



SECRETARÍA
DE EDUCACIÓN
GOBIERNO DE CHIAPAS

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN
SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN
ESTATAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN SUPERIOR



UNIVERSIDAD DEL SURESTE

CLAVE: 07PSU0075W

TESIS

IDENTIFICACIÓN Y PREVALENCIA DE MYCOPLASMA SPP POR FROTIS SANGUÍNEO, EN GATOS ATENDIDOS EN LA CLÍNICA VETERINARIA PET'S LIFE DEL MUNICIPIO DE TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS, MÉXICO.

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

PRESENTADO POR:

DANIEL BEZARES AGUILAR

ASESOR DE TESIS:

MTRO. MAESTRO MALAQUÍAS GARCÍA PÉREZ

ASESOR EXTERNO:

MVZ. MC MARCOS JAVIER SÁNCHEZ PÉREZ

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS; ABRIL DE 2023

Índice

Índice de contenido

UNIVERSIDAD DEL SURESTE.....	¡Error! Marcador no definido.
Índice	1
Índice de contenido.....	2
Índice de ilustraciones	5
Índice de tablas	5
Presentación del proyecto	7
Resumen	7
Título descriptivo del proyecto	7
1. Formulación del problema.....	7
1.1 Preguntas de investigación.....	8
1.2 Objetivos de la investigación	8
1.3 Justificación	9
1.4 Beneficios científicos esperados.....	10
1.5 Limitaciones.....	10
2. Marco de referencia	11
2.1 Fundamentos teóricos	11
2.1.1 Mycoplasma	11
2.1.1.1 Antecedentes.....	11
2.1.1.2 Definición.....	11
2.1.1.3 Taxonomía.....	12

2.1.1.4 Clasificación.....	13
2.1.1.5 Morfología.....	14
2.1.1.6 Patogenia	14
2.1.1.7 Signos clínicos.....	16
2.1.1.8 Transmisión	20
2.1.1.9 Diagnóstico.....	22
2.1.2. Técnica Frotis Sanguíneo.....	24
2.2 Antecedentes del problema	27
2.3 Hipótesis.....	27
2.4 Variables de investigación	27
3. Metodología	28
3.1 Diseño de técnicas de recolección de información.....	28
3.2 Población y muestra	28
3.2.1 Localización del área de estudio.....	31
3.3 Técnica de análisis	33
3.4 Guía de trabajo de campo	33
3.5 Diagrama de flujo del proceso	33
4. Aspectos administrativos	33
4.1 Tabla de requerimientos	33
4.1.2 Requerimientos Humanos	34
4.2 Cronograma de actividades.....	36
Diagrama de Gantt	36
4.3 Bioética en investigación veterinaria.....	37
Resultados.....	37
Bibliografías	37

Bibliografía.....	37
Anexos.....	38
Atlas de hematología clínica	38

Índice de ilustraciones

Ilustración 1 Palidez severa de mucosas en un gato con anemia hemolítica por <i>Mycoplasma haemofelis</i>	17
Ilustración 2 Palidez severa de conjuntiva en un gato con anemia.....	17
<i>Ilustración 3</i>	32

Índice de tablas

<i>Tabla 1</i> . Requerimientos Tecnológicos y Materiales.....	34
<i>Tabla 2</i> . Requerimientos Humanos.....	34
<i>Tabla 3</i> . Requerimientos Financieros	35
<i>Tabla 4</i> . Presupuesto total de Requerimientos	36
<i>Tabla 5 Diagrama de Gantt</i>	36

Presentación del proyecto

Identificación

Resumen

Título descriptivo del proyecto

Identificación y prevalencia de *Mycoplasma* spp por frotis sanguíneo, en Gatos atendidos en la clínica veterinaria Pet's Life del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Identificación y prevalencia de inclusiones en células sanguíneas para el diagnóstico de *Mycoplasma* spp. por técnica de frotis sanguíneo, en Gatos atendidos en la clínica veterinaria Pet's Life del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

1. Formulación del problema

En el mes de marzo de año 2022 la clínica veterinaria implementó campañas de esterilización de gatos a bajo costo; cabe aclarar, que la disminución del costo se debe a que no incluyen los estudios preoperatorios y el propietario tiene la oportunidad de decidir pagar los estudios u omitirlos, sin embargo, con esta decisión acepta los riesgos que esto implica. Derivado de esta acción promocional, el número de esterilizaciones de gatos se incrementó y se observaron incidencias en pacientes que presentaban complicaciones en la recuperación postquirúrgica, así mismo manifestaron signos como letargo, anorexia o hiporexia, deshidratación o pérdida de peso. En muy pocos casos el

propietario autorizó realizar una Biometría Hemática y en la mayoría de resultados indicaron que cursaban un cuadro anémico.

Por lo anterior se correlacionó la anemia, las complicaciones en la recuperación postquirúrgica y los signos mencionados en el párrafo anterior; y a partir de esta información se presume que hay una alta probabilidad de que los gatos puedan estar infectados por una hemobacteria, para este caso se considera *Mycoplasma spp.*

1.1 Preguntas de investigación

- 1.-¿Qué porcentaje de la muestra resultó positivo a *Mycoplasma ssp.*?
- 2.-¿Existe un tratamiento para la curar la Mycoplasmosis en gatos?
- 3.-¿Cuál es la relación entre los pacientes positivos a *Mycoplasma* y las complicaciones postquirúrgicas?

