas y salvajes, lo cual representa un problema de salud pública y veterinaria que puede verse agravado al existir una amplia diversidad biológica, variedad climática, un alto número de población canina en los hogares y en las calles al igual que una creciente movilidad migratoria. (Gallo, 2023).

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria Gram- negativa, de hábitos intracelulares obligados cuyo principal vector son las garrapatas. Una vez inoculada, el vector procede a invadir las células inmunológicas, principalmente los neutrófilos. (Peñaloza y Ortiz, 2015).

La infección causada por *A. phagocytophilum* es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, produciendo la anaplasmosis granulocítica canina, estas se presentan en áreas tropicales y subtropicales con las condiciones que favorecen la supervivencia y producción del vector. (Cardona, Zapata y Urán, 2019).

Según Carrade, Foley, Borjesson, & Sykes, (2009) comentan que la *Anaplasma phagocytophilum* es un patógeno emergente que afecta a humanos, caballos y perros en todo el mundo. Se transmite por garrapatas ixódidas y se mantiene en diversas especies de pequeños mamíferos silvestres. Estudios recientes sugieren que múltiples cepas de *A. phagocytophilum* podrían estar circulando en poblaciones de animales silvestres y domésticos, y que estas cepas podrían presentar tropismos y patogenicidad diferenciales. (pp 1-2).

2.1.1 Taxonomía

Guillot y Chabanne, (2016) “cuenta que *Anaplasma phagocytophilum* es el agente etiológico de la anaplasmosis granulocítica, una Zoonosis descrita en vacas, pequeños rumiantes, caballos, perros, gatos y humanos”.

Su clasificación Taxonómica de *Anaplasma phagocytophilum* es:

Tabla 1. *Taxonomía de Anaplasma phagocytophila*

Dominio:	Bacteria
Filo:	<i>Proteobacteria</i>
Clase:	<i>Alphaproteobacteria</i>
Orden:	<i>Rickettsiales</i>
Familia:	<i>Anaplasmataceae</i>
Género:	<i>Anaplasma</i>
Especie:	<i>A. phagocytophilum</i>

Fuente: (Guillot y Chabanne, 2016).

2.1.2 Vector

La anaplasmosis granulocítica no es una enfermedad contagiosa de manera directa, ya que *A. phagocytophilum* sólo se transmite por vectores, existen 3 tipos. Los vectores conocidos de *A. phagocytophilum* son las garrapatas del género Ixodes: *I. ricinus* en Europa, *I. pacificus* y *I. scapularis* en el este de EE. UU. (Dugat, Lagrée, Maillard, Boulouis & Haddad, 2015).

Ixodes scapularis, vector de diversas enfermedades, es más abundante en ambientes boscosos, aunque también puede encontrarse en zonas sombreadas de césped. Estas garrapatas no sobreviven en terrenos dedicados exclusivamente a la agricultura. Sin embargo, la conversión de incluso pequeñas áreas de tierras de cultivo en bosques caducifolios puede favorecer la proliferación de *I. scapularis* y contribuir al mantenimiento del ciclo de transmisión de patógenos. (Wolf, Watkins & Schwan, 2020) (p. 2)

Figura 2: Ixodes scapularis



Fuente: (Nadolny, Toliver, Gaff, Snodgrass & Robbins, 2021)

Cuando las garrapatas del género *Ixodes* alcanzan su fase adulta y se han alimentado adecuadamente, las hembras pueden aumentar considerablemente de tamaño, llegando a medir hasta 24,9 mm de ancho y 49,9 mm de largo. A medida que su abdomen se distiende, adquieren una tonalidad que varía del gris al verde oliva, debido a la translucidez del contenido abdominal. En contraste, los machos adultos conservan un tamaño más reducido, con una longitud aproximada de 12,4 mm, y presentan una coloración uniforme marrón rojiza. Tras completar su alimentación, la hembra adulta se desprende del hospedador y busca un lugar resguardado donde depositar sus huevos, dando inicio nuevamente al ciclo biológico. (Peñaloza y Ortiz, 2015)

Según un estudio realizado por Alava, Gavilanez y Mendoza, (2024) comentan que, en el primer sector, se obtuvo una prevalencia del 26,67% (4 de 15 perros), mientras que en el segundo sector fue del 6,67% (1 de 15 perros). Considerando el total de los 30 perros muestreados, la prevalencia general fue del 16,66% (5 de 30). Se ha identificado una elevada prevalencia de

Anaplasma phagocytophilum, un hemoparásito que puede causar afecciones graves en los perros. A pesar de tratarse de una enfermedad zoonótica, frecuentemente pasa desapercibida o subdiagnosticada. Por ello, resulta fundamental concientizar e informar adecuadamente sobre el uso de los distintos métodos de prevención disponibles.

2.1.3 Etiología

A. phagocytophilum es un microorganismo GRAM negativo, de forma cocoide/elipsoide (0,2-2,0 um), pleomórfico e inmóvil. Este puede infectar a un amplio número de especies animales domésticas y silvestres, sin embargo, la enfermedad clínica ha sido descrita solo en perros, gatos, caballos, bovinos, ovejas, cabras, llamas y, por supuesto, en el hombre. (Fariñas y Astorga, 2019)

Sykes (2014) “Manifiesta que la *A. phagocytophilum* causa anaplasmosis granulocítica en perros, humanos, caballos y, en Europa, rumiantes domésticos que incluyen ovejas, ganado vacuno, cabras y ciervos. Los gatos y los camélidos también pueden verse afectados. Diversas especies de animales salvajes, como roedores y ciervos, actúan como reservorios.” (p. 209)

2.1.4 Epidemiología

Álvarez (2015) “Nos comenta que la *Anaplasma phagocytophilum* es el microorganismo responsable de la anaplasmosis granulocítica tanto en perros como en humanos.” (p, 9)

Anaplasma phagocytophilum es una bacteria intracelular, pleomórfica y gram negativa que causa la ehrlichiosis granulocítica en humanos y perros. Esta enfermedad tiene una distribución cosmopolita y afecta tanto a personas como a animales, siendo transmitida principalmente a través de la picadura de garrapatas. (Guerrero, y Lazo, 2019)

2.1.5 Distribución

La enfermedad afecta tanto a seres humanos como a animales domésticos y presenta una amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde las condiciones

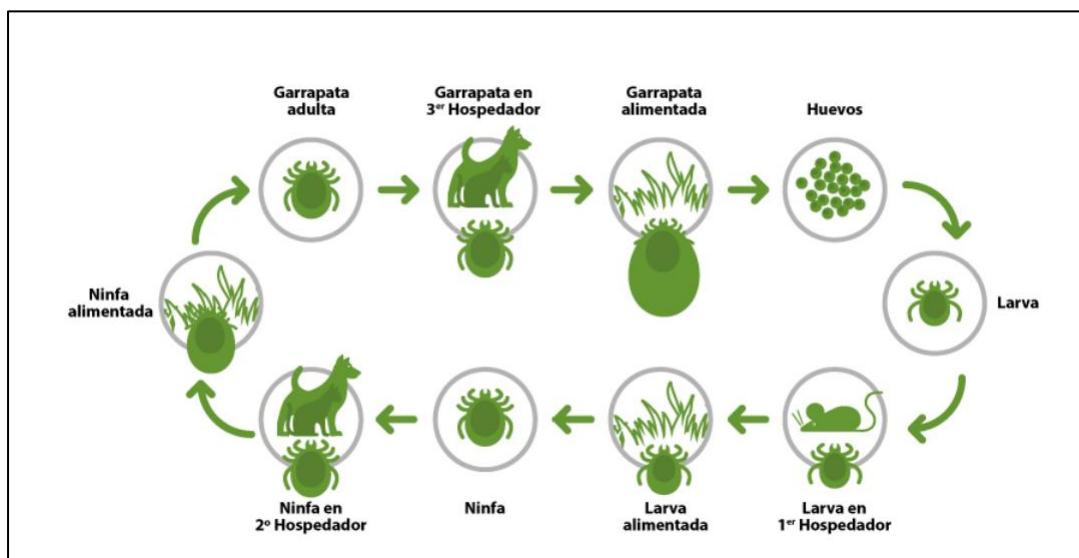
climáticas favorecen el desarrollo continuo de los vectores del género *Ixodes*. Además, se considera endémica en zonas elevadas del Medio Oeste, Este y Noreste de Estados Unidos, así como en áreas de la costa occidental que se extienden desde California hasta la Columbia Británica. (Restrepo, 2017)

