

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**



**“Frecuencia Serológica de *Ehrlichia canis* en pacientes caninos sospechosos a la enfermedad durante el periodo 2014-2016 en Lima Norte”**

**Tesis para optar el Título Profesional de:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Juan Diego Cusicanqui Sanabria**

**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**LIMA - PERÚ**

**2018**

A mi familia por la confianza y el apoyo constante,  
en especial a mi madre con su ejemplo, dedicación y fuerza,  
a mis amigos, a ella por siempre creer en mi  
y por supuesto a mis perros  
la razón de ser Médico Veterinario

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al Dr. Renato Zúñiga Fulcani por ser mi asesor, por su tiempo, paciencia y sobre todo su amistad, sin sus conocimientos y su guía no hubiera sido posible este trabajo.
- Al laboratorio Vet Support por darme la oportunidad de trabajar ahí, por la información brindada y por todo lo aprendido durante mi estancia, fue un placer ser parte de su equipo.
- A mis colegas y amigos del laboratorio.
- A mis revisores por su tiempo, correcciones y aportes Dr. Yuri Guillinta y Dr. Pablo Silva

## ABSTRACT

*Ehrlichia canis* is a bacterium that causes canine monocytic Ehrlichiosis, an infectious disease of worldwide distribution that is transmitted by the bite of the dog's brown tick. It is recognized that this disease is present in North Lima, thanks to the constant serological evidence in patients who come to veterinary clinics, however there are no quantifiable data about their situation. The objective of the study is to find the serological frequency of *E. canis* in samples from canine patients in Northern Lima. To this end, the database of a clinical analysis laboratory was revised, which receives samples from different points of Northern Lima. All records that had analyzes performed against *E. canis* were taken during the period 2014-2016. The frequency of positive results was calculated based on the total samples analyzed for each year. The association between the sex, age and race variables was also evaluated with the results of the test using the chi-square test, and the dependence between the hematological variables with the result of the test was determined using the Student's or Mann-Whitney U test. A relative frequency of 723 canines positive for ehrlichiosis was found in 1216 requests for analysis, giving a percentage frequency of 59.4% of *E. canis* in northern Lima. An association was found to the positive result to the kit for the patients of mestizo race and an age greater than 2 years. In adult dogs, dogs positive for the disease have lower values of the red series, leukocytes, and platelets with respect to the negative dogs. The frequency of *E. canis* in samples of canines taken to a laboratory in Lima Norte for analysis is high.

Key words: *Ehrlichia canis*, serology, immunochromatography, dogs

## RESUMEN

La *Ehrlichia canis* es una bacteria causante de la Ehrlichiosis monocítica canina, enfermedad infecciosa de distribución mundial que se transmite por la picadura de la garrapata marrón del perro. Se reconoce que esta enfermedad está presente en Lima Norte, gracias a la constante evidencia serológica en pacientes que acuden a las clínicas veterinarias, sin embargo no existen datos cuantificables acerca de su situación. El estudio tiene como objetivo hallar la frecuencia serológica de *E. canis* en muestras de pacientes caninos en la zona norte de Lima. Para ello se realizó la revisión de la base de datos de un laboratorio de análisis clínicos, el cual recibe muestras de diferentes puntos de Lima Norte. Se tomaron todos los registros que tuvieran análisis realizados contra *E. canis* durante en el periodo 2014 – 2016. Se calculó la frecuencia de resultados positivos en base al total de muestras analizadas para cada año. Se evaluó además la asociación entre las variables sexo, edad y raza con los resultados a la prueba utilizando la prueba de chi cuadrado, y se determinó la dependencia entre las variables hematológicas con el resultado a la prueba utilizando la prueba de T de Student o U de Mann Whitney. Se halló una frecuencia relativa de 723 caninos positivos a ehrlichiosis de 1216 solicitudes de análisis, dando una frecuencia porcentual de 59,4% de *E. canis* en Lima norte. Se encontró una asociación al resultado positivo al kit para los pacientes de raza mestiza y una edad mayor a 2 años. En perros adultos, los perros positivos a la enfermedad tienen valores menores de la serie roja, leucocitos, y plaquetas con respecto los perros negativos. La frecuencia de *E. canis* en muestras de caninos llevadas a un laboratorio en Lima Norte para su análisis es alta.

Palabras clave: *Ehrlichia canis*, serología, inmunocromatografía, perros

## INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis es una enfermedad causada por una bacteria gram negativa que pertenece al orden de las Rickettsias, género Ehrlichia y se la describe como pleomórfica e intracelular obligada (CFSPH, 2013; Silva et al, 2014). En el género Ehrlichia existen 5 especies reconocidas: *E. canis*, *E. chaffensis*, *E. ewingii*, *E. muris* y *E. ruminantium*. La *Ehrlichia canis* (*E. canis*) causa la ehrlichiosis monocítica canina principalmente en perros (CFSPH, 2013).