1.2 Objetivos de la investigación

Generales

- Identificación y prevalencia de *Mycoplasma SPP* por técnica de frotis sanguíneo, en Gatos domésticos atendidos en la clínica veterinaria Pet's Life del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Específicos

- Recolectar muestras de sangre periférica de los pacientes gatos
- Realizar frotis sanguíneo con tinción Diff-Quik de las muestras recolectadas

- Registrar hallazgos y resultados
- Organizar los resultados en tablas de frecuencias
- Representar los datos en gráficas
- Realizar la interpretación de las tablas y gráficas

1.3 Justificación

La siguiente investigación se lleva a cabo debido a que existe muy poca información documentada sobre la prevalencia de Mycoplasma en Gatos, y en el caso del municipio de Tuxtla Gutiérrez no existe ningún tipo de datos sobre el tema.

La información, datos, conclusiones, recomendaciones y resultados que se obtengan al finalizar la presente investigación representa una fuente de consulta documentada para los médicos veterinarios zootecnistas que se dedican a la clínica de Gatos, esto permitirá tener información documentada disponible para realizar diagnósticos certeros que permitirán diseñar tratamientos en beneficio de los pacientes.

Además para la clínica Pet Life's representa un área de oportunidad para realizar una prueba preoperatoria rápida y de bajo costo, que además forme parte del proceso de la esterilización de los gatos hembras y machos, siempre orientados hacia el bienestar y salud de los pacientes.

1.4 Beneficios científicos esperados

- Conocer la prevalencia de Mycoplasma spp en pacientes gatos de la clínica pets life para poder utilizar los datos como referencia del municipio de Tuxtla Gutiérrez en beneficio de otras investigaciones.
- Con la información de los resultados es posible realizar una estrategia en la clínica pet's life para disminuir las complicaciones postquirúrgicas en gatos

1.5 Limitaciones

- Autorización del propietario para realizar el frotis sanguíneo
Existe la posibilidad de que algunos propietarios no autoricen la extracción de la muestra sanguínea para llevar a cabo el estudio; esto puede retrasar el proceso de la obtención de muestras y el todo el trabajo de investigación en general.
- Manejo y conservación de las muestras
Se debe considerar que hay un riesgo de alteración de las muestras por error humano en la técnica de extracción de la muestra, así como en la ejecución del frotis sanguíneo y el proceso de tinción.
- Disminución en la afluencia de pacientes para esterilización
Es probable que en la clínica pet's life disminuya la afluencia de pacientes gatos para esterilización, ya que no se tiene control de los factores que intervienen en la demanda de este servicio.

2. Marco de referencia

2.1 Fundamentos teóricos

2.1.1 Mycoplasma

2.1.1.1 Antecedentes

Los micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) fueron descritos por primera vez en Alemania en 1928. Hasta hace algunos años solo se conocía a nivel mundial la presencia de *Mycoplasma haemocanis*. Por su parte, "Candidatus *Mycoplasma haematoparvum*" (CMhp) se encontró por primera vez en un perro esplenectomizado que presentó anemia debido al tratamiento con quimioterapia contra leucemia.

El término micoplasmas hemotrópicos o hemoplasmas, comprende a un grupo de bacterias conocidas con antelación como *Haemobartonella* o *Eperythrozoon*, pero se reclasificaron al género *Mycoplasma* debido a su secuenciación con el gen 16S rDNA. Estas hemobacterias infectan los eritrocitos de animales domésticos, de laboratorio y silvestres, la signología que pueden causar incluyen desde hemolisis aguda, anorexia, letargia, pérdida de peso hasta la muerte súbita (Álvarez et al., 2018; Messick et al., 2012; Willi et al., 2007).

2.1.1.2 Definición

Los micoplasmas hemotrópicos (hemoplasmas) se han descrito como bacterias pleomórficas Gram negativas, que se encuentran adheridas a la superficie de los eritrocitos de una amplia variedad de especies de mamíferos (Messick, 2004).

Los hemoplasmas son organismos no cultivables, con un gen diminuto que los limita estrictamente a depender de una célula hospedero, son pleomórficos (tienen formas anulares y de cocos), que carecen de pared celular y pueden ser visualizados en sangre periférica de los hospederos infectados. Tienen un tamaño aproximado de 0.3 a 0.8 μm de diámetro, que les permite atravesar membranas (Soares; 2016; Nascimento et al; 2012; Chalker, 2005).

Los micoplasmas hemotrópicos son organismos bacterianos sin paredes que se adhieren y crecen en la superficie de los glóbulos rojos. Son gramnegativos y no resistentes a los ácidos y, a pesar de numerosos intentos, el cultivo en medios artificiales no ha tenido éxito (Greene, 2012)

2.1.1.3 Taxonomía

La posición taxonómica de Eperythrozoon y Haemobartonella han sido cuestionadas durante mucho tiempo. De manera original se clasificaron dentro del orden Rickettsiales, después se reclasificaron dentro del orden Mycoplasmatales y familia Mycoplasmataceae, género Mycoplasma o familia Incertae Sedis, Eperythrozoon o Haemobartonella, sobre la base del gen 16S rDNA de análisis de secuencias y que les dio el nombre de Haemoplasma. Los hemoplasmas son hasta ahora bacterias no cultivables lo que dificulta su caracterización filogenética (Hicks et al., 2014).

Estos organismos epiteliales fueron clasificados como rickettsia inthe genera Haemobartonella y Eperythrozoon durante muchos años; sin embargo, resulta de la secuenciación del ARNr 16S (ARN ribosómico) y los genes de ARN de ribonucleasa (RNasa) P indican que son micoplasmas.

