



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE TITULACIÓN

**“EFECTO DE LA CALENDULA (*caléndula officinalis*) PARA EL
TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMÉSTICOS (*canis lupus
familiaris*)”**

Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y
Zootecnista

Autora:

Cayo Papa Wilma Alexandra

Tutora:

Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

Latacunga – Ecuador

Febrero 2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

“Yo **WILMA ALEXANDRA CAYO PAPA** declaro ser autor (a) del presente proyecto de investigación: “**EFFECTO DE LA CALENDULA (*caléndula officinalis*) PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMESTICOS (*canis lupus familiaris*)**”, siendo tutor (a) Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar, del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.



Wilma Alexandra Cayo Papa

C.I. 150093902-8

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **WILMA ALEXANDRA CAYO PAPA** identificado con **C.C. 150093902-8**, de estado civil Soltera y con domicilio en la Ciudad del Tena Provincia del Napo , a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **EL CESIONARIO** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes

ANTECEDENTES:

CLÁUSULA PRIMERA. - EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Efecto de la Caléndula (*caléndula officinalis*) para el Tratamiento de Gingivitis en Caninos Domésticos (*canis lupus familiaris*)**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico: Abril 2016 – Agosto 2019

Aprobación CD: 15 Noviembre del 2019

Tutora: Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

Tema: “EFECTO DE LA CALÉNDULA (CALENDULA OFFICINALIS) PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMÉSTICOS (CANIS LUPUS FAMILIARIS)”

CLÁUSULA SEGUNDA. -EL CESIONARIO es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **EL CESIONARIO** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador, **CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **EL CESIONARIO** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.

b) La publicación del trabajo de grado.

c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **EL CESIONARIO** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **EL CESIONARIO** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. **EL CESIONARIO** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En VII consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 07 días del mes de febrero del 2020.

Wilma Alexandra Cayo Papa

EL CEDENTE

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: “**EFFECTO DE LA CALÉNDULA (*caléndula officinalis*) PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMÉSTICOS (*canis lupus familiaris*)**”, de **WILMA ALEXANDRA CAYO PAPA** de la carrera de Medicina Veterinaria. , considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga 07 de Febrero 2020



Dra Mg..Nancy Margoth Cueva Salazar mg

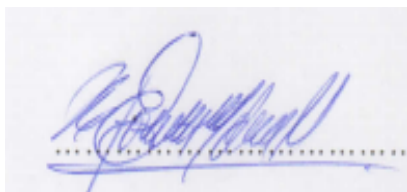
C.L.050161635-3

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencia Agropecuarias y Recursos Naturales ; por cuanto, el postulante: Wilma Alexandra Cayo Papa con el título de Proyecto de Investigación: “**EFFECTO DE LA CALENDULA (CALENDULA OFFICINALIS) PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMESTICOS (CANIS LUPUS FAMILIARIS)**”, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Latacunga, 07 de Febrero 2020

Para constancia firman:



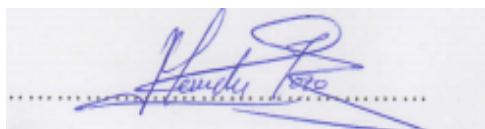
Lector 1 (Presidente)

Nombre: Dra. Mg. Molina Molina Janeth Elsa
CC: 050240963-4



Lector 2

Nombre: Dr. Mg Armas Cajas Jorge Washington
CC: 050155645-0



Lector 3 (Secretario)

Nombre: Dra. Mg. Toro Molina Blanca Mercedes
CC: 050172099-9

AGRADECIMIENTO

Ante Todo primero a Mi Dios por bendecir mis pasos a cada instante para alcanzar mis metas profesionales, y siempre estar conmigo, no dejarme sola en los momentos que pienso que no puedo más.

Mi Dios es mi fortaleza y sabiduría a seguir adelante y poder culminar esta meta importante que es para mí, un sueño que tuve desde niña y que ahora estoy por cumplir.

Y mí querida Universidad Técnica de Cotopaxi a sus autoridades, docentes quienes me inculcaron valores y conocimientos de calidad.

A mis familiares por ser mi motivación y el apoyo en los momentos difíciles.

Wilma Alexandra Cayo Papa

DEDICATORIA

Primero Dios por brindarme sabiduría para acercarme al conocimiento, por ser mi inspiración y fortaleza de cada día.

A mis queridos y apreciados padres Franklin Cayo y María Esther Papa, ellos fueron mi incentivo de cada día, a seguir en la lucha y continuar con mi carrera, gracias por todo el apoyo incondicional, padres míos, por todo el sacrificio que hicieron por mí los amo.

A mis amigas (Paolita, Estefanía, Andrea), que estuvieron conmigo en las buenas y las malas por estar siempre ahí con una palabra alentadora, gracias amigas las quiero.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera estuvieron presentes en esta etapa de mi vida.

Wilma Alexandra Cayo Papa

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EFECTO DE LA CALÉNDULA (*caléndula officinalis*) PARA EL TRATAMIENTO DE GINGIVITIS EN CANINOS DOMÉSTICOS (*canis lupus familiaris*)”

Autora: Wilma Alexandra Cayo Papa

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad determinar el efecto de la Caléndula (*Caléndula Officinalis*) para el tratamiento de Gingivitis en Caninos Domésticos (*Canis LupusFamiliaris*); para lo cual se utilizaron 20 caninos en la Ciudadela los molinos barrio del Niagra del Cantón Latacunga, los mismo que se sometieron a la aplicación de caléndula: donde para estimar la efectibilidad se emplearon tratamientos a base de tintura y crema de la caléndula. Los resultados obtenidos de la investigación, concluyen que el efecto de la caléndula realizado el Tratamiento 2 con la tintura aplicada 2 veces al días durante 30 días, presentaron el mejor comportamiento frente a la bacterias *Stapylococcus coagulasa* negativa, al inicio con un 100% y al final de la investigación con un 0%, *Bacillus spp*, inicio (100%) y final (0, %) , *Escherichia coli* inicio (100%) y final (0%), *Stapylococcus aureus*, inicio (99.4%) y final (0.6%), al realizar el conteo a los 30 días post aplicación de los tratamientos ,mientras en los tratamientos con tintura de caléndula más la crema aplicado todos los días y pasando un día aún se observaron bacterias vigentes a los 30 días post aplicación. En relación al hemograma algunos caninos presentaron cuadros de infección aguda y estrés al inicio de la investigación, una vez aplicado los tratamientos al día 30 de la investigación algunos caninos aun presentaron alteraciones que pueden ser causados por otros factores ajenos a la investigación. Los resultados obtenidos permiten indicar que el 100% de efectividad de la caléndula se observó en el T2 al aplicarla 2 veces al día pasando 1 día durante los 30 días de la evaluación. Resultados permitirán al propietario conocer el grado de afectación de las bacterias en los caninos creando conciencia sobre el cuidado bucal de sus mascotas.

Palabras clave: bacterias, efectibilidad, resistencia, antibióticos, encías, gingivitis.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI ACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE:

Author: Wilma Alexandra Cayo Papa

SUMMARY

The purpose of this research was to determine the effect of Calendula (*Clendula Officinalis*) for the treatment of Gingivitis in Domestic Canines (*Canis LupusFamiliaris*); for which 20 canines were used in the Citadel the mills neighborhood of Niagra of Canton Latacunga, the same ones that were subjected to the application of calendula: where to estimate the effectiveness were used treatments based on tincture and cream of the calendula. The results of the investigation, conclude that the effect of the calendula performed with the tincture applied twice a day for 30 days, showed the best behavior against the bacteria *Echericha coli* and *Stapylococcus cuagulase* negative with 0 CFU when counting the 30 days after application of the treatments, while in the treatments with tincture of marigold plus the cream applied every day and passing a day still bacteria were observed at 30 days post application. In relation to the blood count, the canines presented pictures of acute infection and stress at the beginning of the investigation, once the treatments were applied on day 30 of the investigation, some canines still presented alterations that may be caused by other factors outside the investigation. The results obtained indicate that 100% effectiveness of the calendula was observed in T2 when applied twice a day, passing 1 day during the 30 days of the evaluation. Results will allow the owner to know the degree of involvement of the bacteria in the canines creating awareness about the oral care of their pets.

Keywords: bacteria, effectiveness, resistance, antibiotics, gums, gingivitis

ÍNDICE DE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	i
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	ii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN	2
3. BENEFICIARIOS:	3
4. PROBLEMÁTICA	3
5. OBJETIVOS	4
5.1 Objetivo General:	4
5.2 Objetivos Específicos:.....	4
6. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	5
6.1 DOMESTICOS (Canis familiaris)	5
6.1.1 Anatomía bucal.....	6
6.1.2 Boca.....	6
6.1.3 La lengua.	6
6.1.4 El paladar óseo	6
6.1.5 Músculos bucales y masticatorios	6
6.1.6 Función de los dientes y sistema dental	7
6.1.6.1 Función masticatoria.....	7
6.1.6.2 Función estética	7
6.1.7 Formula dental.....	7
6.2 Encía o Gingiva.....	7
6.3 Union Dentogingival.....	7

6.3.1	Mecanismos de defensa oral.....	8
6.3.1.1	Saliva	8
6.4	GINGIVITIS	9
6.4.1	Etiología.....	9
6.4.2	La causa de la gingivitis	9
6.4.3	Síntomas de la Gingivitis	10
6.4.4	Cambios patológicos en la gingivitis se dan en 4 distintas fases	10
6.4.5	Histopatología	11
6.4.6	Tratamiento	11
6.5	BACTERIAS PRESENTES EN LA GINGIVITIS	12
6.5.1	Tipos de Bacterias.....	12
6.5.2	Staphylococcus coagulasa negativa (SCN)	13
6.5.3	Bacillus.....	15
6.5.3.1	Fuentes y prevalencia	15
6.5.3.2	Vías de exposición.....	15
6.5.4	Enterobacter cloaceae.....	16
6.5.5	El estreptococo beta hemolítico grupo A (EBGA).....	16
6.5.4.1	Mecanismos de patogenicidad.....	17
6.5.4.2	Consideraciones diagnósticas y terapéuticas.....	17
6.5.6	La Pseudomonas.....	18
6.5.6.1	Tipificación serológica	18
6.5.6.2	Resistencia.....	19
6.5.7	Staphilococcus aureus	19
6.5.8	Echerichia coli.....	20
6.5.9	Neiseria spp	20
6.5.9.1	Diagnóstico presuntivo.....	21
6.5.9.2	Diagnóstico confirmatorio.....	21
6.5.10	Micrococcus	22
6.6	HEMOGRAMA	23
6.6.1	Serie roja.	24
6.6.2	Hematocrito	24
6.6.3	Eritrocitos	24

6.6.3.1	Concentración de eritrocitos	24
6.6.3.2.	Volumen corpuscular medio (VCM).....	25
6.6.4	Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	25
6.6.5	Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHbCM)	25
6.7	Alteraciones cuantitativas de la serie Roja.....	25
6.7.1	Anemia	25
6.7.2	Policitemia.....	26
6.7.3	Macrocitosis	26
6.7.4	Microcitosis	26
6.7.5	Hipocromía.....	27
6.7.6	Hipercromía.....	27
6.7.7	Anisocitosis	27
6.8	Serie Blanca.	27
6.8.1	Plaquetas o Trombocitos	27
6.8.2	Neutrófilos.....	27
6.8.3	Neutrófilo Banda	28
6.8.4	Linfocitos.....	29
6.8.5	Monocitos.....	28
6.8.6	Eosinófilos.....	30
6.8.7	Basófilos	30
6.9	Alteraciones cuantitativas de la serie Blanca	31
6.9.1	Leucocitosis.....	31
6.9.2	Leucopenia	31
6.9.3	Neutrofilia	32
6.9.4	Neutropenia	32
6.9.5	Linfocitosis.....	33
6.9.6	Linfopenia	33
6.9.7	Eosinofilia.....	33
6.9.8	Eosinopenia.....	33
6.9.9	Monocitosis.....	33
6.9.10	Basofilia.....	33
6.10	LA CALÉNDULA	34

6.10.1	Partes utilizadas.....	36
6.10.2	Descripción botánica.....	35
6.10.3	Los biocompuestos de C.Officinalis.....	36
6.10.4	<i>Calendula officinalis</i> y su importancia farmacológica.....	37
6.10.5	Principales Metabolitos Producidos por <i>Caléndula officinalis</i>	36
6.10.5.1	Terpenos.....	36
6.10.5.2	Fenoles.....	36
6.10.5.3	Los flavonoides.....	38
6.10.5.4	Quercetina.....	37
6.10.5.5	Catequina.....	37
6.10.5.6	Ácidos Fenólicos.....	37
6.11.	Aspectos farmacológicos.....	39
6.11.1	Estudios farmacológicos experimentales.....	39
6.11.2	Aspectos químicos.....	39
6.12	Elaboración de la tintura de caléndula.....	40
6.13	Proceso de elaboración de la crema de caléndula.....	40
7.	VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS.....	41
8.	METODOLOGIA.....	42
8.1	Métodos de la investigación.....	42
8.1.1	Método deductivo.....	42
8.1.2	Método Experimental.....	41
8.1.3	Método descriptivo.....	41
8.2	Técnicas.....	41
8.2.1	Técnica de observación.....	41
8.2.2	Unidades experimentales.....	43
8.2.3	Descripción de tratamientos.....	43
8.3	Tratamientos.....	42
8.4	Manejo del ensayo.....	42
8.4.1	Elaboración de la tintura de la <i>Caléndula</i>	42
8.4.2	Elaboración de la crema de la <i>caléndula</i>	44
8.4.3	Procedimiento de la recolección de muestras de sangre en caninos.....	43
8.4.4	Procedimiento de la recolección de muestras del cultivo microbiológico.....	45

8.4.5	Estudio del cultivo microbiológico y hemograma de los caninos.....	44
8.5	Análisis estadístico.....	45
9.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	46
9.1	Stapylococcus cuagulasa negativa.	47
9.2	Bacillus spp.....	49
9.3	Escherichia coli.....	52
9.4	Stapylococcus aureus.....	53
9.5	HEMATOLOGIA.....	58
9.5.1	Tratamiento 1.....	60
9.5.2	Tratamiento 2.....	60
9.5.3	Tratamiento 3.....	62
9.5.4	Tratamiento 4.....	62
10.	IMPACTOS (SOCIAL).....	59
11.	CONCLUSIONES.....	64
11.1	RECOMENDACIONES.....	65
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación taxonómica del canino domestico.....	5
Tabla 2.	Bacterias más frecuentemente localizadas según la localización.....	12
Tabla 3.	Valores de referencia del hemograma en caninos.	23
Tabla 4.	Taxonómica de la Caléndula.	35
Tabla 5.	Presencia de bacterias durante la aplicación de los tratamientos a base de caléndula. ...	46
Tabla 6.	Porcentaje de Stapylococcus coagulasa negativa presente al aplicar Caléndula.....	47
Tabla 7.	Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra bacterias Stapylococcus coagulasa.....	47
Tabla 8.	Porcentaje de Bacillus spp presente al aplicar Caléndula.....	49
Tabla 9.	Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra Bacillus spp.....	50
Tabla 10	Porcentaje de la Escherichia coli presente al aplicar Caléndula.....	51
Tabla 11.	Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra Escherichia coli.....	52

Tabla 12. Porcentaje de la Stapylococcus aureus presente al aplicar Caléndula.....53
Tabla 13.Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra Stapylococcus aureus.....54
Tabla 14.Hemograma General de los pacientes.....58
Tabla 15.Hemograma y Alteraciones presentes en los caninos.....59

I ÍNDICE DE GRÁFICOS

No se encontraron entradas de tabla de contenido.

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Abstra de Inglés.....1
ANEXO 2. Hoja de vida del Autor del Proyecto.....2
ANEXO 3. Hoja de vida del Tutor del Proyecto.....3

ANEXO 4. Secado y desidratacion de la planta de calendula	4
ANEXO 5. Elaboracion de la Tintura de Calendula.....	4
ANEXO 6. Elaboración de la Crema de Caléndula.....	4
ANEXO 7. Pacientes con Problemas de Gingivitis (Día 1).....	5
ANEXO 8. Recolección de Muestras de Microbiología (Día 1).....	5
ANEXO 9. Recolección de Muestras de Hemograma (Día 1).....	5
ANEXO 10.Crema y Tintura de Caléndula según cada Tratamiento en los pacientes.....	6
ANEXO 11.Aplicacion de la Tintura de Caléndula en los pacientes.....	6
ANEXO 12. Aplicación de la Crema de Caléndula en los pacientes.....	6
ANEXO 13. Recolección de Muestras de Microbiología (Día 30).....	7
ANEXO 14. Recolección de Muestras de Hemograma (Día 30).....	7
ANEXO 15. Análisis de laboratorio Hemograma de los pacientes	8
ANEXO 16. Análisis de laboratorio Microbiologia de los paceutes.....	9
ANEXO 17. Análisis de laboratorio de la planta de caléndula.....	10

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: Efecto de la Caléndula (*Caléndula Officinalis*) en el tratamiento de Gingivitis en Caninos Domésticos (*Canis Lupus Familiaris*).

Fecha de inicio: Septiembre 2019

Fecha de finalización: Febrero 2020

Lugar de ejecución: Provincia Cotopaxi

Facultad que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Carrera de Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado: Mecanismo Inmunológico en animales domésticos.

Equipo de Trabajo:

Wilma Alexandra Cayo Papa

Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg.

Área de Conocimiento:

SUB ÁREA

62 Agricultura, Agricultura, Veterinaria.

Línea de investigación: Salud Animal

Sub líneas de investigación de la Carrera: Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad Animal.

2. JUSTIFICACIÓN

La gingivitis es una enfermedad periodontal que provoca la inflamación e infección de las encías. Sin el cuidado dental apropiado, esta dolorosa y prevenible enfermedad puede perjudicar a nuestra mascota. La mayoría de las mascotas empiezan mostrando presencia de sarro o de placa dental y una inflamación de las encías (gingivitis), debido a una alimentación inadecuada y la falta de hábitos de la limpieza periódica de la cavidad bucal del perro con pastas dentales por parte del propietario; pero si esta situación no se trata, el cuadro irá evolucionando con los años hasta llegar a perder la pieza dental y producirá enfermedad periodontal, dicha patología puede afectar a órganos vitales como: corazón, hígado y riñones (1).

En la actualidad una alternativa terapéutica en odontología que ha venido tomando fuerza es el uso de (*caléndula officinalis*) en enjuagues, cremas o tinturas. Esta planta reconocida por su compleja composición de polifenoles, taninos, aceites esenciales y su efecto antiinflamatorio y cicatrizante se usa actualmente en el tratamiento de quelitis, mucositis y enfermedad periodontal. Sin embargo, la mayor parte de la evidencia científica se encuentra a partir de estudios In vitro y en modelos animales (2).

Con los avances tecnológicos y las investigaciones realizadas en otras regiones en el mundo se ha visto la posibilidad de incorporar e innovar el tratamiento en caninos. Por lo anterior mencionado se plantea el uso de la caléndula. Siendo así una alternativa natural para el tratamiento y prevención, evitando la aparición enfermedades más frecuentes como lo son gingivitis y la enfermedad periodontal (2).

Con el desarrollo de este trabajo, será posible elaborar un documento científico que reseñe los usos de la caléndula *officinalis* en Odontología canina. De este modo se dará a conocer a la comunidad académica y científica sobre las aplicaciones y se fomentará el estudio en nuestro medio de los beneficios de esta planta.

Los resultados obtenidos también serán aporte para especialistas en periodoncia y estudiantes, para implementar información ver acerca de un tratamiento antimicrobiano natural, lo cual implicará una mejoría en menos tiempo que la tradicional y con mayores beneficios para los caninos que son afectados por la gingivitis.

3. BENEFICIARIOS:

Directos

- ✓ Caninos con Diagnostico con Gingivitis.

Indirectos

- ✓ Propietarios de los pacientes caninos con gingivitis.

4. PROBLEMÁTICA

La gingivitis es la afección más común en perros de diferentes razas, sexos y edades. Estudios realizados en numerosos países informan tasas de prevalencia entre el 60 y el 80% en los perros examinados. Los perros de raza mediana y grande son los más comúnmente afectados, y las lesiones se localizan, por lo general, en los dientes que tienen tablas oclusales, es decir, los molares provocando la pérdida prematura de piezas dentales y una gran cantidad de secuelas en mandíbula, maxilar e inclusive puede ocasionar lesiones en tejidos tan lejanos, como corazón, hígado, pulmones (3).

La gingivitis es un término utilizado para hacer referencia a cualquier inflamación de la encía, usualmente en la gingivitis es inducida por placa bacteriana. La acumulación de la placa produce, en primer lugar, una gingivitis aguda que, a los pocos días, se transforma en una gingivitis crónica. Esta enfermedad es por definición, reversible cuando es tratada a tiempo, por ello se requiere un tratamiento eficaz, completo y capaz de combatir y contrarrestar sus repercusiones en la cavidad oral de manera adecuada, con el fin de prevenir otras enfermedades periodontales aún más agresivas (4).

Sin embargo a pesar del grado de importancia que representa la gingivitis, la carencia de terapias económicas y prácticas en nuestro país, los hábitos alimenticios propiciados por los propietarios de las mascotas y la desinformación existente relacionada a problemas dentales en perros, agravan el cuadro clínico.

Gran parte de los problemas antes mencionados se deben se han realizado pocos trabajos de este tipo debido a la poca actualización y conocimientos en la higiene bucal para conservar los dientes y encías sanos y disfrutar así de una buena calidad de vida en los caninos. Es por ello que la necesidad de conocer y de tratar las diferentes lesiones presentes en perros, preocuparse de la

limpieza dental de las mascotas no es un acto estético, pretencioso y sin razón, por el contrario, es una práctica creciente principalmente debido a que las enfermedades infecciosas bacterianas son transmisibles, principalmente al ser humano, además de acarrear graves problemas de salud a las mascotas descuidadas.