La *E. canis* necesita de un vector para poder ser transmitida de canino a canino, y la principal especie involucrada es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*). Esta garrapata se infecta al ingerir sangre de un animal infectado, de esta manera la *E. canis* llega al epitelio intestinal y penetra en la cavidad corporal de la garrapata. Una vez que la garrapata se ha alimentado cae al medio ambiente para depositar sus huevos. La infección natural en el perro se produce cuando la garrapata infectada sube a otro canino para alimentarse ingiriendo la sangre y, a la vez, contaminando con sus secreciones salivares el punto donde se ha fijado (Chávez, 2014).

Los perros infectados con *E. canis* desarrollan diversas fases de la enfermedad una vez que es inoculada. La primera es la fase aguda, en esta se presenta una gran variedad de signos clínicos inespecíficos que pueden ir de leves a graves; se nombran entre las principales fiebres, letargia, anorexia, signos gastrointestinales, respiratorios, oculares y hasta neurológicos (Waner y Harrus, 2013). Adicionalmente, se reporta con frecuencia alteraciones en la coagulación que dan como signos petequias, equimosis y hemorragias moderadas (Mylonakis *et al.*, 2010).

Algunos perros que poseen una inmunidad adecuada o cuando el grado de infección es leve, pueden superar la fase aguda de la ehrlichiosis y llegar a eliminar a la bacteria sin tratamiento. Sin embargo, otros pacientes que no reciben tratamiento, progresan a la fase subclínica durante meses o años. En esta fase son asintomáticos o los signos clínicos pueden ser muy leves. Los perros infectados sub clínicamente pueden también eventualmente superar el microorganismo o desarrollar la enfermedad crónica. En la fase crónica, los signos clínicos son similares a los de la fase aguda, pero más severos, y varían según el órgano afectado pudiendo afectar los tejidos hepático, renal y hematopoyético principalmente (Mylonakis *et al.*, 2010).

La *E. canis* se encuentra distribuida mundialmente, y depende de la presencia y densidad de su vector. En adición, las características climatológicas, junto a las características en la tenencia de mascotas hacen propicia la transmisión de la enfermedad (Waner y Harrus, 2013).

El diagnóstico presuntivo inicial de la ehrlichiosis monocítica se basa en la historia y los signos clínicos, sin embargo, la signología es muy variable, lo que hace en muchos casos difícil de diagnosticarla. Las pruebas de laboratorio ayudan a orientar al diagnóstico de esta enfermedad, y una de las que aporta mayores datos es el hemograma. Diversos autores reportan que las alteraciones más frecuentes son la leucopenia y la plaquetopenia (Straube, 2010).

La ehrlichiosis se diagnostica por métodos indirectos (serología) o métodos directos (detección del organismo). Las principales técnicas serológicas utilizadas son: inmunofluorescencia (IFI), ELISA e inmunocromatografía, mientras que entre los métodos directos se mencionan el frotis directo (extendido de sangre) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Cartagena, 2015). Los test serológicos evidencian una exposición o infección a la ehrlichiosis, es por ello que, junto a la historia clínica y signos presentados en el paciente, ayudan al diagnóstico de la enfermedad (Brandao *et al.*, 2015). Uno de los métodos indirectos más difundidos en los últimos años es de la inmunocromatografía.

Los sistemas inmunocromatograficos son sistemas rápidos, los cuales se basan en la captura inmunológica de un coloide coloreado durante su paso a través de una membrana en la cual se ha inmovilizado un anticuerpo o antígeno (Acosta, 2003). La aparición de una línea rojo púrpura en la prueba indica la presencia de anticuerpos (Farrell, 2009).

En el Perú, la ehrlichiosis canina fue detectada en caninos a partir de 1982, y desde ahí se han incrementado el número de casos reportados (Huerto y Dámaso, 2015). Existen diversos estudios realizados en nuestro país, que evidencian esta enfermedad en distintos lugares. En Máncora, Piura, se encontró una seroprevalencia de 70% en caninos domésticos con garrapatas (Carpio, 2008). En Chosica se encontró una frecuencia de 70% mediante PCR asociado además a cuadro de pancitopenia (Aguirre, 2008). En la Reserva Nacional de Paracas se encontró una seroprevalencia de 20.7% en caninos domésticos, encontrándose también una concordancia entre la seropositividad y trombocitopenia de 100% (Velásquez, 2008). En Chimbote, se obtuvo una frecuencia de 23,35%, en perros escogidos al azar de distintas veterinarias de la ciudad, contra anticuerpos para *E. canis* (Jara, 2013). En la ciudad de Huánuco se halló un 51,3% positivos a la prueba (Huerto & Dámaso, 2015). En la provincia de Lima, en los distritos de Chorrillos, La Molina y San Juan De Miraflores, se encontró una seroprevalencia de 19.3%, 8.7%, 15%, respectivamente (Adrianzen, 2003).

Existen otros trabajos que evidencian la enfermedad en la región de Lima Metropolitana, sin embargo, además del estudio de Adrianzen (2003) no existen reportes acerca de frecuencia o prevalencia de esta enfermedad. Específicamente para los distritos de la zona de Lima Norte se hace crucial, debido a que a la población canina tiene una prevalencia de garrapatas de al menos 30%, y que en los últimos años ha ido en aumento (Estares et al., 2000). Además de ello, la población canina ha ido en aumento, lo que se demuestra en estudios realizados por Arauco *et al.* (2014) y Soriano *et al.* (2017) que determinaron un número de canes con dueño en 82,794 para el distrito de San Martín de Porres y 85,934



canes para el distrito de Comas respectivamente. A esto se suma la alta cantidad de perros deambulantes tanto en horario diurno como nocturno (Ochoa *et al.*, 2013).