En consecuencia, el Haemobartonella y Eperitrozoo géneros han sido descartados, y estos organismos hemotrópicos se han trasladado al género Mycoplasma. Esta transferencia ha generado cierta polémica. Debido a las propiedades biológicas específicas y los datos de secuencia, algunos

argumentan que los mycoplasmas hemotrópicos deberían formar un género separado de *Mycoplasma*. No obstante, los nombres de especies designadas a menudo incluyen el prefijo "haemo-" (p. Ej., *Mycoplasma haemofelis*) para identificar estos mycoplasmas únicos que se adhieren a los eritrocitos, mientras que los nuevos taxones descritos de forma incompleta reciben un Candidatus designación. Hemoplasmas se ha propuesto como un nombre general para estos mycoplasmas hemotrópicos. Los mycoplasmas hemotrópicos contienen ADN y ARN y se replican por fisión binaria. Pueden tener forma de varilla, esférica o de anillo y se encuentran individualmente o en cadenas en el glóbulo rojo.

2.1.1.4 Clasificación

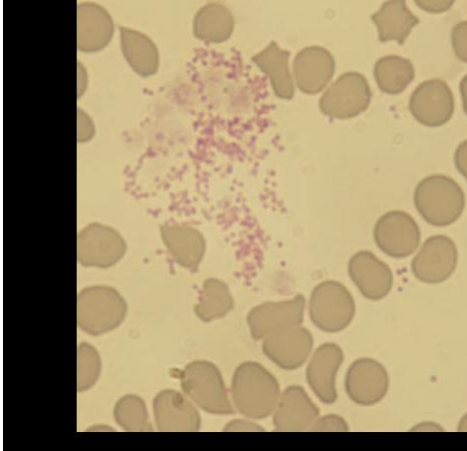
En gatos, los primeros estudios describieron dos hemoplasma distintas especies: el aislado de Ohio (forma grande) y el de California aislado (forma pequeña) de *Haemobartonella felis* (Berent et al. al., 1998; Foley et al., 1998; Messick et al., 1998).

A lo largo de con la reclasificación sugerida dentro del género *Mycoplasma*, estos aislamientos fueron renombrados *Mycoplasma haemofelis* (Mhf) (Neimark et al., 2001) y 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' (CMhm) (Foley und Pedersen, 2001).

En 2002, un tercer hemotrópico. La especie de micoplasma se identificó en un laboratorio de propiedad privada, en un gato suizo que presentó anemia hemolítica; esta tercera especie fue designada 'Candidatus *Mycoplasma turicensis*' (CMT) (Willi et al., 2005; Willi et al., 2006a)

Recientemente, y gracias al desarrollo de nuevas técnicas moleculares, *Haemobartonella felis* fue reclasificada como un micoplasma hemotrópico con tres especies diferentes: *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* y *Candidatus Mycoplasma turicensis*. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

2.1.1.5 Morfología



Gran cantidad de agregados de *Mycoplasma felis*. Fotografía cedida por Mariano Morales

2.1.1.6 Patogenia

El periodo de incubación oscila entre 6 y 17 días posinfección.

La enfermedad puede dividirse en fase aguda, fase de recuperación y fase de portador.

Fase aguda

se corresponde con el incremento máximo de microorganismos en sangre y la producción de signos clínicos, que dependerán del hemoplasma implicado. Durante esta fase se producen fluctuaciones en el número de hemoplasmas circulantes en sangre, pero se desconoce el mecanismo responsable de tales variaciones. Se ha estipulado que puedan ser órganos como el bazo o el pulmón los responsables del secuestro de hemoplasmas, pero no se ha conseguido probar de forma consistente. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Fase de recuperación

Se pueden detectar hemoplasmas en sangre pero, en el caso de que se haya producido una anemia, el hematocrito comienza a recuperarse.

Fase de portador

el hematocrito es normal y no hay signos clínicos, pero se detectan hemoplasmas en sangre.

un mismo gato se producen frecuentemente coinfecciones con dos o incluso con los tres hemoplasmas.

Portadores crónicos

Los gatos pueden permanecer infectados de forma crónica con hemoplasmas, por un periodo indeterminado de tiempo, que puede llegar a ser de por vida en algunos casos, y la reactivación puede ocurrir en cualquier momento ante una inmunosupresión, una neoplasia o infecciones víricas.

Anteriormente, se consideraba que las hemoplasmosis crónicas se producían cuando los gatos no eran tratados con antibióticos, pero un reciente estudio ha detectado la infección crónica mediante pruebas de PCR en gatos a pesar de haber sido tratados con el antibiótico doxiciclina, hasta 6 meses después de la infección inicial y resolución de sus síntomas.

Estos gatos portadores tienen hematocritos normales y los hemoplasmas no pueden detectarse en sus frotis sanguíneos.

Se está intentado identificar qué tejidos corporales u órganos actúan como lugares de secuestro de los hemoplasmas durante la infección crónica. De los órganos estudiados, el bazo y el pulmón fueron los que mayor número de

copias de hemoplasmas tenían. Se ha descrito un caso de granulomas pulmonares asociado a anemia leve (hematocrito de 20%), provocados por *M. haemofelis* (detectado a través de punción pulmonar y técnicas de PCR). (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

2.1.1.7 Signos clínicos

El cuadro clínico puede variar porque se puede manifestar desde infecciones asintomáticas hasta anemia hemolítica inmunomediada aguda que puede producir letargo, anorexia, deshidratación, pérdida de peso, muerte súbita o por anemia crónica sutil caracterizada por infertilidad, inmunosupresión y mayor susceptibilidad a otras infecciones. Es de destacar que los organismos que se parecen morfológicamente a micoplasmas hemotrópicos también se han detectado en la sangre de los humanos (Blanco et al., 2005; Groebel et al., 2009).

