

Vigilancia serológica de la prevalencia de *Ehrlichia canis* en departamentos del sur de la provincia de Santa Fe, Argentina

Serological surveillance of the prevalence of *Ehrlichia canis* in the southern departments of Santa Fe province, Argentina

COLLA, C; CIMINARI, J.; GINES, M; BARTOLOMEO, M.

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

RESUMEN

La ehrlichiosis canina es una enfermedad que afecta a los caninos, presenta distribución mundial y es transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. Fue descrita oficialmente, por primera vez en Argentina, en el 2013. Hasta la fecha, se ha registrado en perros de numerosas ciudades y provincias. El objetivo del presente trabajo fue reportar la seroprevalencia de *Ehrlichia canis* junto con las alteraciones hematológicas halladas en pacientes de los departamentos Rosario, San Lorenzo, Constitución y Caseros de la provincia de Santa Fe, en el período 2017-2019. Existen diferentes manifestaciones clínicas de la enfermedad y con ellos alteraciones hematológicas asociadas. En el presente trabajo se realizó un análisis retrospectivo de los perros a los que se les indicó un análisis serológico de *Ehrlichia canis* junto con un hemograma. Los resultados obtenidos arrojaron que de los 468 perros estudiados, el 50,4 % fue positivo. No se observó asociación entre sexo, edad o raza. El 60,5 % de los positivos presentó alguna alteración hematológica, entre las más frecuentes destaca anemia, leucocitosis y trombocitopenia. El hemograma es una herramienta valiosa para ayudar al clínico en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con *Ehrlichia canis*, ya que muchas veces se presenta como un desafío clínico.

Palabras clave: (Ehrlichia), (serología), (hemograma), (prevalencia), (caninos)

ABSTRACT

Canine ehrlichiosis is a disease that affects canines, has a worldwide distribution and is transmitted by *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks. It was officially described, for the first time in Argentina, in 2013. To date, it has been recorded in dogs from numerous cities and provinces. The objective of this work was to report the seroprevalence of *Ehrlichia canis* along with the hematological alterations found in patients from the Rosario, San Lorenzo, Constitución and Caseros departments of the province of Santa Fe, in the period 2017-2019. There are different clinical manifestations of the disease and with them associated hematological alterations. In the present work, a retrospective analysis was carried out on the dogs that were indicated for a serological analysis of *Ehrlichia canis* together with a blood count. The results obtained showed that of the 468 dogs studied, 50.4 % were positive. No association was observed between sex, age or race. 60.5 % of the positive cases presented some hematological alteration, among the most frequent being anemia, leukocytosis and thrombocytopenia. The blood count is a valuable tool to help the clinician in the diagnosis and treatment of patients with *Ehrlichia canis*, since it often presents itself as a clinical challenge.

Keywords: (Ehrlichia), (serology), (blood count), (prevalence), (canine)

INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis monocítica canina es una enfermedad causada por *Ehrlichia canis* (*E. canis*) una bacteria intracelular de la familia Anaplasmataceae. Presenta una distribución mundial y es transmitida por las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (*R. sanguineus* s.l.). *Ehrlichia canis* fue descrita oficialmente, por primera vez en Argentina, en el 2013⁶. Hasta la fecha, se ha registrado en perros de numerosas ciudades y provincias^{1,3,8,15}.

La transmisión, en condiciones experimentales, ocurre entre las primeras 3 a 24 horas que esta prendida la garrapata^{7,19}. Además, puede existir transmisión por transfusiones sanguíneas sin control previo²¹. En el caso de *E. canis*, no hay reportes de transmisión transplacentaria como ocurre con *Anaplasma platys* o *Hepatozoon canis*^{16,18}.

La aparición de la enfermedad depende de múltiples factores, principalmente del inóculo recibido y de la inmunidad del hospedador⁴. El período de incubación es de aproximadamente de 8 a 20 días. La enfermedad se divide en tres fases: aguda, subclínica y crónica.

Los signos más frecuentes que pueden presentarse durante la infección aguda son: epistaxis, fiebre, linfadenopatía, depresión, anorexia, petequias, edema escrotal y signos neurológicos leves. Durante la fase crónica, los

signos más comunes incluyen epistaxis, palidez de mucosas, adelgazamiento, depresión, coagulopatía grave, petequias, dolor articular, cojeras, lesiones oculares (uveítis anterior y desprendimiento de retina) y signos neurológicos centrales o periféricos^{12,13}. El diagnóstico puede realizarse teniendo en cuenta la clínica del paciente, el laboratorio clínico y métodos específicos. La alteración hematológica asociada a *E. canis* con mayor frecuencia es la trombocitopenia. Otros hallazgos pueden ser anemia (regenerativa o arregenerativa), leucocitosis o leucopenia. La presencia de una pancitopenia marcada, puede ocurrir en la fase crónica, por una lesión de la médula ósea reversible o irreversible. En cuanto a la bioquímica sanguínea, el aumento de las transaminasas, hiperproteinemia (hipergammaglobulinemia policlonal o monoclonal) e hipoalbuminemia son los hallazgos más frecuentes²⁰.