Esta bacteria tiene una distribución geográfica amplia, habiéndose identificado en países como Estados Unidos, Brasil, Reino Unido, Noruega, Suecia, Suiza, Alemania, Países Bajos, Eslovenia, España, Francia, Italia, Rusia, Corea del Sur y Tailandia. (Álvarez, 2015)

2.1.6 Ciclo biológico

La garrapata del género *Ixodes* actúa como portadora de la bacteria. Tras alimentarse completamente, la hembra adulta cae al suelo y, después de un periodo que varía entre 3 y 83 días, deposita aproximadamente 4000 huevos. Estos huevos eclosionan entre los 8 y 67 días posteriores, dando lugar a larvas que pueden sobrevivir sin alimentarse por más de 253 días. Cuando encuentran un hospedador, como un perro o un gato, se adhieren a él y se alimentan durante un periodo de 3 a 7 días. Luego se desprenden y, entre los 6 y 23 días siguientes, mudan a su fase de ninfa, la cual puede mantenerse sin alimento por más de 183 días. Al encontrar un nuevo hospedador, la ninfa se alimenta entre 4 y 9 días, tras lo cual se desprende nuevamente y muda a su fase adulta (macho o hembra) en un lapso de 12 a 129 días. Los adultos pueden sobrevivir sin alimentarse durante más de 568 días. Finalmente, las hembras adultas se fijan a un tercer hospedador y se alimentan entre 6 y 50 días antes de completar su ciclo. (Paico, 2018)

Figura 3: Ciclo Biológico



Fuente: (Paico, 2018) (p, 17)

2.1.7 Patogenia

Para que *Ixodes* spp. logre transmitir el patógeno a un hospedero susceptible, se requiere un periodo mínimo de alimentación que va de 24 a 48 horas. Posteriormente, el periodo de incubación de la enfermedad es de 1 a 2 semanas, tiempo durante el cual *Anaplasma phagocytophilum* infecta principalmente las células más diferenciadas del linaje de los neutrófilos. En los perros, los signos clínicos suelen ser inespecíficos e incluyen fiebre, letargo, depresión, anorexia y dolor musculoesquelético. Los anticuerpos IgG pueden detectarse entre 2 y 5 días después de la exposición inicial y permanecer presentes en el organismo por un periodo de 9 a 24 meses. (Álvarez, 2015) (p, 5)

Se ha reportado que la trombocitopenia, leucopenia y anemia observadas en huéspedes infectados pueden originarse a través de diversos mecanismos. Uno de ellos implica la acción de *Anaplasma phagocytophilum*, que induce la expresión de interleucina-8 (IL-8) en la membrana de

los neutrófilos infectados. Esta citocina posee propiedades quimiotácticas que atraen tanto a neutrófilos como a linfocitos T no infectados, además de potenciar la fagocitosis y aumentar la actividad del estallido respiratorio de los neutrófilos. Sin embargo, a pesar de estos efectos proinflamatorios, la producción de estas moléculas señalizadoras también puede inhibir la hematopoyesis, lo que conduce finalmente a un estado de mielosupresión en el paciente. (Peñaloza y Ortiz, 2015)

2.1.8 Sintomatología

Los perros afectados por Anaplasmosis pueden presentar síntomas como fiebre, vómitos y diarrea. De forma similar a lo que ocurre con la enfermedad de Lyme, esta infección también puede provocar dolor e inflamación en las articulaciones. En algunos casos, el dolor articular puede desplazarse de una extremidad a otra. La inflamación puede llegar a ser tan severa que algunos animales expresan malestar o lloran al intentar moverse. Este cuadro clínico suele ir acompañado de cambios en el comportamiento, así como una notable disminución del apetito y del nivel de actividad, volviendo al perro apático y letárgico. (Paico, 2018)

La sintomatología varía según la edad y el estado inmune del afectado, se considera una enfermedad multisistémica que puede manifestarse en diferentes fases: fase aguda (2 a 4 semanas), fase subclínica (meses o años) o fase crónica. La fase aguda de la enfermedad se caracteriza por síntomas como fiebre elevada, depresión, letargo, pérdida de apetito, esplenomegalia, presencia de petequias en la piel, equimosis y epistaxis. También pueden presentarse alteraciones oculares, como uveítis, hemorragias, desprendimiento de retina e incluso ceguera, además de signos neurológicos. En su forma subclínica, la enfermedad no muestra signos clínicos evidentes, lo que permite que algunos perros evolucionen hacia una fase crónica. En esta etapa, la sintomatología

puede asemejarse a la fase aguda, pero con mayor gravedad, destacándose palidez de las mucosas, hemorragias, debilidad generalizada y una pérdida de peso considerable. (Guerrero, y Lazo, 2019)

2.1.9 Diagnóstico

El diagnóstico también puede realizarse mediante serología pareada, aguda y de convalecencia. La mayoría de los laboratorios veterinarios realizan pruebas serológicas mediante técnicas de inmunofluorescencia. Se ha reportado la existencia de serología cruzada entre *Anaplasma phagocytophilum* y otras especies del género *Anaplasma*. En estudios realizados mediante la prueba de ELISA indirecto, se observó reactividad cruzada en el 100% de las muestras entre *A. phagocytophilum* y *A. marginale*. Sin embargo, esta reactividad cruzada no se presentó al emplear un ELISA competitivo, lo que sugiere que la especificidad de la prueba varía según el tipo de ELISA utilizado. (Azevedo, 2011)

2.1.10 Tratamiento

Anaplasma spp. es sensible a varios antibióticos, entre ellos la doxiciclina, la rifampicina y la levofloxacina, siendo la doxiciclina el fármaco de elección para el tratamiento. En cachorros menores de un año, puede considerarse el uso de cloranfenicol como alternativa para evitar la tinción dental amarilla asociada al uso de tetraciclinas. Aunque aún no se ha establecido con precisión la dosis y duración óptimas del tratamiento, se recomienda administrar doxiciclina a una dosis de 5 a 10 mg/kg cada 12 horas por un período mínimo de 30 días. (Flores, 2020)

Generalmente, los perros muestran una rápida mejoría clínica, con resolución de los signos dentro de las primeras 24 a 48 horas posteriores al inicio del tratamiento. Cabe destacar que, incluso sin intervención terapéutica, muchos casos de anaplasmosis granulocítica canina tienden a resolverse espontáneamente en el transcurso de una semana. (Flores, 2020)

2.1.11 Prevención

La disminución de las poblaciones de garrapatas representa un desafío, y aún no se ha determinado con certeza qué tan eficaz resulta esta estrategia para reducir las tasas de infección. Se han implementado diversas medidas de control, entre ellas el manejo de la vegetación, la aplicación de acaricidas, la exclusión de hospedadores y el tratamiento directo de los mismos. (Ulloa, 2018)

Como ocurre con todas las enfermedades transmitidas por vectores, la principal medida preventiva consiste en minimizar el contacto con estos organismos. Para ello, se dispone de diversos productos destinados al uso en animales, los cuales se presentan en formatos como aerosoles, comprimidos orales, aplicaciones tópicas y collares impregnados. Estos productos contienen ingredientes activos como permetrina, fipronil y amitraz, que actúan como repelentes o acaricidas. (Flores, 2020)

2.2 Técnica de ELISA

La técnica ELISA (enzyme-immunosorbent assay) es un método confiable y económico para la detección de virus, especialmente del complejo BYDV-CYDV. Existen anticuerpos específicos para las distintas variantes del complejo viral que pueden adquirirse fácilmente y son de uso sencillo. Aunque lo ideal es contar con un espectrofotómetro para medir la densidad óptica del producto, es posible distinguir entre muestras positivas y negativas sin necesidad de este equipo. Esta técnica ofrece resultados rápidos y permite diferenciar entre variantes del virus, incluso en ausencia de una expresión sintomática clara (Gilchrist, et al., 2005).

