

Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y su relación con algunos parámetros clínicos y hematológicos en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué (Colombia)

Relationship between seroprevalence of *Ehrlichia canis* and some clinical and hematologic parameters in dogs admitted to veterinary clinics of Ibagué (Colombia)

Hermógenes Salazar, MVZ¹; Edwin F. Buriticá, MSc²; Diego F. Echeverry, PhD²; Irma X Barbosa, PhD².

Resumen

La ehrlichiosis canina es una enfermedad de distribución mundial, transmitida por una rickettsia intracelular obligada, denominada *Ehrlichia canis* y propagada por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*. Esta enfermedad causa múltiples manifestaciones clínicas en los animales sintomáticos y su diagnóstico puede ser un desafío para el clínico. Con el fin de determinar la seroprevalencia y los hallazgos clínicos y hematológicos asociados a la presencia *Ehrlichia canis* en pacientes caninos de la ciudad de Ibagué, Tolima (Colombia), fueron evaluados 398 caninos provenientes de diferentes clínicas veterinarias de esta ciudad. Los perros fueron examinados clínicamente y muestreados para la identificación serológica de anticuerpos para *E. canis*, empleando un test de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se observó una seroprevalencia del 31,66% (126/398). Los principales hallazgos clínicos encontrados en los animales seropositivos fueron esplenomegalia 4,8% (6/126) y fiebre 4,0% (5/126). No se evidenció asociación significativa con relación al sexo, raza, grupo étnico o valores hematológicos. Se concluye que la existencia de sero-reactividad a *E. canis* en la ciudad de Ibagué supone un riesgo de enfermedad clínica en los caninos domésticos y su presencia podría estar asociada a hemoparásitos coexistentes.

Palabras clave: garrapatas, hemoparásitos, inmunofluorescencia indirecta, perro

Abstract

Canine ehrlichiosis is a worldwide disease, transmitted by obligate intracellular rickettsia *Ehrlichia canis* and transmitted by the tick *Rhipicephalus sanguineus*. It causes multiple clinical manifestations in symptomatic animals and their diagnosis can be challenging for clinicians. With the aim to determine the seroprevalence and clinical and hematological findings associated with the presence *Ehrlichia canis* in canine patients in Ibagué, Tolima (Colombia), 398 dogs were evaluated from different veterinary clinics in this city. The dogs were clinically examined and sampled for the serological identification of antibodies to *E. canis* using an indirect immunofluorescence test (IFA). Seroprevalence was 31,66% (126/398). The main clinical and hematologic finding were splenomegaly 4,8% (6/126) and fever. There was no evidence of association regarding breed, sex or age. We conclude that the presence of sero-reactivity to *E. canis* in the Ibagué city is a risk of clinical disease in domestic dogs and their presence may be associated with coexisting hemoparasites.

Key words: Hemoparasite, dogs, indirect immunofluorescence, ticks

¹Profesional Universitario, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Ibagué-Tolima. ² Grupo de investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales de la Universidad del Tolima.

Recibido para publicación: Julio 23, 2014; Aceptado para publicación: Octubre 01, 2014.

Este trabajo fue financiado por el Comité de Investigaciones de la Universidad del Tolima.

Cómo citar este artículo: Salazar H, Buriticá EF, Echeverry DF, Barbosa I. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y su relación con algunos parámetros clínicos y hematológicos en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué (Colombia). Revista Colombiana de Ciencia Animal 2014, 7: 56-63

Autor de correspondencia: Doctor Edwin F. Buriticá, Grupo de investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Tel. 3164114515. Correo electrónico: efburiticag@ut.edu.co

Copyright © 2014 por Revista Colombiana de Ciencia Animal, Universidad del Tolima

La enfermedad es transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* y causada por la bacteria *Ehrlichia canis* (Manna *et al.*, 2004; Torres y De la Fuente, 2006; Yu *et al.*, 2007). Esta bacteria intracelular obligatoria infecta las células hematopoyéticas especialmente las del sistema fagocitario mononuclear (Castro *et al.*, 2004).