El diagnóstico de laboratorio puede realizarse mediante la observación en un frotis de sangre, de mórulas intracitoplasmáticas en monocitos. Sin embargo, su reconocimiento representa un desafío, ya que, la bacteriemia en fase aguda es menor del 4 %, y en fase crónica menor del 1 %⁴. Sumado a esto, las mórulas, pueden ser fácilmente confundidas con infecciones debidas a otras especies o con artefactos durante la tinción microscópica.

El diagnóstico específico puede hacerse por técnicas serológicas (Inmunocromatografía, Inmunofluorescencia Indirecta o ELISA) y moleculares (amplificación de ADN).

El objetivo del presente trabajo fue reportar la seroprevalencia de *E. canis* junto con las alteraciones hematológicas halladas en pacientes de los departamentos Rosario, San Lorenzo, Constitución y Caseros de la provincia de Santa Fe, en el período 2017-2019.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó seleccionando los datos de pacientes del Hospital Escuela de Grandes y Pequeños Animales (HEGyPA) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, y de clínicas privadas, a través de la revisión de las historias de análisis clínicos de caninos sanos como parte de controles de rutina y de pacientes con diferentes signos clínicos. Los análisis de seroprevalencia, se realizaron por inmunocromatografía (IC), con el empleo de un reactivo comercial de la misma marca (SPEED®EHRLI immunochromatographic test). Esta técnica determina presencia de anticuerpos anti-*Ehrlichia*.

Los hallazgos hematológicos fueron obtenidos de los pacientes con hemogramas. Las

determinaciones comprendieron parámetros rutinarios: hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos, recuento plaquetario, hemoglobina, lectura de frotis (fórmula leucocitaria relativa y absoluta), por medio de un método manual.

Se realizó el análisis estadístico descriptivo de los datos y un análisis estadístico inferencial donde se aplicó test de independencia de atributos.

RESULTADOS

La base de datos con la que se trabajó cuenta con 468 perros pertenecientes a los departamentos Rosario, San Lorenzo, Constitución y Caseros de la provincia de Santa Fe, comprendido en el período 2017-2019. A los perros en estudio se les registro distintas variables de interés como: raza, sexo, edad, hematocrito (Hto), hemoglobina(Hb), recuento de glóbulos blancos, recuento de plaquetas, por mencionar las más importantes.

De los 468 perros estudiados, el 50,4 % (236) fue positivo a *Ehrlichia canis*. [IC_{p,95%}(45,9 %; 54,9 %)] (Gráfico 1). De la base canina en estudio, el 49 % (229) fueron machos, el 48 % (226) hembras y el 3 % (13) no fueron identificados (Gráfico 2).