La determinación serológica de anticuerpos contra *E. canis* no solo permite un mejor acercamiento diagnóstico (ya que confirman que el canino ha estado expuesto a la enfermedad); sino que, además, cuando son evaluadas en un conjunto de individuos permite informar, comparar y vigilar acerca del estado epidemiológico de esta enfermedad. Los kits inmunocromatográficos para la detección de anticuerpos contra *E. canis*, poseen una alta sensibilidad y especificidad en comparación con la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta, que es considerado como la prueba de oro. Para la provincia de Lima, los estudios acerca de esta enfermedad deberían ser realizados en diferentes zonas, a fin de evaluar la frecuencia de infección en la población canina. En Lima Norte está reportado no solo la disponibilidad y aumento del vector transmisor de *E. canis*, sino también la alta población de canes. Estas condiciones hacen propicia la transmisión y desarrollo de la ehrlichiosis.

El objetivo de este estudio es hallar la frecuencia serológica de *E. canis* a partir de resultados de un kit inmunocromatografico en muestras de pacientes caninos remitidas a un laboratorio de la zona norte de Lima en el periodo 2014 – 2016. Se evaluará, además, la asociación entre las variables sexo, edad y raza con los resultados de seropositividad y si existe diferencia significativa entre los resultados a la prueba y hallazgos hematológicos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en Vet Support, laboratorio de análisis clínicos veterinarios. Este se encuentra ubicado en el distrito de Los Olivos, perteneciente a Lima Norte. Aquí llegan a ser analizadas muestras provenientes de diferentes veterinarias de los distritos de Lima Norte, estos incluyen a Carabayllo, Los Olivos, Comas, San Martín de Porres, Independencia y Puente Piedra. El análisis de resultados se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cayetano Heredia.

El tipo de estudio realizado fue de tipo observacional y analítico. La Población objetivo fueron los registros de pacientes en los cuales se realizó serología de anticuerpos contra *E. canis*.

La serología fue realizada mediante el kit contra anticuerpos de *E. canis* de la marca Anigen. Este es un test sencillo de emplear, rápido (resultados en 20 minutos), y presenta una alta sensibilidad (97.6%) y Especificidad (99%) en comparación con la Inmunofluorescencia Indirecta (Bélanger *et al.*, 2002).

Los criterios de inclusión tomados fueron, todo registro remitido al laboratorio para realizar la prueba inmunocromatografica de anticuerpos contra *E. canis* entre los años 2014 al 2016. Los criterios de exclusión fueron que los registros no tengan información legible, o con información incompleta.

Se realizó la búsqueda manual de los registros generados a partir de las muestras sanguíneas sometidas a inmunocromatografía contra *E. canis* obteniéndose de esta manera un número de 1216

registros. Debido a que los valores hematológicos de referencia del laboratorio donde se trabajó son diferentes para la población de perros adultos y cachorros, estos se separaron en dos grupos.

Las variables utilizadas fueron:

- Resultado a la prueba: Variable cualitativa. Se clasificará en positivo y negativo a la presencia de anticuerpos contra *E. canis*.
- Edad: Se analizó tanto de forma cualitativa y cuantitativa. De forma cuantitativa se analizó en años. Para el análisis en forma cualitativa se clasificó a los perros en grupos de 0-5 meses, mayor de 5 meses a menor de 2 años, 2 años a menor de 4 años, 4 años a menor de 6 años, 6 años a menor de 8 años, 8 años a menor de 10 años, 10 años a menor de 12 años, 12 años a menor de 14 años, y 14 a 16 años.
- Raza: Variable cualitativa. Debido a la variabilidad de razas no se analizó una raza específica, puesto que ninguna raza corresponde una proporción significativa de las muestras del estudio. Se clasificó las razas en perros de raza y perros mestizos.
- Sexo: Variable cualitativa. Se clasificó el sexo en macho y hembra.
- Hematocrito: Variable cuantitativa se expresó en porcentaje.
- Hemoglobina: Variable cuantitativa se expresó en g/dl.
- Glóbulos Rojos: Variable cuantitativa se expresó en número/  $\mu$ l.
- Leucocitos: Variable cuantitativa se expresó en número / $\mu$ l.
- Plaquetas: Variable cuantitativa se expresó en número / $\mu$ l.