La Ehrlichiosis monocítica canina es una enfermedad potencialmente fatal de distribución mundial que afecta al perro.

La primera descripción de esta enfermedad fue realizada en un perro pastor alemán localizado en Argelia en el año de 1935. En Sur América, su

presencia ha sido descrita en Brasil (Carvalho *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2011), Perú (Adrianzen *et al.*, 2003) y Colombia (Silva-Molano *et al.*, 2008) entre otros países.

La Ehrlichiosis canina es considerada una enfermedad multisistémica de sintomatología inespecífica que presenta un periodo de incubación que puede ir de 9 a 14 días (Castro *et al.*, 2004). Se reconocen tres formas de la enfermedad: aguda, subclínica y crónica, las cuales no siempre son posibles de identificar clínicamente debido a la superposición de los síntomas. Los signos clínicos presentados durante la forma aguda se caracterizan por fiebre, depresión, uveítis, linfadenomegalia, esplenomegalia, coagulopatías y manifestaciones neurológicas como convulsiones (Souza *et al.*, 2010; Procajlo *et al.*, 2011). La forma crónica se caracteriza por un cuadro más grave de los mismos signos de la forma aguda. Las alteraciones hematológicas más comunes son la trombocitopenia, anemia moderada y leucopenia (Das y Konar, 2013). Existe predilección por la raza pastor alemán aunque puede afectar a cualquier raza, no existe predilección por sexo o edad (Harrus y Waner, 2011).

En nuestro medio el diagnóstico de esta enfermedad se basa en los hallazgos clínicos, paraclínicos y citológicos. Tradicionalmente la prueba “gold standard,” para su diagnóstico, es la detección de inmunoglobulina G (IgG), mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, (IFI) presentándose seroconversión en la mayoría de animales a los 28 días (Harrus y Waner, 2011). Títulos $\geq 1:40$ son considerados positivos a exposición por *E. canis*. La presencia de anticuerpos contra *Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum*, pueden producir reacción cruzada con *E. canis* y complicar el diagnóstico serológico. No se genera reacción cruzada entre *E. canis* y *A. platys*. Adicionalmente se emplean otras técnicas diagnósticas como ELISA, PCR, Dot-Blot, Western blot, (O’connor *et al.*, 2006; Little, 2010; Harrus y Waner, 2011).

Debido a la presencia de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* en la ciudad de Ibagué, el reporte frecuente por parte de médicos veterinarios locales sobre cuadros clínicos compatibles con Ehrlichiosis canina como fiebre, trombocitopenia, depresión y epistaxis, aunado a la inexistencia de estudios epidemiológicos que permitieran conocer la situación real de *E. canis* en la población canina de Ibagué, se consideró necesario evaluar la presencia de *Ehrlichia canis* en los perros de esta ciudad. El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de *E. canis* en caninos admitidos

en clínicas veterinarias de esta ciudad y evaluar la posible relación entre los animales seropositivos con los hallazgos clínicos y hematológicos encontrados.

Materiales y métodos:

Ubicación:

El estudio se realizó en la ciudad de Ibagué, departamento del Tolima, Colombia a 4°26’20’’ latitud norte y 75°13’55’’ longitud oeste a 1.286 m.s.n.m., temperatura promedio de 24°C, humedad relativa de 73,7%. El municipio tiene una población humana de 498.401 habitantes (DANE 2006-2007) con un **área urbana organizada** en trece comunas y un número estimado de población canina de 42.000 animales.