Los ensayos ELISA suelen llevarse a cabo en placas de 96 pocillos, lo que facilita el análisis simultáneo de múltiples muestras. Entre los tipos de muestras más comúnmente utilizadas se encuentran suero, plasma, sobrenadantes de cultivos celulares, lisados celulares, saliva, orina y

lisados tisulares. No obstante, en teoría, cualquier muestra líquida podría ser empleada en este tipo de ensayo. Es importante tener en cuenta que ciertos tipos de muestras pueden contener sustancias que interfieren con el rendimiento del análisis, como componentes del tampón que poseen epítomos antigénicos similares o enzimas como proteasas, que podrían degradar tanto el antígeno diana como los reactivos de detección. (Steward, 2023)

2.3 Tipos de ELISA

Coll (1993), también menciona que la técnica ELISA puede emplearse para la detección de virus mediante el formato sandwich ELISA, o para identificar anticuerpos antivirales utilizando el ELISA indirecto. En ambos casos, ya sea el virus o los anticuerpos específicos, se inmovilizan en pocillos plásticos —principalmente de poliestireno o polivinilo—. La detección se realiza a través de enzimas unidas a anticuerpos secundarios, que reaccionan con cromógenos solubles, generando un cambio de color que permite identificar la presencia del analito. (p. 239)

2.3.1 ELISA directa

Este método está diseñado para la detección de anticuerpos y requiere el uso de antígenos puros o parcialmente purificados, una muestra que contenga los anticuerpos a analizar, y un conjugado enzimático capaz de unirse a las inmunoglobulinas presentes en muestras inmunizadas. En esencia, la prueba permite identificar la presencia de un antígeno utilizando anticuerpos específicos dirigidos contra el mismo. El procedimiento se lleva a cabo de la siguiente manera. Se recubre una placa (generalmente de poliestireno o polivinilo) con un anticuerpo conocido, el cual está conjugado con una enzima específica que reconoce al antígeno de interés. Luego se añade la muestra sospechosa que contiene el antígeno, permitiendo su unión a la superficie de la placa. Tras un período de incubación, se realizan lavados en cada etapa para eliminar cualquier componente no unido. Posteriormente, se añade el sustrato correspondiente, que reacciona con la enzima unida

al anticuerpo y produce un cambio de color. Finalmente, se incorpora una solución de parada y se cuantifica la señal generada utilizando un lector ELISA (Aydin, et al., 2025).

2.3.2 ELISA indirecta

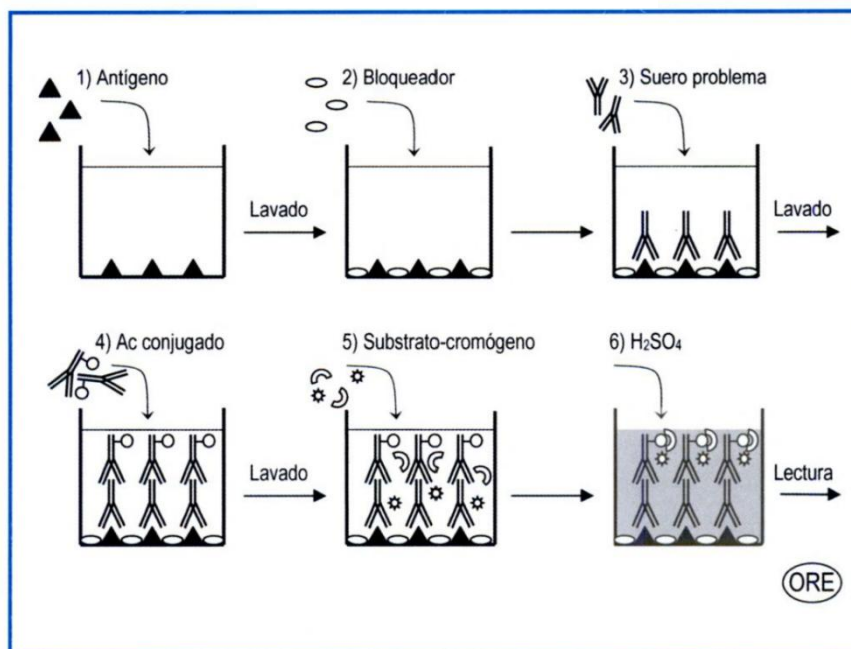
En este procedimiento, el antígeno se adhiere a los pocillos de una microplaca de poliestireno. Su detección se realiza mediante una antiglobulina conjugada con una enzima. Al añadir el sustrato específico para dicha enzima, se produce una reacción que genera un cambio de color. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo presente en la muestra. Esta variación cromática puede evaluarse visualmente o cuantificarse utilizando un lector de ELISA (Tizard, 2009).

El procedimiento del ensayo ELISA se lleva a cabo de la siguiente manera. La placa se recubre inicialmente con un antígeno conocido. Se incorpora la muestra biológica sospechosa, como suero o plasma. Posteriormente, se añade el conjugado (anticuerpo marcado). Finalmente, se introduce el sustrato que reaccionará con la enzima unida. Tras cada etapa, se realiza un lavado adecuado de la placa, siguiendo los tiempos de incubación correspondientes, para eliminar material no unido. En el formato de ELISA directo, el anticuerpo conjugado está dirigido directamente contra el antígeno, mientras que en el ELISA indirecto, el conjugado se diseña para unirse al anticuerpo primario utilizado en la detección (Aydin, et al., 2025).

La técnica ELISA indirecta se basa en la detección de anticuerpos específicos frente a antígenos conocidos. El procedimiento comienza con el recubrimiento de los pozos con el antígeno (1), seguido de un lavado y la aplicación de una proteína bloqueadora no específica (2) para evitar uniones inespecíficas. A continuación, se añade el suero problema (3), que puede contener anticuerpos específicos que se unirán al antígeno. La presencia de estos anticuerpos se detecta mediante un anticuerpo secundario conjugado con una enzima (4), que al añadirse el sustrato junto

con un cromógeno (5), genera una reacción enzimática visible mediante un cambio de color. En este caso, la enzima puede ser peroxidasa, el sustrato peróxido de hidrógeno y el cromógeno orto-fenilendiamina. Para detener la reacción, se agrega ácido sulfúrico (6), y la intensidad del color resultante se mide a una longitud de onda de 492 nm (Rojas, 2006).

Figura 4: ELISA indirecta



Fuente: (Rojas, 2006) (p, 229).

2.3.3 ELISA sándwich

Desarrollada en 1977, la técnica ELISA tipo sándwich se caracteriza por intercalar el antígeno objetivo entre dos anticuerpos específicos. Este método puede aplicarse en formato directo o indirecto (como en el caso del ejemplo basado en ELISA indirecto). A diferencia de otros formatos en los que el antígeno se adhiere de forma inespecífica a la placa, en el ELISA sándwich se utiliza un anticuerpo de captura fijado a la superficie del pocillo, lo que confiere especificidad al proceso. Esta estrategia mejora significativamente tanto la sensibilidad como la especificidad del ensayo. (Steward, 2023)

Aydin et al. (2025), detalla que las enzimas más comúnmente empleadas en este tipo de ensayo son la peroxidasa de rábano picante (HRP) y la fosfatasa alcalina (ALP), utilizando TMB como sustrato cromogénico. Este formato de ELISA es el más sensible entre todos, con una capacidad de detección entre 2 y 5 veces superior en comparación con otros métodos. Por ello, se considera la opción ideal cuando se dispone únicamente de cantidades limitadas de anticuerpos específicos y no se cuenta con antígeno purificado.

2.3.4 ELISA competitiva

En el ELISA competitivo, el antígeno presente en la muestra (no marcado) compite con un antígeno marcado por los sitios de unión del anticuerpo. Tras la adición del sustrato enzimático, se produce un cambio de color cuya intensidad es inversamente proporcional a la concentración del antígeno en estudio; es decir, a mayor cantidad de antígeno en la muestra, menor será la señal colorimétrica observada. (Tizard, 2009)

Suárez (2017) nos comenta que este método se fundamenta en la competencia entre el antígeno presente en la muestra, cuya concentración se desea determinar, y un antígeno idéntico previamente marcado con una enzima, por los sitios de unión de un anticuerpo inmovilizado en una superficie sólida. El antígeno marcado solo puede unirse a los sitios libres del anticuerpo que no han sido ocupados por el antígeno de la muestra. De esta manera, la cantidad de antígeno marcado que se une es inversamente proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra. (p. 94)

2.4 Resumen del estado del arte del estudio del problema

La Anaplasmosis Canina es una enfermedad hemoparasitarias causada por bacterias intracelulares gram-negativas que tienen afinidad por las plaquetas sanguíneas y los glóbulos blancos. Estas bacterias se multiplican por fisión binaria, lo que genera alteraciones hematológicas al formar mórulas dentro de una vacuola. Esta acción propicia la diseminación de la infección a las células circundantes en un periodo de 24 a 48 horas tras su ingreso al torrente sanguíneo. La enfermedad afecta tanto al ser humano como a diversas especies animales (Gallo, 2023).