Se halló la frecuencia de resultados positivos en base al total de muestras analizadas para cada año. Se elaboraron tablas de estadística descriptiva en donde se muestra el resultado al kit con la edad, raza y sexo de los animales. Se utilizó la prueba de chi cuadrado para determinar si existe asociación entre el resultado de la prueba y las variables raza y sexo. Para analizar la variable edad se usó prueba de chi cuadrado y la prueba de T de student. Para los registros que tienen análisis hematológicos anexos, se elaboró una tabla de resumen descriptivo según resultado a la prueba inmunocromatográfica (positivo

y negativo), en la que se indican los valores mínimos, máximo, media y desviación standard para la serie roja, blanca y plaquetaria. Se separaron los datos de cachorros (perros hasta 5 meses) y adultos (perros mayores a 5 meses). La distribución normal de los datos de las variables cuantitativas continuas se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov de 1 muestra. Para los datos que siguieron la distribución normal se evaluó si existía diferencia estadística significativa mediante la prueba de T de student, y para los datos que no siguieron la distribución normal se evaluó si existía diferencia estadística significativa mediante la prueba de U de Mann Whitney.

El proyecto fue evaluado antes de su ejecución por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA). Solo tuvieron acceso a la información generada durante el trabajo el investigador principal, el asesor y los revisores. La base de datos obtenida del estudio esta guardada con contraseña para garantizar la confidencialidad.

## RESULTADOS

De la información analizada entre los años 2014 a 2016, se obtuvieron 1216 registros con orden de serología para investigación de la presencia de anticuerpos para *E. canis*. De estos, se obtuvieron 768 registros que incluían hemograma. Se hallaron 68 muestras correspondientes a cachorros y 557 de adultos, 143 no tenían información sobre la edad, por lo que se excluyeron para el análisis de las variables hematológicas.

De los 1216 registros se obtuvieron 723 registros con serología positiva a *E. canis*, resultando una frecuencia de 59.4%. En la tabla 1 se colocan de manera descriptiva los valores para edad.

Tabla 1. Resultado a la prueba serológica según edad

	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Total</b>
<b>0 a 5 meses</b>	51	55	106
<b>5 meses a 1.9 años</b>	174	134	308
<b>2 a 3.9 años</b>	138	80	218
<b>4 a 5.9 años</b>	95	37	132
<b>6 a 7.9 años</b>	51	27	78
<b>8 a 9.9 años</b>	33	27	60
<b>10 a 11.9 años</b>	27	10	37
<b>12 a 13.9 años</b>	10	7	17
<b>14 a 16 años</b>	7	1	8
<b>Sin datos de edad</b>	137	115	252
	723	493	1216

El análisis estadístico para las variables edad y resultado a la prueba, mediante la prueba de chi cuadrado dio una significancia de 0.003, indicando la asociación entre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y la edad en perros mayores a dos años.

En el análisis cuantitativo de la edad, con respecto al resultado a la prueba, se obtuvo que los perros positivos tienen una media de edad de  $3.53 \pm 3.24$  y los negativos  $2.99 \pm 3.04$ . La prueba de T de student dio como resultado una significancia de 0.009, los perros con serología positiva tienen una mayor edad promedio que los perros negativos a la prueba.

En la tabla 2 se colocan de manera descriptiva los resultados para raza.

Tabla 2. Resultado a la prueba serológica según raza

<b>Canes</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>De raza</b>	335	253	588	57.0%
<b>Mestizo</b>	270	157	427	63.2%
<b>No menciona</b>	118	83	201	58.7%
	723	493	1216	

En la tabla 3 se colocan de manera descriptiva los resultados para sexo.

Tabla 3. Resultado a la prueba serológica según sexo

<b>Sexo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Macho</b>	381	247	628	60.7%
<b>Hembra</b>	279	200	479	58.2%
<b>No menciona</b>	63	46	109	57.8%
	723	493	1216	

La prueba de Chi-cuadrado, que enfrenta los resultados a la prueba con las variables raza y sexo dio como resultado una significancia de 0.04 y 0.41 respectivamente, concluyendo que las variables resultado a la prueba y raza están significativamente asociadas. Las variables resultado a la prueba y sexo no dieron resultados significativos

De los registros con hemogramas (n= 768) 68 corresponden a cachorros. En la tabla 4 se describe los resultados obtenidos para los valores hematológicos con respecto al resultado al kit para anticuerpos de *E. canis* en cachorros.

Tabla 4. Valores hematológicos de muestras de perros cachorros con serología de *E. canis* analizadas en un laboratorio de Lima norte durante el periodo 2014-2016.