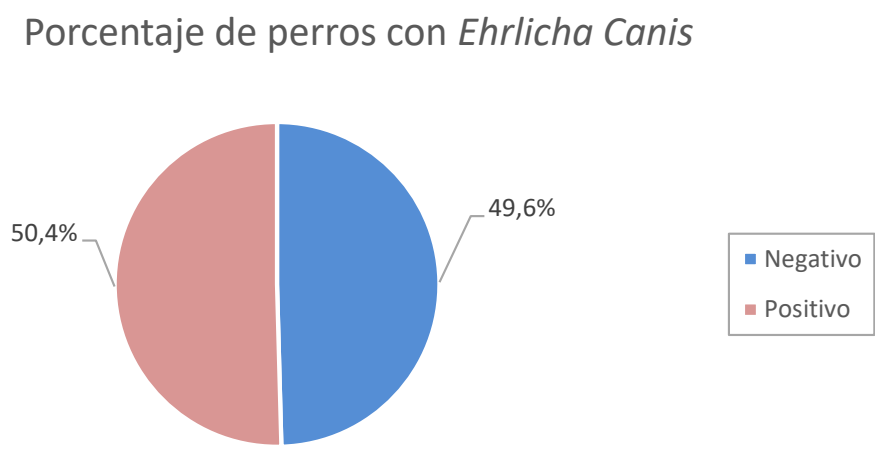


Gráfico 1. Porcentaje de perros con *Ehrlichia canis*

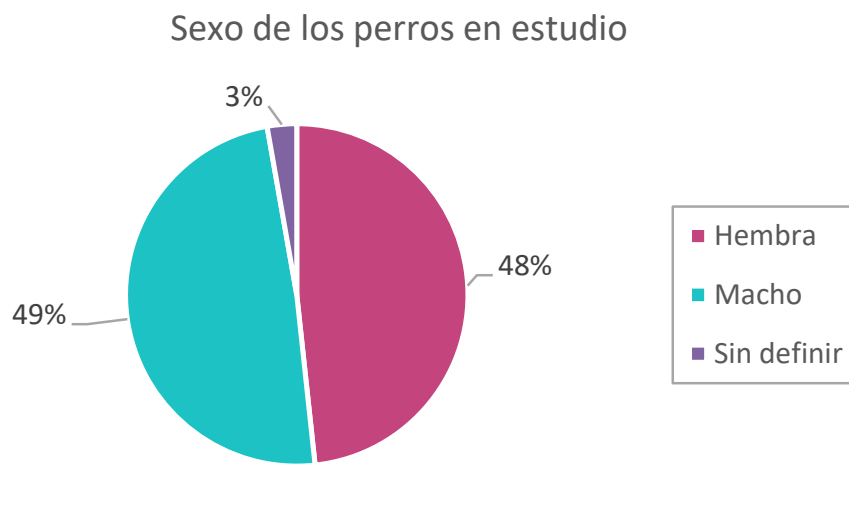


Gráfico 2. Sexo de los perros en estudio.

En cuanto a las razas, el 46,6 % (218) era indefinida o no estaba registrada. Dentro de los 250 perros que tenían la raza definida y registrada se encontraron más de 53 razas diferentes. Las razas que se presentaron con mayor frecuencia fueron: Greyhound (14,4 %), Golden Retriever (11,6 %), Poodle (8,4 %), Labrador (7,2 %), Boxer

(5,6 %) y Ovejero Alemán (4 %). (Gráfico 3). Sobre la variable edad, en el 34,6 % (162) no se conocía dicho dato. El 11,3 % tenía menos de 3 años de vida, el 20,3 % entre 3 y 6 años inclusive, el 24,1 % entre 7 y 10 años inclusive, el 9,2 % entre 11 y 14 años de edad inclusive y sólo el 0,5 % registro una edad de años o más (Gráfico 4).

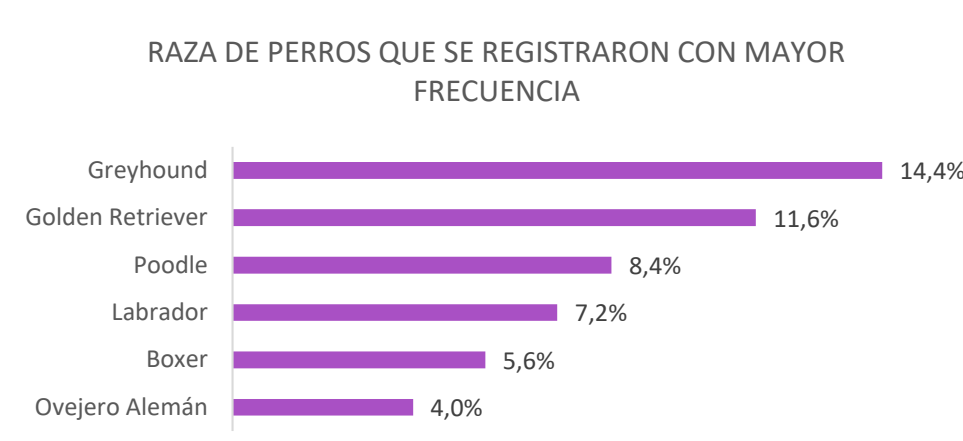


Gráfico 3. Porcentaje de razas de perros que se presentaron con mayor frecuencia en la base observada.