Individuos experimentales:

El tamaño de la muestra fue calculado mediante el programa Win Episcopy para el estudio de proporciones con una prevalencia de 50%, un nivel de confianza de 95% y un error máximo permisible del 5%. Para este estudio, se evaluaron 398 muestras de suero sanguíneo de caninos, las cuales fueron obtenidas mediante muestreo por conveniencia de 8 centros médicos veterinarios de la ciudad. Se obtuvieron muestras de las 13 comunas en las que se divide la ciudad de Ibagué (tabla 1). Para la selección de los sueros estudiados no se tuvo en cuenta el motivo de consulta, el cuadro clínico presentado o el diagnóstico presuntivo, el sexo, la edad o la raza de los animales muestreados. La información general relacionada con la historia clínica, el examen físico general, sexo, edad, presencia de garrapatas y los resultados de la evaluación hematológica de cada uno de los perros fue registrada para establecer variables susceptibles de análisis de asociación con la sero-reactividad mayor a 1:50 para *E. canis* (tablas 2 y 3).

Toma de muestras:

Durante los meses de enero a diciembre del año 2008, se colectaron muestras de sangre en tubos sin anticoagulante, mediante punción aséptica de la vena cefálica. Posterior a la retracción del coágulo, la muestra se centrifugó durante 8 minutos a 2500 rpm en una centrifuga estándar (SIGMA®). Se realizó la separación estéril del suero y el empaquetado del mismo en viales (2 ml), posteriormente estos sueros fueron refrigerados a -21C° en un congelador de plasma (IDREL Scientific CPS-10-d) hasta el

momento de la evaluación serológica donde estas muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y homogenizadas por agitación.

Estudio serológico: El kit IFI para IgG específica contra *E. canis* fue usado para la detección y semicuantificación de IgG. La placa sustrato estaba compuesta de una mascarilla de teflón, a la cual estaban fijados macrófagos caninos DH82 infectados con *E. canis* y sujetas en láminas de inmunofluorescencia, según técnica descrita por Ristic *et al.*, (1972). Las reacciones resultantes fueron observadas con un microscopio de fluorescencia

con filtro FITC de máxima excitación de longitud de onda (530 nm y 400X), una reacción positiva (títulos superiores a 1:50) fue observada como una mancha puntual de color verde manzana, que recubría las mórulas en el 20% o 30% del citoplasma de las células monocíticas, que se observaron de color rojo pálido. Una reacción negativa fue observada como un campo de color rojo pálido parejo o con una fluorescencia diferente a la reacción del control positivo (figura 1). Las muestras positivas fueron montadas por duplicado o diluidas para determinar alta reactividad o punto final de disolución.

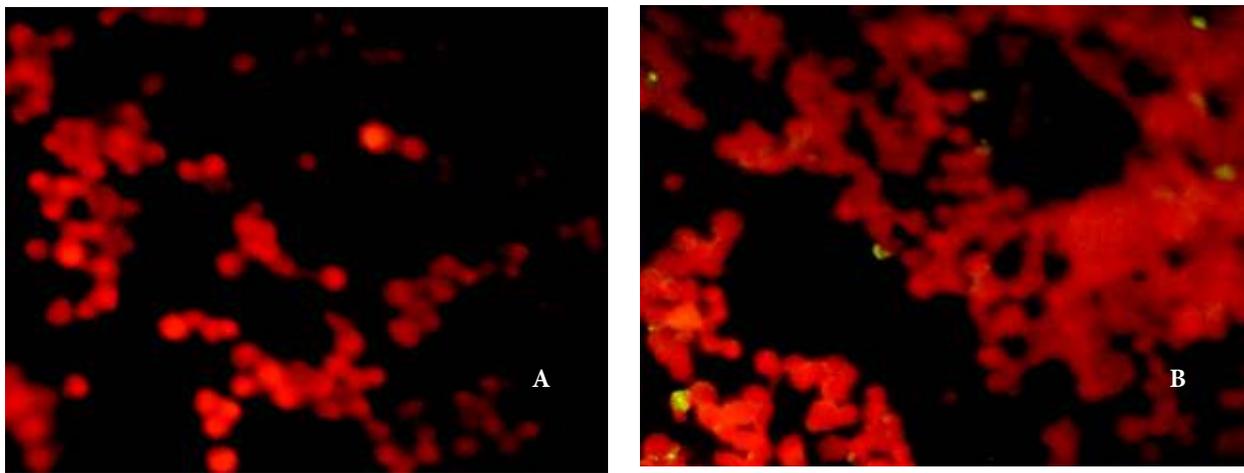


Figura 1. Inmunofluorescencia indirecta para *E. canis* en sangre. **A**, reacción negativa IFI 400X. **B**, reacción positiva de las mórulas de *E. canis* a un anticuerpo marcado con FITC.