Por lo tanto, es importante decir que en la actualidad las cremas dentales o limpiezas dentales realizadas en clínicas veterinarias por profesionales no ha venido siendo beneficiada por algunos propietarios debido al alto valor económico de aquel producto o servicio para la mascota, es por eso que he optado por encontrar terapias alternativas utilizando productos naturales de nuestra región y proporcionar tratamientos que se encuentren al alcance de los habitantes de comunidades de escasos recursos. En este estudio se evaluó la caléndula como tratamiento de gingivitis en perros domésticos en la Ciudadela los molinos barrio del Niagra del Cantón Latacunga.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

- Determinar el efecto de la Caléndula (*Caléndula Officinalis*) para el tratamiento de Gingivitis en Caninos Domésticos (*Canis LupusFamiliaris*).

5.2 Objetivos Específicos:

- Realizar las muestras Hematológicas y Cultivos Bacterianos previamente para determinar el agente causal en la gingivitis.
- Aplicar Tratamiento a base de la Tintura y Crema de Caléndula en Caninos Domésticos (*Canis LupusFamiliaris*) con gingivitis.
- Establecer la efectividad de los tratamientos en la Tintura y crema de Caléndula a través de una segunda toma de muestras hematológicas y cultivos bacterianos

6. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

6.1 DOMÉSTICOS (*Canis familiaris*)

El perro fue probablemente el primer animal en ser domesticado ha acompañado al ser humano durante unos 10.000 años. Algunos científicos afirman que todos los perros tanto domésticos como salvajes, tienen un antepasado común en el pequeño lobo del sudeste asiático. Hoy en día, los hombres han cruzado cientos de razas de perros domésticos, algunas de las cuales jamás podrían sobrevivir en libertad. Pese a la gran diversidad de razas, formas y tamaños, todos los perros domésticos ya sean terranovas o caniches, son miembros de la misma especie *Canis familiaris*. Aunque su forma de vida sea doméstica, están emparentados con los lobos, los zorros y los chacales (5)

Tabla 1: clasificación taxonómica del canino domestico

REINO:	<i>Animalia</i>
FILO:	<i>Chordata</i>
SUBFILO:	<i>Vertebrata</i>
CLASE:	<i>Mammalia</i>
SUBCLASE:	<i>Theria</i>
IRACLASE:	<i>Eutheria</i>
ORDEN:	<i>Carnivora</i>
SUBORDEN:	<i>Caniformia</i>
FAMILIA:	<i>Canidae</i>
GENERO:	<i>Canis</i>
ESPECIE:	<i>Canis lupus</i>
SUBESPECIE:	<i>Canis lupus familiaris</i>

Fuente (5).

6.1.1 Anatomía bucal

6.1.2 Boca

Anatómicamente la boca es considerada como el inicio del sistema digestivo, fisiológicamente aquí se da comienzo al proceso de la digestión. La cavidad bucal se divide en vestíbulo y en cavidad oral, el vestíbulo comprende el espacio entre dientes, encías y labios, carrillos (6)

6.1.3 La lengua.

Está constituida por una raíz o tercio posterior, un cuerpo o tercio medio y un ápice o tercio anterior. Esta tapizada por un epitelio, compuesto por papilas gustativas (filiformes, cónicas, fungiformes, foliadas, caliciformes) Debajo de la lengua en el piso de la cavidad oral se encuentra el conducto mandibular y el conducto sublingual principal (7).

6.1.4 El paladar óseo

Está cruzado por ocho bordes transversales, existe en la parte anterior una protuberancia, la papila incisiva, localizada detrás de los incisivos centrales. Hacia atrás está el órgano vomeronasal, estructura tubular de 2 cm de largo aproximadamente. Caudal se encuentra la faringe, que constituye un conducto común para el sistema digestivo y respiratorio, está dividido en segmentos oral, nasal y laríngeo (8).

6.1.5 Músculos bucales y masticatorios

En conjunto existe un número de músculos que participan en el acto de la masticación. Los más notables son el músculo masetero, que se origina en el arco cigomático, se inserta en la fosa mesentérica, cubierto por una aponeurosis fuerte y brillante y numerosas fibras tendinosas intermusculares (8).

6.1.6 Función de los dientes y sistema dental

6.1.6.1 Función masticatoria

La acción de la masticación tiene por finalidad la segmentación de las partículas alimenticias, mediante la aposición de los dientes, con el fin de formar estructuras más pequeñas y que puedan ser tragadas y asimiladas (9).

6.1.6.2 Función estética

Son responsables de la posición que adopta la musculatura facial, mantiene equilibrio en las proporciones y en el tono muscular normal, en el enclavado y posición de la lengua en relación a la presencia de los dientes que en conjunto denotan una buena oclusión (10).

6.1.7 Formula dental

Caninos:

Dentición primaria: 2 x (I 3/3, C 1/1, Pm 3/3) Total 28 piezas.

Dentición definitiva: 2 x (I 3/3, C 1/1, Pm 4/4, M 2/3) Total 42 piezas.

6.2 Encía o Gingiva

La encía tapiza los procesos alveolares maxilares y mandibulares y rodea el cuello de los dientes. Está compuesta de epitelio escamoso estratificado queratinizado o paraqueratinizado, con prominentes fibras de anclaje cubriendo la lámina propia (tejido conjuntivo) en la superficie externa (8).

Anatómicamente, la encía se divide en encía fija o adherida y encía libre o marginal.

El surco gingival es una depresión lineal estrecha o espacio alrededor del diente, coronal al epitelio de unión; que se encuentra rodeado por la superficie del diente en un lado y el epitelio del surco perteneciente a la encía libre en el otro lado (11).

El periodonto.- o tejido periodontal es una unidad anatómica que sirve para insertar y sujetar el diente a la mandíbula y al maxilar, proporciona un aparato suspensorio resistente a las fuerzas normales de masticación y el uso de los dientes (12).

6.3 Unión dentogingival

Su función es la de unir la encía al diente. La unión dentogingival está formada por el epitelio del surco, el epitelio de unión (ambos constituidos por un epitelio plano estratificado no queratinizado) y el tejido conectivo subyacente a ambos epitelios. Éste es de tipo laxo con escasos fibroblastos y fibras de colágeno. En el mismo existe un infiltrado inflamatorio compuesto por neutrófilos, linfocitos y monocitos-macrófagos (13).

6.3.1 Mecanismos de defensa oral

6.3.1.1 Saliva

La saliva contiene peróxido de hidrogeno como base de defensa antibacterial, que es producida por enzimas salivares (14).

Protuberancia del esmalte. Cerca de la unión cemento esmalte, impide mecánicamente que se fije alimento masticado, además protege a las delicadas estructuras adyacentes (15)

Fluido crevicular o de la grieta. Producido por el epitelio de secreción, secreta inmunoglobulinas y otros agentes antibacteriales, protege el tejido circundante y principalmente al ligamento periodontal (16) .

Gingiva adherida. Formada por epitelio para – queratinizado, actúa como barrera mecánica, retrayéndose si es necesario, como en la pérdida de una pieza dental (17).

Gingivitis e índice de gingivitis. La gingivitis es una condición inflamatoria de los tejidos blandos que rodean al diente, la gingiva; y es una respuesta inmune directa al cálculo o placa microbiana dental que se desarrolla sobre los dientes. La gingivitis es un proceso reversible que comprende la inflamación de la gingiva marginal (18).

La ausencia o presencia de gingivitis, se basa en enrojecimiento, hinchazón, presencia de sangrado, en especial cuando se hace presión en el borde del diente o la zona del sáculo gingival (19).

6.4 GINGIVITIS

La encía sana, se inflama debido a la presencia constante de placa microbiana, presentando un infiltrado de leucocitos con predominio de neutrófilos y fagocitos que migran desde los tejidos al surco gingival o al bolsillo periodontal (20).

Los neutrófilos son atraídos a esta zona por péptidos quimiotácticos bacterianos o por las mismas células epiteliales dañadas que liberan citoquinas que atraen más aún a los neutrófilos al surco gingival. El neutrófilo fagocita la bacteria pero si su capacidad se ve sobrepasada se desgranula y libera enzimas tóxicas que dañan el tejido. Cuando la placa microbiana se exagera, los neutrófilos y la barrera de células epiteliales no son capaces de controlar la infección. En estas condiciones la gingiva se inflama, lo que se evidencia clínicamente como gingivitis (21).

6.4.1 Etiología

Una gingiva clínicamente sana siempre está inflamada debido a la presencia constante de placa microbiana, presenta un infiltrado de leucocitos con predominio de neutrófilos, fagocitos que migran desde los tejidos al surco gingival. Los neutrófilos son atraídos a esta zona por péptidos quimiotácticos bacterianos o por las mismas células epiteliales dañadas que liberan citoquinas que atraen más aún a los neutrófilos al surco gingival. El neutrófilo fagocita la bacteria pero si su capacidad se ve sobrepasada se degranula y libera enzimas tóxicas que dañan el tejido (24).

6.4.2 La causa de la gingivitis

La gingivitis es la inflamación en la mucosa oral, lingual o zona orofaríngea. Dependiendo del grado de la enfermedad, se observarán úlceras o zonas proliferativas en la mucosa oral, sialorrea y dificultades para comer o beber. Si se le deja avanzar, la gingivitis puede conducir a la pérdida de dientes en el perro. Puede llegar a ser una afección muy dolorosa, además de una de las enfermedades periodontales más comunes (22).

Esta placa dental iniciará su formación al depositarse una capa invisible de glucoproteínas sobre los dientes, sobre la que se colocarán bacterias (placa bacteriana). A medida que el proceso vaya avanzando, las encías se inflamarán (gingivitis), alterándose los bordes de las mismas (gingivitis marginal), lo que permitirá la proliferación bacteriana por debajo de las mismas (placa bacteriana

subgingival). Se habla de sarro o cálculo dental a esta placa bacteriana cuando madura: se mineraliza (depósito de calcio, carbonato y fosfato), presentando una superficie más rugosa que facilita la mayor acumulación de placa (23).

6.4.3 Síntomas de la Gingivitis

- Mal aliento (halitosis; ésta es una de las señales de identidad de las enfermedades dentales en los perros)
- Inflamación de las encías
- Encías rojas
- Sangrado de las encías (las encías sangran con facilidad con una ligera presión)
- Encías ulceradas
- Acumulación de placa (“dientes manchados”)
- Acumulación de cálculo (sarro)
- Línea de las encías irregular
- Secreción de pus en la línea de la encías al presionar
- Dolor
- Dificultad para masticar
- Renuncia a comer (a pesar del hambre) y, en consecuencia, pérdida de peso
- Salivación excesiva
- Dientes flojos.

6.4.4 Cambios patológicos en la gingivitis se dan en 4 distintas fases

Lesión inicial o gingivitis fase I: La inflamación se inicia una vez que la placa se deposita sobre el diente. A las 24 horas se evidencian cambios notorios en el plexo microvascular que está debajo del epitelio de unión, a medida que llega más sangre a la zona (24).

La lesión temprana o gingivitis fase II: Se produce aproximadamente a la semana de la acumulación de la placa. A medida que el tiempo transcurre inician los signos de eritema que pueden aparecer por proliferación de capilares y formación de asas capilares. Los vasos sanguíneos por debajo del epitelio de unión permanecen dilatados pero su cantidad aumenta debido a la apertura de los lechos capilares previamente inactivos. Los linfocitos y PMN

constituyen el infiltrado leucocitario predominante en ésta fase, además de la escasa presencia de células plasmáticas en el área lesionada. En ésta fase, el infiltrado celular inflamatorio puede constituir el 15% del volumen del tejido conectivo (25).

Lesión establecida o gingivitis fase III: Cuando se continúa la exposición a la placa durante más de 3 semanas se inicia esta fase. Hay un aumento del estado inflamatorio, incremento del exudado y migración de leucocitos hacia los tejidos y el surco. Clínicamente esta lesión exhibe mayor edema que la gingivitis temprana. En ésta fase predominan las células plasmáticas situadas en la porción coronaria del tejido conectivo y en torno a los vasos (28).

Lesión avanzada o gingivitis fase IV: El infiltrado celular inflamatorio se extiende lateralmente y más apicalmente hacia el tejido conectivo. Esta lesión avanzada es igual a la lesión establecida con la diferencia que existe pérdida de hueso alveolar con daño a las fibras y el epitelio de unión migra apicalmente desde el límite amelocementario (26).

6.4.5 Histopatología

De acuerdo a los eventos histopatológicos la enfermedad se ha dividido en 3 estadios. 1. Inicial; con una duración de 4 días, se presenta con una reacción inflamatoria aguda, con aumento de fluido cervical, migración de neutrófilos polimorfo nucleares. Además no es evidente clínicamente 2. Temprana; luego de 7 días que la placa se acumula. Puede seguir hasta 21 días o más. Es clínicamente detectable. En el infiltrado predomina linfocitos, macrófagos y algunas células plasmáticas. 3. Establecida; Existe incremento de la encía, los signos clínicos son evidentes y severos. En el infiltrado hay predominancia de células plasmáticas y linfocitos B (27).

6.4.6 Tratamiento

Los antibióticos pueden tener un papel importante en el tratamiento de las enfermedades dentales, administrados conjuntamente a la realización del tratamiento médico o quirúrgico. Se utilizan en casos de periodontitis grave, cuando existe el riesgo de infección ósea o de difusión de la infección al resto del organismo. Se eliminan las causas locales tales como depósito de cálculo, placa bacteriana o caries dentaria. En las enfermedades sistémicas es necesario emplear terapéutica de apoyo, las encías hipertrofiadas pueden escindirse si las lesiones no son extensas, debe emplearse lavado con cloruro de benzalconio o solución salina. Los objetivos del tratamiento de la gingivitis

son eliminar cualquier acumulación de placa y sarro lo largo de la línea de las encías, aliviar el dolor causado por la inflamación y la infección de las encías y prevenir la progresión de la enfermedad. (28)

6.5 BACTERIAS PRESENTES EN LA GINGIVITIS

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría es de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada, como Chlamydias y Rickettsias. Tienen los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento (29).

Los microorganismos se pueden dividir en dos grupos, aquellos que participan en el desarrollo inicial de la enfermedad (*Streptococcus mutans* o *Streptococcus sobrinus*) y los que intervienen en su progresión (*Lactobacillus*, *Actinomyces* etc). Según el tipo o la localización de la caries hay mayor asociación con unos tipos de bacterias que con otras (Tabla 2).

Tabla 2. Bacterias más frecuentemente localizadas según la localización.

Tipo de Caries	Especies bacterias prevalentes
Superficies libres	<i>Streptococcus mutans</i>
Superficies y fisuras	<i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>
Superficies proximales	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Actinomyces noeslundii</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Veillonella</i> .
Caries de dentina cerrada al medio oral	<i>Lactobacillus</i> spp, <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces</i> spp. <i>Actinomyces</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> ,
Caries de dentina abierta al medio oral	<i>Actinomyces</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> .
Caries radicular	<i>Actinomyces</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Campylobacter</i> ,
Caries de biberón	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Streptococcus mutans</i> .
Caries de rampante	<i>Lactobacillus</i> spp.
Recidivas de caries	<i>Actinomyces noeslundii</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> spp.

Fuente (29).

6.5.1 Tipos de Bacteria

6.5.2 Staphylococcus coagulasa negativa (SCN)

Los Staphylococcus están ampliamente difundidos en la naturaleza. Su hábitat natural es la piel y las membranas mucosas de mamíferos y aves. No obstante, la difusión de cepas de Staphylococcus sp. Entre diferentes especies animales es limitada.

Se encuentran entre los microorganismos más frecuentemente aislados en el laboratorio de microbiología. Sin embargo, su significado clínico en muchas situaciones es difícil de establecer, pues pueden ser comensales inofensivos o patógenos invasores.

El género Staphylococcus está constituido por cocos, Gram-positivos, catalasa positivos, anaerobios facultativos, que generalmente se encuentran formando agrupaciones cuando se observan al microscopio. Las especies más patógenas poseen coagulasa, una enzima que coagula el plasma, ya que convierte el fibrinógeno en fibrina. Los Staphylococcus coagulasa negativos (SCoN) son patógenos menores que generalmente causan infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos (30).

Las especies coagulasa-negativas tales como *S. epidermidis* se asocian cada vez más con las infecciones intrahospitalarias; *S. saprophyticus* causa infecciones urinarias. *S. lugdunensis*, una especie coagulasa negativa, puede causar enfermedades graves con una virulencia similar a la de *S. aureus*. A diferencia de la mayoría de las especies de estafilococos coagulasa negativos, *S. lugdunensis* suele conservar la sensibilidad a los antibióticos beta-lactámicos resistentes a las penicilinasas (es decir, sensible a la meticilina). Los estafilococos patógenos son ubicuos. Se localizan, en general en forma transitoria, en las narinas del 30% de los adultos sanos y en la piel de aproximadamente el 20% de las personas; desde estos sitios, los estafilococos pueden causar infecciones en el huésped y en otros individuos. Las tasas de portación son más altas entre los pacientes y el personal de los hospitales. Las infecciones por *S. aureus* son más prevalentes en los portadores que en los no portadores y generalmente son causadas por la cepa colonizadora (31).

Las infecciones son típicamente indolentes, con largos períodos de latencia entre el momento de la contaminación del dispositivo biomédico y la manifestación de la enfermedad. La virulencia está fundamentalmente relacionada con la capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar biofilms en los dispositivos protésicos y catéteres, en cuya intimidad los microorganismos se

agregan y forman macro colonias que crecen protegidas de la acción de antibióticos, anticuerpos, y del resto de los mecanismos de defensa del huésped. También pueden sintetizar enzimas como lipasas, proteasas, hemolisinas y demás enzimas que degradan los tejidos y contribuyen a la persistencia de la infección (32).

Inclusive el razonamiento es válido ante la detección de dos o tres aislamientos de *S. epidermidis* en el contexto descrito. Pero si se aísla en dos muestras *S. epidermidis* y en la tercera *S. hominis*, podría ocurrir: a) que sean tres aislamientos por completo diferentes compatibles con contaminación, seguramente detectados muy tardíamente (por bajos inóculos) y no hallados en ningún otro material del paciente; b) que sea *S. epidermidis* el agente etiológico (con ambos aislamientos detectados muy rápidamente y tal vez en algún otro material, todos los aislamientos con las mismas características fenotípicas) y *S. hominis* el contaminante; c) que sea *S. hominis* el agente etiológico (detectado también en otros materiales del paciente) y los dos aislamientos de *S. epidermidis*, fenotípicamente diferentes, sean los contaminantes. También pueden ser aisladas tres especies diferentes de ECN (*S. epidermidis*, *S. warneri* y *S. simulans*) de un hemocultivo seriado de tres muestras, en un contexto clínico poco claro y tardíamente (modo » 60 horas). En ese caso, clara-mente deben ser interpretadas como contaminaciones (33).

Los ECN son un grupo de microorganismos muy heterogéneo y complejo, al que año tras año se van agregando especies nuevas e, inclusive, nuevos fenotipos de especies ya conocidas. Tal es el caso de la primera cepa de *S. epidermidis* anaerobia estricta, recientemente descrita por Rowlinson et al., aislada de una infección de prótesis de cadera en cultivo puro, caracterizada bioquímicamente y confirmada por estudios de secuenciación de los genes 16S ARNr y *rpoB*, que codifica la fracción altamente conservada de la subunidad b de la ARN polimerasa. La cepa presentó ciertas características bioquímicas muy poco compatibles con una bacteria anaerobia estricta, como ser catalasa positiva, metronidazol y penicilina resistente. Las infecciones por ECN continúan siendo un desafío diagnóstico para microbiólogos, clínicos e infectólogos. Son microorganismos que actúan silenciosa y lentamente, pero con firmeza y virulencia. La correcta interpretación de los hallazgos en el laboratorio y la adecuada valoración del cuadro clínico-epidemiológico, muchas veces crónico, permiten evitar las consecuencias devastadoras en cuanto a morbilidad y hasta mortalidad en las infecciones más graves (34).

6.5.3 Bacillus

Las especies de *Bacillus* se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial debido a su habilidad para formar endosporas, característica que les confiere resistencia y potencia su aislamiento en diversos hábitats, tanto ecosistemas acuáticos como terrestres, e incluso en ambientes bajo condiciones extremas. Sin embargo, el suelo es considerado el principal reservorio de este género bacteriano, debido a que la mayoría de especies de *Bacillus* son saprófitas pudiendo utilizar la gran diversidad de sustratos orgánicos presentes en el suelo, siendo ésta una matriz compleja para el establecimiento de una gran diversidad genética y funcional de especies microbianas. Por lo cual, múltiples especies de *Bacillus* pueden desarrollarse en los suelos, cuyos recuentos cultivables se encuentra en el intervalo de log 3 a log 6 por gramo de peso fresco de suelo, esencialmente en especies similares genéticamente al grupo de *B. subtilis* y *B. cereus*. No obstante que estudios de ARNr en suelo contradicen la abundancia relativa de especies cultivables y no cultivables de este género bacteriano. Los microorganismos del género *Bacillus* son bacilos de gran tamaño (4-10 µm), grampositivos, aerobios estrictos o anaerobios facultativos encapsulados. Una característica importante es que forman esporas extraordinariamente resistentes a condiciones desfavorables. Las especies del género *Bacillus* se clasifican en los subgrupos *B. polymyxa*, *B. subtilis* (que incluye a *B. cereus* y *B. licheniformis*), *B. brevis* y *B. anthracis* (35).

6.5.3.1 Fuentes y prevalencia

La presencia de *Bacillus* spp, es frecuente en una gran variedad de ambientes naturales, como el agua y el suelo. Forman parte de las bacterias detectadas mediante RHP, fácilmente detectables en la mayoría de las aguas de consumo (35).