Coronado (2014), realizó un análisis serológico por ELISA en 150 caninos, detectando un 13.77% de positividad para *Ehrlichia canis*/*E. ewingii* y un 1.30% para *A. phagocytophilum*/*A. platys*. De las muestras positivas, se extrajo ADN mediante la técnica de fenol-cloroformo, debido a la alta similitud genética (93%) en el gen 16S rRNA entre estas especies. Mediante PCR, se amplificó el gen 16S rRNA en 4 muestras (750 pb). Posteriormente, una PCR específica para *A. phagocytophilum* mostró amplificación en 3 de ellas (1.96%) a 500 pb, evidenciando reactividad cruzada con *Ehrlichia spp.* El estudio confirmó la presencia de *Anaplasma phagocytophilum* en perros de Culiacán, Sinaloa, lo que implica un riesgo zoonótico para propietarios y veterinarios por posible transmisión directa o indirecta.

En esta investigación se analizó Guayaquil con un total de 100 perros que se presentaron a la consulta con signos clínicos frecuentes de la enfermedad de la garrapata. Dando como resultado de los 100 perros en estudio, el 52 % se detectó positivo *A. phagocytophilum* por IFI IgG y el 48 % se manifestó negativo al IFI IgG, ambas evaluadas en correlación con el *E. canis* (Sigüenza, 2018).

El estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en 30 perros domésticos del cantón Durán. Se encontró una prevalencia del

26,67% en un sector y del 6,67% en otro, con una prevalencia total del 16,66%. Los resultados indican una presencia considerable de este hemoparásito, que representa un riesgo para la salud animal y humana, y que frecuentemente es subdiagnosticado. Se destaca la importancia de promover medidas preventivas y educativas para su control. (Alava, Gavilanez, y Mendoza, 2024)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Tabla 2. *Recursos biológicos*

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD
Sangre de canino	8ml	92
Kit ELISA para <i>Anaplasma</i>	Caja	1

Tabla 3. *Recursos de laboratorio*

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD
Jeringas de 5ml	Unidad	96
Tubos al vacío tapa roja 9 ml	Unidad	96
Puntas para micropipeta azul	Unidad	200
Cateteres #20,22,24	Unidad	100
Tubos Effendorf	Unidad	92
Pipetas pasteur	Unidad	92
Mascarillas	Caja	1
Guanes nitrilo	Caja	1
Transportador	Unidad	1
Torniquete	Unidad	1
Pipetas	Unidad	92
Equipo de ELISA	Unidad	1
Centrifugadora	Unidad	1

Alcohol	Litro	1
Algodón de 500 gr	Unidad	1
Hielera cooler	Unidad	1
Papel de laboratorio	Unidad	1
Cofias	Unidad	5

Tabla 4. *Recursos de oficina*

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD
Cuaderno	Unidad	1
Esferos	Unidad	1
Marcador permanente	Unidad	1
Impresora	Unidad	1
Engrapadora	Unidad	1
Carpetas	Unidad	1
Computadora	Unidad	1
Resma de papel	Unidad	1

3.2 Metodología

El método que se utilizó es experimental deductivo puesto que se inició desde lo general a lo particular, empezando con la obtención de muestras sanguíneas en pacientes caninos, se separó el suero para su análisis mediante la técnica ELISA indirecta, lo cual permitió detectar la presencia de *Anaplasma phagocytophilum*. Esta metodología facilitó un diagnóstico preciso en los casos positivos registrados en el cantón Gualaquiza.

3.3 Diseño estadístico

Para la realización de este estudio no se aplicaron herramientas de análisis estadístico, sino que se llevó a cabo un estudio epidemiológico de tipo descriptivo y de corte longitudinal. El objetivo fue determinar la prevalencia de la enfermedad a través de la detección de la presencia o ausencia del antígeno en las muestras analizadas. Con base en estos resultados, fue posible calcular la prevalencia de la enfermedad dentro de la población canina evaluada.

Para el cálculo de la prevalencia de *Anaplasmosis phagocytophylum* se aplicará la siguiente formula:

$$PA = \frac{\text{Numero de muestras positivas}}{\text{Total de muestra}} \times 100$$

3.4 Población y muestra

La población que se llegara a tomar son caninos, pertenecientes al cantón Gualaquiza, aquellos especímenes que entraran a formar parte del estudio respectivo.

La población a realizar el estudio es de 96 caninos según la población estimada a realizar. La determinación de la muestra estará sujeta al cálculo de tamaño mínimo de la muestra.

Cálculo de la muestra:

La selección de la muestra de cálculo de tamaño mínimo de la muestra considerando una prevalencia esperada de 93.34%.

$$n = \frac{Z^2 p q}{d^2}$$

En donde:

p= Probabilidad de prevalencia

q= 1-p

e= Error estimado (5%= 0,05)

Z= Nivel de confianza (95% = 1,96)

$$n = \frac{(1,96)^2(0,9364)(1 - 0,9364)}{(0,05)^2} = 91,5 = 92$$

El número de muestras a tomar será de 92 caninos en el canto Gualaquiza de la provincia de Morona Santiago.

3.5 Investigación de campo

Se trabajó con un total de 92 caninos pertenecientes al cantón Gualaquiza, en la provincia de Morona Santiago. Para este estudio no se consideraron variables como raza, sexo ni edad. Cada muestra fue debidamente rotulada con la información individual de los animales, previamente registrada en fichas clínicas.

La recolección de sangre se realizó utilizando tubos al vacío sin aditivo con tapa roja. Para la punción, se emplearon agujas hipodérmicas calibre 22 o jeringas de 5 ml con aguja G21, seleccionadas de acuerdo con el tamaño del animal. Las muestras se obtuvieron por venopunción en la vena yugular, cefálica o safena, utilizando agujas marca Vacutainer o catéteres de calibres 20G, 22G y 24G.

Posteriormente, las muestras fueron depositadas en los tubos al vacío y dejadas en reposo durante 30 a 40 minutos para facilitar la separación del suero. Tras este periodo, se procedió a la rotulación correspondiente y almacenamiento de las muestras en un cooler a una temperatura controlada entre 2 °C y 8 °C. Finalmente, las muestras fueron transportadas y procesadas en el Laboratorio de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, utilizando un kit comercial ELISA indirecto para la detección de *Anaplasma phagocytophilum*.

3.6 Investigación de laboratorio

La detección cualitativa de anticuerpos específicos mediante la técnica ELISA se basa en una reacción inmunoenzimáticos. Las placas de microtitulación, recubiertas con antígenos específicos, capturan los anticuerpos presentes en la muestra. Tras un primer lavado, se añade un conjugado de peroxidasa de rábano (HRP), que se une a los anticuerpos fijados. Luego de un segundo lavado para eliminar el exceso de conjugado, se agrega el sustrato TMB, generando un producto azul cuya intensidad es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes. Finalmente, se añade ácido sulfúrico para detener la reacción, lo que cambia el color a amarillo. La absorbancia se mide a 450/620 nm usando un lector ELISA (NovaTec, 2020).

