

Medición de la concordancia en el diagnóstico entre la prueba de Elisa y el cuadro hemático mediante un estudio paraclínico-epidemiológico de la *Ehrlichia canis*

Measuring agreement in diagnosis between the Elisa test and the hematology test by a paraclinical-epidemiological study of *Ehrlichia canis*

Henry González, M.Sc.^{1,3}, Juliana Loaiza, MSc.²

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

²Laboratorio Clínico Veterinario Bioanálisis, ASDESILLA, Sabaneta.

³Facultad Ciencias Administrativas y Agropecuarias, Corporación Universitaria Lasallista. AA 50130, Caldas, Antioquia Colombia

hghmvz@hotmail.com

Resumen

La *Ehrlichia canis* es el agente causal de la ehrlichiosis canina mononuclear y transmitida por la garrapata parda del perro o *Rhipicephalus sanguineus*, es común encontrarla en áreas tropicales y subtropicales. Esta enfermedad causa signos clínicos como fiebre, petequias, hepatoesplenomegalia, conjunto con cambios paraclínicos, como trombocitopenias, anemias, cambios al leucograma e hiperproteinemias, los cuales son muy significativos para los clínicos de mascotas. Debido a los pocos estudios en Colombia, se realiza esta investigación con el fin de determinar su prevalencia en el Valle de Aburrá y encontrar la asociación de la presencia del patógeno con los cambios paraclínicos (anemia, leucocitosis, leucopenia, trombocitopenia e hiperproteinemias) y la edad, raza y sexo. Se recolectan 1.046 registros de serologías para *E. canis* y hemogramas respectivos, realizados en un lapso de cinco años (febrero 2005-febrero 2009), de los laboratorios clínicos veterinarios. Se excluyeron aquellos registros que tenían diagnóstico para *E. canis* diferente a la serología de Elisa y registros que no tenían hemogramas respectivos. Mediante pruebas de asociación de ji-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% y valor de $p < 0,05$, se determina la asociación estadística que existe entre la presencia o ausencia de anemia, leucocitosis, leucopenia, trombocitosis, hiperproteinemia, edad, sexo y raza con la presencia de *Ehrlichia canis*. Se determina que la leucopenia, las razas Pinscher, Schnauzer y los pacientes con edades entre los rangos del nacimiento 1 año y entre los 7-15 años poseen una asociación estadística ($p \leq 0,05$) con la serología positivas de *E. canis*.

Palabras claves: caninos, ehrlichiosis, hemograma, prevalencia.

Abstract

Ehrlichia canis is the causal agent of canine monocytic Ehrlichiosis and is transmitted by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*), commonly found in tropical and subtropical regions. This disease causes clinical signs such as fever, petechiae, hepatoesplenomegalia, along with paraclinical changes as thrombocytopenia, anemia, hyperproteinemias and leukogram changes, which are very significant for clinicians. Because of the limited information on *Ehrlichia* in Colombia, a study was conducted to determine the prevalence of *E. canis* in dogs in the Aburrá Valley and its possible association with paraclinical changes, age, race and sex. A total of 1046 serological records for *E. canis* were collected and the respective blood counts made in a period of five years (February 2005 - February 2009) from veterinary clinical laboratories. Using a Chi-square tests with a 95% confidence level, we found that leukopenia, pinscher breeds, Schnauzer and patients with ages between the ranges of birth to one year and from 7 to 15 years have a statistical association ($p \leq 0.05$) with positive serology for *E. canis*. This results shows that paraclinical signs as thrombocytopenia, leukocytosis and anemia were significant signs to diagnose *Ehrlichia canis*. Clinicians should consider not only the presentation of clinical and paraclinical signs but also the use of serology to reach a proper diagnosis.

Keywords: canine, ehrlichiosis, hematology, prevalence.