6.5.3.2 Vías de exposición

Las infecciones por *Bacillus* spp. Se asocian con el consumo de diversos alimentos, especialmente arroz, pastas y hortalizas, pero también leche cruda y productos cárnicos. La enfermedad puede producirse como consecuencia de la ingestión de los microorganismos o de las toxinas producidas por éstos. No se ha determinado que el agua de consumo sea un foco de infección por especies patógenas de *Bacillus*, incluido *Bacillus cereus*, y tampoco se ha confirmado la transmisión por el agua de gastroenteritis por *Bacillus* (36).

6.5.4 Enterobacter cloacae

Constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación. Las bacterias del género *Enterobacter* son bacilos gramnegativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se les puede encontrar en el suelo, agua y como parte de la microbiota de animales, insectos y tracto gastrointestinal humano. Incluye 21 especies dentro de las cuales se define el complejo *Enterobacter cloacae*. Fue descrito en 1890 como *Bacillus cloacae*, sufriendo varios cambios taxonómicos hasta ser nombrado como *E. cloacae* por Hormaeche y Edwards en 1960. La relación dentro de este complejo se establece a partir de la hibridación ADN-ADN de genomas completos, pruebas bioquímicas y por la secuenciación del 16S ARNr y del gen *hsp* (36).

El complejo *E. cloacae* incluye 12 clústeres dentro de los que se definen seis especies: *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae* (con tres clústeres y dos subespecies), *Enterobacter hormaechei* (con tres subespecies), *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii* y *Enterobacter nimipressuralis*. Este último no está relacionado con infecciones en seres humanos y recientemente fue reclasificado dentro del género *Lelliottia*. La mayoría de las infecciones en humanos son causadas por *E. hormaechei* y *E. cloacae* Cluster III, siendo agentes comunes de IAAS, principalmente bacteriemias, neumonías asociada a ventilación mecánica, infecciones urinarias e intra-abdominales complicadas. En los laboratorios clínicos el cultivo se realiza en medios habituales como agar sangre o agar MacConkey y la identificación del complejo se puede hacer por pruebas bioquímicas convencionales. (37).

6.5.5 El estreptococo beta hemolítico grupo A (EBGA)

Es el agente etiológico más frecuente de faringitis bacteriana. El tratamiento de la faringitis se dirige fundamentalmente a la prevención de la fiebre reumática y sus complicaciones supurativas como otitis y sinusitis (38).

6.5.5.1 Mecanismos de patogenicidad

El microorganismo puede causar daño por acción local superficial, diseminación por contigüidad, a distancia a través del torrente sanguíneo o por producción de toxinas*13. El requisito primario es la adherencia, ya sea a piel o a la mucosa faríngea; hay interacción entre el ácido lipoteicoico de su pared (que protruye a través de la cápsula en forma de fribillas) y la fibronectina de la célula epitelial humana. Su cápsula de ácido hialurónico tiene propiedades antifagocíticas, por su similitud con el ácido hialurónico humano. Entre las proteínas de su pared, la de mayor importancia es la M que además de conferirle resistencia a la fagocitosis, es citotóxica y antigénica (lo que permite la clasificación del grupo en más de 80 serotipos) (36).

Es posible que esta toxina junto con la proteína M actúen como superantígeno estimulando la proliferación clonal de linfocitos T a través de receptores del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, con la consiguiente producción masiva de interleukina 1 y factor de necrosis tumoral beta, responsables de las manifestaciones clínicas del choque (M U K). Las estreptolisinas O y S además de tener efecto sobre el eritrocito, son tóxicas para los leucocitos y plaquetas. Las bacteriocinas pueden matar bacterias Gram positivas, lo que es importante para la colonización y persistencia de la infección. Hay varias teorías acerca de los mecanismos que llevan al desarrollo de complicaciones no supurativas (nefritis aguda, fiebre reumática), la mayoría de las cuales enuncian procesos inmunológicos (39).

6.5.5.2 Consideraciones diagnósticas y terapéuticas

El aislamiento e identificación de *S. pyogenes* se realiza para instaurar un tratamiento que evite el riesgo de aparición de las secuelas supuradas y, especialmente, de las no supuradas. El tratamiento de elección es la penicilina. Su eficacia clínica se basa en la excelente sensibilidad que presentan a este antibiótico todas las cepas del agente causal. Pese a que en los últimos 60 años se han usado en todo el mundo grandes cantidades de penicilina y de otros antibióticos β -lactámicos, no se ha constatado la aparición de cepas resistentes o con sensibilidad disminuida a ese antibiótico (40).

En *S. pyogenes* existe un mecanismo de resistencia a los macrólidos que se adquiere a través de plásmidos y transposones portadores de uno de los genes *erm* (erythromycin ribosomal methylase). Estos genes codifican una metilasa que, cuando se expresa, dimetila un residuo específico de

adenina del RNA ribosómico 23S (A2058, según numeración de *Escherichia coli*), induciendo un cambio conformacional que impide la unión a su lugar de acción tanto de los macrólidos como de las lincosamidas y estreptograminas B. Este patrón fenotípico se denomina resistencia MLSB. La expresión del gen *erm* puede ser constitutiva o inducible (resistencia disociada). Cuando la expresión es inducible depende, entre otras cosas, de la capacidad inductora del antibiótico. Las cepas con resistencia inducible se muestran resistentes a los macrólidos de 14 y 15 átomos y, en algunos casos, “aparentemente” sensibles a macrólidos de 16 átomos y a las lincosamidas, aunque en realidad deben considerarse resistentes. Por ello, cuando una cepa presenta este mecanismo de resistencia se pierde la sensibilidad a todos los macrólidos y lincosamidas, así como a las estreptograminas B (38).

6.5.6 La Pseudomonas

Es un bacilo gram negativo móvil, que pertenece a la familia Pseudomonadaceae. Es relativamente ubicua y comúnmente se la encuentra en el polvo, el agua, las plantas y verduras, medio ambiente marino y animales. Puede crecer bien en diferentes medios y soporta gran variedad de condiciones físicas. Si bien su predilección son los ambientes húmedos la *P. aeruginosa* es primariamente un patógeno hospitalario y causa enfermedad en forma frecuente a huéspedes normales (41).

Varios científicos han planteado que estos microorganismos pueden formar parte de un 10 % de la flora intestinal, por lo que se consideran bacterias oportunistas capaces de crear cuadros infecciosos. Estos gérmenes pueden ser transmitidos por contacto directo, inhalaciones, a causa de picaduras por insectos o laceraciones en la piel, por donde puede penetrar la bacteria a los tejidos más profundos y provocar la infección. También se puede transmitir a través de los alimentos y el agua contaminada por el germen, estos desempeñan un papel de gran importancia en la presentación de la patología. De forma específica para la *Pseudomona pseudomallei* se plantea que actúan como reservorios o vectores del germen: las pulgas, las ratas y los mosquitos; estos contribuyen a la difusión y transmisión (42).

6.5.6.1 Tipificación serológica

En la actualidad se reconocen 29 tipos de antígenos basados en antígenos somáticos y flagelares O y H, respectivamente. También, es evidente la producción de una exotoxina termoestable que

provoca la muerte a los conejos. Se plantea, además, que cierto número de enzimas, toxinas y endotoxinas son las que causan el efecto patológico en los animales, aunque no se ha determinado su papel en las enfermedades, por lo que no se comprenden los mecanismos por los cuales estas especies producen la infección (43).

6.5.6.2 Resistencia

Los microorganismos de este género se encuentran favorecidos por la humedad, la cual le facilita la capacidad de sobrevivir en diversos lugares. Son muy sensibles a los desinfectantes ordinarios o de uso común, y mueren fácilmente ante los compuestos fenólicos (40).

6.5.7 Staphylococcus aureus

Comparte las características de los gérmenes Gram positivos y agrega algunas características distintivas. La pared celular está compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano. Se trata de un polímero polisacárido compuesto por cadenas con uniones de tipo β (1-4) no ramificadas, que contienen subunidades alternantes de ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamina. El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston¹² introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. (44).

Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos. Los estafilococos fueron clasificados inicialmente en un género común en la familia Micrococaceae además de los géneros *Micrococcus*, *Stomacoccus* y *Planococcus*. (41).

Los estafilococos a veces producen múltiple exotoxinas. Algunas tienen efectos locales, otras desencadenan la liberación de citocinas por parte de ciertos linfocitos T, lo que produce efectos sistémicos graves (lesiones de la piel, shock, insuficiencias orgánicas, muerte). La leucocidina de Pantón-Valentine (LPV, por su sigla en inglés) es una toxina producida por cepas infectadas por

un bacteriófago. La LPV aparece típicamente en las cepas de *S. aureus* resistente a la meticilina asociado a infecciones extrahospitalarias (EH-SARM) y se ha considerado la responsable de la capacidad de producir necrosis; sin embargo, este efecto no se ha verificado (45).

6.5.8 Echerichia coli

Es una bacteria común que se encuentra en los intestinos de los animales y las personas. Existen muchas cepas de *E. coli*, y la mayoría resultan inofensivas, sin embargo, existe una variedad peligrosa, la *E. coli* O157:H7, que produce una poderosa toxina (Shiga) que puede originar graves enfermedades, como el Síndrome Urémico Hemolítico, que puede desencadenar un fallo renal. La presencia de *Escherichia coli*, en el cultivo a nivel del seno maxilar es un acontecimiento inusual por lo que obedece a un reporte de caso. Este microorganismo un anaerobio facultativo Gram negativo, inusual en boca y estructuras cercanas, ha demostrado que puede adherirse al endotelio de la barrera hematoencefálica mediante la fimbria S, y mediante una proteína transmembranal permite su translocación a través de la barrera hematoencefálica, convirtiendo a *Escherichia coli* en una potencial causa de meningitis, y absceso cerebral, lo que presentan una mortalidad del 11% 13,14 (46).

El tratamiento tiene que ser terapéutico-quirúrgico para resolver el proceso infeccioso. Es necesario eliminar la fuente de infección (resto radicular, diente, material de endodoncia) para lograr un tratamiento curativo, acortar el tiempo de administración del antibiótico y evitar recidiva El antibiótico efectivo para la flora del seno maxilar, según Brooks 12 es necesario administrarlo en un lapso de tiempo entre 21 a 28 días, en sinusitis crónica. En procesos agudos en los cuales un agente etiológico ha sido eliminado el tiempo de administración puede ser menor como lo presentamos en nuestro caso. La terapéutica farmacológica se completa con un antiinflamatorio no esteroideo, un descongestionante nasal sistémico y en forma de rociador por 3 días (47).

6.5.9 Neiseria spp

El género *Neisseria* engloba diplococos Gram-negativos con sus caras adyacentes aplanadas, lo que les da la apariencia de granos de café en los frotis teñidos. El tamaño de las células varía entre 0,6 y 1,5 μm , son inmóviles y no esporuladas. Algunas cepas son capsuladas y varias de ellas, principalmente las de especie *N. gonorrhoeae*, se autolisan en cultivo luego de 24 horas. Todas las

especies son aeróbicas y crecen entre 35 y 37°C. Este crecimiento es óptimo en presencia de CO₂ y humedad. Además, son catalasa y oxidasa positivas. Los miembros del género *Neisseria* poseen un metabolismo oxidativo, por lo que producen ácidos por la oxidación de carbohidratos y no son capaces de fermentar. Solo dos especies se consideran patógenas para el hombre, *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*. Otras especies se han relacionado, ocasionalmente, con infecciones en inmunodeprimidos. Como se mencionó anteriormente, el diagnóstico puede realizarse en dos niveles (48).

6.5.9.1 Diagnóstico presuntivo.

Radica fundamentalmente en que permite orientar la terapia antimicrobiana inicial en los cuadros clínicos graves. Esta primera etapa se basa en la tinción de Gram, aspecto de la colonia y prueba de la oxidasa, lo que sumado al sitio anatómico desde el cual se aísla la bacteria, sugieren la etiología más probable. Sin embargo, tal como se demuestra en los casos clínicos presentados, la presencia de diplococos Gram negativos, oxidasa-positivos en una muestra, no constituye diagnóstico de especie y siempre deben realizarse pruebas adicionales para comprobar la sospecha inicial (49).

6.5.10 Diagnóstico confirmatorio

Se basa fundamentalmente en la producción de ácidos mediante oxidación de azúcares. La ventaja de esta prueba es que provee de un perfil que permite la rápida diferenciación entre varias especies de *Neisseria*. No obstante, si no se utilizan pruebas bioquímicas adicionales como la detección de enzimas (ej: gama glutamil aminopeptidasa para *N. meningitidis* e hidroxiprolil aminopeptidasa para *N. gonorrhoeae*), algunas *Neisseria* spp comensales pueden confundirse con especies patógenas. En la actualidad existen varios sistemas de identificación comerciales, que permiten realizar el diagnóstico diferencial entre géneros relacionados con *Neisseria* spp (*Moraxella*, *Kingella*) y entre especies del género *Neisseria*, con alto grado de certeza y a un costo razonable para los laboratorios asistenciales. Otra forma de llegar al diagnóstico de especie, son las pruebas serológicas para *N. gonorrhoeae*, que se aplican a la colonia sospechosa. Se dispone de anticuerpos fluorescentes, co-aglutinación y sondas de ácidos nucleicos (50).

Una vez identificada la especie, el diagnóstico se completa con la tipificación, la que generalmente se realiza en centros de referencia. Si bien esta etapa diagnóstica no tiene implicancias clínicas, es de alto valor epidemiológico, pues define el perfil de las cepas circulantes en una determinada población. *N. gonorrhoeae* se puede tipificar en base a dos sistemas: el auxotipo y la serotipificación. El primero, se basa en los requerimientos metabólicos de la cepa en estudio para crecer en un medio químicamente definido. De este modo, las cepas se pueden clasificar, por ejemplo, en aquellas que son capaces de crecer en medios con arginina y las que no lo son. El segundo método, se realiza con un panel de anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítopes presentes en una proteína de membrana externa denominada proteína I, que las divide en serogrupos IA e IB. Por su parte, *N. meningitidis* se clasifica en serogrupos en base a la presencia de polisacárido capsular o a antígenos de proteína de membrana externa (51)

6.5.11 Micrococcus

El género *Micrococcus* pertenece al filo de las actinobacterias. Son bacterias Gram positivas, esféricas, habitualmente organizadas en tétradas o racimos con un tamaño entre 0,5 y 3 μm ⁸⁴. La producción de pigmentos carotenoides, confiere a las colonias de *Micrococcus luteus* un típico color amarillo. *Micrococcus luteus* es un organismo comensal o saprofítico, aunque podría ser también un patógeno oportunista, particularmente en pacientes inmunodeprimidos¹²⁴. Además está considerado como un frecuente contaminante ambiental. De hecho, en un estudio de O'Donnell et al., *Micrococcus luteus* era el microorganismo más frecuentemente encontrado en las jeringas de aire- agua de equipos dentales como contaminante ambiental, posible agente causal de infecciones cruzadas entre pacientes¹²⁵ o en instrumental operatorio en contacto con la piel. En la cavidad oral se ha descrito su presencia formando parte de la placa supragingival de superficies lisas en etapas iniciales. Diferentes irrigantes empleados en endodoncia (hipoclorito de sodio, clorhexidina o povidona yodada) son eficaces en la inhibición del 100% de las colonias de *Micrococcus luteus* sembradas in vitro (52).

6.6 HEMOGRAMA

El hemograma constituye una de las pruebas más solicitadas en el laboratorio clínico, y acompaña a casi todos los protocolos de diagnóstico, dado que este puede ser usado como una herramienta cuya interpretación sirve de apoyo en la instauración y seguimiento de terapias; además, evidencia en sus valores cambios progresivos acorde con la severidad de las enfermedades y puede ser utilizado como punto de partida para la formulación de diagnósticos diferenciales. La biometría hemática o hemograma, es una herramienta de gran utilidad para la clínica de pequeñas especies, en este examen sanguíneo nos proporciona un recuento de tres series celulares sanguíneas, la serie Eritrocitaria (Serie Rojo o Glóbulos Rojos), la serie Leucocitaria (Serie Blanca o Glóbulos Blancos) y la serie Plaquetaria, y nos proporciona una idea muy confiable de la salud o enfermedad de nuestro paciente, por ello es de gran importancia saber realizar una adecuada interpretación de los valores encontrados en dicho estudio (53).

Tabla 3. Valores de referencia del hemograma en caninos.

Analítico	Valor de referencia	Unidades
Hematocrito	37.0- 55.0	%
Hemoglobina	12.0 – 18.0	g/dL
Eritrocitos	5 ” 500.000 – 8 ” 500.000	mm ³
VCM	60 – 76	fL
MCH	19.5 – 24.5	Pg
CGMH	32.0 – 36.0	g/dL
Plaquetas	200.000 – 500.000	mm ³
Leucocitos	6.000 – 17.000	mm ³
Neutrófilos	3000 – 11500	mm ³
N. Bandas	0 – 300	mm ³
Linfocitos	1000 – 4800	mm ³
Monocitos	150 – 1350	mm ³
Eosinófilos	100 – 1250	mm ³
Basófilos	0 – 100	mm ³

Fuente (53).

6.6.1 Serie Roja

6.6.2 Hematocrito

Corresponde al volumen porcentual que ocupan los eritrocitos en la sangre su valor está directamente relacionado al número de eritrocitos y su tamaño su valor fluctúa entre 28% – 45%. Se define como la medida directa de la capacidad transportadora de oxígeno en la sangre, su medición no proporciona información más significativa que la medición de VGA o el recuento absoluto de glóbulos rojos. El hematocrito o volumen celular aglomerado (PVC) es el indicador de la relación existente entre los glóbulos rojos y el plasma, patológicamente el hematocrito disminuye en las anemias y hemodiluciones, y tiende a aumentar en las policitemias, deshidratación y alarma simpática. El hematocrito permite apreciar tentativamente la cantidad de glóbulos blancos (54).

6.6.3 Eritrocitos

Las células rojas o eritrocitos tienen formas redondas bicóncavas, a nucleadas con un promedio de 6,5 a 7.0 μg de diámetro y poseen áreas pálidas en el centro, se caracteriza por ser el componente celular responsable de transportar oxígeno. Se producen en la médula ósea, en un proceso regulado por la eritropoyetina renal a partir del rubrublasto que pasa por los estados de prorrubrocito, rubrocito, metarrubrocito, reticulocito y eritrocito; el número de eritrocitos circulantes se ve afectado por cambios en el volumen plasmático, ritmo de eliminación o pérdida de eritrocitos, contracción esplénica, secreción de eritropoyetina y ritmo de producción de la médula ósea (55).

6.6.3.1 Concentración de eritrocitos

El recuento de glóbulos rojos en animales sanos es de 5,5 a 8,5 $\times 10^6$ /l en perros, se lo realiza por el método clásico del hemocitómetro o cámara de Neubauer, fisiológicamente el valor de eritrocitos aumenta desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad, simultáneamente a las elevaciones de hematocrito y hemoglobina. La vida media de esta célula en caninos es de 100 días aproximadamente.

Hemoglobina (Hb):

Expresa la concentración de Hb presente en la muestra de sangre, la cual en la mayoría de mamíferos es de 9 a 15 g/dL. La hemoglobina es una proteína que opera como transporte de gases

como oxígeno, dióxido de carbono, y monóxido de carbono; a más de participar en el equilibrio ácido base su valor es de 13 a 16 g/dL en perros. La interpretación del aumento o disminución de su hematocrito y concentración de eritrocitos (56).

6.6.3.2 Volumen corpuscular medio (VCM)

Corresponde al volumen promedio de los eritrocitos, se expresa en femtolitros o micras cúbicas, en caninos es 70 fl. Un VCM aumentado se denomina macrocitosis, es decir indica la presencia de glóbulos rojos más grandes de lo normal; en cambio un VCM disminuido se denomina microcitosis, e indica la presencia de glóbulos rojos que son más pequeños que el tamaño promedio (57).

6.6.4 Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)

La hemoglobina corpuscular media indica la concentración promedio de hemoglobina en los eritrocitos, expresado de otra manera se diría que mide el volumen de la masa de eritrocitos que corresponde a la hemoglobina. Entonces una CHCM disminuida se denomina hipocromasia e indica que, en promedio, los eritrocitos contienen menos hemoglobina por medida de volumen; y una CHCM aumentada se denomina hipercromasia que es la pérdida de volumen celular (58).

6.6.5 Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHbCM)

Indica la concentración de hemoglobina presente en lo eritrocitos, su valor en mamíferos es de 30 – 36 g/dL (56).

6.7 Alteraciones cuantitativas de la serie Roja

6.7.1 Anemia

Es la disminución del número total de eritrocitos, hemoglobina o hematocrito en relación a los valores fisiológicos. Cuando detectamos un paciente anémico es importante clasificar correctamente la anemia en regenerativa (hemorrágica, hemolítica) o no regenerativa (causas extramedulares y medulares) con el fin de poder identificar la causa que la está produciendo. Para ello debemos fijarnos en el número de reticulocitos o formas eritrocitarias inmaduras que nos da el hemograma y compararlo con los valores de referencia que proporciona cada laboratorio en función

de la especie. También es importante saber que la médula ósea tarda entre 48-72 horas en comenzar a regenerar. En algunas ocasiones el hecho de tener un VCM elevado (macrocitosis) asociado a un CHCM disminuido (hipocromía) puede ser sugestivo de regeneración, pero no en todas las anemias regenerativas lo vemos (también lo podemos encontrar en muestras antiguas o mal conservadas). También tenemos anemias semirregenerativas (ferropénicas, alternan periodos de regeneración y no regeneración). Consideraremos la presencia de regeneración o no junto con los hallazgos encontrados en el frotis (aglutinados, esferocitos, esquistocitos) para buscar la etiología de la anemia (59).

6.7.2 Policitemia

Aumento del número total de eritrocitos, hemoglobina o hematocrito en relación a los valores fisiológicos (60).

Clasificación:

- Relativa: sin alteración de la eritropoyesis.
- Absolutas: por aumento de la eritropoyesis.