3.7 Procedimiento de técnica de ELISA indirecta

3.7.1 Preparación de los reactivos

Es fundamental que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (20–25 °C) y se mezclen adecuadamente antes de su uso. Las tiras de microtitulación, recubiertas con antígenos de *Anaplasma*, deben almacenarse en su embalaje original junto con un paquete de gel de sílice a 2–8 °C tras su apertura. El tampón de lavado concentrado debe diluirse en una proporción de 1:19 y es estable hasta 5 días tanto a temperatura ambiente como refrigerado; si se forman cristales, se recomienda calentarlo suavemente para su disolución. La solución de sustrato TMB, lista para usar y almacenada a 2–8 °C protegida de la luz, debe ser incolora o con un tono azul muy claro; si presenta un color azul intenso, podría estar contaminada y no ser apta para el ensayo. (NovaTec, 2020)

3.7.2 Toma y preparación de las muestras

Para este ensayo deben utilizarse muestras de suero canino. Si se analizan dentro de los 5 días posteriores a la toma, pueden conservarse entre 2 y 8 °C; de lo contrario, deben alicotadas y

congelarse a temperaturas entre -70 y -20 °C. Es importante agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas y evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación. No se recomienda la inactivación por calor. Antes del análisis, las muestras deben diluirse en una proporción 1:100 con el tampón de dilución (por ejemplo, 10 μ L de muestra en 1 mL de tampón) y mezclarse adecuadamente con un vortex. (NovaTec, 2020)

3.7.3 Procedimiento

1. Para cada paso de pipeteado en los estándares/controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso. Graduar la incubadora a 37 ± 1 °C.
2. Pipetear 100 μ L de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco
3. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
4. Incubar 1 h \pm 5 min a 37 ± 1 °C.
5. Tras la incubación, se debe retirar el autoadhesivo, aspirar completamente el contenido de cada pocillo y realizar tres lavados con 300 μ L de tampón. Es fundamental evitar que los pocillos se desborden y mantener un intervalo mayor a 5 segundos entre el lavado y la aspiración. Para eliminar el exceso de líquido, se recomienda agitar suavemente las tiras sobre papel absorbente. Un lavado deficiente puede comprometer la precisión del ensayo y generar resultados falsamente elevados.
6. Pipetear 100 μ L de Conjugado en cada pocillo con excepción del blanco substrato A1.
7. Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20...25 °C). Evitar la luz solar directa
8. Repetir el lavado como en el paso número 4.
9. Pipetear 100 μ L de la Solución de Sustrato de TMB en todos los pocillos. (NovaTec, 2020)

3.8 Operación de variables

Tabla 5. *Variable Dependiente (Muestras Sanguíneas)*

Concepto	Categorías	Indicaciones	Variables
Recolección de muestras de sangre para técnica de ELISA	Biológica Caninos	Número de animales (machos y hembras)	Numérico

Tabla 6. *Variable Independiente (Caninos)*

Concepto	Categorías	Indicaciones	Variables
Animales mamíferos convivientes con los seres humanos.	Biológico: Muestra de sangre Estado del animal	Número de hembras Número de machos	Cuantitativo Cuantitativo

3.9 Consideraciones éticas

Los animales son seres vivos que experimentan sensaciones y emociones, por lo tanto, al trabajar con ellos es fundamental brindarles un trato respetuoso y evitar cualquier tipo de daño o maltrato. En este estudio, todos los caninos seleccionados fueron manejados con cuidado, aplicando técnicas de sujeción adecuadas que garantizaron su bienestar en todo momento. Se

priorizó siempre un trato humanitario, asegurando que no se les causara ningún sufrimiento durante el desarrollo de la investigación.

El rol de las mascotas en la sociedad ha evolucionado, y hoy en día son ampliamente consideradas como parte de la familia. Esto ha generado una mayor demanda de información y productos que contribuyan a una vida más saludable y prolongada para ellas. En respuesta, los veterinarios han desarrollado programas de bienestar animal. Aunque el concepto de bienestar no es nuevo ya se aplicaba en medicina preventiva en animales de producción, en el caso de animales de compañía, muchos de estos programas han sido implementados de forma poco estructurada o sin planificación adecuada. (Jevring, y Catanzaro, 2002) (p. 15)

La ética animal se centra en la responsabilidad del ser humano hacia los animales, ya que únicamente las acciones humanas pueden ser evaluadas desde un punto de vista ético. No se ocupa del comportamiento entre animales, que corresponde al campo de estudio de la etología. Esta perspectiva parte del principio de que solo el ser humano puede asumir responsabilidad moral dentro del sistema, incluso bajo las posturas más inclusivas de la ética ecológica, que proponen considerar a todos los seres vivos humanos, animales y plantas como parte de una misma comunidad moral. (Aramini, 2007) (p.439)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Prevalencia total

Tabla 7. Prevalencia total de *Anaplasma phagocytophilum* en el cantón Gualaquiza

Prevalencia Total	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
NEGATIVO	84	91,30%	83,58%	96,17%
POSITIVO	8	8,70%	3,83%	16,42%
Total	92	100,00%		

Al realizar este trabajo investigativo se tuvo como objetivo determinar la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum*, en una población del cantón Gualaquiza. En la cual se llegó a realizar una campaña de desparasitación y vacunación gratuita para 92 caninos a los cuales se llegó a extraer muestras sanguíneas.

Los resultados obtenidos de 92 muestras de caninos, el 91,30% (84/92) llegaron hacer negativas y el 8,70% (8/92) son positivas.

Sigüenza (2018), en un estudio que realizado en la Clínica Veterinaria Pet Roussel de Guayaquil, diagnosticado mediante el método de Inmunofluorescencia Indirecta de la IgG a 100 caninos que se presentaron a consulta con signos clínicos de la enfermedad de la garrapata. Dando como resultado el 52% positivas a *A. phagocytophilum* por IFI IgG y el 48% se manifestó negativo al IFI IgG, ambas evaluadas en correlación con el *E. canis*.

De acuerdo con una investigación realizada por Coronado (2014), se tomó muestras sanguíneas de 153 caninos, con o sin signos de enfermedad realizándoles la prueba de ELISA, las

cuales 9 muestras resultaron positivas a *E. canis*/*E. ewingi*, y de ellas en conjunto a *A. phagocytophilum*/*A. platys* y 1 en conjunto con *Dirofilaria immitis*.

Peñaloza y Ortiz (2015), realizaron un estudio en la Clínica Veterinaria Animales de Compañía en Colombia con 110 archivos de historias clínicas de pacientes caninos diagnosticados con alguno de estos patógenos, dando como resultado un 69,09% a *Ehrlichia canis* seguido por *A. phagocytophilum* 23,64%, *Dirofilaria immitis* 0,91%; el 6% restante presentó coinfección con *Ehrlichia canis* y *A. phagocytophilum*.

En el estudio que llegamos a realizar existe una prevalencia de 8,70% (8/92) positivos en caninos y el 91,31% negativos, dándonos a conocer que existe una baja prevalencia de la enfermedad en el cantón Gualaquiza, a comparación de los otros estudios realizados por otros autores.

Algunos resultados varían debido a los sitios y números de poblaciones de donde se llegó a recolectar las muestras. Se debe tener en cuenta el incremento de vectores en las zonas en los que se encuentran las mascotas por la falta de control de los propietarios.

4.2 Prevalencia por peso

Tabla 8. Prevalencia total de *Anaplasma phagocytophilum* en relación con el peso

PESO	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
< 5 KG	11	13,10%	6,72%	22,22%	2	25,00%	3,19%	65,09%
10-25 KG	29	34,52%	24,48%	45,69%	1	12,50%	0,32%	52,65%
25- 40 KG	15	17,86%	10,35%	27,74%	1	12,50%	0,32%	52,65%
5- 10 KG	29	34,52%	24,48%	45,69%	4	50,00%	15,70%	84,30%

TOTAL	84	100,00%		8	100,00%
-------	----	---------	--	---	---------

En la tabla que se llegó a realizar de acuerdo con el peso, aquellos pacientes con un peso menor a 5kg tiene una prevalencia de 25,00% mientras los caninos de 5-10kg presentan una mayor prevalencia con un valor de 50,00%, sin embargo, los pacientes de 10-25kg presenta una baja prevalencia al igual que los de 25-40kg, llegando hacer los de mayor peso iguales con un valor menor de 12,50%.

Con respecto a los resultados la enfermedad de *Anaplasma phagocytophilum* no interviene en el peso del animal siendo predisponente cualquier canino a adquirirla, ya que es una enfermedad contagiosa y a cualquier paciente puede llegar a ser afectado.

4.3 Prevalencia por raza

5. Tabla 9. Prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* de acuerdo con la raza

RAZA	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
CHIHUHUUA	0	0,00%	0,00%	4,30%	1	12,50%	0,32%	52,65%
FRENCH POODLE	1	1,19%	0,03%	6,46%	0	0,00%	0,00%	36,94%
GOLDEN RETRIEVER	1	1,19%	0,03%	6,46%	0	0,00%	0,00%	36,94%
HUSKY	2	2,38%	0,29%	8,34%	0	0,00%	0,00%	36,94%

LABRADOR	2	2,38%	0,29%	8,34%	0	0,00%	0,00%	36,94%
MESTIZO	74	88,10%	79,19%	94,14%	7	87,50%	47,35%	99,68%
PITBULL	3	3,57%	0,74%	10,08%	0	0,00%	0,00%	36,94%
SHIHTZU	1	1,19%	0,03%	6,46%	0	0,00%	0,00%	36,94%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

En esta investigación de acuerdo con la raza se determinó el 87,50% (7/8) casos positivos en caninos de raza mestiza, sin embargo, el 12,50% (1/8) restante pertenece a la raza de chihuahua.