Los micoplasmas hemotrópicos provocan cuadros de anemia que varía entre severa y subclínica, dependiendo de la especie involucrada y la fase de la infección.

Los gatos anémicos se encuentran deprimidos, anoréxicos, con taquicardia, taquipnea, mucosas pálidas y pueden tener fiebre en las fases agudas. Pueden presentar hepato- y esplenomegalia junto con adenomegalia generalizada. Algunos gatos pueden comer arena de su bandeja o bien presentar prurito.

Ilustración 1 Palidez severa de mucosas en un gato con anemia hemolítica por Mycoplasma haemofelis.



Ilustración 2 Palidez severa de conjuntiva en un gato con anemia



Anemia hemolítica

Generalmente, la infección por hemoplasmas produce una anemia hemolítica por hemólisis extravascular, aunque hay casos descritos con hemólisis intravascular. La anemia no será regenerativa hasta que haya una respuesta adecuada de la médula ósea, lo que ocurre entre los 3 y 5 días siguientes. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Siguen sin conocerse exactamente los mecanismos que inducen la anemia hemolítica: la adhesión de los hemoplasmas a la superficie de los eritrocitos produce un daño directo sobre su membrana que les hace tener un menor tiempo de vida. Esta alteración en la membrana del eritrocito junto a la adhesión de los hemoplasmas induce, además, la producción de anticuerpos frente a eritrocitos, que eran hasta la fecha considerados como los responsables directos de la anemia hemolítica, pero que en un estudio reciente se ha comprobado que aparecen posteriormente al inicio de la anemia, sugiriendo que no son ellos los responsables directos de ésta. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Existen varios factores que pueden potenciar la capacidad patogénica de los hemoplasmas:

- La edad parecer ser un factor de riesgo en cuanto a la severidad de la anemia provocada por *M. haemofelis*, debido posiblemente a un sistema inmunitario todavía inmaduro en animales jóvenes.
- Gatos machos con acceso al exterior que sufran abscesos por mordedura.
- Las coinfecciones con las diferentes especies de hemoplasmas tienen un efecto potenciador de su capacidad patogénica.
- La coinfección con otros patógenos o patologías que por sí mismos pueden ser causantes directos de un proceso de anemia, pueden reactivar los hemoplasmas en gatos portadores. Además, los hemoplasmas pueden ser factores decisivos en la progresión de la enfermedad causada por retrovirus o en la progresión de neoplasias o enfermedades inmunomediadas.

Las coinfecciones o patologías asociadas con más frecuencia a la infección por hemoplasmas son:

- Virus de la leucemia felina.
- Virus de la inmunodeficiencia felina.
- Virus de la peritonitis infecciosa felina.
- *Bartonella henselae*.
- Neoplasias (linfoma, leucemias). (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Infección por *Mycoplasma haemofelis*

La mayoría de los gatos que sufren una infección por *Mycoplasma haemofelis* desarrollan una anemia severa durante la fase aguda, con hematocritos inferiores al 15%, que puede llegar a ser mortal. El pico máximo de anemia se sitúa alrededor del día 15 posinfección y se corresponde con el mayor número

de copias en sangre de *M. haemofelis* detectadas mediante rt-PCR. Los gatos coinfectados con virus de la leucemia felina o inmunodeficiencia, desarrollan anemias más graves. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Infección por Candidatus *Mycoplasma haemominutum*

La infección única por Candidatus *M. haemominutum* no se asocia a la producción de anemia o signos clínicos, aunque sí se ha observado una reducción del hematocrito tras su infección, lo que indica un efecto sobre los glóbulos rojos. No obstante, en el caso de infectar a gatos inmunodeprimidos, tratados con inmunosupresores o con quimioterapia, o ante coinfecciones con retrovirus o con Candidatus *M. turicensis* o *Mycoplasma haemofelis*, origina cuadros de anemia de severa a moderada, con cuadros de fiebre, anorexia y letargia variables. (Palmero Colado & Carballés Pérez, 2010)

Infección por Candidatus *Mycoplasma turicensis*

La infección única por Candidatus *M. turicensis* no provoca cuadros de anemia ni ningún otro signo clínico. Sólo los gatos coinfectados con Candidatus *M. haemominutum* o con *M. haemofelis*, o bien los gatos inmunodeprimidos, muestran una disminución significativa del hematocrito.



Ictericia en las mucosas de un gato con anemia hemolítica aguda severa.

2.1.1.8 Transmisión

La transmisión puede ocurrir a través de sangre contaminada, ya sea por transfusiones sanguíneas o interacciones agresivas. Por otra parte, se considera que los artrópodos hematófagos tales como garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) y pulgas pueden fungir como vectores, también se ha descrito que los ácaros (*Dermanyssus gallinae*) pueden jugar un papel como vectores mecánicos en la transmisión de estos patógenos (Willy et al., 2010).

Su forma de transmisión sigue siendo bastante desconocida. Hasta la fecha se han realizado numerosos estudios sobre su capacidad de transmisión a través de picaduras de artrópodos, por contacto directo con gatos infectados o a través de transfusiones:

a). Transmisión por picadura de artrópodos:

Mediante técnicas de rt-PCR (PCR en tiempo real), se ha comprobado la presencia de *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* y *Candidatus Mycoplasma turicensis* en pulgas y heces de pulgas, recogidas de gatos infectados de forma natural y experimental.