6.7.3 Macroцитosis

Aumento del volumen corpuscular medio (VCM). Causas:

- Sangre vieja o mal conservada (los hematíes pierden su permeabilidad selectiva y se hinchan)
- Forma fisiológica en algunos caniches (macroцитosis hereditaria).
- Presencia de precursores eritrocitarios o policromatófilos (reticulocitos) (53).

6.7.4 Microцитosis Causas:

- Fisiológica en ciertas razas de perro: Shar Pei, Akita, Shiba Inu y Chow Chow.
- Anemias ferropénicas (perro).
- *Shunt* portosistémico (61).

6.7.5 Hipocromía

Glóbulos rojos con menor contenido en hemo-globina de lo normal. Viene representada por la concentración media de hemoglobina corpuscular (CHCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM). Causas

- Anemias regenerativas: los policromatófilos contienen menos hemoglobina que los eritrocitos maduros.
- Anemias ferropénicas (disminuye la síntesis de hemoglobina) asociadas a microcitosis por presencia de esquistocitos (62).

6.7.6 Hiperchromía

La hiperchromía siempre es secundaria a artefactos (un hematíe nunca puede contener mayor cantidad de hemoglobina que la fisiológica): hemólisis (por manejo o secundaria a una anemia hemolítica intravascular), lipemia o presencia de cuerpos de Heinz (63).

6.7.7 Anisocitosis

Indica la presencia de hematíes de diferente tamaño. A este concepto hace referencia la distribución de hematíes (54).

6.8 Serie Blanca.

6.8.1 Plaquetas o Trombocitos

Las plaquetas son fragmentos pequeños anucleados de citoplasma de 2 a 4 μm , en perros esto representa aproximadamente un 25 - 50% de diámetro de los eritrocitos con presencia ocasional de plaquetas grandes Las plaquetas provienen de los megacariocitos en la médula ósea su citoplasma es claro y de un gris pálido con números gránulos rosapúrpura, se producen en la médula ósea a partir de los megacariocito, pero también en el parénquima pulmonar y esplénico, permanecen en sangre durante 10 días.

Las plaquetas son esenciales para la hemostasia normal y llevan a cabo cuatro funciones:

- Mantener la integridad vascular al sellar pequeñas discontinuidades endoteliales.

- Ayudan a detener hemorragias al formar agregaciones plaquetales tras la constricción endotelial. Contribuyen a la actividad procoagulante de membrana lipídica al facilitar la hemostasia secundaria y formar la fibrina.
- Promueven la reparación vascular mediante el factor de crecimiento derivado de plaqueta.

La trombocitopenia es la disminución del número de plaquetas, su signo determinante es la aparición de petequias y sangrados. La trombopatía es la alteración en la capacidad funcional de las plaquetas que puede ser de origen hereditario o adquirido por el uso de drogas (64).

Células Polimorfonucleares.

6.8.2 Neutrófilos

Llamado también leucocito polimorfonuclear (PMN), tiene un diámetro aproximado de 10-15 μm y tiene el núcleo dividido tres y cinco lóbulos. Se forman de 4 a 6 días en la médula ósea, se liberan en la sangre, circulan brevemente, y migran a los espacios tisulares o superficies epiteliales del sistema respiratorio, digestivo, o urogenital, su principal función es la de defensa contra la invasión de los tejidos por microorganismos, eliminan bacterias pero también puede causar daño o participar en la destrucción de hongos, algas o virus. El tiempo de vida media de circulación de los neutrófilos en perros es normalmente de 6 a 12 horas y los recuentos pueden cambiar rápidamente en casos de enfermedad (65).

6.8.3 Neutrófilo Banda

Son neutrófilos inmaduros que pueden encontrarse a veces en sangre periférica un incremento en el número absoluto de células en banda o cayados indica un aumento de la demanda debido a inflamación. Cuando su número se eleva se denomina neutrofilia y cuando disminuye se denomina neutropenia, determinado por factores patológicos o fisiológicos.

Los neutrófilos circulantes pueden mostrar desviación a la izquierda o a la derecha.

- Desviación a la izquierda: se presenta cuando el compartimento de reserva se agota y existe una demanda continua de neutrófilos lo cual desencadena la liberación de neutrófilos inmaduros.

- Desviación a la derecha: es un trastorno leucocitario que consiste en la aparición de un gran número de neutrófilos hiper-segmentados, es un indicador de cronicidad que suele aparecer en inflamaciones o infecciones supurativas de larga data y en desórdenes mieloproliferativos. También ocurre en casos de estrés prolongado e Hiperadrenocorticismo, así como en excesos de glucocorticoides (66).

6.8.4 Linfocitos

Los linfocitos de la sangre periférica pueden originarse tanto en la médula ósea como el en timo, en perros sanos los linfocitos derivan aproximadamente un 70% del timo y un 30% de la médula ósea, tienen un tamaño de 9-12 μm . Viven desde 12 horas hasta algunos años, participan en la inmunidad celular y humoral, elaboran moduladores celulares como las linfoquinas e interferón pero no efectúan fagocitosis. La linfopoyesis se lleva a cabo en los tejidos linfoides y depende del grado o tipo de estimulación antigénica así como de la influencia de un conjunto de interleucinas que estimulan a los linfocitos B a dividirse o transformarse en células efectoras que producen inmunoglobulinas ; las células plasmáticas son las últimas derivadas de los linfocitos B, determinados antígenos estimulan a los linfocitos T a dividirse o transformarse en células efectoras que producen linfoquinas y median la inmunidad celular. Se denomina linfopenia a la reducción del número de linfocitos circulantes, mientras que la linfocitosis es el incremento en el número de linfocitos circulantes (67).

Células Mononucleares.

6.8.5 Monocitos

Se originan en la médula ósea y a diferencia de los granulocitos, se liberan en la circulación periférica como células inmaduras y se transportan a los tejidos en donde pueden diferenciarse en macrófagos, células epiteloides o células inflamatorias gigantes multinucleadas, tienen un tamaño de 15–20 μm . La vida de los monocitos varía desde algunas semanas hasta varios meses, la evolución continua de los monocitos a macrófagos representa la segunda línea de defensa del sistema fagocítico circulante, su función principal es la de fagocitosis y regulación de la respuesta inflamatoria por medio de la liberación de mediadores inflamatorios, intervienen el procesamiento de antígenos para su presentación a linfocitos y también participan en la regulación de las reservas de hierro del organismo. El término monocitopenia se utiliza para denominar la reducción del

número de monocitos circulantes, mientras que el término monocitosis es considerado para denominar el incremento de monocitos circulantes (68).

6.8.6 Eosinófilos

Se producen en la médula ósea de una forma similar a los neutrófilos, son reconocibles en el estado de mielocitos por la presencia de gránulos de eosinófilos específicos, tienen un tamaño de 12 – 15 μm de diámetro. Los gránulos pueden ser secundarios o específicos que contiene una proteína básica principal que son hidrolasas ácidas que se localizan en el núcleo del gránulo, y una peroxidasa específica de los eosinófilos que se encuentra en la matriz circundante del gránulo. Los eosinófilos requieren de 2 a 6 días para formarse en la médula ósea, raramente fagocitan pero tienen la capacidad de producir moduladores como profibrinolisisina, antihistamínicos, entre otros. El número de eosinófilos presentes en la circulación refleja el equilibrio existente entre la producción medular y la demanda o consumo tisular (69).

6.8.7 Basófilos

El basófilo es más grande que el neutrófilo, se forman en la médula ósea, tienen el núcleo grande y ligeramente lobulado en forma de cinta, poseen un tamaño de 12–20 μm de diámetro; también elaboran histamina, heparina y serotonina. Los basófilos constituyen un porcentaje muy bajo de la población total de leucocitos circulantes, en perros es raro observar basófilos en un recuento diferencial manual de leucocitos (70).

En los recuentos diferenciales de leucocitos, los basófilos están presentes en bajo número, participan en varias reacciones como la hipersensibilidad inmediata y retardada mediante la liberación de mediadores como la histamina; estimulan el metabolismo lipídico mediante la activación de la proteína lipasa, ayuda a la prevención y estimulación de la hemostasia mediante la liberación de heparina, interviene en la activación de la calcitonina, en el rechazo de parásitos y posee una posible toxicidad contra células tumorales. En cuanto al aumento de los basófilos se denomina basofilia, mientras que la disminución se denomina basopenia; estas alteraciones pueden deberse a estados patológicos aunque también puede presentarse en condiciones fisiológicas (71).

6.9 Alteraciones cuantitativas de la serie Blanca

El leucograma nos informa sobre el número total de leucocitos y el valor absoluto y porcentual de cada tipo (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos). Es importante realizar la interpretación siempre en función del valor absoluto. Se recomienda verificar los hallazgos del leucograma que nos ha proporcionado el analizador con los dot plots y con la observación microscópica del frotis, sobre todo si sospechamos de formas inmaduras o anormales. A continuación exponemos las alteraciones más frecuentes (72).

6.9.1 Leucocitosis

Es un aumento en el número de glóbulos blancos (leucocitos) de más de 11 000 células por microlitro de sangre, está causada a menudo por una respuesta normal del organismo frente a algunos fármacos, como los corticosteroides, o bien para ayudar a combatir una infección. Sin embargo, también algunas neoplasias de la médula ósea (como la leucemia) o la liberación de glóbulos blancos anormales o inmaduros de la médula ósea al torrente sanguíneo provocan un aumento del número de glóbulos blancos (leucocitos) en la sangre. (73).

6.9.2 Leucopenia

Es una reducción del recuento de leucocitos circulantes a $< 4.000/\mu\text{L}$. Por lo general, se caracteriza por un menor número de neutrófilos circulantes, aunque también puede contribuir la disminución del número de linfocitos, monocitos, eosinófilos o basófilos. Por consiguiente, la función inmunitaria puede en general estar disminuida Causas de leucopenia (74).

- Enfermedades víricas.

- Infección bacteriana importante.

- Anafilaxis. • Fármacos tóxicos y agentes químicos.

- Neoplasia de médula ósea, desórdenes/neoplasias linfoproliferativas y mieloproliferativas.

- Lupus eritematoso sistémico.

6.9.3 Neutrofilia

Aumento del número de neutrófilos por encima de los valores de referencia fisiológicos para la especie. Causas:

- Por liberación de epinefrina (excitación, miedo, estrés, ejercicio, extracciones de sangre en la consulta). Duración transitoria de 20-30 minutos.
- Niveles elevados de corticoides (estrés crónico por enfermedad, síndrome de Cushing o administración exógena). Neutrofilia de estrés (asociada a monocitosis, linfopenia y eosinopenia).
- Neutrofilia inflamatoria: secundaria a infecciones, tumores, procesos inmunomediados, físico-químicos, etc.
- Leucemias (74).

Debemos confirmar si hay o no desviación a la izquierda (neutrófilos inmaduros en banda o cayados por encima del valor de referencia y otros precursores como metamielocitos o mielocitos) así como la presencia o no de cambios tóxicos (cuerpos de Döhle, basofilia o vacuolización citoplasmática, núcleo en anillo, etc.). La desviación a la izquierda asociada a neutrofilia, neutropenia o valor numérico en rango y los cambios tóxicos son indicativos de inflamación además de servirnos para el diagnóstico nos ayuda a establecer un pronóstico y a monitorizar tratamientos (75).

6.9.4 Neutropenia

Disminución del número de neutrófilos por debajo de los valores de referencia fisiológicos para la especie. Causas:

- Infección bacteriana importante, aguda o crónica.
- Inflamación sobreaguda, grave, sepsis, que suele ir asociada con desviación a la izquierda degenerativa (el número de neutrófilos inmaduros es superior al de neutrófilos maduros).
- Disminución de la producción en la médula ósea: infecciones, fármacos, neoplasias, necrosis de la médula, hematopoyesis cíclica del Collie.
- Destrucción periférica (inmunomediada).
- Secuestro por shock endotóxico, anafiláctico, anestesia, etc (76).

6.9.5 Linfocitosis

Aumento del número de linfocitos por encima de los valores de referencia fisiológicos para la especie (67).

Causas:

- Fisiológica en animales jóvenes (sobre todo en gatos).
- Inducida por liberación de epinefrina.
- Estimulación antigénica prolongada (posvacunal, infecciones/inflamaciones crónicas).
- Ehrlichiosis.
- Enfermedades linfoproliferativas.

6.9.6 Linfopenia

Disminución del número de linfocitos por debajo de los valores de referencia fisiológicos para la especie. Causas:

- Niveles elevados de corticoides (leucograma de estrés).
- Enfermedades víricas.
- Pérdida de linfa rica en linfocitos (quilotórax) (77).

6.9.7 Eosinofilia

Aumento del número de eosinófilos por encima de los valores de referencia fisiológicos para la especie, en caso de infecciones parasitarias o en las alergias. Ellos son los “culpables” de reconocer como extrañas y atacar a partículas inofensivas y provocar reacciones alérgicas de distintos tipos y principalmente es un hallazgo relacionado con procesos alérgicos o parasitarios por ejemplo, se descubre una eosinofilia marcada en animales con dermatitis atópica por picadura de pulgas ,complejo eosinofílico del gato , endoparasitosis , gastrointestinales sus causas: hipersensibilidad, enfermedades parasitarias, etc (77).

6.9.8 Eosinopenia

Es una disminución del número de eosinófilos circulantes, sus causas de eosinopenia es (69).

- Estrés agudo (adrenalina).
- Estrés crónico (glucocorticoides), por ejemplo, piometra.
- Hiperadrenocorticismo.
- Infección/inflamación aguda.

6.9.9 Monocitosis

En general la podemos ver asociada a cualquier inflamación o bien como parte del leucograma de estrés. Recuentos muy elevados pueden sugerir leucemias; se debe evaluar bien el frotis para descartar o confirmar la presencia de células blásticas (las células inmaduras de la médula ósea) Causas de monocitosis (78).

- Hiperadrenocorticismo.
- Administración de esteroides/ ACTH.
- Estrés grave, por ejemplo, piometra.
- Infección/inflamación aguda y crónica.

6.9.10 Basofilia

Es rara. Puede verse en hipersensibilidad y parasitosis junto con la eosinofilia o bien en leucemias basofílicas, Cuando se presenta, suele acompañar a la eosinofilia, particularmente en conexión con las afecciones que se señalan a continuación, Causas de basofilia. (79).

Procesos alérgicos (hipersensibilidad inmediata).

- Enfermedad inflamatoria purulenta localizada
- Hiperlipoproteinemia (perro)

6.10 LA CALÉNDULA

La caléndula (*Caléndula officinalis*) es una especie herbácea originaria de Egipto, aunque se cree que su introducción en Europa data del siglo XII, desde donde se extendió por el resto del mundo. El nombre común proviene del latín *calendae*, primer día del mes. En la actualidad se encuentra frecuentemente en los jardines de todo el mundo como planta ornamental, aunque su aroma no es muy agradable. La caléndula es una planta que se utiliza en la región mediterránea desde la época de los antiguos griegos, aunque con anterioridad ya era conocida por los hindúes y los árabes por sus cualidades terapéuticas como una hierba medicinal, así como un tinte para telas, productos de alimentación y cosméticos, Comentan que por ser una planta cultivada desde la antigüedad existen numerosas variedades, las que se diferencian fundamentalmente por el tamaño, coloración y por la complejidad de la corola; desarrollando un ciclo de aproximadamente de 4 a 5 meses. Desde el punto de vista botánico, en Herbotecnia.com se describe a esta especie como una planta herbácea anual (en raras ocasiones también bianual), de tallo robusto, anguloso, tomentoso, y que alcanza una altura de 40 a 60 cm. Sus hojas son oblanceoladas o espatuladas las inferiores, con bordes levemente dentados. Las flores se presentan en cabezuelas solitarias terminales de unos 5 cm de ancho con flores tubulosas en el disco, y liguladas las radiales, de color amarillo anaranjado a anaranjado (88).

Tabla 4. Taxonómica de la Caléndula.

Clasificación taxonómica
División: Magnoliophyta
Orden: Asterales
Subfamilia: Asteroideae
Reino: Plantae
Clase: Magnoliopsida
Familia: Asteraceae
Tribu: Calenduleae
Especie: <i>Calendula officinalis</i>

Fuente (88).

6.10.1 Partes utilizadas

La parte utilizada en la industria farmacéutica (también denominada “droga vegetal”), y por lo tanto la que nos interesa producir, está constituida por las inflorescencias o capítulos enteros secos (comúnmente llamadas “flores”), y también por los flósculos aislados (también conocidos erróneamente como “pétalos”). En menor medida se emplean las hojas. Usos y propiedades de la caléndula. La caléndula es una planta tradicionalmente empleada en dermatología. En su Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos, el Dr. Alonso explica que se emplea con éxito en forma tópica en el tratamiento de úlceras dérmicas, heridas infectadas, dermatitis de pañal eczemas, eritemas, várices, hemorroides, etc. También posee algunas aplicaciones internas, aunque su importancia en estos casos es menos extendida. Para el uso externo (dermatológico) se puede utilizar la decocción de la caléndula para lavajes o compresas, y también incorporado en ungüentos, pomadas, cremas, jabones y talcos (89).

Sus acciones farmacológicas serían principalmente antiespasmódicas, coleréticas, sudoríficas, emenagogas, hipotensoras, antiinflamatorias, vulnerarias, antibióticas, antisépticas, y cicatrizantes. También se utiliza como colorante en productos cosméticos, y su aceite en la elaboración de perfumes. En la industria alimenticia, como colorante natural de manteca, queso, licores, como reemplazo del azafrán (*Crocus sativus*), incorporado en la dieta de aves de corral para dar mayor color a las yemas de los huevos que se venden frescos. También se considera un excelente repelente de insectos, debido a su olor acre (90)

6.10.2 Descripción botánica

Caléndula officinalis es una especie vegetal productora de diversos metabolitos con aplicaciones farmacológicas. Hasta la fecha no se ha reportado la producción de compuestos fenólicos a partir de células cultivadas en suspensión de esta especie. Se propone, entonces, el establecimiento de cultivos in vitro (callos y suspensiones celulares) de esta especie con miras a la elicitación con Metil-Jasmonato (MeJA) de algunos de sus metabolitos de interés como los ácidos fenólicos, cafeico y clorogénico, y los flavonoides, kaempferol y quercetina (91).

6.10.3 Los biocompuestos de *C. officinalis*

Son de interés medicinal y, en especial, porque pueden ser una alternativa para el tratamiento de patologías de gran morbilidad y mortalidad mundial como el cáncer, anomalía celular que según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2020 podría aumentar su incidencia en un 50%, con 15 millones de nuevos casos. Además, poseen de propiedades reconocidas como anti-inflamatorias, cicatrizante, anti-ulcerativa y espasmolítico (92).

6.10.4 *Caléndula officinalis* y su importancia farmacológica

Históricamente, las flores de *C. officinalis* se usan para hacer extractos, tinturas, bálsamos y aceites, que se aplican directamente en la piel para ayudar a curar heridas y disminuir la inflamación. También son recomendados como antihemorrágicos, antisépticos y espasmolíticos. Igualmente, los extractos de las flores de *C. officinalis* se usan en el tratamiento de leucorrea. Las plantas presentan rutas metabólicas comunes en las que se producen compuestos que son necesarios para su crecimiento y desarrollo. En las últimas décadas, se han realizado estudios en animales y humanos donde se comprueban las propiedades antiinflamatoria y cicatrizante de *C. officinalis*; además se ha demostrado su actividad bactericida contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus fecalis*.

En ratas, la aplicación interna de sus extractos, demostró que estimula la actividad hepática y colagoga y datos in vitro indican que polisacáridos de *C. officinalis* estimulan la fagocitosis (93).

6.10.5 Principales Metabolitos Producidos por *Caléndula officinalis*.

6.10.5.1 Terpenos

Son una gran variedad de compuestos naturales de origen vegetal, procedentes de unidades isoprenicas. Sus actividades biológicas comprenden las de atraer y repeler insectos; también hacen parte estructural de hormonas, compuestos aromáticos y de numerosos metabolitos secundarios (94).

6.10.5.2 Fenoles

Se denominan fenoles a todos los compuestos químicos orgánicos cuya composición forma parte un anillo aromático (benceno) unido a uno o varios grupos hidroxilo. Los compuestos fenólicos constituyen uno de los productos naturales más importantes provenientes del metabolismo

secundario vegetal. Estos fitoquímicos se usan desde tiempo atrás para la elaboración de tintas, curtido de pieles, refinado de vinos y antiséptico (80).

6.10.5.3 Los flavonoides

Más importantes obtenidos a partir de *C. officinalis* son la rutina, la quercetina y el kaempferol (Duke, 1992; Matysik, 2005); estos compuestos en su calidad de flavonoides son muy eficaces para el tratamiento de alergias y ha sido bien estudiada su eficiencia anti-oxidante y su efecto cáncer-preventivo (95).

6.10.5.4 Quercetina

Este flavonoide es uno de los antioxidantes y antiinflamatorios más potentes de la naturaleza, encontrado comúnmente en frutas y vegetales. Quercetina ha sido bien estudiada desde hace más de 20 años, otorgándosele un potencial anticancerígeno y una actividad antitumoral, debido a la regulación que ejerce sobre el ciclo celular evitando así la proliferación descontrolada de las células malignas (96).

6.10.5.5 Catequina

Catequina es el compuesto fenólico monomérico más abundante en el vino tinto, 120-390 mg/L; en vino blanco varía entre 16-46 mg/L. Los niveles de epicatequina son menores que los de catequina, en vino tinto entre 25 y 162 mg/L, y en vino blanco entre 6 y 60 mg/L (81).

La capacidad antioxidante de catequina se ha demostrado especialmente en estudios *in vitro*. Inhibe la oxidación de las LDL, siendo incluso más efectiva que la vitamina E (Frankel, 1993). Dímeros y trímeros de catequina, denominados procianidinas, aislados de pepa de uva, presentan un porcentaje relativo de inhibición de la oxidación de las LDL similar (80-85%), algo menor (51-68%) y menor (36,5%) que el monómero de catequina (83%) (94).