<b>Hemograma</b>	<b>Rango de Referencia</b>	<b><i>E. canis</i> Positivo</b>	<b><i>E. canis</i> Negativos</b>
<b>Hematocrito</b>	29-34%	24±11.8 <sup>a</sup> (6.4±55.7)	29.7±9.4 <sup>b</sup> (10.5±46.8)
<b>Hemoglobina</b>	9.4-11.2 g/dl	7.8±4 <sup>a</sup> (2±18.8)	9.5±3.3 <sup>a</sup> (3.5±16.4)
<b>Glóbulos Rojos</b>	4,300,000-5,100,000/μl	3.54 x10 <sup>6</sup> ±1.87x10 <sup>6</sup> <sup>a</sup> (0.77 x10 <sup>6</sup> ±8.48 x10 <sup>6</sup> )	4.36 x 10 <sup>6</sup> ±1.36 x 10 <sup>6</sup> <sup>b</sup> (1.6 x10 <sup>6</sup> ±7.08 x10 <sup>6</sup> )
<b>Leucocitos</b>	11,300-20,000/μl	10,719.7±5,549.3 <sup>a</sup> (620±24,390)	9,845±4,517.4 <sup>a</sup> (680±19,650)
<b>Neutrófilos</b>	5,600-12,000/μl	7,271.8±3,969.6 (1,680±19,512)	6,884.8±3,457.1 (1,573±17,685)
<b>N. Abastoados</b>	0-600/μl	86.7±206.6 (0±1,043)	200.2±535.5 (0±2,522)
<b>N. Segmentados</b>	5,600-11,400/μl	7,163.5±3,948.7 (1,680±19,512)	6,684.6±3,162.1 (1,573±15,720)
<b>Linfocitos</b>	3,500-6,500/μl	3,023±2,541.4 (279±11,857)	2,403.7±1,550.4 (322±7,359)
<b>Monocitos</b>	700-2,100/μl	573.9±481.2 (0±2,065)	671±642.7 (106±3,569)
<b>Eosinófilos</b>	0-800/μl	187.6±539.7 (0±2934)	140.5±228.9 (0±937)
<b>Basófilos</b>	0-90/μl	0	0
<b>Plaquetas</b>	200,000-410,000	89,262.5±80,654.7 <sup>a</sup> (15,000±312,700)	176,430.5±136,156.7 <sup>b</sup> (15,000±497,600)



Para los hallazgos hematológicos en cachorros, en hematocrito, glóbulos rojos y plaquetas, se obtuvo que hay diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ), entre el resultado a la prueba con estas variables hematológicas. Para las variables hemoglobina y glóbulos blancos no se obtuvo diferencia estadística significativa.

De los registros con hemogramas ( $n= 768$ ) 557 corresponden a adultos. En la tabla 5 se describe los resultados obtenidos para los valores hematológicos con respecto al resultado al kit para anticuerpos de *E. canis* en adultos.

Tabla 5. Valores hematológicos de muestras de perros adultos con serología de *E. canis* analizadas en un laboratorio de Lima norte durante el periodo 2014-2016.

Hemograma	Rango de Referencia	<i>E. canis</i> Positivo	<i>E. canis</i> Negativos
<b>Hematocrito</b>	36-54%	34.2±10.6 <sup>a</sup> (4.5±60.7)	41.1±10.1 <sup>b</sup> (5.2±78.6)
<b>Hemoglobina</b>	11.8-17.8 g/dl	11.3±3.6 <sup>a</sup> (1.5±20.5)	13.6±3.5 <sup>b</sup> (1.3±22.4)
<b>Glóbulos Rojos</b>	5,200,000- 8,150,000/ $\mu$ l	5x10 <sup>6</sup> ±1.61x10 <sup>6</sup> <sup>a</sup> (0.71x10 <sup>6</sup> ±9.03x10 <sup>6</sup> )	5.97 x 10 <sup>6</sup> ±1.49x10 <sup>6</sup> <sup>b</sup> (0.64 x10 <sup>6</sup> ±10.02x 10 <sup>6</sup> )
<b>Leucocitos</b>	9,000-15,000/ $\mu$ l	10,9583.4±7,402.8 <sup>a</sup> (110±60,220)	13,404±8,266 <sup>b</sup> (1,070±48,750)
<b>Neutrófilos</b>	4,700-11,550	8,335.1±6,464.7 (625±57,209)	10,252.8±7,509.8 (1,577±41,925)
<b>N. Abastoados</b>	0-225	157.7±529.3 (0±7,228)	232.2±885 (0±8,869)
<b>N. segmentados</b>	4,500-11,550	8,176.1±6,289.1 (532±56,005)	10,017.6±7,259.8 (745±41,438)
<b>Linfocitos</b>	1,350-4,500	2,016.9±1,864.8 (73±16,710)	2,051.3±1,408.4 (112±7,581)
<b>Monocitos</b>	90-750	651.5±566 (0±3,577)	827.5±769.8 (0±6,338)
<b>Eosinófilos</b>	90-825	233±429.3 (0±4,268)	391.6±676.3 (0±5,368)
<b>Basófilos</b>	0-90	1.6±12.3 (0±133)	12.9±120.8 0±1,629
<b>Plaquetas</b>	200,000-450,000	112,973.3±96,823.1 <sup>a</sup> (15,000±860,700)	191,404.5±137,355.5 <sup>b</sup> (15,000±745,000)

Para los hallazgos hematológicos en adultos, en serie roja, glóbulos blancos y plaquetas, se obtuvo como resultado que hay diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ), entre el resultado a la prueba con las variables hematológicas.

## DISCUSIÓN

De acuerdo a lo analizado, se halló que un 59.4% de muestras de los pacientes remitidos resultaron positivos a la prueba de detección de anticuerpos de *E. canis*. Sin embargo, existen factores que podrían incrementar este valor como los perros con dueños que no son llevados a veterinarias o los perros vagabundos que pueden portar la enfermedad, debido a que las muestras analizadas provienen de veterinarias a las cuales se llevan perros con sospecha de la enfermedad.