En garrapatas recogidas de gatos infectados, aunque de forma muy aislada, se han obtenido resultados PCR positivos. Sin embargo, no se ha obtenido ningún resultado PCR positivo en garrapatas recogidas de la vegetación.

Se considera, por tanto, que el papel de las garrapatas en la transmisión de los micoplasmas, es mucho menos importante que el de la pulga.

b). Transmisión directa entre gatos:

Un reciente estudio ha comprobado la presencia de ADN de hemoplasma en la saliva y las heces de gatos infectados experimentalmente por *Candidatus Mycoplasma turicensis*, en las primeras semanas tras la infección.

Sin embargo, no se pudo aislar de la saliva y heces de gatos infectados de forma crónica, a pesar de mostrar altos niveles de micoplasmas hemotrópicos en sangre.

Este hallazgo puede indicar que los micoplasmas hemotrópicos son excretados por la saliva y heces de gatos infectados en la fase temprana de la infección, pero no por portadores crónicos.

La conducta social de lamidos entre gatos o el hecho de compartir comederos parece no ser suficiente para una transmisión eficaz de los hemoplasmas presentes en la saliva. En cambio, los comportamientos agresivos con

mordeduras parecen ser necesarios para una transmisión eficiente, ya que son más frecuentes las infecciones en gatos de exterior que hayan sufrido abscesos por mordedura. Además, se sigue investigando su posible potencial zoonótico debido a que puede transmitirse eficazmente por mordedura.

c). Transmisión a través de transfusiones:

Ha quedado demostrada la transmisión de hemoplasmas a gatos sanos tras la transfusión de sangre de gatos infectados, almacenada durante un tiempo variable en el conservante CPDA-1, utilizado en las bolsas de transfusión.

La prevalencia de hemoplasmas en sangre de donantes alcanzó el 12% en las sangres obtenidas de gatos que vivían en comunidades felinas (albergues) con acceso al exterior y con exposición a pulgas

Estos hallazgos permiten recomendar que los gatos utilizados como donantes sean testados para las distintas especies de hemoplasmas mediante PCR.

2.1.1.9 Diagnóstico

Identificación de hemoplasmas en frotis sanguíneo

Se visualizan en la superficie de los eritrocitos como un punteado azul. Aparecen sueltos, en parejas o bien en cadenas. La tinción de Wright y la Diff Quick son aceptables para la tinción y visualización de hemoplasmas.

La sensibilidad del diagnóstico de hemoplasmas mediante el frotis es tan solo del 30%. Requiere experiencia y, frecuentemente, se obtienen resultados falsos negativos y falsos positivos.

Pueden producirse falsos negativos por:

- El número de organismos fluctúa, por lo que hasta en el 50% de las ocasiones pueden no detectarse.

- Un desprendimiento de los parásitos de la superficie del glóbulo rojo, debido a un contacto prolongado con los conservantes (EDTA). Por ello, el frotis debe hacerse dentro de una hora tras la recolección de la muestra de sangre.

Pueden producirse falsos positivos por:

- Una identificación errónea al confundir los hemoplasmas con precipitados de colorante o cuerpos de Howell-Jolly.

La presencia de autoaglutinación es frecuente en gatos con infección por *M. haemofelis* y se asocia a la presencia de anemia hemolítica inmunomediada, si bien se debe diferenciar de la formación de pilas de monedas o rouleaux, debido al desarrollo de hiperproteinemias que cambian la carga de la membrana de los hematíes y favorecen su agrupación. Las pilas de monedas se producen en el caso de enfermedades infecciosas, trastornos metabólicos, enfermedades inmunomediadas o enfermedades neoplásicas.

Para diferenciar la autoaglutinación de las pilas de monedas se mezclan suavemente en un porta una gota de sangre en EDTA con 4 gotas de suero fisiológico y, transcurridos unos minutos, se mira macroscópicamente y al MO sin necesidad de tinción. Si son pilas de monedas, los hematíes se separarán con este método.

Identificación por PCR

La prueba de PCR es, en la actualidad, el método de elección para el diagnóstico de la infección por hemoplasmas. Se han desarrollado nuevas técnicas de rt-PCR (capaces de cuantificar el número de organismos) y se han combinado con sondas Taqman (sondas específicas para cada fragmento a analizar), que han dotado a esta técnica de una gran sensibilidad y especificidad para la detección de coinfecciones por las diferentes especies de micoplasmas. Al solicitar la prueba de PCR, debe optarse por laboratorios

capaces de detectar e identificar la presencia de cualquiera de las tres especies.

2.1.2. Técnica Frotis Sanguíneo

FROTIS SANGUÍNEO

Se define como frote, frotis o extendido, a la preparación microscópica delgada y transparente, extendida entre dos cristales (porta o cubreobjetos), obtenida de un líquido orgánico espeso o tejido semilíquido o pastoso (sangre, aspirados, secreciones, exudados, etc. (Rodak, 2004)

El frote periférico se utiliza para el estudio de las características citológicas de las células de la sangre, lo cual permite valorar el funcionamiento general de la médula ósea a través de sus componentes celulares, lo cual implica la evaluación de las líneas eritrocíticas, leucocitaria y megacariocítica, determinando anomalías

en forma, tamaño, color e inclusiones citoplasmáticas, dando una medida cuantitativa y cualitativa de los elementos que lo conforman (Rodak, 2004).