6.10.5.6 Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos, fenoles de bajo peso molecular, son precursores bioquímicos de gran variedad de compuestos antimicrobianos, moléculas de señalización y moléculas que juegan un papel importante en la respuesta defensiva de la planta. Al igual que los flavonoides tienen un papel importante como antioxidantes tanto en los vegetales como en los organismos que lo consumen (97).

6.11 Aspectos farmacológicos

las decocciones de las flores de Caléndula tienen un amplio espectro en cuanto al tratamiento de diversas afecciones, entre las que podemos citar de una forma selectiva las siguientes: para la curación de las heridas, como colutorios en las estomatitis, y en la piorrea; en el tratamiento de la gastritis, de las úlceras, hepatitis y otras enfermedades gastrointestinales; en el tratamiento de la hipertensión, taquicardia y arritmia; en el tratamiento de diversas afecciones del sistema urinario, así como en enfermedades del SNC (98).

6.11.1 Estudios farmacológicos experimentales.

En los estudios farmacológicos realizados con extractos o fracciones a partir de las flores de *C. officinalis* se han detectado las mismas propiedades que se informan en la medicina tradicional; así tenemos que plantea que los extractos etanólicos al 80 % mostraron actividad antibacteriana especialmente contra *Staphylococcus aureus* y *S. fecalis*. *Schipochliev* y *Fleischner* realizaron estudios en que se demostró la propiedad antiinflamatoria de extractos de Caléndula (99).

6.11.2 Aspectos químicos

Las flores de caléndula presentan los siguientes compuestos químicos farmacológicos están los carotenoides y los flavonoides. Así tenemos que se plantea un contenido de 0,078 y 0,017 % de carotenoides totales en las flores liguladas y en los receptáculos respectivamente, y de los compuestos identificados se encuentran α , β , y γ -caroteno, violaxantina, rubixantina, citroxantina, flavocromo, flavoxantina, galenina, luteína, licopeno, valentiaxantina, auroxantina, microxantina, epoxicaroteno, β -zeacaroteno, mutatoxantina y lutein epóxido. Presenta las propiedades farmacológicas siguientes: cicatrizante, antiinflamatorio, antibacteriano y tranquilizante, lo cual hace de ésta una materia prima natural de interés para la industria farmacéutica (100).

6.11.3 Compuestos presentes en las flores de caléndula son:

Los extractos de *C. officinalis* y en particular los de sus flores muestran un amplio espectro de acciones farmacológicas, entre las que sobresalen: antibacteriana, antiinflamatoria y cicatrizante, de ahí la gran importancia de los extractos de caléndula en la cosmetología moderna. Otras propiedades son colagogo, hipolipemiente, inmunoestimulante, antitumoral, etcétera, todo lo cual apoya el amplio uso de esta planta en la medicina tradicional mundial. Estudios químicos, la caléndula posee un extenso número de familias químicas, entre las cuales sobresalen los carotenoides, los flavonoides, triterpenos, saponinas, ácidos fenólicos, taninos, coumarinas,

polisacáridos, sustancias pectídicas, hemicelulosas, aceite esencial. El interés por la caléndula ha tenido un incremento importante en las décadas de los 70 y 80, el cual se vislumbra similar para la actual década, y en gran medida está dado por la utilización de los extractos de esta planta en varios productos cosméticos (para la piel) y su correspondiente importancia económica. También se ha visto un incremento en el uso de fármacos derivados de extractos de caléndula (101).

6.12 Elaboración de la tintura de caléndula

Para la preparación de la tintura madre de *Caléndula officinalis* se procedió a adquirir la planta en forma comercial en el mercado Sonora tanto para la primera como para la segunda tintura realizada. Cabe mencionar que por lo anterior, se desconoce la historia del cultivo y recolección de la planta las condiciones de riego, o si es silvestre, así como el seguimiento de la recolección. Los pasos para su obtención son los siguientes:

- Se identificó la planta a preparar
- Se Limpió (higienizó), se elimina las hojas rotas, marchitas, amarillas. Secas, plaga, parásitos, gusanos, tierra, polvo, etc
- Se lava con agua corriente y posteriormente con agua destilada, se pone a escurrir, se corta la planta en trozos pequeños (sobre una tabla de madera).
- Se machaca en el mortero los trozos de la planta, añadiéndolos paulatinamente hasta sacarles todo el jugo, y observar una consistencia semipastosa o de papilla que por el machacado generó burbujas pequeñas como espuma. Se pesa el vaso de precipitado en donde se recibió el jugo. Se coloca la papilla del mortero con una espátula no metálica en una gasa tipo hospital, envolviéndola y exprimiendo girando los extremos de este envoltorio, hacia el lado contrario uno de otro. El jugo se recibe en el vaso de precipitado.
- Se pesa el jugo obtenido y se mezcló inmediatamente con una cantidad igual de OH de 90°. Se envasó en un frasco de vidrio color ámbar y se llenó hasta 2/3 partes de su capacidad (105).

6.13 Proceso de elaboración de la crema de caléndula

Ingredientes:

Aceite de oliva ó de almendras

Caléndula seca

Cera virgen de abeja

Cantidades:

Respecto a las cantidades, una cosa importante, para una cantidad de 750 gr. de aceite hay que utilizar 50 gr. de cera. En función de esta proporción podemos adaptarla a la cantidad adecuada. Respecto a la cantidad de caléndula, la proporción habitual es de: 1/3 del volumen de plantas y 2/3 de aceite. (105).

Procedimiento:

Paso 1: Poner a macerar en aceite las flores de caléndula, pueden ser secas ó frescas. Dejarlas macerar al sol durante 40 días y 40 noches.

Paso 2: A los 40 días hay que colar el aceite. Se puede utilizar un colador ó también utilizar una gasa que colocamos en la boca del recipiente.

Paso 3: Poner el aceite en un recipiente para calentarlo al baño maria. Es muy importante que el aceite no se caliente en exceso.

Paso 4: Una vez que el aceite está caliente, le añadimos la cera virgen de abeja, y removemos.

Paso 5: Cuando la cera está disuelta volcamos rápidamente sobre los tarros que vayamos a utilizar. Este paso hay que hacerlo rápido porque la crema se empieza a endurecer enseguida.

Paso 6: Dejar enfriar. Crema lista para utilizar (86).

7. VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS

De acuerdo a los métodos de la investigación se ha demostrado la hipótesis afirmativa que menciona que en la aplicación de tintura de la caléndula 2 veces al día pasando un día por 30 días seguidos, disminuyo en la gran mayoría de las UFC en gran porcentaje las bacterias causantes de Gingivitis en los caninos.

8. METODOLOGÍA

8.1 Métodos de la investigación

8.1.1 Método deductivo

El método deductivo es aquel método donde se va de lo general a lo específico. Este comienza dando paso a los datos en cierta forma válidos, para llegar a una deducción a partir de un razonamiento de forma lógica; es decir se refiere a un proceso donde existen determinadas reglas y procesos donde gracias a su asistencia, se llegan a conclusiones finales partiendo de ciertos enunciados o premisas (106).

Se aplicó este método en la investigación debido a que los datos y resultados que se van a obtener en el estudio, mediante los cultivos bacterianos ante y post tratamiento como también la determinación la presencia de gingivitis son datos específicos, reales y fiables que nos ayudará a la deducción de resultados finales del estudio.

8.1.2 Método Experimental

Es el método científico por excelencia, identifica causas y evaluación de sus efectos. La investigación trata de buscar la existencia de una relación de causalidad entre un aspecto del ambiente y un aspecto de la conducta del sujeto controlando el resto de los factores que podrían influir en la conducta estudiada (107).

8.1.3 Método descriptivo

El objetivo de la investigación descriptiva consiste en evaluar ciertas características de una situación particular en uno o más puntos del tiempo. En esta investigación se analizarán los datos reunidos para descubrir así; cuales variables están relacionadas entre sí.

8.2 Técnicas

8.2.1 Técnica de observación

Acción de observar, de mirar detenidamente, en el sentido del investigador es la experiencia, es el proceso de mirar detenidamente, o sea, en sentido amplio, el experimento, el proceso de someter conductas de algunas cosas o condiciones manipuladas de acuerdo a ciertos principios para llevar a cabo la observación. Se utilizó la técnica de observación para la selección de los animales para el experimento, para la obtención de las muestras, y otros para obtener los datos que arrojaba esta investigación.

8.2.2 Unidades experimentales

Cada canino fue una unidad experimental y está estimada en 20 caninos domésticos, el experimento estuvo dividido en 4 grupos con sus respectivos tratamientos cada uno.

Se realizó aleatoriamente en diferentes grupos de 5 caninos con una edad comprendida de 2 a 6 años.

8.2.3 Descripción de tratamientos

Se realizó 4 tratamientos cada uno conformado por 5 animales: Los tratamientos asignados fueron:

8.3 Tratamientos

T1 = TINTURA DE LA CALÉNDULA forma de aplicación (2 veces al día, todos los días por 30 días seguidos).

T2= TINTURA DE LA CALÉNDULA forma de aplicación (2 veces al día, pasando un día por 30 días seguidos).

T3= CREMA DE CALÉNDULA forma de aplicación (2 veces al día, todos los días por 30 días seguidos).

T4= CREMA DE CALÉNDULA forma de aplicación (2 veces al día, pasando un día y por 30 días seguidos).

8.4 Manejo del ensayo

8.4.1 Elaboración de la tintura de la Caléndula

- Se empezó con las 20 plantas para la deshidratación en un horno con una temperatura de 60 grados centígrados por 24 horas.
- Después de tener las plantas bien deshidratadas procedemos a ir al laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de CAREN.
- Con un mortero molem la planta hasta tener un aspecto como de polvo.
- Luego de tener listo ponemos en recipiente de botella de vidrio oscura con 500ml de alcohol etílico y 100 gramos del polvo de caléndula es decir 20 gramos del polvo de caléndula en 100 ml de alcohol etílico.
- Dejamos reposar por 21 días.

8.4.2 Elaboración de la crema de la caléndula

- Una vez reposado los 21 días tenemos resultados de la Tintura de la Caléndula.
- En 200ml de la tintura de Caléndula ponemos a evaporizar a baño María, en un vaso de precipitación con 300 ml de agua
- En un tiempo de 25 minutos con 200 grados de temperatura.
- Una vez evaporizado la tintura de Caléndula procedemos a poner en un recipiente 500 gramos de vaselina de petróleo de la misma forma a baño María hasta que la vaselina tomar una forma súper blanda y mezclar con la tintura evaporizada a una temperatura de 330 °C
- La crema de la Caléndula se colocó en unos envases de plástico estériles, y empezar con los tratamientos en nuestros perros de investigación.

8.4.3 Procedimiento de la recolección de muestras de sangre en caninos

Toma de muestra

- Historia clínica
- De forma segura, con la ayuda del propietario para realizar la muestra del cultivo microbiológico de las encías.
- Siguiendo se procedió a sujetar al perro en posición decúbito esternal para la muestra de hemograma en cada uno de los perros, se realizó la preparación aséptica de la región que se va a tomar.
- Se aplicó un torniquete sobre la articulación del codo para lograr localizar la vena máximo de diez segundos.
- Una vez que se ha atravesado la piel y la pared del vaso sanguíneo, se realiza una ligera aspiración del émbolo, para comprobar si logramos estar en vena

Identificación

- Se procedió a poner los nombres en cada tubo anticoagulante de cada paciente.
- Procedemos a extraer la sangre 1ml, que se colocó en un anticoagulante.

Transporte

- Al final la toma de muestra en los pacientes y lo transportamos en el culer hacia el laboratorio en el transcurso de 2 horas.

Análisis

- Mediante la toma de muestras se esperó 15 días para los respectivos resultados.

8.4.4 Procedimiento de la recolección de muestras del cultivo microbiológico

Toma de muestra

- Historia clínica del paciente
- Inmovilizar al perro con la ayuda de su dueño.
- Enseguida con un tubo de ensayo de tapa roja estéril y más un hisopo estéril pasamos el hisopo en las encías de nuestro paciente, en segundos después guardamos la muestra en el tubo de ensayo.

Identificación

- Las muestras deben estar identificadas: Nombre del paciente, especie, raza, edad, fecha de muestreo, ya sea para cultivo microbiológico y hemograma.

Transporte

- Al cabo de 2 horas se llevó las muestras al laboratorio.

Análisis

- Mediante la toma de muestras microbiológicas los respectivos resultados fueron entregados al igual que el hemograma a los 15 días.

8.4.5 Estudio del cultivo microbiológico y hemograma de los caninos.

El estudio del cultivo microbiológico y hemograma se llevó a cabo con 20 caninos en la Ciudadela los Molinos, el cultivo microbiológico se realizó al inicio de la investigación con la finalidad de saber qué tipo de bacterias tienen en sus encías y así poder empezar con los tratamientos de la tintura de la caléndula y más la crema de caléndula.

8.5 Análisis estadístico

Se utilizó una estadística descriptiva de tipo experimental mediante el uso de diagramas de frecuencia, análisis de medias y porcentajes.

9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Tabla 5. Resultados del número de bacterias (UFC), registradas en el día 1 y 30 post aplicación de caléndula en caninos con gingivitis.

TRATAMIENTO	BACTERIAS	DIA 1 UFC	DIA 30 UFC
T1	Stapylococcus cuagulasa negativa	30.000	0
	Bacillus spp,	5.000	0
	Streptococcus spp	20.000	0
	Stapylococcus cuagulasa negativa	100.000	7.000
	Bacillus spp	60.000	0
	Stapylococcus aureus,	100.000	0
	Steptococcus beta hemolitico	30.000	0
	Escherichia coli	88.000	0
	Stapylococcus cuagulasa negativa,	100.000	0
	Bacillus spp,	5.000	2.000
	Enterobacter cloacae	10.000	0
	Pseudomonas	90.000	48.000
	Stapylococcus cuagulasa negativa,	25.000	0
	Streptococcus beta hemolitico	15.000	0
	Escherichia coli	22.000	0
T2	Stapylococcus cuagulasa negativa,	100.000	0
	Steptococcus beta hemolitico	3.000	0
	Stapylococcus cuagulasa negativa	90.000	0
	Stapylococcus aureus,	20.000	0
	Streptococcus beta hemolítico	3.000	0
	Streptococcus spp		5.000
	Bacillus spp	7.000	0
	Stayilococcus aureus	80.000	0
	Escherichia coli.	2.000	0
	Steptococcus beta hemolitico	80.000	0
	Escherichia coli	12.000	0
	Stapylococcus aureus,	100.000	2.000
	Bacillus spp,	3.000	0
	Escherichia coli	40.000	0
	T3	Stapylococcus aureus,	80000
Micrococcus		10000	
Stapylococcus coagulasa negativa			25.000
Stapylococcus cuagulasa negativa,		60.000	3.000
Streptococcus spp		10.000	0
Bacillus spp		20.000	0
Enterobacter cloacae		50.000	0
Stapylococcus cuagulasa negativa,		50.000	0
Steptococcus beta hemolítico		20.000	0
Neisseria spp,		40.000	0
Bacillus spp		8.000	0
Stapylococcus aureus			8.000
Stapylococcus cuagulasa negativa		100.000	
Escherichia coli		25.000	2.000
Stapylococcus cuagulasa negativa,		75000	20.000
Streptococcus beta hemolitico,	5000	0	
Bacillus spp	8000	0	
T4	Stapylococcus cuagulasa negativa,	13000	25.000
	Stapylococcus aureus,	20000	19.000
	Micrococcus	11000	0
	Staphilococcus cuagulasa negativa	20000	0
	Streptococcus spp		5.000
	Stapylococcus aureus	10000	8.000
	Bacillus spp,	8000	0
	Stapylococcus cuagulasa negativa	15000	2.000
	Escherichia coli,	2000	10.000

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma (2019).

9.1 Stapylococcus coagulasa negativa.

Tabla 6. Porcentaje de Stapylococcus coagulasa negativa presente al aplicar caléndula.

TRATAMIENTOS	DIA 1 UFC	DIA 30 UFC
1	96.3%	2.7%
2	100%	0%
3	92%	8%
4	96.3%	2.7%

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Mediantes los porcentajes de las UFC en la bacteria Stapylococcus coagulasa negativa, en el tratamiento 1 con 96.3% del día 1 a diferencia del día 30 con un 2.7%, en cuanto al Tratamiento 2 tenemos en el día 1 con un 100% de UFC, mientras que con una gran diferencia del 0% de UFC en el día 30, Tratamiento 3 con un 92% del día 1 y un 2.7% del día 30, a continuación con el Tratamiento 4 se observa un 96.3% del día 1 con la presencia de la bacteria Stapylococcus coagulasa negativa con un 2.7% (Tabla 6).

Tabla 7. Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra bacterias Stapylococcus coagulasa negativa

TRATAMIENTOS	MEDIA±EE ANTES	MEDIA±EE DESPUES
1	63750 ^a ±20953,82	1750 ^a ±1750
2	95000 ^b ±5000	0 ^a ±5000
3	57000 ^{a,b} ±16552,95	9600 ^a ±5353,5
4	16000 ^a ±2081,67	9000 ^a ±8020,81
VALOR P	0,12	0,5271

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

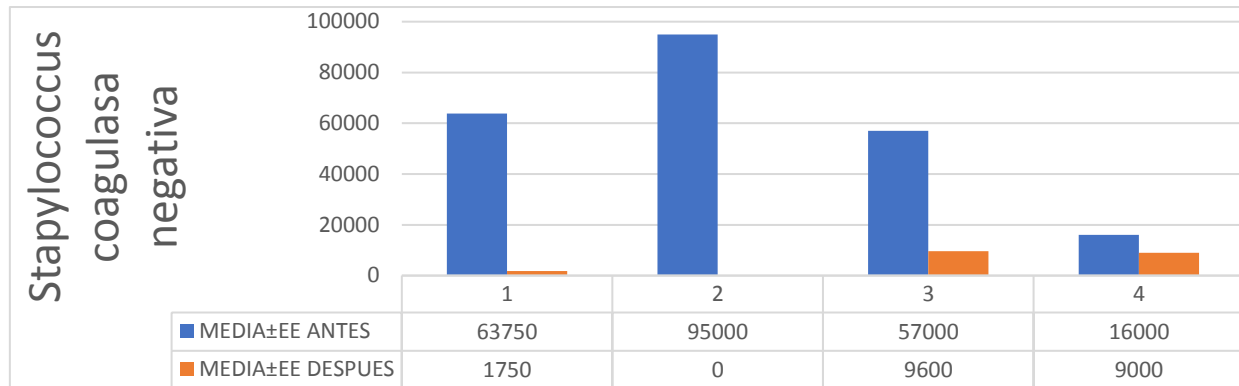
Los resultados estadísticos registrados de la bacteria Stapylococcus coagulasa, antes y después de aplicar los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas como se observa en la (Tabla 7).

Sin embargo si se observaron diferencias numéricas donde el tratamiento T1 según los días de evaluación se observó una reducción en la presencia de bacterias mientras al aplicar el tratamiento T2 la bacteria fue totalmente erradicada (Tabla 7), ante estos resultados Chiguano D, al evaluar el efecto del propóleo en casos de gingivitis registró 8 caninos con *Stapylococcus* al terminar la evaluación resultados que fueron poco favorables en comparación con la presente investigación donde la tintura de caléndula si erradico la bacteria esta relación positiva puede estar motivada por la actividad antibacteriana de la caléndula debido a la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y saponinas (109).

Esto debido a que, los flavonoides por tener en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combina y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos (110).

Para los tratamientos donde se utilizó la crema de caléndula T2 y T3 con un cambio en los días de aplicación se observó la persistencia de la bacteria ante estos resultados Predari S en el año 2006 indica que la resistencia del *Stapylococcus coagulasa* negativa puede estar asociada a la producción de biopelícula lo cual está directamente relacionado a la capacidad que posee de expresar adhesinas y formar multicapas de biopelícula que no permiten la acción de los compuestos fenólicos (111).

Además es importante indicar que para la preparación de la crema las muestras fueron sometidas una mayor temperatura donde según el autor Li, B y Col, mencionan que durante el proceso de secado tanto la temperatura como el tiempo largos de secado podrían afectar algunos de los compuestos polifenólicos, reduciendo la presencia de los mismos, lo que pudo ocasionar que la caléndula sea menos efectiva (112).

Grafico N°1. Diagrama de la cantidad de bacterias presente durante los días de Tratamiento

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

En una investigación similar al estudiar las interacciones moleculares entre plantas y microorganismos, manifiesta que las saponinas son un grupo de sustancias glicosídicas, esto debido a su capacidad de formar complejos con esteroides de las membranas celulares produciendo grandes poros en las mismas que alteran su permeabilidad y la célula se lisa, ocasionando la ruptura de las membranas bacterianas (113). Claramente se puede observar según tabla (7).

9.2 Bacillus spp

Tabla 8. Porcentaje de Bacillus spp presente al aplicar caléndula.

TRATAMIENTOS	DIA 1 UFC	DIA 30 UFC
1	98%	2%
2	100%	0 %
3	100%	0%
4	100%	0%

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

La Bacteria Bacillus spp en los pacientes se registraron que el T1 se observó la disminución al 2% del día 30, Para el T2 tenemos la eliminación de las UFC al igual podemos decir en el T3 Y T4 no hubo la presencia de Bacteria Bacillus spp en el día 30.