Introducción

Ehrlichia canis es el agente causal de la ehrlichiosis canina mononuclear, y tiene amplia distribución mundial, principalmente en áreas tropicales y subtropicales. Su presencia ha sido demostrada mediante diferentes estudios por diagnóstico serológico por Elisa e inmunofluorescencia (IFA): en Brasil del 44,7% en pacientes caninos en áreas rurales (Martins Costa Jr., 2007) y de un 23% en una población de hospital (Trapp, 2006); en México del 44,1% (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2005); en Perú, España y los Estados Unidos del 42,3% en 2004 y del 49,3% en 2006 (Yabsley *et al.*, 2008); y en el Reino Unido del 0,37% (Gary *et al.*, 2006). Estudios con la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR, por su siglas en inglés) en España, Venezuela, Israel, Brasil han mostrado también su presencia (Carvalho *et al.*, 2008; Gary *et al.*, 2006; Aguirre *et al.*, 2004; Unver *et al.*, 2001) y presentaciones de casos reportados tanto en medicina humana como en medicina veterinaria (Pérez *et al.*, 2006; López, *et al.*, 2003; Unver, 2001; López *et al.*, 1999).

El vector transmisor de la *Ehrlichia canis* es la garrapata parda del perro o *Rhipicephalus sanguineus* (Danta-Torres, 2008; Greene, 2006; López *et al.*, 1999). En la consulta diaria veterinaria, esta tiene un presentación del 96%, y el 4% restante son de otros géneros de garrapatas, lo cual respalda lo que he observado en el plano profesional en los diferentes consultorios veterinarios del país. Así, nuestros pacientes están más expuestos al contacto con el patógeno, convirtiendo a la *R. sanguineus* en un factor de riesgo en el desarrollo de la enfermedad (Hoyos, 2007; Martins Costa Jr., 2007; Trapp *et al.*, 2006; Cohn, 2003).

La ehrlichiosis canina mononuclear es una enfermedad que causa en los pacientes signos en el hemoleucograma, como anemia, leucopenia o leucocitosis en sus fases agudas; hiperglobulinemia y trombocitopenia en la fase subclínica; y en las fases crónicas puede llevar a cuadros de pancitopenias marcadas. Esta es una enfermedad con una falta de evidencia científica local y nacional de presentación de casos o de asilamiento del patógeno, pero con una amplia evidencia clínica no publicada para conocimiento de los consultorios veterinarios de la ciudad y del país, que nos obliga a trabajar con resultados de ensayos realizados en condiciones distintas a las presentadas en nuestro país. Se busca mostrar datos reales y propios de la exposición de nuestros pacientes caninos al antígeno (Greene, 2006; Simon, 2008).

Este estudio pretende demostrar la concordancia que existe entre los cambios hematológicos más significativos de la enfermedad, como trombocitopenia, anemia, leucopenia, leucocitosis e hiperproteïnemia, los cuales son inespecíficos de la presentación de la enfermedad, con la técnica Elisa que es usada para detectar anticuerpos contra el patógeno con una especificidad del 99%, que es la usada en los laboratorios clínicos veterinarios de la zona de estudio, y de esta manera mostrar que la hematología es una herramienta útil y económica que nos podría acercar a un diagnóstico de la enfermedad (Hoyos *et al.*, 2008).

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, retrospectivo, transversal, se recolectaron 1.046 registros de serologías tanto positivas (reaccionan y la presencia de anticuerpos a *E. canis*) como negativas (no reaccionan), con su respectivo hemograma del mismo paciente, en los diferentes laboratorios clínicos veterinarios del Valle de Aburrá, que fueron realizados en un lapso de cinco años (febrero 2005-febrero 2009). El hemograma debería incluir los valores de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, conteo general de leucocitos, conteo de plaquetas y proteínas totales, junto con los datos anamnésticos, como especie, edad, sexo y raza del paciente.

Se excluyeron aquellos registros en los que el diagnóstico de *E. canis* fue realizado por un método distinto a la serología por Elisa y los hemogramas en los que no tuvieran completos los conteos anteriormente mencionados.