La ventaja principal de hacer extendidos con sangre anticoagulada con EDTA es que pueden disponerse varios portaobjetos si es necesario y no tienen que prepararse de inmediato luego de extraer la sangre (Rodak, 2004).

En el 95% de los casos, el EDTA además impide la aglutinación de las plaquetas en el portaobjetos de vidrio, lo que hace que la estimación de las plaquetas sea más exacta durante la evaluación del extendido (Rodak, 2004).

Materiales y equipo

- Aceite de inmersión
- Microscopio óptico

- Láminas portaobjetos limpias.
- Portaobjetos de bordes biselados y esquinas romas (Frotadora)
- Capilar o pipeta pasteur
- Sangre con EDTA

Preparación del frotis

1. Técnica manual con dos portaobjetos en ángulo
2. Es la técnica más conveniente y usada con mayor frecuencia para hacer extendidos de sangre periférica.

Figura 6. Preparación del frotis sanguíneo (Rodak, 2004).

a) Colocar una gota de sangre (de alrededor de 2-3 mm de diámetro) en un extremo del portaobjetos. El tamaño de la gota es importante: si es demasiado grande crea un extendido muy largo o muy grueso y si es demasiado pequeña a menudo forma un extendido corto o delgado (Rodak, 2004).

b) Sostener el portaobjetos extensor (frotadora) con firmeza con la mano dominante a un ángulo de 30-45° y llevar hacia atrás hasta tocar la gota de sangre, dejando que ésta se esparza en todo el ancho del portaobjetos (Rodak, 2004)

c) Empuja con rapidez y suavidad hacia delante hasta el final del portaobjetos para crear el extendido. Es importante que toda la gota se incluya en el extendido. En la figura 2 se muestra un extendido correcto y las formas inaceptables (Rodak, 2004).

Figura 7. Extendidos de sangre periférica: correcto e inaceptables (Rodak, 2004).

Consideraciones:

a) El movimiento demasiado lento del portaobjetos extensor produce una mala distribución de los leucocitos porque desplaza las células más grandes, como

los monocitos y los granulocitos, hacia el final y los lados del extendido (Rodak, 2004).

b) Es esencial mantener una presión pareja y suave sobre el portaobjetos para evitar la formación de gradas en el extendido. Es fundamental mantener el mismo ángulo a lo largo de todo el extendido (Rodak, 2004).

Tinción del frotis sanguíneo

a) Colocar el frotis secado al aire sobre una rejilla o cubeta de tinción con la sangre hacia arriba (Rodak, 2004).

b) Cubrir completamente el portaobjetos o cubreobjetos con el colorante de Wright gota a gota. El colorante deberá cubrir completamente el portaobjetos, pero no debe derramarse por los bordes. Deberá agregarse una cantidad adicional si éste se comienza a evaporar. Dejarlo que permanezca en el frotis aproximadamente de 5- 8 minutos (Rodak, 2004).

c) Agregar directamente al colorante un volumen igual de amortiguador de Wright, para evitar la coloración débil. Esperar la formación de brillo metálico. Puede usarse de igual manera agua desionizada. Dejar actuar de 10-15 minutos (Rodak, 2004).

d) Lavar con agua en el chorro cuidadosamente hasta que la extensión presente un aspecto rosado al examinarlo a simple vista (Rodak, 2004).

e) Limpiar el dorso del portaobjetos con una gasa o algodón humedecido en alcohol para eliminar cualquier resto de colorante (Rodak, 2004).

f) Secar al aire y observar con el microscopio con el objetivo de inmersión (Rodak, 2004).

2.2 Antecedentes del problema

En el mes de marzo de año 2022 la clínica veterinaria implementó campañas de esterilización de gatos a bajo costo, en el periodo que se llevó a cabo esta campaña se observaron incidencias en pacientes que presentaban complicaciones en la recuperación postquirúrgica, así mismo manifestaron signos como letargo, anorexia o hiporexia, deshidratación, anemia o pérdida de peso.

Por lo anterior se correlacionaron los signos principalmente la anemia y a partir de esta información se presume dichos gatos puedan estar infectados por una hemobacteria, para este caso se considera *Mycoplasma spp.*

2.3 Hipótesis

- *Mycoplasma spp* tendrá una incidencia del 30% de la muestra
- El 50% de los gatos que presenten complicaciones quirúrgicas resultarán positivos a infección por *mycoplasma spp.*

2.4 Variables de investigación

3. Metodología

3.1 Diseño de técnicas de recolección de información

El método de investigación elegido para esta investigación es el método cuantitativo debido a que se realizan pruebas de laboratorio y que se procesan con el objetivo presentar un análisis estadístico de los resultados obtenidos durante la ejecución de la presente investigación.

Las técnicas de recolección de información son:

- Fuentes bibliográficas
- Entrevista
- Experimentales

3.2 Población y muestra

Determinación de la Población

La población de estudio comprende a todos los gatos que lleguen a la clínica Pet's Life para que se realice una OSH en las hembras o una orquiectomía para el caso de machos, en el periodo comprendido entre los meses de Abril a Junio del año 2023.