Según una investigación realizada por Flores (2020), en la Provincia de Maynas Perú nos da unos resultados de un total de 384 muestras de sangre analizadas en el SNAP para detectar *Anaplasma sp*, 56 resultaron positivos (72.7% \pm 0.6 – 0.8) de raza mestiza y 21 de raza conocida resultando 27.3% \pm 0.2 – 0.4.

Cubas (2021), realizó una investigación Mediante la Prueba Rápida de ELISA (Snap 4dx plus test) en Cinco Distritos de la Provincia de San Martín (Tarapoto, La Banda de Shilcayo, Morales, Juan Guerra y Cacatachi) en la cual se tomaron a considerar 134 muestras de canes, sobre esa base se tomaron submuestras de 65 animales del distrito de Tarapoto, encontrándose que la raza no es una predisposición para la infección de *Anaplasma sp* obteniendo un p. valor = 0.394. Los mestizos y el Pit Bull Terrier Americano son los más infectados del grupo con un 14.28% de prevalencia para cada uno.

Comparando con las investigaciones de Flores y Cubas, se puede relacionar que con unos estudios se obtuvieron una mayor diversidad racial en relación con casos positivos, siendo la raza mestiza la principal afectada. En nuestra investigación se puede deber a que el mayor número de muestras sanguíneas se obtuvieron de esta raza.

5.1 Prevalencia por sexo

Tabla 10. Prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* con respecto al sexo

Sexo	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
HEMBRA	44	52,38%	41,19%	63,40%	5	62,50%	24,49%	91,48%
MACHO	40	47,62%	36,60%	58,81%	3	37,50%	.8,52%	75,51%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

Domínguez (2011), realizó un estudio utilizando el método de frotis directo de sangre con tinción de Giemsa en el cual se tomaron 560 muestras sanguíneas de caninos de la ciudad de Cuenca según el resultado obtenido equivale al 3,13% del total de muestras positivas para *Anaplasma phagocytophilum* con respecto al sexo.

Según una investigación realizada por Cubas (2021), mediante la Prueba Rápida de ELISA (Snap 4dx plus test) en Cinco Distritos de la Provincia de San Martín (Tarapoto, La Banda de Shilcayo, Morales, Juan Guerra y Cacatachi) en la cual se tomaron a considerar 134 muestras de canes, sobre esa base se tomaron submuestras de 65 animales del distrito de Tarapoto. Nos dice que la predisposición a la infección en los perros esta entre los 9 y 19 meses. Si evaluamos desde el punto de vista individual la variable sexo podemos darnos cuenta de que existe mayor porcentaje de infectados en machos (57.14%) que en hembras (42.86%).

En la tabla 10 podemos observar la distribución según el sexo del animal, se registran 62,50% (5/8) de casos positivos en hembras y el 37,50% (3/8) positivos en machos. Dádonos como análisis de resultados según el sexo que esta patología afecta a ambos sexos.

5.2 Prevalencia por edad

Tabla 11. *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum de acuerdo con la edad*

EDAD	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
ADULTO	56	66,67%	55,54%	76,58%	6	75,00%	34,91%	96,81%
CACHORRO	18	21,43%	13,22%	31,74%	0	00,00%	00,00%	36,94%
GERIÁTRICO	10	11,90%	5,86%	20,81%	2	25,00%	3,19%	65,09%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

En el presente trabajo se obtuvo como resultado el 75,00% (6/8) de casos positivos en caninos adultos, mientras que el 25,00% se dieron positivos para caninos geriátricos, siendo así su mayor prevalencia en animales mayores.

Sigüenza (2018), nos comenta que en el trabajo investigativo de la Clínica Veterinaria Pet Roussel de Guayaquil, diagnosticado mediante el método de Inmunofluorescencia Indirecta de la IgG los 100 caninos en estudio, 13 se hallaron positivos *A. phagocytophilum* y 4 de los 5 se detectaron en coinfección con *E. canis*, y con 51 caninos, 27 se hallaron positivos *A. phagocytophilum* y 19 de los 27 se detectaron en coinfección con *E. canis*. Por otro lado 29 caninos, 15 se hallaron positivos *A. phagocytophilum* y 14 de los 15 se detectaron en coinfección con *E.*

canis, y por ultimo los 7 caninos, 5 se hallaron positivos *A. phagocytophilum* mismos que presentaron coinfección con *E. canis*.

5.3 Prevalencia por zona

Tabla 12. *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum de acuerdo con la zona*

ZONA	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95 %	LS 95%
RURAL	30	35,71%	25,55%	46,92%	1	12,50%	0,32	52,65%
URBANO	54	64,29%	53,08%	74,45%	7	87,50%	47,35%	99,68%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

Según las categorizaciones de las zonas se demostró que en la zona rural existe menor prevalencia de 12,50% (1/8), y con una alta prevalencia de 87,50% (7/8) positivos para *Anaplasma phagocytophilum* en la zona urbana.

5.4 Prevalencia por mucosas

Tabla 13. *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum por presencia de mucosas anormales*

MUCOSAS	NEGATIVAS				POSITIVAS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
PÁLIDO	6	7,14%	2,67%	14,90%	0	0,00%	0,00%	36,94%
ROSADO	78	92,86%	85,10%	97,33%	8	100,00%	63,06%	100,00%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

Según los resultados obtenidos de nuestra investigación nos da una prevalencia de 100,00% (8/8) para animales con mucosas rosadas normales, lo cual se puede explicar que no todos los animales infectados pueden llegar a desarrollar o manifestar síntomas clínicos, estos pueden presentarse

sintomáticos o asintomáticos. Estas ocasiones también pueden presentarse en algunas etapas leves en las que se encuentra la enfermedad.

5.5 Prevalencia por exposición al exterior

Tabla 14. *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum en relación con la exposición del canino al exterior*

EXPOSICION	NEGATIVOS				POSITIVOS			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
DENTRO	47	55,95	44,70%	66,78%	8	100,00	63,06%	100,00%
FUERA	37	44,05%	33,22%	55,30%	0	0,00%	0,00%	36,94%
TOTAL	84	100,00%			8	100,00%		

En cuanto a los resultados obtenidos sobre la exposición de los caninos al agente infeccioso, se observó una prevalencia del 100,00% (8/8) de positividad en los animales evaluados, los cuales, según la información proporcionada por sus propietarios, permanecen la mayor parte del tiempo dentro del domicilio. Esta situación plantea dos posibles explicaciones: la primera, que la información proporcionada por los habitantes no sea completamente cierta; y la segunda, que los caninos hayan adquirido la infección de manera indirecta, posiblemente a través del contacto con personas que salen del hogar y retornan con el vector adherido a su ropa, calzado, objetos personales, o incluso por medio de otras mascotas que ingresan al entorno domiciliario.

Es importante considerar que el cantón Gualaquiza presenta una significativa actividad ganadera, lo que implica una frecuente interacción entre los animales domésticos y otros animales de producción. Además, el contacto con áreas de vegetación abundante es comunes en las zonas rurales del cantón esto podría facilitar la exposición al vector, incrementando el riesgo de infección, incluso en animales que aparentemente tienen una vida predominantemente intradomiciliaria.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

La prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en caninos recolectada en el cantón Gualaquiza realizado con el método de ELISA indirecta es de 8,70%, por lo tanto, aprobaríamos la hipótesis nula ya que nuestra prevalencia es baja.

Relacionado con el peso de los caninos obtuvimos el 50,00% (4/8) positivos de 5-10kg, mientras que el 25,00% (2/8) positivos fueron de menores a 5kg, donde se llega a identificar con la enfermedad y aumentar su riesgo.

Considerando la edad obtuvimos el 75,00% (6/8) positivos en caninos adultos y el 25,00% (2/8) positivos en animales Geriátricos, llegando a considerar que los caninos más adultos son mayormente predisponentes ya sea por la edad, sistema inmunológico o por causas inmunodepresoras, que los dejarían más expuestos a la enfermedad.

Referente a la raza se determinó que 87,50% (7/8) de casos son positivos y pertenecen a la raza de mestizos, en cuanto al 12,50% (1/8) positivos son de chihuahua, siendo con mayor prevalencia y facilidad de adquirir la enfermedad los mestizos.