Métodos

Se visitaron diferentes laboratorios clínicos veterinarios y algunos centros veterinarios del Valle de Aburrá para recolectar los datos por medio de un formato creado por los investigadores, que incluía el valor de la serología (positiva o negativa) junto con los valores al cuadro hemático (hematocrito, hemoglobina, recuento de eritrocitos, recuento de leucocitos, recuento de plaquetas, proteínas totales), los cuales fueron tabulados mediante el programa EXCEL® de forma tal que se mostraba la ausencia o la presencia de los signos. La edad, el sexo y la raza se codificaron en el momento de la tabulación para facilitar su estudio.

La determinación de la serorreactividad se tomó por la relación entre el número de serologías positivas con el total de los resultados recolectados por 100.

Se relacionaron todas las variables (edad, sexo, raza, cambios al cuadro hemático) con las serologías de *Ehrlichia canis* positivas y por medio de un análisis multivariado con chi-cuadrado para la elaboración de gráficas sobre los datos y promedio de estos, tomando un intervalo de confianza del 95%, $p \leq 0,05$, error del muestreo del 5%.

Resultados

Se encontraron 479 serologías positivas y 567 negativas para una serorreactividad del 45,8% en pacientes caninos.

De los 479 registros positivos, observamos que el 40,29% (193) fueron hembras y el 59,71% (286) restantes fueron machos (Figura 1).

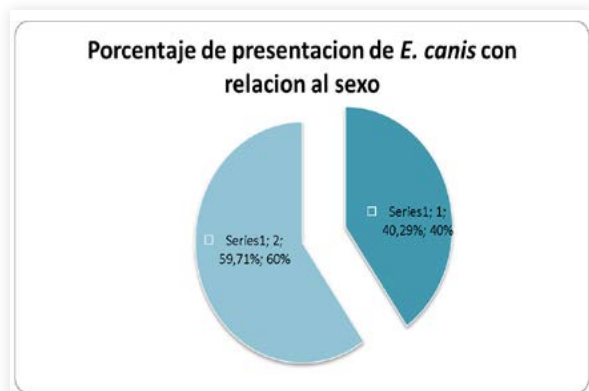


Figura 1. Comparación de la presentación de la *Ehrlichia canis* con relación al sexo.

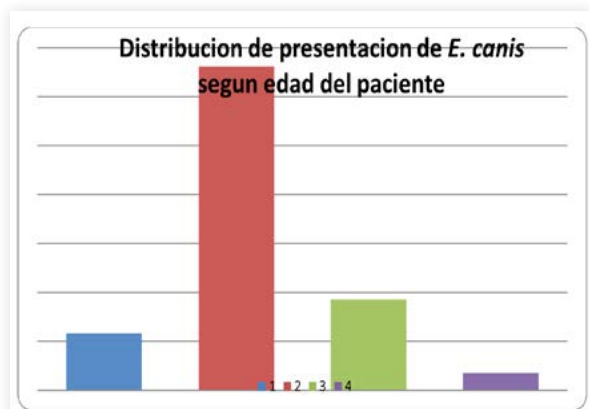


Figura 2. Presentación de *Ehrlichia canis* con relación a la edad del paciente.

Los rangos de edad que presentaron, en mayor proporción, una serología de *E. canis* positivo, fue el rango de edad 2-7 años 66,18% (317), seguido por el rango de 7-15 años 18,58% (89), del nacimiento a 1 año 11,69% (56) y pacientes mayores de 15 años 3,55% (17) (Figura 2).

Observamos que los rangos de edad asociados estadísticamente con la presencia de *E. canis* son: del nacimiento-1 año y 7-15 años con valores de ji-cuadrado $\geq 3,84$ y con valores de $p \leq 0,05$ (Tabla 1).

Tabla 1. Asociación estadística de la edad con la presentación de *E. canis* en pacientes caninos en el Valle de Aburrá (febrero 2005-febrero 2009)

Rango	Código	Ji-cuadrado	Valor de p
Nacimiento-1 año	1	25.4722	4,49E-07
1-7 años	2	0,011229	0,9156
7-15 años	3	43.3398	4,60E-11
>15 años	4	0,03065	0,86

Las razas de mayor población dentro del estudio fueron: Poodle 36,08% (171), Mestizo 14,56% (69), Pastor Alemán 9,49% (45), Schnauzer 7,81% (37), Golden Retriever y Pinscher 4,64% (22) y Labrador Retriever 3,38% (16) (Figura 3).