Criterios de Inclusión:

- Sin distinción de sexo
- Sin distinción de raza
- Ferales (rescatados o liberación postquirúrgica)
- Domésticos (con propietario y hogar)
- No gestantes
- En ayuno
- No cursen enfermedad o tratamiento
- Mayor de 5 meses

Criterios de Inclusión:

- Gestantes
- No presentan ayuno
- Cursan enfermedad o tratamiento
- Menores de 5 meses

En esta investigación se determinó el valor de la población bajo los siguientes criterios que a continuación se describen:

1. Se consideró una cifra de atención semanal de 15 a 20 gatos, de la cual se determinó un promedio de 17.5 gatos.
2. El promedio semanal se proyectó de manera anual al multiplicarlo por 52 semanas que comprenden un año, que para efectos de la presente investigación, esta se considera la población.
3. La cifra anual se dividió entre 12 para obtener un promedio mensual como referencia.

Semanal		Promedio Semanal	Promedio Anual*	Promedio Mensual*
15	20	17.5	910	76

Determinación de la Muestra

Para determinar el valor de la muestra se tomó el valor de la población y se aplica la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{Z^2 PqN}{e^2(N-1) + Z^2 Pq}$$

Considerando las siguientes variables y con un porcentaje de éxito del 99%.

Variable	Concepto	Valor
n:	Muestra	?
N:	Población	910
e:	Error muestral	0.02
Z:	Variable estandarizada	2
p:	Porcentaje de éxito	0.99
q:	Porcentaje de fracaso	0.01

Operación

$$n = \frac{Z^2 PqN}{e^2(N-1) + Z^2 Pq}$$

$$n = \frac{(4) (0.99) (0.01) (910)}{(0.0004) (909) + (4) (0.99) (0.01)}$$

$$n = \frac{36.036}{0.3636 + 0.04} = \frac{36.036}{0.4032} = 89$$

$$n = \underline{\underline{89}}$$

Valor de la muestra: **89 Gatos**

3.2.1 Localización del área de estudio

Antecedentes y ubicación Geográfica de la clínica

La clínica Pet's Life es propiedad del MVZ Alexis Noé Conde Palacios; inició operaciones en el año 2012 como un proyecto personal y profesional por la conclusión de la Licenciatura en Medicina Veterinaria.

Logotipo



Descripción Pet's Life

Somos una Clínica Veterinaria de pequeñas especies que brindamos un servicio confiable, oportuno, con efectividad y Ética profesional.

La clínica cuenta con los siguientes servicios :

- Medicina preventiva para perros y gatos
- Consulta de perros y gatos
- Ultrasonografía
- Hospitalización canina y felina
- Reproducción asistida en perros
- Control Reproductivo
- Estética canina

- Cirugía
- Servicio de Urgencias Médicas 24 Hrs (9:00 pm - 9:00 am)

Horarios de Consulta

Lunes a Sábado: 9:00 am - 8:59 pm

Domingo: 10:00 am - 5:00 pm

Servicio de Urgencias Médicas : Lunes a Domingo 9:00 pm - 9:00 am

Información de Contacto

Cel. 961 178 9036

Tel. Consultorio : 961 612 3194

Correo electrónico: petslifetuxtla@hotmail.com

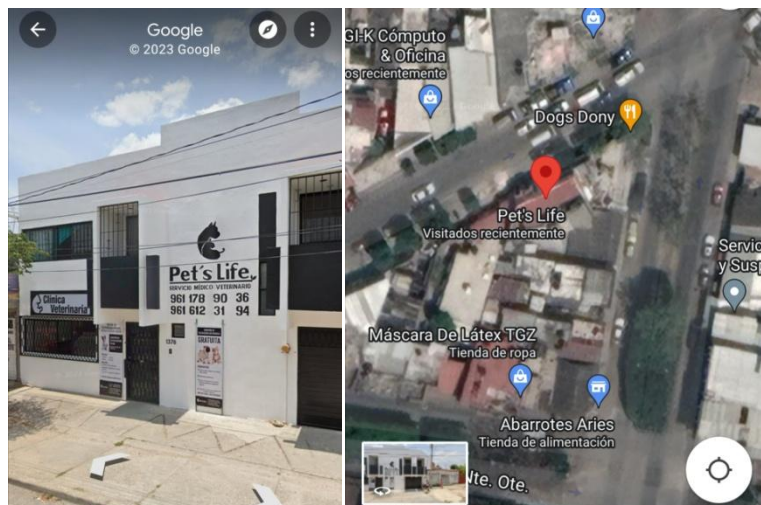
Dirección

Calzada Ignacio Zaragoza entre 12 y 13 Oriente Norte No. 1378, C.P. 29040,
Tuxtla Gutiérrez Chiapas.

Ubicación Geográfica

Coordenadas: 16°45'17.8"N 93°06'17.8"W

Ilustración 3



3.3 Técnica de análisis

3.4 Guía de trabajo de campo

3.5 Diagrama de flujo del proceso

4. Aspectos administrativos

4.1 Tabla de requerimientos

4.1.1 Requerimientos Tecnológicos y Materiales

Los insumos y equipo que se requieren para realizar el presente proyecto se describen a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Requerimientos Tecnológicos y Materiales

Concepto	Cantidad	Costo Unitario	Subtotal
Computadora	1	\$ -	\$ -
Microscopio	1	\$ -	\$ -
Caja 50 pz Porta objetos	3	\$ 75.00	\$ 225.00
Caja 250 pz Cubre objetos	1	\$ 100.00	\$ 100.00
paquete 500 pz Hojas Blanca	1	\$ 150.00	\$ 150.00
Lapiceros	3	\$ 10.00	\$ 30.00
Agua destilada 3 Lt	1	\$ 50.00	\$ 50.00
Kit de tinción Quick Lift	1	\$ 1,200.00	\$ 1,200.00
Paquete 100 pz Jeringas 3ml	1	\$ 200.00	\$ 200.00
Alcohol 1 litro	1	\$ 50.00	\$ 50.00
Torundas de algodón	1	\$ 100.00	\$ 100.00
Acceso a Internet Mensual	2	\$ 300.00	\$ 600.00
Teléfono Celular	1	\$ -	\$ -
Plumón Permanente	1	\$ 30.00	\$ 30.00
Cinta Adhesiva	1	\$ 50.00	\$ 50.00
Importe Total			\$ 2,785.00

Fuente: Elaboración Propia

Los rubros de computadora, microscopio y teléfono no presentan un costo porque ya se cuenta con ese equipo.