Estudio hematológico:

De manera aséptica se obtuvieron muestras de sangre tomadas de la vena safena, las cuales fueron depositadas en tubos con anticoagulante para determinación del hematocrito y recuento celular, mediante la técnica descrita por Benjamín (1979). La observación microscópica se realizó en un microscopio Leica (DM 500).

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos fueron tabulados y examinados mediante análisis estadístico descriptivo. La asociación entre la sero-reactividad para *E. canis* (títulos >1:50) con diversas condiciones generales y diversos parámetros clínicos y hematológicos, se llevó a cabo mediante el test de Chi-cuadrado (X^2) o el test exacto de Fisher. La razón de probabilidades se

calculó mediante la prueba OR en el programa Epi-Info (Versión 3.3.2), arrojando un nivel de confianza de 95% y un error del 5%.

Resultados

La seropositividad para *E. canis* en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué fue de 31.66% (126/398). La presencia o no de garrapatas en los perros durante los últimos 6 meses no se asoció con la presencia o ausencia de títulos a *E. canis* (OR = 0,9832 IC=0,4988 - 1,9381 $p \leq 0,05$). No se presentó una asociación significativa ($p \geq 0,05$) entre el resultado seropositivo a *E. canis* y las variables sexo, raza o grupo étnico (Tabla 2). Los perros mestizos (148/398) representaron el 37.2% de la población de estudio y los fenotípicamente puros (250/398) constituyeron el 62.8%, con la siguiente distribución por razas: Poodle

(56), Labrador (55), Bulldog Inglés (3), Cocker Spaniel (13), Pastor Alemán (11), Schnauzer (11), Fila Brasileiro (8), Yorkshire Terrier (6), Pitbull (8), Beagle (6), Golden Retriever (6), Rottweiler (6), Pinscher (5), Sharpei (5), Bóxer (5), Weimaraner (5), Shih Tzu (4), Pastor Collie (5), Basset Hound (3), Pug (3), Bullmastif (3), Dalmata (3), Bull Terrier (2), Pomerania (2), Springer Spaniel (2), Chow Chow (2); y Fox Terrier, Husky de Siberia, Jack Russell Terrier, Pastor Belga, Samoyedo, Pastor de Shetland, Rhodesian Ridgeback y San Bernardo con un ejemplar cada uno (tabla 1). Los animales mestizos presentaron una mayor sero-reactividad a *E. canis* con 12,3 % (49/398) y entre las razas fenotípicamente puras el Labrador retriever fue el más frecuentemente afectado con 6% (24/398).

Tabla 1. Distribución de animales positivos a la prueba IFI ($\geq 1:50$) para *E. canis* en la ciudad de Ibagué, Colombia.

Comuna	Perros (%)		
	Muestreados	Positivos	($p \leq 0.05$)
1	32	11 (34.4)	
2	17	5 (29.4)	
3	24	7 (29.2)	
4	52	10 (19.2)	
5	11	4 (36.4)	
6	21	5 (23.8)	
7	9	4 (44.4)	
8	28	11 (39.3)	
9	62	18 (29.0)	
10	66	21 (31.8)	
11	4	3 (75.0)	
12	16	6 (37.5)	
13	56	21 (37.5)	N.S.