Hay que tener en cuenta, que los anticuerpos son producto de la inmunidad adquirida de tipo humoral, son producidos por las células plasmáticas después de la estimulación del linfocito B (Vega, 2008). Los perros positivos no necesariamente desarrollan la enfermedad, pero todos los perros positivos, han sido expuestos a la enfermedad (Mc Bride *et al.*, 2003). Por lo tanto, una alta frecuencia de anticuerpos contra *E. canis* significa una alta frecuencia de exposición al agente patógeno en los perros llevados a veterinarias en Lima norte.

Estos resultados pueden deberse a que, en los distritos de Lima Norte, hay gran cantidad de perros vagabundos (Arauco *et al.*, 2014; Soriano *et al.*, 2017). Estos animales representan una fuente importante del vector ya que, al estar en contacto con otros perros en ambientes comunes tales como jardines y/o parques, aumentan el riesgo de contagio por el vector (Huerto y Damaso, 2015). Este factor, sumado al clima ideal para la proliferación del *R. Sanguineus*, pueden generar que la frecuencia de *E. canis* sea alta, (Estares *et al.*, 2000).

Se encontró una diferencia significativa con respecto a la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y al promedio de edad, teniendo los pacientes positivos una edad mayor. También se encontró que la edad de los perros, mayores a dos años, predispone a la presencia de anticuerpos para la enfermedad. Huerto (2015) encontró asociación entre la edad adulta del perro y el diagnóstico de *E. canis*, Jara (2014) encontró una mayor proporción de positivos a la enfermedad en perros mayores a 4 años, Cartagena *et al.* (2015) Encontró una mayor prevalencia en perros adultos y seniles, Contreras (2006) encontró que los perros de dos a cuatro años tienen un mayor riesgo de presentar la enfermedad y Asgarali *et al.* (2012) Encontró que los perros mayores a un año son más propensos a ser seropositivos que los menores a un año. Los estudios previos presentan resultados similares con el hallazgo de este estudio, esto se puede explicar debido a que los perros adultos tienen mayor tiempo de exposición al vector de la enfermedad.

En el análisis de asociación entre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y la raza de los perros, se obtuvo que existe asociación entre estas variables. Que el perro sea mestizo se relaciona a la presencia de anticuerpos contra la enfermedad, lo cual no coincide con el estudio de Huerto (2015), que encontró que no hay asociación entre la raza y la presencia a la enfermedad. En el estudio de Cartagena *et al.* (2015) Se encontró una mayor prevalencia en perros mestizos. No se evaluó los perros pastores alemanes (raza susceptible), debido a que la frecuencia en este estudio era muy baja.

En el análisis de asociación entre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y el sexo de los caninos, se obtuvo que no hay asociación significativa. Hay trabajos previos que han analizado estas variables, algunos discrepando y otros coincidiendo. Adrianzen *et al.* (2003) Encontró que hay mayor prevalencia en hembras; discrepando. En sus estudios, Asgaraly *et al.* (2012), Contreras (2006) y Cartagena *et al.* (2015) no encontraron diferencia estadística significativa entre estas variables. Las hembras pueden presentar inmunosupresión durante el celo o preñez, lo cual podría explicar algunos

estudios que encuentran asociación entre el sexo y la enfermedad, sin embargo, no hay información concluyente, por lo que se debe realizar más investigaciones teniendo en cuenta estas variables.

Se ha descrito que el comportamiento fisiológico de los valores eritrocitarios en perros cachorros es que inicien bajos, posteriormente estos aumentan con la edad (Harper *et al.*, 2003; Lawler *et al.*, 2007; Brenten *et al.*, 2016). Para los valores de leucocitos, en cachorros comienzan altos y van decreciendo con el tiempo (Harper *et al.*, 2003; Brenten *et al.*, 2016). Debido a que hay evidencia bibliográfica que indica que los valores hematológicos varían durante el primer año de los perros, se separó a los perros cachorros y adultos para analizar las variables hematológicas en este estudio.

En el análisis de las variables hematológicas en cachorros, en la serie roja se obtuvo una media más baja de hemoglobina y glóbulos rojos en perros positivos a la enfermedad con respecto a los negativos, sin embargo, al analizar la hemoglobina no se encontró diferencia estadística significativa. Hay que tener en cuenta la significancia para la hemoglobina fue muy cercana a 0.05 ( $p= 0.058$ ).

En el análisis de Leucocitos, no se obtuvo diferencia estadística significativa entre los positivos a *E. canis* con respecto a los negativos. Para las plaquetas, se obtuvo una media más alta en los perros negativos a *E. canis* con respecto a los positivos. No se encontró estudios similares que comparen la frecuencia o prevalencia de la enfermedad y las variables hematológicas en cachorros. La *E. canis* tiene como hallazgos hematológicos más comunes en la fase aguda de la enfermedad anemia y trombocitopenia (Straube, 2010).