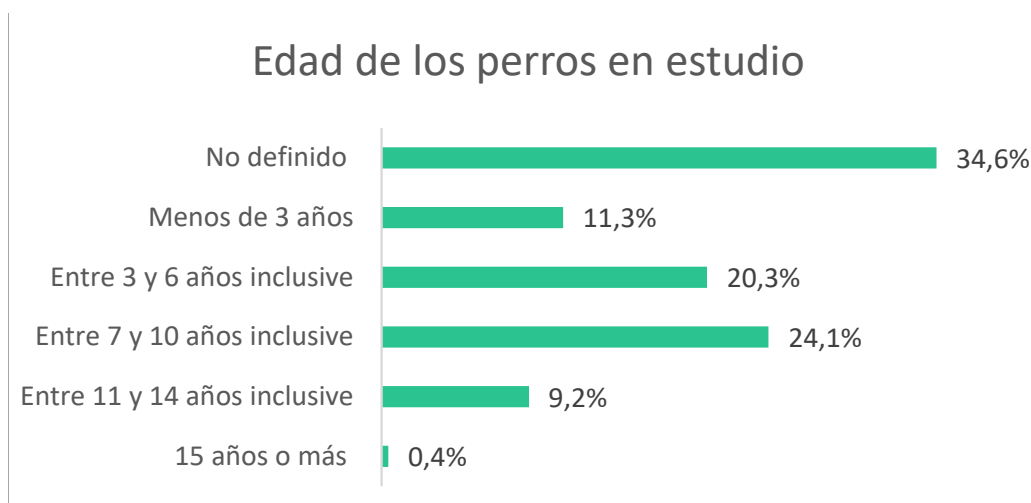


Gráfico 4. Edad de los perros en estudio.

A partir de los datos obtenidos se buscó determinar si había asociación entre la presencia de *Ehrlichia* con las variables sexo, edad y raza. Para esto, se realizaron tres test de hipótesis de independencia de dos atributos. Para la variable Edad (agrupada en 4 categorías) se obtuvo un p-valor de 0,25; para la variable Raza (Greyhound, Golden Retriever, Poodle, Labrador y Boxer) el p-valor encontrado fue de 0,42 y para la variable Sexo el p-valor encontrado fue de 0,24; con lo cual, todos los test resultaron no significativos, indicando independencia entre la presencia de *Ehrlichia* y cada una de las tres variables mencionadas.

Del total de los perros analizados, el 77,1 % (182) contaban con un estudio hematológico, de estos, el 60,5 % mostró cambios en el hemograma. El 36,2 % presentó anemia (de grados variables: de leves a severos). En cuanto a la serie blanca se observó leucocitosis en el 26,9 %, leucopenia en el 7,1 %, neutrofilia en el 28,5 %, neutropenia en el 2,7 %, linfocitosis en el 5,4 % y monocitosis en el 7,6 %. Las alteraciones plaquetarias fueron trombocitopenias (de grados variables) en el 21,4 %.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La Ehrlichiosis canina es una enfermedad transmitida por garrapatas que afecta a los perros en nuestro país. Este estudio

representa el primer reporte de seroprevalencia en la provincia de Santa Fe.

En un estudio realizado en Buenos Aires en el 2019, compararon pruebas serológicas por inmunocromatografía versus biología molecular (PCR), e informaron que la concordancia entre las pruebas evaluadas en la población total estudiada fue moderada, por lo tanto, concluyen que el uso de pruebas serológicas rápidas es una técnica adecuada como primera aproximación, junto con la posterior confirmación por PCR¹⁴.

Reportes previos de ehrlichiosis en Argentina han arrojado una prevalencia del 7 % en perros enfermos (diagnosticados por métodos moleculares) en la provincia de Buenos Aires, y una seroprevalencia del 46,6 % en perros de la provincia de Mendoza^{6,13,17}.

En este trabajo, se observó un alto porcentaje (50,4 %) de perros seropositivos a *E. canis* (236/468). Si bien la técnica utilizada detecta la presencia de anticuerpos contra esta especie, trabajos futuros serían necesarios para establecer la prevalencia de animales activamente infectados.

Es sabido que, los ensayos serológicos pueden dar resultados falsos positivos en animales que mantienen títulos detectables de anticuerpos posteriores a la recuperación de la infección o que han estado expuestos al agente^{2,9,11,22}. También hay que considerar que existen

reacciones cruzadas entre *E. canis* y otras cepas de *Ehrlichia* (que circulan en garrapatas de nuestro país), así como entre *E. canis* y *A. platys*, aunque en menor medida ^{5,10}.

Según este trabajo, de los perros seropositivos solo el 77,1 % mostró cambios hematológicos asociados a la enfermedad, el resto es probable que sean pacientes con anticuerpos persistentes sin infección activa.

La ehrlichiosis canina es una enfermedad que su diagnóstico puede resultar un desafío para el veterinario clínico; que deberá tener en cuenta, no solamente los métodos serológicos, como diagnóstico definitivo, ya que a la luz de los resultados no todos los pacientes seropositivos presentan alteraciones hematológicas o signos clínicos, lo que sugiere que puede haber falsos positivos o perros que desarrollen anticuerpos sin tener la enfermedad activa. En esos casos sería recomendable realizar un PCR para confirmar o descartar la presencia de la bacteria.