El signo clínico más asociado a la sero-reactividad de *E. canis* fue esplenomegalia en el 4.8% (6/126 seropositivos), seguido por la fiebre en el 4.0% (5/126 seropositivos), otros hallazgos clínicos observados en los animales seropositivos se encuentran descritos en la tabla 2. En este estudio los animales esplenomegálicos y febriles tuvieron una mayor probabilidad de ser seropositivos a *E. canis* (OR=6,3360 IC=1,2609-31,8382 y OR=3,8590 IC=1,5757-9,4511 $p \leq 0.05$ respectivamente). Los datos de estimación de Odds Ratio para sero-reactividad de *E. canis* en relación a las diversas variables se encuentra contenida en la tabla 3. El 4,8% (6/126) de los animales estudiados fueron seropositivos a *E. canis*, pero asintomáticos.

Tabla 2. Frecuencia de caninos según sexo, grupo etéreo y raza seropositivos a la prueba IFI ($\geq 1:50$) para *E. canis* en la ciudad de Ibagué, Colombia.

Variable	Perros (%)	
	Muestreados	Positivos ($p \leq 0.05$)
Machos	220	65 (29.5)
Hembras	178	61 (34.3) N.S.
Cachorros	149	52 (34.9)
Adultos	249	74 (29.7) N.S.
Mestizos	148	49 (33.1)
Razas fenotípicamente puras	250	77 (30.8) N.S.

Tabla 3. Factores de riesgo para *E. canis* ($p \leq 0.05$) en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué, Colombia.

VARIABLE	OR	-IC95%	+IC95%	p
<i>Presencia de vectores</i>				
GARRAPATAS	0,9832	0,4988	1,9381	N.S.
<i>Valores hematológicos</i>				
ANEMIA	1,3611	0,8840	2,0959	N.S.
LEUCOCITOSIS	0,6558	0,2862	1,5026	N.S.
LEUCOPENIA	1,4079	0,8455	2,3443	N.S.
NEUTOFILIA	0,8184	0,4453	1,5041	N.S.
NEUTROPENIA	1,2675	0,6666	2,4103	N.S.
MONOCITOSIS	2,5992	0,6861	9,8461	N.S.
MONOCITOPENIA	1,0447	0,6869	1,5887	N.S.
LINFOCITOSIS	0,6693	0,1781	2,5148	N.S.
LINFOPENIA	0,9169	0,5797	1,4501	N.S.
EOSINOFILIA	4,1587	0,7517	23,0086	N.S.
EOSINOPENIA	1,0171	0,6369	1,6241	N.S.
TROMBOCITOSIS	0,9933	0,5786	1,7053	N.S.
TROMBOCITOPENIA	0,6956	0,4306	1,1238	N.S.
<i>Hallazgos clínicos</i>				
TAQUIPNEA	0,8095	0,3830	1,7111	N.S.
FIEBRE	3,8590	1,5757	9,4511	*
OCULOPATIA	1,7220	0,4542	6,5295	N.S.
ESPLENOMEGALIA	6,3360	1,2609	31,8382	*
<i>Caracterización general</i>				
MACHO	0,8095	0,5319	1,2321	N.S.
HEMBRA	1,2353	0,8116	1,8802	N.S.
JOVEN	0,6508	0,3682	1,1504	N.S.
ADULTO	1,3384	0,7838	2,2853	N.S.
GERONTE	2,0625	0,2872	14,8093	N.S.
RAZA	1,3154	0,7883	2,1950	N.S.

Discusión

Este estudio evaluó la exposición de caninos de la ciudad de Ibagué a *E. canis* y la correlación entre los animales seropositivos con algunos hallazgos clínicos y hematológicos. Los resultados de la investigación determinaron una seroprevalencia de *Ehrlichia canis* del 31,66% en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué. Sin embargo, la presencia de anticuerpos contra otros microorganismos como *Ehrlichia ewingii* o *Anaplasma phagocytophilum*, podrían producir reacción cruzada con *E. canis* y sobreestimar los resultados de prevalencia observados en el presente análisis, planteando la necesidad de realizar estudios con técnicas moleculares que permitan una identificación más exacta del tipo de microorganismo implicado.