En el análisis de las variables hematológicas en adultos, en la serie roja, serie blanca y serie plaquetaria se obtuvo una media más baja de hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas en perros positivos a la enfermedad con respecto a los negativos. Estos hallazgos coinciden

con estudios similares, en los cuales los perros positivos a *E. canis* presentan una media menor de hematocrito, hemoglobina, glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas que los perros negativos (Elitok y Ungur, 2016; Fonseca *et al.*, 2017). En el estudio de Aguirre (2008) no se encontró diferencia estadística significativa entre los valores hematológicos de los perros positivos y negativos, discrepando con lo hallado en este estudio. La trombocitopenia en diferentes grados es el hallazgo hematológico característico en las distintas fases de la enfermedad producida por *E. canis* (Straube, 2010; Waner y Harrus, 2013). Esta bacteria se multiplica en las células mononucleares, la trombocitopenia se debería a un mayor consumo, secuestro y destrucción de las plaquetas (Lopez *et al.*, 1999). Cuando la *E. canis* genera aplasia de la medula ósea, se encuentra frecuentemente pancitopenia, sin embargo, se puede encontrar también pancitopenia en la fase aguda de la enfermedad con una medula ósea normo celular. Mono o bicitopenias se pueden encontrar hasta que se dé una supresión terminal de la medula ósea (Mylonakis *et al.*, 2010).

Hay que tener en cuenta que, en exposiciones agudas, la presencia de anticuerpos no siempre está presente en el animal infectado (Demarchi *et al.*, 2012). En esta fase de la enfermedad la trombocitopenia es el hallazgo hematológico más común (Rodríguez-Vivaz *et al.*, 2005). Esto puede explicar los casos de perros negativos a la prueba de anticuerpos contra *E. canis*, que acudieron a consulta al presentar sintomatología compatible y/o que presentaron como hallazgo trombocitopenia.

Durante el estudio se observó perros seropositivos con plaquetas normales. Este hallazgo puede explicarse debido a la alta frecuencia de perros con garrapatas en la zona norte de Lima, lo cual genera infecciones agudas en los que los valores hematológicos no se alejan aún de los intervalos de referencia (Estares *et al.*, 2000). Otra hipótesis a tener en cuenta es que después del tratamiento, al eliminar a la bacteria del organismo, los perros generalmente deben convertirse en individuos seronegativos; sin embargo, esta reportado que algunos perros pueden mantener títulos de anticuerpos estables por años

(Straube, 2010). También está descrito que, en algunos casos, perros con buena inmunidad pueden superar espontáneamente la enfermedad (Eddlestone *et al.*, 2007).



## CONCLUSIONES

- La frecuencia de *Ehrlichia canis* en perros llevados a un laboratorio de Lima Norte es alta.
- En este estudio, los perros positivos para anticuerpos contra *E. canis* tuvieron mayor edad que los perros negativos.
- En perros adultos, los perros positivos a serología para *E. canis* tuvieron valores menores en la serie roja, leucocitaria y plaquetaria con respecto a los perros negativos.
- Este estudio sugiere que la prevalencia de *E. canis* en Lima Norte puede ser alta, se recomienda realizar estudios epidemiológicos con el fin de hallar la prevalencia en Lima Norte.

## LITERATURA CITADA

1. Acosta M. 2003. Desarrollo y evaluación de una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de la infección con *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas. Universidad Nacional de Asunción. 95.
2. Adrianzen J, Chávez A, Casas E, Li O. 2003. Seroprevalencia de la Dilofirialosis y Ehrlichiosis Canina en tres distritos de Lima. Revista de investigaciones Veterinarias del Perú. 14, 45 - 47.
3. Aguirre R. 2008. Frecuencia de Ehrlichia canis en caninos de Chosica con cuadro de pancitopenia mediante el uso de PCR. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 22.
4. Ansari-Mood M, Khoshnegah J, Mohri M, Rajaei S. 2015. Seroprevalence and Risk Factors of Ehrlichia canis Infection among Companion Dogs of Mashhad, North East of Iran, 2009-2010. J Arthropod-Borne Dis. 9(2): 184-194.
5. Arauco D, Betty U, León D, Falcón N. 2014. Indicadores demográficos y estimación de la población de canes con dueño en el Distrito de San Martín De Porres. Salud y Tecnología Veterinaria del Perú. 2, 84.
6. Asgarali Z, Pargass I, Adamb J, Mutani A, Ezeokoli C. Haematological parameters in stray dogs sero-positive and seronegative to Ehrlichia canis in North Trinidad. Ticks Tick Borne Dis. 2012;3(4):207-211.
7. Bélanger M, Sorenson H, France M, Bowie M, Barbet A, Breitschwerdt E, et al. 2002. Comparison of Serological Detection Methods for Diagnosis of Ehrlichia canis infections in Dogs. Journal of Clinical Microbiology, 40, 3506.
8. Brandao P, De Andrade T, Santos F. 2015. Canine Ehrlichiosis: Prevalence and epidemiology in Northeast Brasil. Revista Brasileña de Parasitología veterinaria. 24, 115-121.