Tabla 9. Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra del Bacillus spp

TRATAMIENTOS	MEDIA±EE ANTES	MEDIA±EE DESPUES
1	23333,33 ^a ±18333,33	0 ^a ±666,67
2	5000 ^a ±2000	0 ^a ±0
3	12000 ^a ±4000	0 ^a ±0
4	8000 ^a ±0	0 ^a ±0
VALOR P	0,7786	0,6667

Fuente: Directa

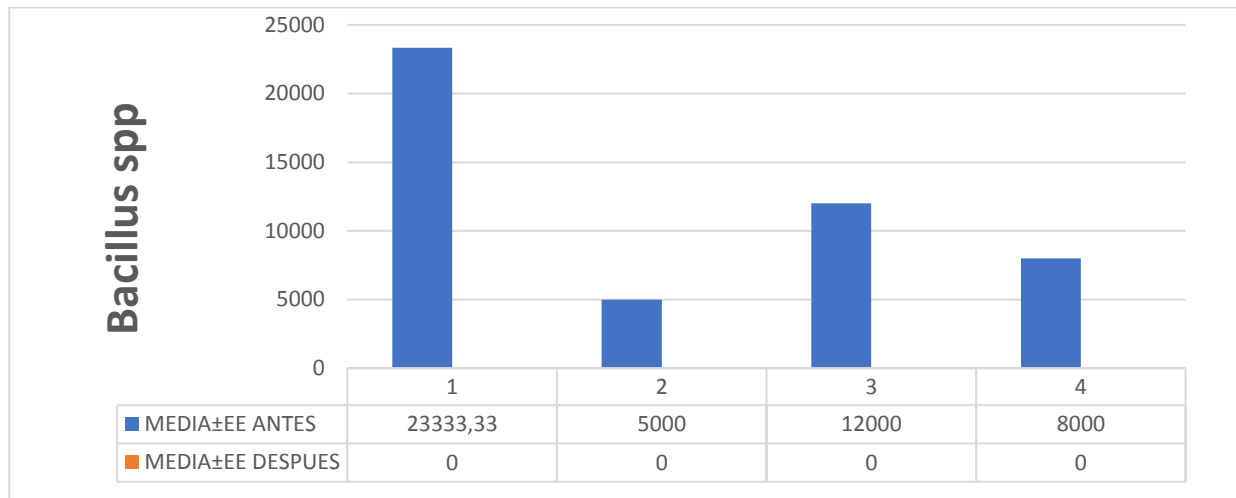
Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

La cantidad de Bacillus spp registrada antes de aplicar los tratamientos no reportaron diferencias estadísticas ($P \geq 0,05$), pero si se observaron variaciones numéricas consecuente mente al aplicar la tintura de caléndula los resultados en el día 30 no mostraron diferencias estadísticas ($P > 0,05$), con medias de 0 UFC como se observa en la (Tabla 9), demostrando en este caso la efectibilidad en los 4 tratamientos aplicados. Los resultados obtenidos pueden estar influenciados por el uso de la caléndula, la misma que tiene polisacáridos de elevado peso molecular que parecen ser responsables de propiedades inmune estimulantes, antioxidantes y captadoras de radicales libres que pueden contribuir a su eficacia terapéutica eliminando el Bacillo spp (114).

Los resultados registrados en los 4 tratamientos donde se erradico la bacteria en el 100%, concuerdan con Harvey C , (2010) al evaluar la sensibilidad de gentamicina registró en la bacteria Bacillus spp una sensibilidad de 88 % relativamente alto, estos resultados están motivados según el autor a la baja resistencia que tiene el Bacillos frente a los medicamentos utilizados lo que se fue corroborado en la presente investigación, además es importante indicar que el 100% de efectividad en el control de la gingivitis fue motivada por las propiedades de la caléndula (115).

Lo antes mencionado sostiene la idea que los flavonoides presentes en la caléndula contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante 3, 4. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo frente a agentes patógenos (116).

Grafico N°2. Diagrama de la cantidad de bacterias presente durante los días de Tratamiento



Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Mediante este análisis no registraron valores significativos pero se si observo que hay diferentes valores numéricos demostrados en la tabla (9), lo cual quiere decir que el T2, si hubo efectividad en cuanto a la aplicación de Tintura de Caléndula, causando efectos favorables en la disminución de las UFC, siguiendo de igual forma en los siguientes Tratamientos T3y T4 con la aplicación de la crema de caléndula, lo cual manifiesta que contiene propiedades inmuno estimulantes, antioxidantes y captadoras de radicales libres que pueden contribuir a su eficacia terapéutica eliminando el Bacilloss pp.

9.3 Escherichia coli

Tabla 10. Porcentaje de Escherichia coli presente al aplicar caléndula.

TRATAMIENTOS	DIA 1 UFC	DIA 30 UFC
1	100%	0%
2	100%	0%
3	92%	8%
4	20%	80%

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Para la cantidad de bacteria Escherichia coli en el día 1, se registró en el T1 con el 100%, mientras que en el día 30 post aplicación de los tratamientos, se reportan resultados positivos con un 0 % de presencia de la bacteria, que se realizó con la tintura de caléndula por dos veces al día por 30 días seguidos.

Mientras que al aplicar el tratamiento 3 podemos indicar que de igual forma se obtuvo una efectividad del tratamiento con la crema de caléndula por dos veces al día por 30 días pasando un día, con el 0 % de presencia de la bacteria al finalizar el tratamiento.

Tabla 11. Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra la Escherichia coli.

TRATAMIENTOS	MEDIA±EE ANTES	MEDIA±EE DESPUES
1	55000 ±33000	0 ±0
2	18000 ±11372,48	0 ±0
3	25000 ^a ±0	2000 ^c ±0
4	2000 ^a ±0	10000 ^d ±0
VALOR P	0,5606	0,0001

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

La cantidad de *Escherichia coli* al realizar el análisis estadístico antes de aplicar los tratamientos no presentó diferencias estadísticas ($P > 0,05$), antes de aplicar los tratamientos como se refleja en la Tabla 11; mientras después de aplicar los tratamientos si se observaron diferencias estadísticas ($P \leq 0,0001$); donde la mejor eficiencia se registró en el T1 y T2 con valores de 0 en el conteo de las unidades formadoras de colonias.

Los resultados encontrados en el T1 y T2 donde se aplicó la tintura de caléndula guardan relación con Pazmiño, J en el año (2018), quien al realizar el análisis de los métodos de extracción de la flor de caléndula (*Calendula officinalis*) en un medio de cultivo selectivo para *E. Coli* registro el 100% de la inhibición bacteriana frente al uso de la tintura de caléndula (117).

Mientras Medina F y Santillan, N (2016), al realizar la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos (*Colletia spinosissima*) y (*Calendula officinalis*) determinó la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico al 70 % de *Caléndula officinalis* cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218, obteniéndose un halo máximo de inhibición de 16.24 mm a una concentración de 100mg/50uL resultados que difieren con los tratamiento T1 y T2 evaluados en la presente investigación (118).

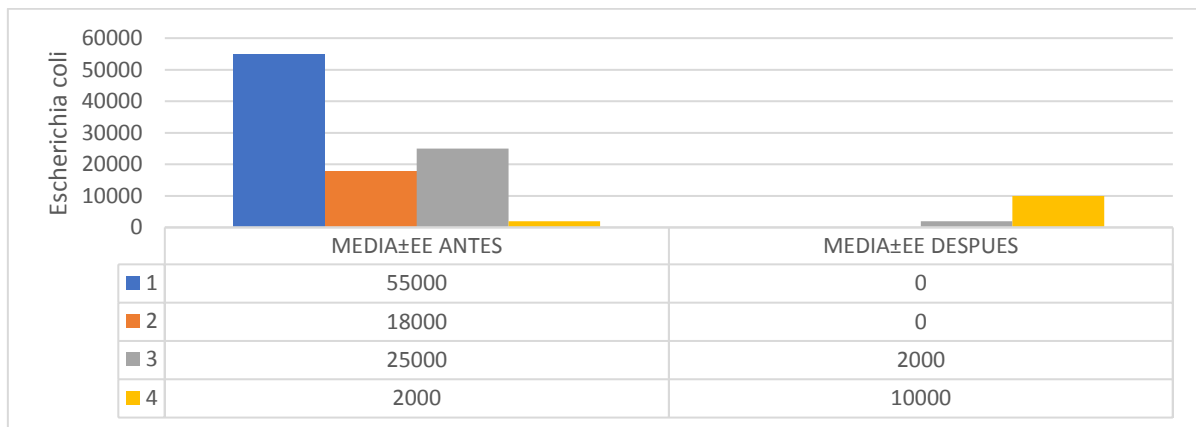
Siguiendo los estudios Ohemeng J, Torres E, analizaron 14 flavonoides que variaban en su estructura en *E. coli* y encontraron que 7 de estos compuestos inhibían la enzima ADN girasa. Entre estos compuestos se encontraban: quercetina, apigenina y 3, 6, 7,3',4'-pentahidroxi-flavona, los cuales contienen una hidroxilación en el anillo B. Los autores proponen que la actividad antibacteriana es debida a la inhibición de la enzima ADN girasa, enzima que actúa durante la replicación del ADN bacteriano para reducir la tensión molecular causada por el superenrollamiento (119).

Mientras al aplicar el T3 con el uso de la crema de caléndula aplicada 2 veces al día durante los 30 días las bacterias no fueron erradicadas (Tabla 11), estos resultados sostiene la idea que el proceso de elaboración de la crema de caléndula podría haber afectado sus característica lo que es corroborado por Lopez, M en el año 2016 donde al estudiar la degradación de los flavonoides

menciona que a altas temperaturas se inactivan enzimas como la polifenoloxidasa, responsable de la degradación de compuestos fenólicos, y se destruye la estructura de la pared celular, permitiendo la liberación de compuestos fenólicos ligados sin embargo existe discrepancia en el efecto de la temperatura sobre los flavonoides(120).

Mientras en el T4 se observó lo contrario e grupo de caninos inició la evaluación con 2000 UFC y a los 30 días post aplicación de los tratamiento se observó un incremento progresivo a 10000 UFC, lo que pudo estar influenciado por la aplicación que se hizo 2 veces al día y pasando un día en un lapso de tiempo de 30 días y en base a la bibliografías antes citadas es notorio que la crema de caléndula pierde efectividad al momento de su elaboración debido a la baja cantidad de flavonoides contenidos lo que es corroborado en el análisis de laboratorio donde se registró el menor contenido de catequina con 18,61 mg/L (Anexo 16).

Grafico N°3. Diagrama de la cantidad de bacterias presente durante los días de Tratamiento



Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Mediante los resultados obtenidos de esta bacteria se determinó que los tratamientos T1 y T2 hubo efectos excelentes al momento de la aplicación de la Tintura de caléndula, lo antes mencionado puede estar influenciado por el contenido de carotenoides, flavonoides, triterpenos, ácidos fenólicos flavonoides que retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células.

9.4 Stapylococcus aureus

Tabla 12. Porcentaje de Stapylococcus aureus presente al aplicar caléndula.

TRATAMIENTOS	DIA 1 UFC	DIA 30 UFC
1	100%	0%
2	99.4%	0.6 %
3	59%	41%
4	10%	90%

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Mediante la tabla 12 se logró observar, que el tratamiento 1 tiene una mayor efectibilidad en relación a los datos obtenidos por cuenta en el día 1 se registró un 100% de Stapylococcus aureus, cuyo valor descendió al aplicar la tintura de caléndula durante 30 días seguidos con un 0% de presencia de la bacteria, erradicando por completo la bacteria.

En relación al tratamiento 2 se observa el 99,4% de bacterias al inicio de la investigación y una vez aplicado el tratamiento a los 30 días, se registró un 0,6% de Stapylococcus aureus, de igual forma en el T3 se obtuvo en el día 1 (59%) y en el día 30 (41%), los resultados obtenidos nos permiten manifestar que en su mayoría el valor de bacterias, Stapylococcus aureus ha reducido su valor de UFC del día 30 sin embargo aún se mantiene vigente la bacteria.

En el tratamiento 4 no se obtuvo resultados positivos en vista que aún se mantiene la bacteria Stapylococcus aureus, realizado con la crema de caléndula por 2 veces al día, pasando un día.

Tabla 13. Análisis estadístico de la efectividad de la caléndula contra el *Stapylococcus aureus*

TRATAMIENTOS	MEDIA±EE ANTES	MEDIA±EE DESPUES
1	15000 ^a ±0	0 ^a ±0
2	66666,67 ^a ±24037,01	666,67 ^a ±666,67
3	40000 ^a ±40000	16500 ^a ±8500
4	100000 ^a ±5000	13500 ^a ±5500
VALOR P	0,4208	0,1758

Fuente: Directa

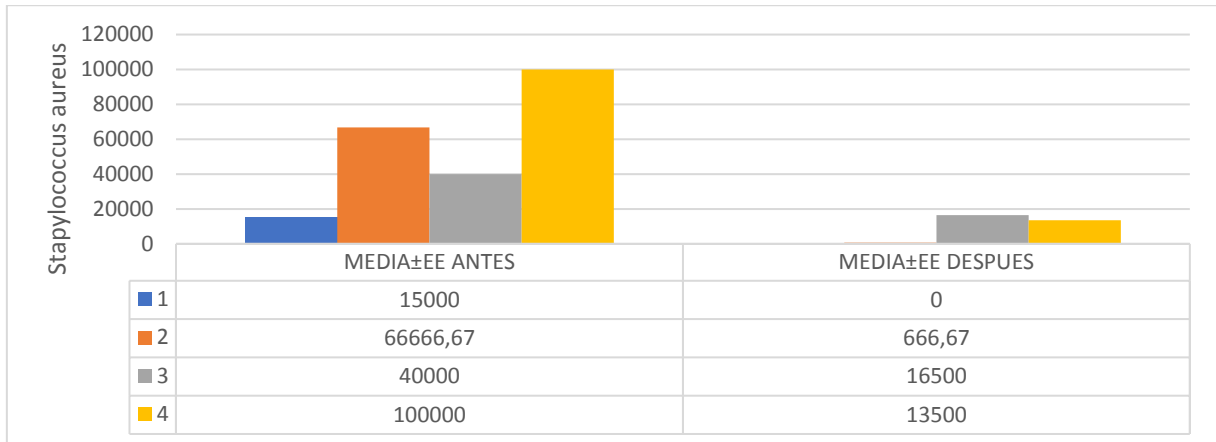
Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

La cantidad de *Stapylococcus aureus* antes de aplicar los tratamientos a base de caléndula no presentó diferencias estadísticas ($P>0,05$), pero si se observaron variaciones numéricas para los tratamientos T1-T2-T3 Y T4 respectivamente estos valares indican presencia de *Stapylococcus aureus* en los caninos evaluados. Consecuente mente después de aplicar la tintura de caléndula los resultados no mostraron diferencias estadísticas ($P>0,05$), pero si mostraron variación numérica reportando la menor incidencia de *Stapylococcus* al aplicar el T1 con 0 UFC seguido de tratamiento T2 ; T3 y T4 respectivamente como se observa en la (Tabla 13), diferencias numéricas que permiten indicar la efectibilidad de la tintura de caléndula aplicada 2 veces al día durante los 30 días.

Estos resultados concuerdan con los descritos Maribel Bermúdez quien al realizar un estudio para evaluar la capacidad antimicrobiana y antimicótica de una crema a base de caléndula con el uso de un 20 % sobre *Staphylococcus aureus cepa MSSA25923* los resultados mostraron una reducción del microorganismo en tiempos de contacto de 5 min con una efectividad de 98.8% por el extracto etanólico de la caléndula con halos de inhibición de 13mm +/-1 y 28mm +/-2 (121).

Mientras Manrique, L en el año (2016), al determinar la efectividad antimicrobiana de la clorhexidina y la *Caléndula officinalis* demostró que el uso de tratamientos enjuagatorios antimicrobianos como la clorhexidina al 0.12 %, mientras la *Caléndula officinalis* al 15 y 20% presentó la mayor capacidad de reducción numérica de microorganismos adheridos en las suturas seda negra 3/0 pos exodoncia, en comparación al grupo placebo control que recibió suero fisiológico (121).

Grafico N°4. Diagrama de la cantidad de bacterias presente durante los días de Tratamiento.



Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019).

Por su parte Román Ramírez, al estudiar los extractos de plantas (*Calendula officinalis*) provenientes del área rural de Soracá, Municipio de Colombia, contra *Staphylococcus aureus* sometió a la cepa *S. aureus* ATCC 43300 a una concentración de 10 mg/mL del extracto de *Calendula officinalis*, lo cual dio como resultado una alta actividad antibacteriana contra este microorganismo, ya que tanto en el extracto metanólico y diclorometánolico se presentó una inhibición, posterior se determinó la concentración mínima inhibidora, diluyendo 6 veces la concentración inicial hasta llegar a 0,156 mg/mL, donde el extracto de caléndula demostró efectividad hasta una concentración de 1,25 mg/mL, los estudios antes mencionados permiten indicar que la actividad antibacteriana de la caléndula es buena inhibiendo el crecimiento de esta bacteria (122).

9.5 HEMATOLOGIA

Tabla 14. Hemograma General de los pacientes con alternaciones presentes en los caninos.

TRATAMIENTOS	LEUCOCITOS NORMALES = 6000 - 17000		NEUTROFILOS NORMALES = 3000 - 11500		LINFOCITOS NORMALES = 1000 - 4800		MONOCITOS = 150 - 1350		EOSINOFILOS = 100 - 1250		BASOFILOS = 0 - 100	
	DIA 0	DIA 30	DIA 0	DIA 30	DIA 0	DIA 30	DIA 0	DIA 30	DIA 0	DIA 30	DIA 0	DIA 30
T1 Sheila	2.550	11.350	2014	8286	230	2724	230	113	76	227	0	0
T1 Centavito	6.850	13.300	4863	10906	1576	1862	342	133	69	399	0	0
T2 Candy	9.700	10.450	6111	7419	3298	2821	291	105	0	105	0	0
T2 Samuel	8.800	11.750	7656	8107	704	3055	352	353	88	235	0	0
T2 Britany	8.050	5.450	4749	3270	2415	1962	724	54	162	164	0	0
T2 Cloi	3.400	14.650	1632	9962	1530	4249	204	146	34	293	0	0
T2 Queso	12.650	9.150	10120	4667	2276	3843	127	366	127	274	0	0
T3 Baby	18.200	10.300	14196	7416	1638	2369	1092	206	1274	309	0	0
T3 Ashly	12.650	3.900	7590	3042	2783	663	633	117	1664	78	0	0
T3 Rinton	3.850	5.650	2348	2317	1270	3108	154	169	78	56	0	0
T4 Lolita	10.050	10.500	6332	7245	2914	2835	603	105	201	315	0	0
T4 Titina	7.800	7.750	5772	4805	1716	2558	234	232	78	155	0	0
T4 Max	8.600	11.000	3440	8250	4472	2310	516	110	172	330	0	0
T4 Kiara	14.900	10.900	11.771	8502	2831	1962	149	109	149	327	0	0

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019)

Mediante esta tabla se observa las diferentes valoraciones de cada paciente es con la finalidad de analizar o diagnosticar la enfermedad en cada canino , mediante este análisis nos determina si el paciente refleja , inflamación , deshidratación , infecciones causadas por bacterias, con respecto al Día 1 y al Día 30 de la Investigación realizada.

Tabla 15. Alteraciones presentes en los caninos.

En relación a los valores registrados en el hemograma, se observaron las siguientes alteraciones en el día 1 (previo a los tratamientos) y al día 30 post aplicación de los tratamientos, (tabla 10).

TRATAMIENTOS	DIA 1	DIAGNÓSTICO DIA 1	DIA 30	DIAGNÓSTICO DIA 30
T1 Sheila	Leucopenia Neutropenia Linfopenia eosinopenia Eosinopenia	Inflamacion aguda	Monocitopenia	Fisiologico
T1 Centavito		Estrés prolongado	Monocitopenia	Fisiológico
T2 Candy			monocitopenia eosinopenia	Fisiológico
T2 Samuel	Linfopenia	enfermedades inmunesupresoras	Eosinopenia	Estrés prolongado
T2 Britany			Leucopenia Monocitopenia	Infección aguda Fisiológico
T2 Cloi	Neutropenia Eosinopenia	Infección bacteriana o vímica Estrés prolongado	Leucopenia Monocitopenia	Infección aguda Fisiológico
T2 Queso	monocitopenia	Fisiológico		
T3 Baby	Neutrofilia	Inflamacion localizada		
T3 Ashly			Leucopenia linfopenia monocitopenia eosinopenia	Infección aguda
T3 Rinton	Leucopenia neutropenia eosinopenia monocitopenia	Infección Aguda	Leucopenia Neutropenia Eosinopenia Monocitopenia	Infección aguda
T4 Lolita		Fisiológico	Monocitopenia	Fisiológico
T4 Titina	Eosinopenia	Estrés prolongado		
T4 Max			Monocitopenia	Fisiologico
T4 Kiara	Monocitopenia	Fisiologico	Monocitopenia	Fisiologico

Fuente: Directa

Elaborado por: Cayo, Wilma. (2019)

9.5.1 Tratamiento 1

En el paciente (sheyla) del Tratamiento 1 del día 1 se observó alteraciones asociadas a Leucopenia, neutropenia, linfopenia, eosinopenia, lo que se diagnosticó en un estado de Inflamación aguda, ante estos resultados podemos indicar que se encuentran asociados a cuadros de anorexia y problemas gastrointestinales que posiblemente conllevaron a la presencia de estas patologías referentes al hemograma (123).

Mientras el paciente (centavito) en el día 1, hubo alteración de eosinopenia realizado en el hemograma nos afirma a un infección o inflamación aguda.

En el día 30 en (Sheyla) y (centavito) presentaron casos de monocitopenia, que probablemente se encuentren asociados a cualquier otra inflamación o como parte del leucograma puede ser fisiológico.

Aparece en todos los tratamientos la monocitopenia es importante indicar que la monocitopenia es persistente y pocas veces se comprueba y no tienen importancia clínica, suele suceder en animales domésticos normales pueden tener pocos monocitos o ninguno en la sangre, en consecuencia, el término monocitopenia no suele aplicarse y es fisiológico (124).

9.5.2 Tratamiento 2

En el Tratamiento 2 de los pacientes (Candy) no registro alteraciones en el día 1, posterior a los 30 días de la investigación, en la paciente (Candy) se reflejó monocitopenia, eosinopenia dando un diagnóstico de inflamación aguda, se asume que en el transcurso del tratamiento deglutió las bacterias junto con la saliva y esto es probablemente que obtuvimos alteraciones al momento de realizar el hemograma final para evitar estas alteraciones se administraría medicación previa (antibióticos).