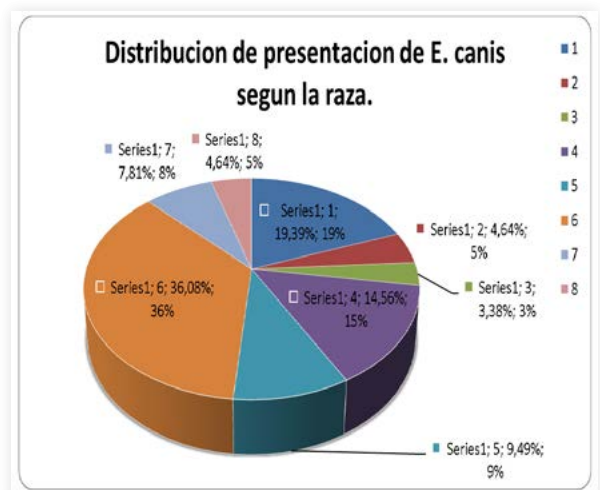


Figura 3. Distribución de presentación de *Ehrlichia canis* con relación a la raza del paciente.

Observamos que las razas que se encuentran estadísticamente asociadas a la presentación de *Ehrlichia canis* son el Pinscher, Schnauzer y el Labrador Retriever con un valor de ji-cuadrado $\geq 3,84$ y valor de $p \leq 0,05$ (Tabla 2).

La única variable en el cuadro hemático que mostró asociación con la presentación de *Ehrlichia canis* es la presencia de leucopenia, con valores de $p \leq 0,05$ (Tabla 3).

Tabla 2. Asociación estadística entre la serología positiva de *E. canis* con la raza en el Valle de Aburrá (febrero 2005-febrero 2009)

Razas	Porcentaje	Código	Ji cuadrado	Valor de p
Otras	19,39%	1		
Golden Retriever	4,64%	2	0,00457	0,94
Labrador Retriever	3,38%	3	3,6848	0,0549
Mestizo	14,56%	4	0,4429	0,537
Pastor Alemán	9,49%	5	1,2889	0,25626
Poodle	36,08%	6	3,217	0,0728
Schnauzer	7,81%	7	6,6915	0,009687
Pinscher	4,64%	8	10,7256	0,001057

Discusión

Es el primer estudio que se realiza en el sector del Valle de Aburrá de la presentación de *Ehrlichia canis* en caninos, y se observa una alta serorreactividad del patógeno (45,8%), que concuerda con lo observado por Yabsley *et al.* (2008), Martins Costa Jr. (2007), Rodríguez-Vivas *et al.* (2005), que se puede asociar a que el Valle de Aburrá se encuentra en una zona tropical, que es un factor de riesgo para la presentación del vector transmisor de la ehrlichiosis canina mononuclear (Danta-Torres, 2008; Greene, 2006; López *et al.*, 1999).

Tabla 3. Asociación estadística de los cambios al cuadro hemático con la presencia de *Ehrlichia canis* en el Valle de Aburrá (febrero 2005-febrero 2009)

Variable	Ji-cuadrado	Intervalo de confianza	Valor de p
Anemia	0,7483	0,0725-1,166	0,38
Leucocitosis	0,0383	0,7498-1,422	0,84487
Leucopenia	132,7334	0,1647-0,2782	1,04E-30
Trombocitopenia	0,8168	0,7914-1,886	0,8168
Hiperproteíнемia	0,71	0,8606-1,454	0,40244

La *Ehrlichia canis* causa en el paciente cambios al hemograma, como trombocitopenias (Ettinger, 2006; Greene, 2006), anemias (Hoyos *et al.*, 2007; Ettinger, 2006; Greene, 2006) y cambios al leucograma,

como leucocitosis y leucopenias (Ettinger, 2006; Greene, 2006), pero el presente estudio mostró que, contrario a lo que afirma Hoyos *et al.* (2007), no se observa asociación entre la presentación de signos, como trombocitopenia, anemia, leucocitosis e hiperproteíнемia, pero sí una asociación con la presencia de leucopenias (Hoyos *et al.*, 2007), quizás debido a una neutropenia de respuesta del paciente contra la *Ehrlichia canis*.