4.1.2 Requerimientos Humanos

Los recursos humanos que se requieren para la elaboración del proyecto se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Requerimientos Humanos

Nombre	Cargo/Función	Costo
Maestro. Malaquias García Perez	Asesor Interno	\$ -
MVZ. Alexis Conde Palacios	Asesor Externo	\$ -
Clientes de la Clínica Veterinaria Pet´s Life	Tutor de las mascotas	\$ -
Importe Total		\$ -

Fuente: Elaboración Propia

Para la elaboración del presente proyecto el costo de recursos humanos es igual cero, debido a que los asesores y propietarios no están cobrando por los servicios y el apoyo.

4.1.3 Requerimientos Financieros

En este rubro se considera el costo de los diferentes servicios que son necesarios para realizar y presentar el proyecto por escrito.

Tabla 3. Requerimientos Financieros

Concepto	Monto
Transporte	\$ 2,500.00
Impresiones hojas de trabajo	\$ 200.00
Impresión y encuadernación de tesis	\$ 500.00
Importe Total	\$ 3,200.00

Fuente: Elaboración Propia

Para este rubro se considera un presupuesto aproximado, ya que el proyecto se realizará en un periodo de 8 meses, por lo que se podrán realizar adecuaciones durante la elaboración del mismo.

4.1.4 Presupuesto total de Requerimientos

Tabla 4. Presupuesto total de Requerimientos

Concepto	Monto
Requerimientos Tecnológicos y Materiales	\$ 2,785.00
Requerimientos Humanos	\$ -
Requerimientos Financieros	\$ 3,200.00
Importe Total	\$ 5,985.00

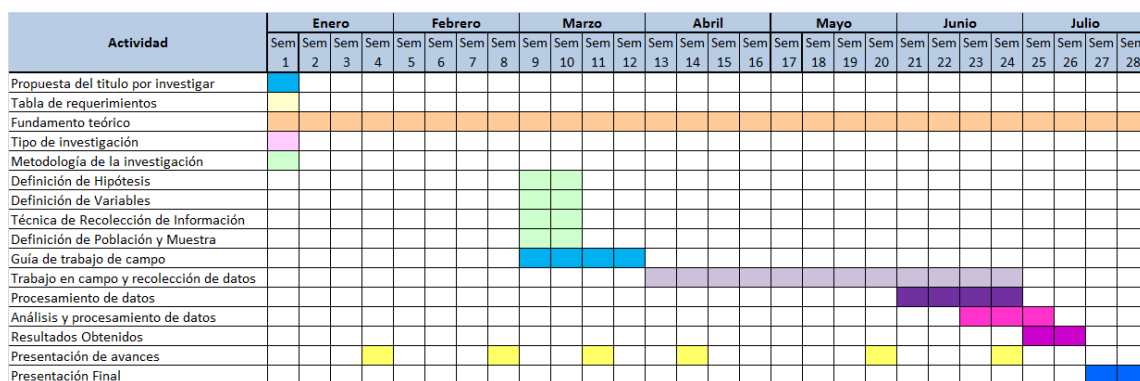
Fuente: Elaboración Propia

El costo de todos los requerimientos para la elaboración del presente proyecto se consideran de acuerdo a la fecha del inicio; sin embargo se aclara que en caso de existir incrementos en los costos o surjan nuevos rubros, se harán los ajustes o modificaciones pertinentes.

4.2 Cronograma de actividades

Tabla 5. Diagrama de Gantt

Diagrama de Gantt



4.3 Bioética en investigación veterinaria

Resultados

Conclusiones

Bibliografías

Bibliografía

- Carrillo, P. (2021). *Fichas hemoparásitos y hemobacterias*. New Jersey: MSD salud animal.
- Gamboa Prieto, J. (07 de 2021). Diversidad genética de micoplasmas hemotrópicos y bartonella sp. en perros de clínicas veterinarias de los municipios de Veracruz y Boca del río. *Tesis para obtener el grado de Maestra en ciencia animal*. Veracruz, Veracruz, México: Tesis de grado.
- Greene, C. E. (2012). *Infectious Diseases of the Dog and Cat Fourth Edition*. St. Louis, Misuri: Elsevier Inc.
- Novacco, M., Meli, M. L., Wolf-Jackel, G. A., Boretti, F. S., Wengi, N., Lutz, H., y otros. (2010). Haemotropic mycoplasmas of cats and dogs: transmission, diagnosis, prevalence and importance in Europe. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* , 237-244.

- Palmero Colado, M. L., & Carballés Pérez, V. (2010). *Enfermedades Infecciosas Felinas*. Zaragoza, España: Server.

Anexos

Atlas de hematología clínica

Por Jacqueline H. Carr, Bernadette F. Rodak

p

<https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.pbidi.unam.mx:2443>

Grenn

pag 333 mycoplasma

pag 250,261-263 erlichia