Siguiendo en la Paciente (Britany) no se observó alteraciones en el día 1, posterior al tratamiento con la Tintura de Caléndula por 30 días seguidos por dos veces al día pasando un día se obtuvo alteraciones del día 30 como Leucopenia, monocitopenia dando un diagnóstico de infección aguda, y a un cuadro de estrés prolongado ya que quizás pueden estar asociados a procesos infecciosos, como dicho anteriormente en la paciente Candy, reflejando una alteración en el día 30

por el motivo de deglución de las bacterias junto con la saliva y esto es probablemente que obtuvo complicaciones en el transcurso del tratamiento notamos alteraciones al momento de realizar el hemograma final.

En el siguiente paciente (Samuel) presentó linfopenia en el día 1 dando un diagnóstico de estrés prolongado o a enfermedades inmunosupresoras y al final del Tratamiento realizado se confirmó tener eosinopenia estar asociados a un estrés prolongado.

Linfopenia se da en enfermedades inmunosupresoras como la anemia hemolítica inmunomediada y el lupus eritematoso sistémico, fármacos inmunosupresores como los corticoides y la desnutrición grave en dismunición (125).

Su número puede disminuir (eosinopenia) en casos de estrés prolongado o infecciones agudas (126).

Siguiendo la paciente (Cloi) mostró tener en el día 1 neutropenia y eosinopenia con un diagnóstico de Infección bacteria o vírica y a la vez un estrés prolongado. Luego de la aplicación del tratamiento del día 30 (Cloi) mediante los resultados de laboratorio se observó tener monocitopenia lo cual diríamos que es un descenso fisiológico es decir que tendrían o no monocitos (127).

Leucopenia es el descenso de la cifra de leucocitos por debajo de sus valores normales. Aunque el término es general y podría estar causado por la disminución de cualquier tipo de leucocitos, nos referiremos exclusivamente a la neutropenia por su importancia en la susceptibilidad a las infecciones (128).

Neutropenia: se caracteriza por una disminución del número de neutrófilos de la muestra y tiene como posibles causas una inmunodeficiencia, infecciones víricas, infecciones bacterianas muy severas, fármacos mielosupresores, anorexia, pirexia, cuadros entéricos, etc. (123).

Ante estos resultados indica que la linfopenia puede ocasionar grandes problemas, ya que se puede presentar por 2 causas lisis (destrucción) o extravasación de linfa que reduce los linfocitos, los más comunes en perros por lisis son: moquillo canino, hepatitis infecciosa canina, La linfopenia se ha observado juntamente con reducción del número de neutrófilos, eosinófilos y monocitos, por lo tanto ante anomalías existentes deben ser tratadas a tiempo (124).

9.5.3 Tratamiento 3

Para el tratamiento 3 del paciente (Baby) observan alteraciones del día 1 como neutrofilia dando como resultado Aumento de neutrófilos totales constituidos por dos tipos de células, segmentadas.

Neutrofilia; Aumento de neutrófilos totales constituidos por dos tipos de células, segmentadas (68).

El aumento de precursores de los neutrófilos, como los cayados es lo que se denomina desviación a la izquierda. Los precursores se incrementan cuando existe gran demanda de neutrófilos hacia un tejido, debido a un proceso inflamatorio (126).

En la paciente (ashly) al final del tratamiento se ejecutó los análisis de laboratorio y se halló con las siguientes alteraciones como Leucopenia, linfopenia, monocitopenia, eosinopenia del día 30 dando como diagnóstico una Inflamación aguda, mientras tanto en nuestro siguiente paciente (Rinton) se mostraron resultados del día 1 y 30 con leucopenia, neutropenia, eosinopenia con un diagnóstico de Infección aguda en el canino no se presentó ninguna alteración del hemograma mediante la investigación realizada con la crema de caléndula todos los días por dos veces al día y por 30 días seguidos.

9.5.4 Tratamiento 4

Continuando con la paciente Lolita mediante los exámenes de laboratorios elaborados presentaron que en el día 1 y 30 obtuvo monocitopenia es decir lo cual diríamos que es un descenso fisiológico es decir que tendrían o no monocitos.

En relaciona estas alteraciones, otro autor demuestra que la neutropenia mencionada también puede estar caracterizada por una disminución en el número de neutrófilos circulantes. Tienen lugar como consecuencia de infecciones virales y depresión de la médula ósea (127).

En referencia a los siguientes pacientes de este Tratamiento, en nuestra primera paciente (Lolita) mediante los exámenes de laboratorios elaborados presentaron en el día 1 y 30 monocitopenia es decir un descenso fisiológico en los monocitos

Por consiguiente en la paciente (Titina) del 1 día manifestó Eosinopenia es decir que tuvo un cuadro de prolongación de estrés que está relacionado a una infección o estrés mismo.

Su número puede disminuir (eosinopenia) en casos de estrés prolongado o infecciones agudas (128).

Según los resultados de hemograma del siguiente paciente (Max) del día 1 no presentó ninguna alteración pero al día 30 presentó Monocitopenia de igual forma es importante indicar que estas alteraciones están relacionadas a cuadros de origen infecciosos que desencadenan en estrés como consecuencia del curso de la posible infección, en el mismo contexto en el día 30 se registra únicamente monocitopenia.

En nuestra última paciente (kiara) presentó una ligera Monocitopenia al día 1 y 30 es decir una alteración fisiológica.

Ante la frecuencia que aparece en todos los tratamientos la monocitopenia es importante indicar que otros autores manifiestan que la monocitopenia es persistente y pocas veces se comprueba y no tienen importancia clínica, suele suceder en animales domésticos normales pueden tener pocos monocitos o ninguno en la sangre ,en consecuencia , el termino monocitopenia no suele aplicarse y es fisiológico . (129).

10. IMPACTOS

10.1 Impacto Social

El uso de la caléndula permitirá ser utilizada por parte de los campesinos como fuente alternativa de tratamientos de la gingivitis, por ser una herramienta práctica en el uso de la medicina natural queda demostrado la efectibilidad de la caléndula; además la investigación generó un impacto en la concientización de los propietarios del cuidado que deben tener en sus mascotas de tal forma que se reduzca la incidencia de patologías, además la información obtenida en los resultados servirá como fuente primaria para incentivar a los profesionales en el área de veterinaria a utilizar la caléndula en remplazo de los fármacos , además servirá como base para nuevas investigaciones.

10.2 Impacto Técnico

Se logró uso de la Medicina alternativa en el tratamiento para gingivitis para la tenencia responsable de caninos por parte de los propietarios permitirán reducir la incidencia y prevalencia de *gingivitis*, la misma que causa el deterioro de los dientes.

El uso de la caléndula permitirá reducir la incidencia de gingivitis en los caninos, evitando el deterioro de la placa dentaria, asegurando una mejor calidad de vida de los animales; además se ajustará a la economía del propietario de los caninos afectados.

La información adquirida será utilizada de base para realizar nuevas investigaciones mediante el uso de la medicina homeopatía.

Impacto Económico

Reduce costos en tratamiento haciendo una valoración de la Medicina Alternativa en la comunidad, gran parte de las poblaciones que tienen caninos, el acceso a los medicamentos farmacológicos se torna restringido por múltiples razones, como el traslado a una farmacia, los costos altos, los aspectos culturales, el difícil acceso a centros de Veterinario, por lo tanto el uso de la caléndula es una alternativa viable que permitirá a los propietarios reducir costos en el cuidado sanitario de los caninos .

11. CONCLUSIONES

- Mediante la extracción de muestras se realizó el muestreo hematológico y cultivo bacterianos de los 20 caninos con que presentaban problemas de Gingivitis en la Ciudadela Los Molinos del barrio el Niagra cantón Latacunga, donde se observaron la siguientes bacterias *Enterobacter cloacae*, *Stapylococcus cuagulasa* negativa, *Bacillus spp*, *Escherichia coli*, *Stapylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Neisseria ssp*, *Streptococcus* y, *Pseudomonas*, presente pre y post de la investigación y utilización de los tratamientos con caléndula.
- Los 20 caninos investigados fueron expuestos al efecto de la tintura de caléndula y a la crema de caléndula durante un periodo de 30 días donde los resultaron permitieron determinar la eficiencia de la caléndula frente a cada grupo de bacteria generadoras de gingivitis
- La aplicación de los tratamientos permitió determinar que el Tratamiento T2 , 2 veces al día y pasando 1 día tuvo la mayor efectibilidad frente a los otros tratamientos , ya

que se observó una disminución de las UFC en el día 30, con los siguientes porcentajes de cada bacteria *Staphylococcus cuagulasa* negativa, al inicio con un 100% y al final de la investigación con un 0%, *Bacillus spp*, inicio (100%) y final (0, %) , *Escherichia coli* inicio (100%) y final (0%), *Staphylococcus aureus*, inicio (99.4%) y final (0.6%), validando así la hipótesis Afirmativa con resultados efectivos para el tratamiento de la Gingivitis en Caninos domésticos, además al realizar el análisis hematológico permitió determinar que los caninos antes de entrar al tratamiento presentaban cuadros de infección aguda y una vez sometidos a los tratamientos con caléndula algunos caninos mantuvieron un cuadro clínico de inflamación aguda quizás influenciado por otros factores no considerados en la investigación.

11.1 RECOMENDACIONES

- Demostrar el cuidado de la salud bucal de sus mascotas, que esto viene a hacer un problema bastante común en todas las razas, sexo, edad.
- Cepillar sus dientes unas tres veces por semana así evitar propagación de las diferentes bacterias en las mascotas, Complementar la higiene bucal de sus mascotas con huesos, galletas y juguetes especiales para limpiar sus dientes, darle una buena alimentación, los piensos secos, con la masticación, les ayudaran a limpiar los dientes.
- Dar charlas constantes sobre las enfermedades bucales en las mascotas y así prevenir en un futuro problemas mayores.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Mestas Flores, estudio epidemiológico de enfermedades bucales más prevalentes en escolares de 6 a 16 años del departamento de Puno 2015 - 2016. Tesis. Puno: Universidad Nacional del Altiplano, Escuela profesional de Odontología; 2016.
2. Vallejos Valencia BA, Marino Espinoza AE. Frecuencia de complicaciones post exodoncia simple. *Medigraphic*. 2012;(42).
3. Cardentey Garcia J, Gonzales Rodriguez R, Gonzales Garcia X. Uso de la medicina natural y tradicional por especialistas en estomatología general integral. *Revista Electronica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*. 2015 Agosto; 40(8).
4. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. [Online].; 2013 [citado 2019 noviembre 13]. Available from: https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENSI/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf.
5. Evans H, Lehaunta de A. Anatomía del perro México; 2009 (sitio en internet); disponible: <https://www.editorialacribia.com/media/acribia/files/pdfcatalog-159.pdf>
6. Eisenmenger E, Zetner K. *Odontología Veterinaria Barcelona España*: Marzo 80; 2007 (sitio en internet); disponible: https://veterinariossabadell.es/?gclid=Cj0KCQiA89zvBRDoARIsAOIePbDM3at9H1QDYVLHtIjkR7BxrXlgdX65rtDXfIGj4y_bnIxbRSbwmbaoAjdUEALw_wcB.
7. Figun M, Garino R. *Anatomía odontológica funcional y aplicada Argentina*: El ateneo; 2008 (sitio en internet); disponible: <https://es.slideshare.net/Andreepe/figun-anatoma-odontologica-funcional-y-aplicada-9169774>
8. Gioso M. *Enfermedad Periodontal Odontología para la clínica en pequeñas Animales Sao Pablo*; 2006. (sitio en internet); disponible: <http://lexusodontologia.com/>
9. Harvey C, E, Emily P. *Function, formation and anatomy of oral structures in canivores Estados Unidos*: Mosby Year Book; 1993 (sitio en internet); disponible: <http://www.rawmeatybones.com/translations/portugal/Notas.pdf>
10. Gómez De Ferraris M, Campo Muños A. *Dentina. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental*. México: Medica Panamericana; 2009, (sitio en internet); disponible: http://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica_panamericana/9786077743019.pdf

11. Revista Small Animal Clinical Nutrition (publicación periódica en línea), 2009 (citada 2019 noviembre 12); 13 (4). Disponible: <https://www.ecudental.com/home/>.
12. Diez X. Oodontologia Veterinaria (en línea) Enfermedad periodontal: una batalla constante Chile; 2005. (sitio en internet); disponible: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/10444/1/0014-021-2017.pdf>
13. Gioso, M (en línea) Odontologia Sao Pablo Brasil; 2007, (citado el 12 de noviembre), capitulo 2 veterinaria para clinica en animales pequeños; disponible: http://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica_panamericana/9786077743019.pdf
14. Gorrel C. Small animal dentistry , Saunder solutions in veterinary practice 2008 (sitio en internet); disponible: <https://www.elsevier.com/books/saunders-solutions-in-veterinary-practice-small-animal-dentistry/gorrel/978-0-7020-2871-7>
15. Grgory K, Ogilvie Antony S. Manejo de paciente de oncologia veterinaria Buenos Aires ; 2008. Edición: 2008, (sitio en internet); disponible: http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/o/g/ogilvie_-_manejo.pdf
16. Encicloperia clínica Clínica FelinaHennet P. Nutricion y salud oral del perro Londres; 2006 (sitio en internet); disponible: http://www.ivis.org/advances/rcfeline_es/A5310.0610.ES.pdf?LA=2
17. Holmstrom S, Frost P, Gammon R. Tecnicas dentales en pequeños animales Canada; 2010. [https://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/Guidelines/WSAVA-Dental-Guidelines-\(Spanish\).pdf](https://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/Guidelines/WSAVA-Dental-Guidelines-(Spanish).pdf).
18. Reiter A, Mendoza K. Casos de gingivitis Texas; 2004. (sitio en internet); disponible: <http://www.cvriodueno.com/web/CasosClinicos/Introduccion%20Odontologia%20Veterinaria.%20La%20enfermedad%20periodontal..pdf>.
19. Mattila K, Nieminen M. dentarura canina Texas; 2004. (sitio en internet); disponible: https://sinadadental.com/?gclid=Cj0KCQiA89zvBRDoARIsAOIePbD9mOZmvMOWQW1AJmmLxrZLSmVMQjhjJ9714Tp4IwivNg-3OgaEE-8aAsDNEALw_wcB.
20. Floyd M. Odontologia Vterinaria en ;ENTTINGER Stephen and FELDMAN Edward Tratado de medicina veterinaria vol. II Buenos Aires; 2002. <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/es/gingivitis-perros-causas-y-pronostico>.

21. Gorrel, C. Odontología en pequeños animales España; 2010. (sitio en internet); disponible: <https://www.ecudental.com/home/>
22. Debowes LJ, Mosier D, Logan E, Harvey C, Lowry S, Richardson DC. 1996. Association of periodontal disease and histologic lesions in multiple organs from 45 dogs. *J Vet Dent* 2: 57-60.
23. Flores E. Odontología. [Internet], [10 Diciembre 2019]. Disponible en: http://www.rawmeatybones.com/translations/spanish/chapter_7_sp.pdf, 2006.
24. Gad T. 1968. Periodontal disease in dogs. I. Clinical investigation. *J Period Res* 3: 268-272.
25. Gioso M. 2004. Curso básico: Odontología veterinaria en pequeños animales. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia.
26. Tangsiri L, Emami E. 2003. Periodontal disease and the treatments in dogs. [Internet]. [4 Diciembre 2019]. Available in: http://www.ki.se/odont/cariologi_endodonti/98b/LalehTangsiri,EmmaEmami.pdf.
27. Anderson D. 1982. Periodontal disease and aging. *Geriodontology* 1(1): 19-23.
28. Predari SC, Ligozzi M, Fontana R. Genotypic identification of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci by polymerase chain reaction. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 2568-73.8.
29. Pulverer G, Pillich J. Pathogenic significance of coagula-se-negative staphylococci. In: Finland M, Marget W, Bartmann K, editors. *Bacterial infections: changes in their causative agents; trends and possible basis*. New York, Springer-Verlag, 1971, p. 91-6.9.
30. Rowlinson MC, LeBourgeois P, Ward K, Song Y, Finegold SM, Bruckner DA. Isolation of a strictly anaerobic strain of *Staphylococcus epidermidis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44:857-60.10.
31. Tan TY, Ng SY, Ng WX. Clinical significance of coagulase-negative staphylococci recovered from nonsterile sites. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3413-4
32. Colmery B, Frost P, 1986. Periodontal disease: etiology and pathogenesis. *Vet Clin N Am Small* 16(5): 817-833.
33. Angélica María M. Microorganismos asociados a infecciones por mordeduras de perros y gatos. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias, Campus Sur, Monografías Electrónicas de Patología Veterinaria 2005; 2(1):1-16 9.

34. Wunder, J.A.; Briner, W.W.; Calkins, G.P. Identification of the Cultivable Bacteria in Dental plaque from the Beagle Dog. Division of Dental Reserch, The Procter & Gamble Company, Cincinnati, Ohio. USA. J DENT RES 55:1097, 1976. 10.
35. Syed, S.A.; Svanberg, M.; Svanberg, G. The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with periodontitis. Journal of Clinical Periodontology.. Vol8, 1 45-56 Febr 1981. Abstract 11.
36. Elliott,D.R.; Wilson, M.; Buckley, C.M.; Spratt, D.A. Cultivable oral microbiota of domestic dogs. J Clin Microbiol, 43(11): 5470-5476 Nov 2005.
37. Hennes, P. Canine Nutrition and Oral Health. In: Pibot, P.; Biourge, V.; Elliott, D.A. (Eds). Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition.
38. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T. Whole genome sequencing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Lancet. 2001; 357: 1225-1240.
39. Crossley KB, Jefferson KK, Archer G, Foulter VG. Staphylococci in human disease. 2nd Edition. Wiley-Blackwell; 2009. 12. Kloss WE, Schleir KH, Goirtz F. The genus Staphylococcus. In: Balows A, Truper HG, Dwoekin M, eds. The Prokaryotes, 2nd Ed. New York, Spring-Verlag; 1992.
40. Kloss We, Bameran TL. Staphylococcus and Micrococcus. In: Murra PR, Baron EJ, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington DC: ASM PressM;1995
41. Sarkiala, E.; Asikainen, S.; Wolft, J.; Kanervo, A.; Happonen, I. Jousimies-Somer,H. Clinical, radiological and bacteriological finding in canine periodontitis. Journal of Small Animal Practice 34, 265-270 1993.
42. Cardona, Carlos. 2011. Tratamiento de la gingivitis en perros. [En línea] 2011. [Citado el: 7 de diciembre de 2019.] <http://www.venfido.com.mx/articulo.php?id=753>
43. Celín, Rodrigo. Diagnóstico de las patologías de la cavidad bucal en caninos domésticos en la ciudad de Quito, parroquia Chaupicruz. Odontología Canina Tesis. Guaranda - Bolivar : s.n., 2013.
44. Crossley, David. 2013. Manual de odontología en pequeños animales. United Kingdom : EGEDSA, 2013. 978-848- 7736-315.
45. Toriggia, Paula. 2012. Caracterización del cemento dental del perro mediante. [En línea] 28 de Marzo de 2012. [Citado el: 5 de Diciembre de 2019.] <http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/archivos/vol13-v2/Vol-13-N-2-ArticuloX.pdf>.

46. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamont F, Bes M. Involvement of Panton Valentine Leukocidin producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999; 29: 1128-1132.
47. Mazmanian SK, Liu G, Ton-That H, Schneewind O. *Staphylococcus aureus* sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall. *Science*. 1999; 285: 760-763.
48. Mazmanian SK, Ton-That H, Schneewind O. Sortase-catalysed anchoring of surface proteins to the cell wall *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*. 2001; 40: 1049-1057. 23.31.
49. O'Neill E, Pozzi C, Houston P, Humphreys H, Robinson DA. A novel *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype mediated by the fibronectin-binding proteins FnBPA and FnBPB. *J Bacteriol*. 2008;90: 3835-3850.
50. WOLF, Maura. 2014. eHow. Types of Bacteria in a Dog's Mouth. [En línea] 26 de Junio de 2014. [Citado el: 18 de Noviembre de 2019.] http://www.ehowenespanol.com/tipos-bacterias-presentes-boca-perroslista_456631/.
51. ZALDÍVAR, JOSÉ. 2009. El Cambio de los Dientes en los Perros. Taringa. [En línea] 21 de Agosto de 2009. [Citado el: 5 de Diciembre de 2019.] <http://www.taringa.net/posts/mascotas/2507033/El-Cambio-de-los-Dientes-en-los-Perros.html>.
52. Carloni, Gloria. 2007. *Microbiología Veterinaria, las bacterias anaerobias*. Argentina : s.n., 2007.
53. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. *Microbiología Médica*. 14 ed. México, DF: Editorial El Manual Moderno. p. 2009.
54. Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol*. 2009;36(6):458-67.
55. Peña Sisto M, Peña Sisto L, Díaz Felizola Á, Torres Keiruz D, La O Salas N. La enfermedad periodontal como riesgo de enfermedades sistémicas. *Rev Cub Estomatol*. 2008 [citado 20 Oct 2019];45(1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75072008000100006arttext>
56. Guilarte C. Patógenos periodontales. *Acta Odontol Ven*. 2001;39(3):91-3.
57. Pareja Vásquez MC, Benza Bedoya RJ. El actinobacilo *actinomycetemcomitans* ¿es el patógeno periodontal más importante? *Gac Odontol*. 2002;3(3):6-9.