En cuanto al sexo del animal se reconoció un 62,50% (5/8) positivos a hembras, y un 37,50% (3/8) positivos a machos, esto se puede concluir que afecta a ambos sexos.

En cuanto a la zona, se indicó el 87,50% (7/8) positivos a la zona urbana siendo el de mayor prevalencia.

De acuerdo con la presencia de mucosas anormales el 100,00% (8/8) son positivas a mucosas rosado normal, estos casos pueden pasar cuando el animal aún no ha desarrollado clínicamente la enfermedad, o está en proceso de infección.

Anaplasma phagocytophilum es un agente patógeno de carácter parasitario, transmitido principalmente por garrapatas del género *Ixodes*. Esta enfermedad reviste especial importancia en el ámbito de la salud pública, debido a su capacidad de afectar no solo a caninos, sino también a diversos mamíferos domésticos y silvestres, incluyendo al ser humano, lo que la clasifica como una zoonosis.

Los vectores responsables de su transmisión suelen encontrarse en regiones de clima cálido y húmedo, características presentes en la zona donde se llevó a cabo la presente investigación, la Provincia de Morona Santiago, específicamente en el cantón Gualaquiza. Estas condiciones ambientales favorecen la proliferación de las garrapatas y, por tanto, incrementan el riesgo de transmisión de la enfermedad tanto a animales como a personas.

6.2 Recomendaciones

Brindar la información correspondiente de casos positivos a los propietarios, debido que son animales de compañía puede llegar a complicarse la enfermedad y causar problemas.

Promover a los propietarios a controles de pastillas antiparasitarias y repelentes para su bienestar del animal.

Realizar fumigaciones en zonas que estén con abundante maleza, para controlar la propagación de vectores.

Recomendar a los propietarios hacerles pruebas más específicas a sus mascotas que fueron positivos, para identificar la presencia de la enfermedad.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alava, E., Gavilanez, M., y Mendoza, G. (2024). Seroprevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en perros del cantón Durán provincia del Guayas, Ecuador. *Revista Científica Ecológica Agropecuaria RECOA*, 3 (1). doi: 10.53591/recoa.v3i1.1707
- Álvarez, K. (2015). *Detección serológica de agentes de la familia Anaplasmataceae en perros de las comunas de Puchuncaví y Quintero, región de Valparaíso, Chile*. (Tesis de grado). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Aramini, M. (2007). *Introducción Bioética*. Bogotá, Colombia: San Pablo.
- Aydin, S., Emre, E., Ugur, K., Aydin, M., Sahin, I., Cinar, V. & Akbulut, T. (2015). An overview of ELISA: a review and update on best laboratory practices for quantifying peptides and proteins in biological fluids. *Journal of international Medical Research*, 53 (2). doi: 10.1177/03000605251315913
- Azevedo, H. (2011). *Diagnóstico molecular de Anaplasma phagocytophilum (Foggie, 1949) em cães domésticos e carrapatos de áreas urbanas e rurais na microrregião de Itaguaí Rio de Janeiro*. (Tesis de grado). Universidade Federal rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- Cardona, J., Zapata, J., y Urán, J. (2019). Sistematización de la prevalencia de *Anaplasma* spp., en caninos y metanálisis de *A. platys* y *A. phagocytophilum*. *Revista MVZ Córdoba*, 24 (2), 2. doi:10.21897/rmvz.1310
- Carrade, D., Foley, J., Borjesson, D., & Sykes, J. (2009). Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23 (6), 1-2. doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0384.x
- Coll, J. (1993). *Técnicas de diagnóstico en virología*. Madrid: Diaz de Santos.
- Coronado, C. (2014). *Identificación de Anaplasma phagocytophilum en caninos de Culiacán, Sinaloa*. (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán Rosales, Sinaloa, México.
- Cubas, R. (2021). *Determinación de la Prevalencia de Anaplasma sp en Caninos Mediante la Prueba Rápida de ELISA (Snap 4dx plus test) en Cinco Distritos de la Provincia de San Martín (Tarapoto,*

- La Banda de Shilcayo, Morales, Juan Guerra y Cacatachi*). (Tesis de grado). Universidad Nacional de San Martín- Tarapoto, Tarapoto, Perú.
- Domínguez, G. (2011). *Prevalencia e Identificación de Hemoparásitos (Ehrlichia canis, Babesia Canis y Anaplasma phagocytophilum) en perros de la Ciudad de Cuenca* (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.
- Dugat, T., Lagrée, A., Maillard, R., Boulouis, H., & Haddad, N. (2015). Opening the black box of *Anaplasma phagocytophilum* diversity: current situation and future perspectives. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5 (61), 3. doi: 10.3389/fcimb.2015.00061
- Fariñas, F., y Astorga, R. (2019). *Zoonosis transmitidas por animales de compañía. Una guía de consulta para el profesional sanitario*. Zaragoza, España: Amazing books.
- Flores, N. (2020). *Prevalencia de Anaplasmosis canina en caninos con Trombocitopenia en la Provincia de Mayas 2018*. (Tesis de grado). Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Chincha.
- Gallo, M. (2023). *Anaplasmosis canina: clasificación, presentación clínica y nuevas tendencias diagnósticas y terapéuticas de la enfermedad*. (Tesis de grado). Universidad cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.
- Gilchrist, L., Fuentes, G., Mart, C., López, R., Duveiller, E., Singh, R., Henry, M., y García, A. (2005). *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada*. Mexico: Cimmyt.
- Guerrero, W. y Lazo, K. (2019). “*Detección de alteraciones hematológicas en perros diagnosticados con Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum en etapa subclínica*” (Tesis de gado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.
- Guillot, J., y Chabanne, L. (2016). *Guía de enfermedades transmitidas por vectores en perros y gatos*. Zaragoza, España: Grupo Asis.
- Jevring, C., y Catanzaro, T. (2002). *Cuidados de salud para el bienestar de perros y gatos*. Madrid, España: Harcourt.

- Nadolny, R., Toliver, M., Gaff, H., Snodgrass, J., & Robbins, R. (2021). Focus Stacking Images of Morphological Character States for Differentiating the Adults of *Ixodes affinis* and *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in Areas of Sympatry. *Entomological society of America*, 58 (4). Recuperado de: <https://academic.oup.com/jme/article/58/4/1941/6231888>
- NovaTec. (2020). VetLine Anaplasma ELISA. Dietzenbach, Germany. Recuperado de: [https://cromakit.es/tienda/veterinaria/test-elisa-veterinaria/vetline-anaplasma-elisa-kit/#:~:text=El%20enzimoinmunoensayo%20de%20NovaTec%20VetLine,Anaplasma%20en%20suero%20de%20veterinario.&text=La%20determinaci%C3%B3n%20inmunoenzim%C3%A1tica%20cualitativa%20de,Enzyme%2Dlinked%20Immunsorbent%20Assay\)](https://cromakit.es/tienda/veterinaria/test-elisa-veterinaria/vetline-anaplasma-elisa-kit/#:~:text=El%20enzimoinmunoensayo%20de%20NovaTec%20VetLine,Anaplasma%20en%20suero%20de%20veterinario.&text=La%20determinaci%C3%B3n%20inmunoenzim%C3%A1tica%20cualitativa%20de,Enzyme%2Dlinked%20Immunsorbent%20Assay)).
- Paico, C. (2018). *Prevalencia de anaplasmosis en caninos atendidos en la clínica veterinaria Pet's Park, La Victoria, septiembre 2016- septiembre 2017*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque.
- Peñaloza, D., y Ortiz, G. (2015). *Estudio retrospectivo de los casos positivos de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum y Dirofilaria immitis en caninos, en la Clínica Veterinaria Animales de Compañía de la Universidad Cooperativa de Colombia, entre enero de 2013 y julio de 2014*. (Tesis de grado). Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.
- Restrepo, K. (2017). *Anaplasmosis canina: caso clínico*. (Tesis de grado). Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia.
- Rojas, Ó. (2006). *Inmunología (de memoria)*. México: Editor medica panamericana S.A. DE C.V.
- Sigüenza, D. (2018). *Prevalencia de Anaplasma phagocytophilum en caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Pet Roussel de Guayaquil, diagnosticado mediante Inmunofluorescencia Indirecta de la IgG* (Tesis de grado). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Suárez, I. (2017). *Metodología ELISA para estudiar la estabilidad de medicamentos biotecnológicos* (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, Granada.