9. Brenten T, Morris P, Salt C, Raila J, Kohn B, y *et al.* 2016. Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young labrador retriever and miniature schnauzer dogs. *Vet Rec Open.* 3(1): 2-6.
10. Carpio L. 2008. Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia Canis* en caninos domésticos infestados con garrapatas en el distrito de Mancora, Piura. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 21.
11. Cartagena L, Ríos L, Cardona J. 2015. Seroprevalencia de *Ehrlichia Canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. *Revista de Medicina Veterinaria,* 29, 51-62.
12. Contreras A. 2006. Estudio Retrospectivo de caso control de ehrlichiosis canina en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos: periodo 2002-2005. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 45.
13. Chavez C. 2014. *Ehrlichia Canis* en caninos y el tratamiento con Doxiciclina. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 99.
14. Demarchi T, Lara J, Vargas-Hernandez G, Jurandir J, Evangelista A, y *et al.* 2012. Experimental *Ehrlichia canis* infection changes acute-phase proteins. *Rev Bras Parasitol Vet.* 21(3): 206-212.
15. Eddlestone S, Diniz P, Neer T, Gaunt S, Corstvet D, y *et al.* 2007. Doxycycline Clearance of Experimentally Induced Chronic *Ehrlichia canis* Infection in Dogs. *J Vet Intern Med.* 21: 1237-1242.
16. Elitok B, Ungur B. 2016. Prevalence of *Ehrlichia canis* Infection in Usak and investigation of Clinical, Hematological and Biochemical Signs in Infected Dogs. *Int Biol Biomed J.* 4(2): 134-139.
17. Estares L, Chavez A., Casas E. 2000. Ectoparasitos en Caninos de los Distritos de la Zona Climática Norte de Lima Metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 11: 72-76.
18. Farrell, B. 2009. Lateral Flow Immunoassay. Nueva York: Springer. 225p.

19. Fonseca J, Bruhn F, Ribeiro M, Hirsch C, Rocha C, Guedes E, *et al.* 2017. Hematological Parameters and Seroprevalence of *Ehrlichia canis* And *Babesia vogeli* in Dogs. *Ciênc anim bras.* 18: 1-9.
20. Harper J, Hackett R, Wilkinson J, Heaton P. 2003. Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *JAVMA.* 223(10): 1436-1442.
21. Huerto E, Dámaso B. 2015. Factores asociadas a la infección por *Ehrlichia Canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huanuco, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* 32, 756-760.
22. Jara M, 2014. Frecuencia de *Ehrlichia Canis* en perros en la ciudad de Chimbote - 2013. Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca, 40.
23. Lawler D, Ballam J, Meadows R, Larson B, Li Q, y *et al.* 2007. Influence of lifetime food restriction on physiological variables in Labrador retriever dogs. *Experimental Gerontology.* 42: 204-214.
24. López J, Castillo A, Muñoz M, Hildebrandt S. 1999. Hallazgo de *Ehrlichia canis* en Chile, informe preliminar. *Arch med vet.* 31(2): 211-214.
25. Mc Bride J, Corstvet R, Gaunt S, Boudreaux C, Guedry C, Guerdry T, y *et al.* 2003. Kinetics of Antibody Response to *Ehrlichia canis* Immunoreactive Proteins. *Infect Immun.* 71(5): 2516-2524.
26. Mylonakis M, Koutinas A, Breitschwerdt E, Hegarty B, Billinis C, y *et al.* 2004. Chronic Canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A Retrospective Study of 19 Natural Cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 40: 174-184.
27. Mylonakis M., Siarkou V, Koutinas A. 2010. Myelosuppressive Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update On The Pathogenesis, Diagnosis And Management. *Israel Journal Of Veterinary Medicine,* 65(4): 129-135.
28. Ochoa Y, Falcón N, Zuazo J, Guevara B. 2013. Estimación de la población de perros deambulantes en el Distrito de Los Olivos Lima-Perú. *Revista de investigaciones Veterinarias del Perú,* 25, 366-377.

29. Rey J, Lord C, Connelly R. 2015. Ehrlichia y Anaplasma en Florida. *Institute of Food And Agricultural Sciences*. 2.
30. Rodriguez-Vivas R, Albornoz R, Bolio G. 2005. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factor. *Veterinary Parasitology*. 127: 75-79.
31. Silva A, Canseco S, De la Torre, M, Mayoral, A., Mayoral, M., y et al. 2014. Infeccion Humana Asintomatica por contacto con perros. Un Caso de Ehrlichiosis Humana. *Gaceta Médica de México*, 150,172.
32. Soriano J, Nuñez J, León, D, Falcón, N. 2017. Estimacion de la población de canes con dueño en el distrito de Comas, Lima- Perú. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 33, 5.
33. Straube, J. (2010). Canine Ehrlichiosis - From acute infection to Chronic Disease. *CVBD World Forum*, 7, 7-8.
34. The Center for Food Security and Public Health. 2013. Ehrlichiosis and Anaplasmosis: Zoonotic Species. The Center for Food Security and Public Health. Iowa: CFSPH, 1.
35. Velasquez, T. 2008. Evidencia Serologico de Ehrlichia Canis en los caninos domesticos de la Reserva Nacional De Paracas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 16.
36. Vega G. 2008. La respuesta inmune. *Rev Fac Med UNAM*. 51(3): 128-129.
37. Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, y et al. 1996. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Veterinary Parasitology*. 39: 307-317.
38. Waner T, Harrus S. 2013. Canine Monocytic Ehrlichiosis - From Pathology to Clinical Manifestations. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 68: 12-18.