Los pacientes menores de 1 año presentan un factor de riesgo para el desarrollo de la ehrlichiosis canina mononuclear. El presente estudio ha mostrado que el rango de edad nacimiento-1 año presenta asociación que concuerda con lo observado por Trapp *et al.* (2008) en su estudio; el rango de edad 7-15 años presentó una asociación estadística significativa $p \leq 0,05$ que difiere de lo observado por Trapp *et al.* (2008).

Aunque algunos autores muestran que no existe asociación entre razas (Trapp *et al.*, 2008; Hoyos *et al.*, 2007), se observó que razas, como el Pinscher, Schnauzer, Labrador Retriever, presentan significancia estadística $p \leq 0,05$, que muestran una predisposición racial a desarrollar ehrlichiosis canina mononuclear, por lo cual se sugieren estudios para determinar la causa de su predisposición.

En conclusión, observamos que el Valle de Aburrá tiene una alta presentación de la *Ehrlichia canis* y que la prueba de Elisa es una herramienta útil que se encuentra a la mano del clínico de pequeñas especies. Se sugieren nuevos estudios en los que se tomen como objeto de estudio la clasificación de las anemias y trombocitopenias (leve-moderada-severa) y estudios en los que se demuestre por medio de aislamiento por PCR de la *ehrlichia canis* en este sector.

El presente estudio sirve de referencia para los clínicos de caninos para tomar medidas con respecto a la enfermedad como profilaxis y capacitación cuanto al comportamiento y tratamiento de la *E. canis*.

Agradecimientos

Agradecemos a los laboratorios clínicos veterinarios: Bioanálisis, de la Universidad de Antioquia, Veterlab, Petlab, a mis compañeros de la especialización clínica y a mi madre, por su enorme apoyo.

Referencias

- Carvalho, F.S, Wenceslau, A.A., Albuquerque, G.R., 2008. Epidemiological and molecular study of *Ehrlichia canis* in dogs in Bahia, Brazil. *Genetic Molecular Research* 7, 657-662.
- Ettienger, S.J., Feldman, E.C., 2007. Tratado de medicina interna veterinaria. 2007 Sixth edition. Elsevier. pp. 1400-1410.
- Gary, A.T., Webb, J.A, Hegarty, B.C., Breitschwerdt, E.B., 2006. The low seroprevalence of thick-transmitted agents of disease in dogs from Southern Ontario and Quebec. *Canadian Veterinary Journal* 47, 1194-1200.
- Greene, C.E., 2006. Infectious diseases of the dog and cat. Third edition. Elsevier.
- Hoyos, L., Li, O., Alvarado, A., Suárez, F., Díaz, D., (2008). Evaluación del examen hematológico en el diagnóstico de Ehrlichiosis canina. *Revista Investigacion Veterinaria Perú* 18, 129-135.
- Martins Costa Jr., L, Rembeck, K., Barbosa, M.F., Beelitz, P., Pfister, K., Friche, L.M., 2007. Sero-prevalencia and risk indicator from canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazilian Veterinary Journal 174, 673-676.
- Pérez, M., Bodor, M., Zhang, Ch., Xiong, Q., Rikihisa, Y., 1996. Human infección with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. *Annals New York Academy Science* 1078, 110-117.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Albornoz, R.E., Bolio, G.M., 2005. Ehrlichia canis in dogs in Yucatan, Mexico: Seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology* 127, 75-79.
- Trapp, S.M., Dagnone, A.S., Vidotto, O., Freire, R.L., Amude, A.M., Autran de Moraes, H.S., 2006. Seroepidemiology of canine babesiosis and Ehrlichiosis in a hospital population. *Veterinary Parasitology* 140, 223-230.
- Yabsley, M.J., McKibben, J., Macpherson, C.N., Cattán, P.F., Cherry, N.A., Hegarty, B.C., 2008. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. *Veterinary Parasitology* 151, 279-285.