- Steward, K. (2013). An Introduction to the Enzyme- Linked Immunosorbent Assay – ELISA Test. Technology Networks. Recuperado de: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/an-introduction-to-the-enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa-test-350024#D1>
- Stuen, S., Granquist, E., y Silaghi, C. (2013). *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Review Article*, 3 (31),1-2. doi: 10.3389/fcimb.2013.00031
- Sykes, J. (2014). *Canine and Feline infectious diseases*. California: Elsevier Saunders.
- Tasayco, W., y Vásquez, J. (2021). Frecuencia de *Anaplasma* sp. y *Ehrlichia* sp. en caninos con sintomatología compatible con enfermedad hemoparasitaria en Huánuco, Perú. *Salud tecnología Veterinaria*, 9 (2), 77. doi: 10.20453/stv.v9i2.4110
- Tizard, I. (2009). *Introducción a la inmunología veterinaria*. Barcelona, España: Elsevier.
- Ulloa, M. (2018). “*Incidencia de Anaplasmosis en caninos*”. (Tesis de grado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- Wolf, M., Watkins, H., & Schwan, W. (2020). *Ixodes scapularis*: Vector to an Increasing Diversity of Human Pathogens in the Upper Midwest. *Author manuscript*, 119 (1), 2.

8. ANEXOS

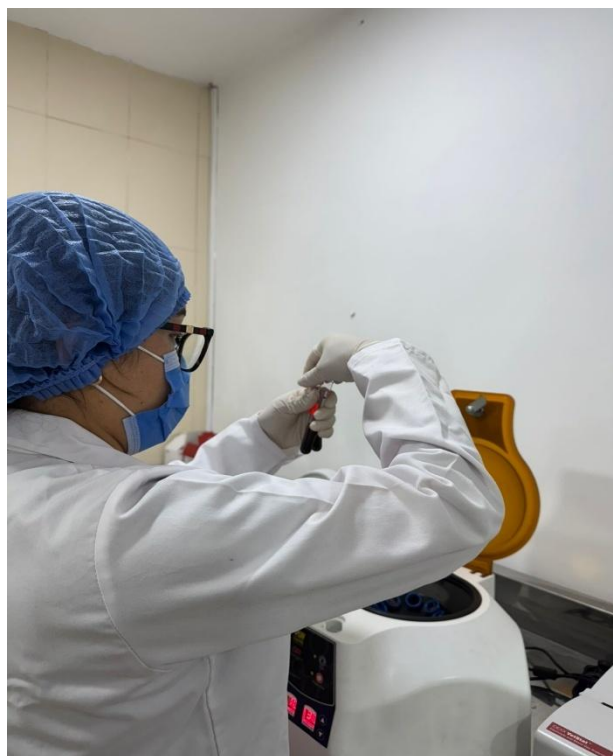
 Anexo 1 *Ficha clínica del paciente*

N° De Paciente:	
Datos Del Propietario	
Nombre Del Propietario	
Cédula	
Celular	
Correo	
Datos Del Paciente	
Nombre	Edad
Especie	Sexo
Zona Donde Vive	Interacción
Constantes Fisiológicas	
Peso	FC
FR	Mucosas
TLLC	Condición Corporal
Deshidratación	Estado

 Anexo 2 *Toma de muestras a los caninos en el cantón Gualaquiza.*



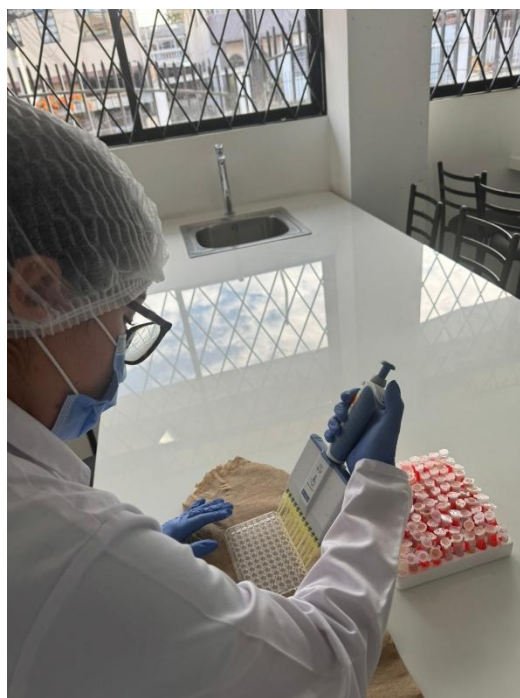
Anexo 3 Centrifugación de sangre entera



Anexo 4 *Extracción de suero de muestras sanguíneas*



Anexo 5 *Elaboración de la Técnica de ELISA*



Anexo 6 Resultados de ELISA

Muestra	Nombre	Procedencia	Peso	Raza	Sexo	Edad	Zona	Interacción	Prevalencia Total
1	AFRA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	GERIÁTRICO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
2	PRINCESA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	GERIÁTRICO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
3	PITUFO	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
4	FIONA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
5	MAX	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
6	MICO	GUALAQUIZA	5-10 KG	HUSKY	MACHO	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
7	ESTEYCI	GUALAQUIZA	< 5 KG	CHIHUAHUA	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
8	BACNER	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	GERIÁTRICO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
9	DURNO	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
10	SOL	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
11	SNUPA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
12	LUNA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
13	HARRY	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
14	PIRATA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
15	DONA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
16	PHILP J. FRAY	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
17	HANNA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
18	NEGRA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
19	NENA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
20	NEGRA	GUALAQUIZA	5-10 KG	FRENCH POODLE	HEMBRA	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
21	LUNA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
22	CUCHA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
23	CUCHO	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
24	TAMARA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
25	GIOSA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
26	TONY	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
27	REINA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
28	NEGRO	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
29	GORDA	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
30	TOBBY	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
31	MILA	GUALAQUIZA	25-40 KG	LABRADOR	HEMBRA	CACHORRO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
32	CHESTER	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	GERIÁTRICO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
33	REX	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	DENTRO	POSITIVO
34	COKI	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
35	SOFI	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
36	RICHARD	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
37	ZAMBA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
38	ZOE	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
39	FEDERICO	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
40	CANELA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
41	PRINCESA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
42	PELUSA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
43	SCOOT	GUALAQUIZA	10-25 KG	PITBULL	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
44	CAMILA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	GERIÁTRICO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
45	MAX	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	GERIÁTRICO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
46	LALO	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
47	PUMBA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
48	COCO	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
49	LILA DEL CISNE	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
50	MAX	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	GERIÁTRICO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
51	ESTRELLA	GUALAQUIZA	< 5 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
52	CARO	GUALAQUIZA	10-25 KG	HUSKY	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
53	MAX	GUALAQUIZA	25-40 KG	PITBULL	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
54	CHUCA	GUALAQUIZA	25-40 KG	GOLDEN RETRIEVER	HEMBRA	GERIÁTRICO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
55	NEGRO	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
56	PERLA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	POSITIVO
57	CHESTER	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	GERIÁTRICO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
58	MINA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
59	ROCO	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
60	CACUAL	GUALAQUIZA	5-10 KG	SHIH TZU	MACHO	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
61	MAX	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
62	QUESO	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
63	ARENITA	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
64	JACK	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
65	ZEUS	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
66	PETRA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
67	GORDO	GUALAQUIZA	25-40 KG	PITBULL	MACHO	GERIÁTRICO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
68	VALU	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
69	MOLLY	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
70	TITINA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
71	PINKI	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
72	PININA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	GERIÁTRICO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
73	LOKI	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
74	LUNA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
75	LUNA	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
76	CELESTE	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
77	VICKY	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
78	TOBBY	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
79	PUCA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
80	JEAN	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
81	CONAN	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
82	OSA	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	HEMBRA	GERIÁTRICO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
83	SIMBA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	DENTRO	NEGATIVO
84	OSO	GUALAQUIZA	10-25 KG	LABRADOR	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
85	PANDA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
86	TARJOL	GUALAQUIZA	10-25 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	RURAL	DENTRO	NEGATIVO
87	PACO	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
88	GINA	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	ADULTO	RURAL	FUERA	NEGATIVO
89	BRUNO	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	MACHO	CACHORRO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
90	SOFIA	GUALAQUIZA	5-10 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
91	LOGAN	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	MACHO	ADULTO	URBANO	FUERA	NEGATIVO
92	KIARA	GUALAQUIZA	25-40 KG	MESTIZO	HEMBRA	CACHORRO	RURAL	FUERA	NEGATIVO