58. Bossa, M., Valencia, V., Carvajal, B., & Rios, L. Automated hemogram values for healthy dogs aged 1 to 6 years attended at the Veterinary Hospital. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 409-416. 2009.
59. Coppo, J. (2010). Interpretación del análisis clínico en perros y gatos. Ecuasa.
60. Cortés, G., Grandez, R., & Hung, A. (2014). Valores hematológicos y bioquímicos séricos en la raza Perro sin Pelo del Perú. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 2, 106-112.
61. Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., & DeNicola, D. (2009). *Diagnostico citológico y hematológico del perro y del gato*. Barcelona: Elseiver.
62. Gallo, C. (Julio de 2014). Universidad Nacional Agraria. Obtenido de Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario.
63. Garcia, A., Contreras, I., & Estrada, J. Valores de referencia del hemograma completo en escolares de 8 a 12 años de edad residentes a 2760m sobre el nivel del mar. *Anales de Pediatría*, 80(4), 221-228. 2013.
64. Latimer, K., Mahaffey, E., & Prasse, K. (2005). *Patologia Clinica Veterinaria*. Barcelona: Multimédica S.A.
65. Martínez , A. (2010). Vaores de hemoglobina y hematocrito en una altura mayor de 3500 metros sobre el nivel del mar en la ciudad de Oruro-Bolivia. *Medicis*(6), 50-62.
66. Medway, W., Prier, J., & Wilkinson, J. (1980). *Patología clínica veterinaria*. México: Hispono Americana.
67. Morgan, R., Bright, R., & Swartout, M. (2004). *Clinica en pequeños animales* . Madrid : Elseiver.
68. Pedrozo, R., Quntanilla, G., Bazán, A., & Florentin, M. (2010). Valores hematológicos en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clinica privada de Asunción. *Instituto de investigación Ciencia Y Salud* , 5-13.
69. Rebar, A., Williams, P., & Metzeyer, F. (2002). *Manual de Hematologia en perros y gatos*. Barcelona: Multimédica S.A.
70. Romero, A., & Guzmán , C. Alteraciones Sanguineas en Hematologia de canes. Febrero de 2006.
71. Northrop-Clewes C, Thurnham D. Biomarkers for the differentiation of anemia and their clinical usefulness. *Journal of Blood Medicine* 2013; 4:1122.

72. Campuzano-Maya G. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio*. 2007; 13 (11-12): 511-50.
73. Canalejo K, Aixalá M, Casella A, Capanera P, Medina J, Jelen A. Evaluación de la fracción de reticulocitos inmaduros como parámetro de ferropenia en el embarazo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2011; 45 (1): 81-5.
74. Hernández-Reyes L. Avances y aplicación clínica de la biometría hemática automatizada. *Rev Cubana Hemat Inmunol Hemoter*. 2013 Ene-Mar;29 (1):24-39.
75. Jou JM. Aplicación diagnóstica de los nuevos parámetros de la serie roja en autoanalizadores hematológicos. *Haematologica (ed.esp)*. 2008; 93 (Extra 1): 410-5.
76. Furundarena J.R. Avances en automatización del recuento diferencial leucocitario. *haematologica/edición española* | 2008; 93 (Extra 1): 415-26.
77. García L. Nuevos parámetros plaquetarios y análisis de la médula ósea. *haematologica/edición española* | 2008; 93 (Extra 1): 226-30.
78. Heikali D, Di Carlo D*. A Niche for Microfluidics in Portable Hematology Analyzers. *Journal of Laboratory Automation*. 2010; 15: 319-28.
79. Minnie D, Srinivasan S. Clustering the Preprocessed Automated Blood Cell Counter Data using modified K-Means Algorithms and Generation of Association Rules. *International Journal of Computer Applications*. 2012; 52 (17): 38-42.
80. Pham H, Ding H, Sobh N, Do M, Patel S, Popescu G. Off-axis quantitative phase imaging processing using CUDA: toward real-time applications. *Biomed optics Express*. 2011 Jul 1;2 (7):1781-93.
81. Pham HV, Bhaduri B, Tangella K, Best-Popescu C, Popescu G. Real time blood testing using quantitative phase imaging. *PLoS*. 2013; 8 (2): e55676.
82. Izasa S. Nuevas aplicaciones clínicas en los analizadores hematológicos de la serie LH. *Haematologica (ed. esp)*. 2006; 91 (1):146-49.
83. Torres E. El hemograma como instrumento diagnóstico básico en pediatría. *Rev Soc Bol Ped*. 2011; 50 (2): 139-46.
84. Thurnham D. Biomarkers for the differentiation of anemia and their clinical usefulness. *Journal of Blood Medicine* 2013; 4:1122.
85. Maya G. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio*. 2007; 13 (11-12): 511-50.

86. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana:Ciencia y Técnica;1974:248.
87. Sánchez E, Durand D. Algunos parámetros farmacognósticos en plantas medicinales. Parte I. Rev Cubana Farm 1985;19(3):450-3.
88. Norma Ramal. NRSP 323, La Habana 1992. Medicamentos de origen vegetal. Flores de Calendula. Especificaciones.
89. Omelchuk MA, Krivut BA, Voroshilov A. Efectos de las condiciones de secado en la calidad de la *Calendula officinalis* como materia prima para medicamentos. Khim Farm Zh 1984;18(3):329-31.
90. Dumenil G. Evaluation of antibacterial properties of *Calendula officinalis* flowers and mother homeopathic tinctures of *C. officinalis*. Ann Pharm Fr 1980;38(6):493-9.
91. Schipochliev T. Study on the antiinflammatory effect of a group of plant extract. Vet Med Nauki 1981;18(6):87-93.
92. Fleischner AM. Plants extract to accelerate healing and reduce inflammation. Cosmet Toilet 1985;100:45-6, 48-51, 54-8.
93. Michel F. Apis Mellifica and *Calendula officinalis* combination active against sunburn.
94. Ubeeva I. Effect of Calephlones on the course of experimental hepatitis. Farmacol Toksikol (Moscow)1987;50(1):66-71.
95. Wojeicki J. Comparative evaluation of the effect of *Aralia mandchurica* and *Calendula officinalis*. Saponosides of the level in blood serum. Herba Pol 1980;26(4):233-7.
96. Samochowicc L. Pharmacological study of saponosides from *Aralia mandchurica* and *C. officinalis*. Herba Pol 1983;29(2):151-5.
97. Wagner H. Immunostimulating polysacharides of higher plants. Arzneimit telforschung 1984;34(6): 659-61.
98. Rocaud!Maitre A. Citotoxic and antitumoral activity of *C. officinalis* extracts. Pharmazie 1988;43(3): 220-1.
99. Parkhurst RM, Stolzenberg SI. Stanford Research Institute. Saponin!containing Spermatocidal composition U.S. 3.866.272 Appl 384,101. 1973 Jul 30.
- 100.Schmediger O, Flachsmann E. Plant extracts. Phytocosmetic and phytopharmaca. Where research is leading. Drug Cosmet Ind 1987;141(Oct 19):28,30,32,90,100.

101. Avramova S, Portarska R, Apostolova S. Source of new products for the cosmetic industry. *Med Biol Inform* 1988;4:24-6.
102. Oconnor L, Zaldívar A, Hernández E. Un acercamiento al estudio de la integración de métodos teóricos de la investigación científica. *Revista Universitaria Arbitrada de Investigación y Diálogo Académico*. 2011;7(1):142-57.
103. Guerra Millán, F., Mallén Wiechers, C., Struck Garza, A., Varela Vega, T., & Zitlalpopoca Soriano, A. (2008). *Destilación simple*. Universidad Iberoamericana. México DF.
104. Guerra Millán, F., Mallén Wiechers, C., Struck Garza, A., Varela Vega, T., & Zitlalpopoca Soriano, Á. (2008). *Destilación simple*. . México DF.: Universidad Iberoamericana.
105. Hoyos, M. B., Naranjo, L. M. L., & González, D. A. Z. (2017). Elaboración de un preparado magistral a base de ajo (*Allium sativum*) y caléndula (*Calendula officinalis*) y evaluación de su actividad antimicrobiana y antimicótica. *Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud*, 1, 6-11.
106. Briones G. *Epistemología de las Ciencias Sociales*. Bogotá: ARFO Editores; 2002.
107. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio MP. *Metodología de la investigación*. México D.F.: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2010.
108. Andersen, M., *Flavonoids: Chemistry., Biochemistry and Application., 1a ed., New York-United State., Taylor & Francis Group., 2006., Pp: 371-388.*
109. Chiguano Diego. Efecto de una pasta a base de propóleo para el tratamiento de gingivitis en perros domésticos en el barrio la Magdalena parroquia Machachi cantón mejía provincia de pichincha. [Tesis para optar el grado de Médico veterinario Zootecnista]. Tungurahua. Universidad Técnica De Cotopaxi. 2015..
110. León JF, Sulca L, Delgado P, Cáceres C, Auccasi A (2003) Diversidad florística medicinal altoandina y propuesta de aprovechamiento de especies endémicas como recurso terapéutico en el departamento de Tacna Trabajo de investigación *Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann*.

111. Predari S. Estafilococos coagulasa negativos: el enemigo silente. *Rev Arg Microbiol* 2007; 39: 1-3.
112. Li, B., Smith y B., Hossain, M., (2006). Extraction of phenolics from citrus peels I. solvent extraction method. *Separation and purification technology*. 48.182-188
113. Avello, M. López, C. Gatica, C. Bustos, E. Brieva, A. Pastene, E. Bittner, M. (2012). Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. Ciudad de la Habana.
114. Díaz L, (2016) Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*.
115. Harvey C, Thornsberry C, Miller B. 2010. Subgingival bacteria: comparison of culture results in dogs and cats with gingivitis. *J Vet Dent* 12: 147-150.
116. Avello, M. López, C. Gatica, C. Bustos, E. Brieva, A. Pastene, E. Bittner, M. (2012). Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. Ciudad de la Habana.
117. Pazmiño, J (2018) Análisis de los métodos de extracción de la flor de caléndula (*caléndula officinalis*) para productos agroindustriales /tesis de maestria- ULDA-Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
118. Medina F y Santillan, N (2016), Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos *Colletia spinosissima*) y (*Calendula officinalis*) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y formulación de un jabón líquido antibacterial- Tesis pregrado- Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco -Facultad de Ciencias de La Salud.
119. Ohemeng J, Torres E, (2008), Estudio del efecto de las propiedades de los flavonoides sobre su capacidad antioxidante total (Tesis de Maestria- Universidad Autónoma de Querato) Recuperado: <http://ri.uaq.mx/xmlui/handle/123456789/2712>

120. Lopez, M (2016), Determinación de la actividad biológica de flavonoides y su identificación por electroforesis capilar en plantas medicinales / tesis de pregrado- Instituto Politecnico Nacional Mexico Recuperado: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/23529>.
- 121 Bermúdez, M (2017). Elaboración de un preparado magistral a base de ajo (*Allium sativum*) y caléndula (*Calendula officinalis*) y evaluación de su actividad antimicrobiana y antimicótica. *Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud*, 1, 6-11.
122. Ramírez, R, (2015) Actividad antibacteriana de extractos de plantas provenientes del área rural de soracá contra *staphylococcus aureus* resistente a meticilina (sarm) Rev Cienciay salud.
123. Suárez E. Principales células Blancas Paraguay: Olmos; 2013.
124. Davidson MGyLJH2. Manual de patología clínica en pequeños animales México: Limusa S.A.; 2000.
125. Cárdenas O. Perfil Sanguíneo Células Blancas Sevilla: MAGNUM; 2014.
126. Sande, M., & Mandell, G. (1987). Agentes antimicrobianos. En: Goodman A, Goodman L, Rall TW, Murad F. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 7ª ed. Buenos Aires:: Médica Panamericana.
127. Alteraciones de los glóbulos blancos; 2009. [Internet]. Recuperado de: <https://www.fisterra.com/Salud/3proceDT/sangreSerieBlanca.asp>.
128. Marreros Liñan, Alicia, VALVERDE BURGOS, Rosy Maley. Relación de los valores de hemoglobina, del Distrito de Laredo. [Internet]. [TRUJILLO - PERÚ]: Universidad Nacional De Trujillo; 2017. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UN>.
129. Interpretación del hemograma [Internet]. Ateuves, para el auxiliar veterinario. 2017 [citado 16 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://ateuves.es/interpretaciondel-hemograma/>.

ANEXOS

ANEXO 1: Hoja de vida del Autor del Proyecto

Hoja de vida

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: CAYO PAPA WILMA ALEXANDRA

Apellido Paterno

Apellido Materno

Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Tena 24 de Julio 1992

Edad: 27 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria: NAPO ARCHIDONA ARCHIDONA

Provincia

Cantón

Parroquia

Av. CIRCUNVALACION

Dirección

Teléfono(s): 062877223 0995931542

Convencionales

Celular o Móvil

Correo electrónico: wilma.cayo9028@utc.edu.ec

Cédula de Identidad o Pasaporte: 1500939028

Tipo de sangre: 0 + **Estado Civil:** Soltera

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

(Si es necesario, incluya más filas en la siguiente tabla)

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Tecnólogo	INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR LUIS A MARTÍNEZ (AGRONÓMICO)	Tecnólogo en producción pecuaria	2225-14-167358	Ambato Ecuador

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Wilma Alexandra Cayo Papa

Firma del Estudiante

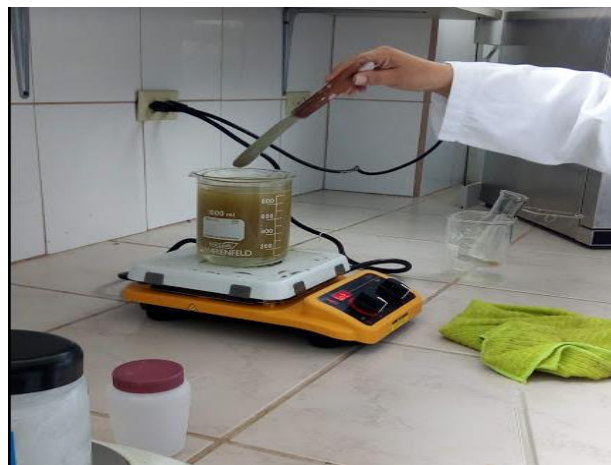
ANEXO 3. Secado y deshidratacion de la planta de calendula



ANEXO 4. Elaboracion de la Tintura de Calendula



ANEXO 5. Elaboración de la Crema de Caléndula



ANEXO 6. Pacientes con Problemas de Gingivitis (Día 1)



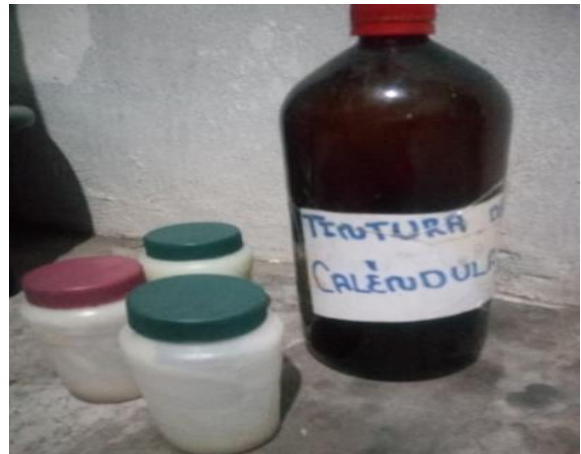
ANEXO 7. Recolección de Muestras de Microbiología (Día 1).



ANEXO 8. Recolección de Muestras de Hemograma (Día 1).



ANEXO 9. Crema y Tintura de Caléndula según cada Tratamiento en los pacientes.



ANEXO 10. Aplicación de Crema de Caléndula en los Pacientes.



ANEXO 11. Aplicación de Tintura de Caléndula en los Pacientes.



ANEXO 12. Recolección de Muestras de Microbiología (Día 30).



ANEXO 13. Recolección de Muestras de Hemograma (Día 30).



ANEXO 14. Análisis de laboratorio Microbiología de los pacientes.

<p>1 Nombre : <i>Boby</i></p> <p>Raza : <i>French poodle</i></p> <p>Color : <i>Blanco</i></p> <p>Propietario : <i>Franco Guano</i></p> <p>Dr (a) :</p> <p>Anamnesis :</p>	<p>Especie : <i>Canino</i></p> <p>Edad : <i>2 años</i></p> <p>Sexo :</p> <p>Peso : <i>Kg</i></p> <p>Dirección : <i>Latacunga el Niagara</i></p> <p>Fecha : <i>13/06/2019</i></p>
---	--

MICROBIOLOGIA

CULTIVOS DE SECRECIÓN DE ENCIAS DENTALES CANINOS.

<p>GERMEN AISLADO</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus coagulasa negativa.</i> • <i>Streptococcus beta hemolitico</i> • <i>Escherichia coli.</i> 	<p>CONTAJE DE COLONIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>25.000 U.F.C</i> • <i>35.000 U.F.C</i> • <i>22.000 U.F.C</i>
--	---

<p>2 Nombre : <i>Conarito</i></p> <p>Raza : <i>French Poodle</i></p> <p>Color : <i>Blanco</i></p> <p>Propietario : <i>María Ayala</i></p> <p>Dr (a) :</p> <p>Anamnesis :</p>	<p>Especie : <i>Canino</i></p> <p>Edad : <i>2 años</i></p> <p>Sexo : <i>Macho</i></p> <p>Peso : <i>8 Kg</i></p> <p>Dirección : <i>Latacunga el Niagara</i></p> <p>Fecha : <i>13/06/2019</i></p>
--	---

MICROBIOLOGIA

CULTIVOS DE SECRECIÓN DE ENCIAS DENTALES CANINOS.

<p>GERMEN AISLADO</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus.</i> • <i>Streptococcus beta hemolitico</i> • <i>Escherichia coli.</i> 	<p>CONTAJE DE COLONIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Mayor a 100.000 U.F.C</i> • <i>30.000 U.F.C</i> • <i>88.000 U.F.C</i>
--	--

<p>3 Nombre : <i>Choy</i></p> <p>Raza : <i>French Poodle</i></p> <p>Color : <i>Blanca</i></p> <p>Propietario : <i>Edith Guzmangallo</i></p> <p>Dr (a) :</p> <p>Anamnesis :</p>	<p>Especie : <i>Canino</i></p> <p>Edad : <i>2 años</i></p> <p>Sexo : <i>Hembra</i></p> <p>Peso : <i>6 Kg</i></p> <p>Dirección : <i>Latacunga el Niagara</i></p> <p>Fecha : <i>13/06/2019</i></p>
--	--

MICROBIOLOGIA

CULTIVOS DE SECRECIÓN DE ENCIAS DENTALES CANINOS.

<p>GERMEN AISLADO</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Streptococcus beta hemolitico</i> • <i>Escherichia coli.</i> 	<p>CONTAJE DE COLONIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>80.000 U.F.C</i> • <i>12.000 U.F.C</i>
---	--


LEDA MARÍA LEMA
 Director de Laboratorio Clínico
 Centro Veterinario (VETLAB)

ANEXO 15. Análisis de laboratorio Hemograma de los pacientes.




Nombre : Candy
Raza : French poodle
Color : Blanco
Propietario : Néstor Álvarez
Dr (a) :
Anamnesis :
Especie : Canino
Edad : 2 años
Sexo : Hembra
Peso : 7 Kg
Dirección : Lotacorega el Niagara
Fecha : 18-06-2019

HEMOGRAMA CANINO

Análito	Resultado	Valor de referencia	Unidades	Morfología de Eritrocitos
Hematocrito	49.3	37.0 - 55.0	%	NORMAL
Hemoglobina	15.8	12.0 - 18.0	g/dL	
Eritrocitos	6'740.000	5'500.000 - 8'500.000	mm ³	
VGM	73.1	60 - 76	fL	
MCH	23.4	19.5 - 24.5	pg	
CGMH	32.0	32.0 - 36.0	g/dL	
Plaquetas	349.000	200.000 - 500.000	mm ³	

Análito	Resultado	Valor de referencia	Unidades	Morfología de Leucocitos
Leucocitos	9.700	6.000 - 17.000	mm ³	NORMAL
VALORES RELATIVOS				
Neutrófilos	63.0	60.0 - 67.0	%	
N. Bandas	0.0	0 - 3.0	%	
Linfocitos	34.0	12.0 - 30.0	%	
Monocitos	3.0	3.0 - 10.0	%	
Eosinófilos	0.0	2.0 - 10.0	%	
Basófilos	0.0	0.0 - 1.0	%	
VALORES ABSOLUTOS				
Neutrófilos	6111	3000 - 11500	mm ³	
N. Bandas	0	0 - 300	mm ³	
Linfocitos	3298	1000 - 4800	mm ³	
Monocitos	291	150 - 1350	mm ³	
Eosinófilos	0	100 - 1250	mm ³	
Basófilos	0	0 - 100	mm ³	


Lcda. MARÍA LEMA
Directora de Laboratorio
Clínica Veterinaria (Uruguay)

ANEXO 16. Análisis de laboratorio de la planta de caléndula.

MC-LSAIA-2201-04

	INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1, Cuzco/Agua Tika, 2090681-3067194, Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340	
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 19-173

NOMBRE PETICIONARIO:	Sra. Alexandra Cayo	INSTITUCION:	Particular
DIRECCION:	Latacunga	ATENCION:	Sra. Alexandra Cayo
FECHA DE EMISION:	11/11/2019	FECHA DE RECEPCION:	25/10/2019
FECHA DE ANALISIS:	Del 25 de octubre al 7 de noviembre de 2019	HORA DE RECEPCION:	08:40
		ANALISIS SOLICITADO	Flavonoides

ANALISIS	FLAVONOIDES					IDENTIFICACIÓN
METODO						
METODO REF.	Zhihes, Mengcheng y Jianming 1986					
UNIDAD	mg catequina/ L					
19-1246	450,00					Tintura de caléndula
19-1247	18,61					Crema de caléndula

Los ensayos marcados con **U** se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

RESPONSABLES DEL INFORME


Dr. Juan Samaniego
 RESPONSABLE TECNICO




Ing. Vladimir Ortiz
 RESPONSABLE CALIDAD

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados aquí indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo.

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este informe o fax no es el destinatario del mismo, se le solicita que cualquier copia o distribución de este se encuentre totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.