Por lo tanto, para un diagnóstico de certeza deben utilizarse múltiples estrategias que combinen la historia y el examen físico exhaustivo del paciente (signos clínicos), hallazgos hematológicos, estudios de serología y la PCR en forma conjunta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Borrás, P, Sanchez, J, Guillemi, E, *et al.* Detección de bacterias de los géneros Ehrlichia, Anaplasma y Rickettsia en garrapatas Rhipicephalus sanguineus s.l en Pergamino, Argentina. *Revista Argentina Salud Pública*, 2019; 10(41): 8-13.
2. Çetinkaya, Matur E, Akyazi H, Ekiz E, Aydin L, Toparlak M. Serological and molecular investigation of *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in ticks and blood of dogs, in the Thrace Region of Turkey. *Journal Ticks and Tick-borne Diseases*. 2016; 7(5): 706-714.
3. Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Nava S. Infection with Ehrlichia canis and Anaplasma platys (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. *Ticks Tick-Borne Dis*. 2015; 6: 724–729.
4. Day, M. Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd Edition. Ed CBC Press 2016.
5. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ, *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *J. Syst. Evol. Microbiol*. 2001; 51(6):2145-2165.
6. Eiras D, Craviotto M, Vezzani D, Eyal O, Baneth G. First description of natural Ehrlichia canis and Anaplasma platys infections in dogs from Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2013; 36(2):169-7.
7. Fourie J, Stanneck D, Luus H, Beugnet F, Wijnveld M, Jongejan F. Transmission of Ehrlichia canis by Rhipicephalus sanguineus ticks feeding on dogs and on artificial membranes. *Vet Parasitol*. 2013; 197(3-4):595-603.
8. Guendulain C; Tamiozzo P; Bessone A; *et al.* Detección molecular de Ehrlichia canis en perros de diferentes localidades de la provincia de Córdoba, Argentina. *Revista Ab Intus FAV-UNRC*. 2020; 7(4): 43-49.
9. Harrus S, Waner T, Keysary A, Aroch I, Voet H, Bark H. Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 1998; 62(1):15-27.
10. Harrus S, Waner T, Neer M. Ehrlichia canis infection. En Greene C (Ed.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th edition. Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri, 2012: 227-238.

11. Iqbal Z, Chaichanasiriwithaya W, Rikihisa Y. Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(7):1658-1662.
12. Little SE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2010. 40: 1121–1140.
13. Maggi R; Krärner F: A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. *Parasites Vectors.* 2019 12:145.
14. Martin P, De Salvo M, Cicuttin G, Arauz M. Canine monocytic ehrlichiosis in Buenos Aires, Argentina: comparison of serological and molecular assays. *Pesq. Vet. Bras.* 2019. 39(8):649-654.
15. Mascarelli, P.E., Tártara, G.P., Pereyra, N.B., Maggi, R.G.. Detection of *Mycoplasma haemocanis*, *Mycoplasma haematoparvum*, *Mycoplasma suis* and other vector-borne pathogens in dogs from Córdoba and Santa Fe, Argentina. *Parasites & Vectors*, 2016; 9(1):642.
16. Matei IA, Stuen S, Modrý D, Degan A, D'Amico G, Mihalca AD. Neonatal *Anaplasma platys* infection in puppies: Further evidence for possible vertical transmission. *Vet J.* 2017; 219 :40-41.
17. Mera y Sierra, R; Gattas, S; Logarzo, L; *et al.* Seropositividad a ehrlichiosis en perros de Mendoza, estacionalidad y tendencia de 2009-2019. *Revista Jornadas de Investigación – Universidad Maza.* 2019; 11: 59.
18. Murata T, Inoue M, Tateyama S, Taura Y, Nakama S. Vertical transmission of *Hepatozoon canis* in dogs. *J Vet Med Sci.* 1993;55(5):867-8.
19. Otranto D. Arthropod-borne pathogens of dogs and cats: From pathways and times of transmission to disease control. *Vet Parasitol.* 2018 15;251:68-77.
20. Sainz, A., Roura, X., Miro, G. *et al.* Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors* 2015; 8, 75.
21. Vascellari M, Ravagnan S, Carminato A, Cazzin S, Carli E, Da Rold G, Lucchese L, Natale A, Otranto D, Capelli G. Exposure to vector-borne pathogens in candidate blood donor and free-roaming dogs of northeast Italy. *Parasit Vectors.* 2016; 9(1):369.
22. Wen B, Rikihisa Y, Mott J, *et al.* Comparison of nested PCR with immunofluorescent-antibody assay for detection of *Ehrlichia canis* infection in dogs treated with doxycycline. *J. Clin. Microbiol.* 1997, 35. 1852-1855.