En Colombia existen pocos estudios publicados relacionados con *E. canis*, los resultados de estos son variables, dependientes de la técnica de identificación empleada y del riesgo de infección de la población evaluada. Algunas de estas técnicas fueron: frotis sanguíneo y gota gruesa (Espitia, 2000), ELISA (Parrado *et al.*, 2003), inmunofluorescencia indirecta y reacción en cadena de la polimerasa (Vargas-Hernández *et al.*, 2012), las cuales han evidenciado la identificación del hemoparásito en el 0,0% (0/200), 92,9% (26/30), 82,4% (75/91) y 40,6% (37/91) de los casos respectivamente. Pese al conocimiento de los autores no existe evidencia científica publicada que permita dimensionar la prevalencia regional de *E. canis*, mediante la técnica de IFI en alguna ciudad colombiana.

La garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, es el principal vector de la Ehrlichiosis canina, sin embargo, se ha reportado que el género *Amblyomma* spp también se relaciona como vector de *E. canis* (Magela *et al.*, 2005). *R. sanguineus* es una de las especies más comunes en los animales domésticos de la ciudad de Ibagué (Osorio, 2013) y si bien es cierto, existen pocas publicaciones que permitan esclarecer la distribución de artrópodos parásitos en la región, se puede afirmar que las diversas condiciones medioambientales de la zona como patrón de lluvias bimodal o clima templado a cálido, favorecen el ciclo biológico de este tipo de garrapatas (Cortés-Vecino, 2011; Beall *et al.*, 2012) y por lo tanto, el riesgo de contagio por agentes hemoparasitarios como *E. canis*.

En este estudio se encontró que la presencia de garrapatas al momento de la consulta clínica o

con historial de presencia de ellas 6 meses antes del estudio no es un factor de riesgo para la presencia de títulos a *E. canis* ($p \leq 0,05$) contrario a los hallazgos de Aguirre (2004), Watanabe *et al* (2004) y Watanabe *et al* (2006), en los cuales la presencia de *R. sanguineus* es el factor de riesgo más importante para la presencia de títulos de *E. canis*. Esto podría deberse al hecho que títulos de anticuerpos contra *E. canis* han sido encontrados después de 34 meses post infección (Harrus *et al.*, 2003), por lo que la presencia de garrapatas en un historial de 6 meses o menos no es suficiente para determinar de forma directa una asociación entre el vector y la presencia de títulos positivos. Por el contrario, una exposición a garrapatas infectadas en un periodo inferior a dos semanas podría sugerir una respuesta de no detección ($\leq 1:50$), que para el caso del estudio clasificaría al individuo como libre de sero-reactividad (Harrus y Waner, 2011). Por lo tanto, se considera necesario evaluar en futuros estudios, cuál es la prevalencia de *E. canis* en las garrapatas presentes en los canes de la ciudad en estudio y así establecer su correlación con la sero-reactividad a *E. canis* en caninos.

A pesar de no existir diferencias significativas entre los grupos evaluados con respecto al sexo, raza y grupo étnico, el presente estudio permitió evidenciar que las hembras, los animales adultos y la raza mestiza fueron mayoritariamente seropositivas a *E. canis* (tabla 2). Resultados similares relacionados con el género han sido reportados por Rodríguez-Vivas *et al* (2005); Silva *et al* (2010); Weinborn *et al* (2012), en donde se sostiene que la inmunodepresión de las hembras durante el celo, preñez o el parto puede favorecer el riesgo de infección por *E. canis*, sin embargo, esta condición no fue dilucidada en el presente estudio. De igual manera, la raza fenotípicamente pura más sero-reactiva a *E. canis* en esta investigación fue Labrador retriever, hallazgo que ha sido descrito también por Silva-Molano *et al.*, (2008) y Hernández y Loaiza, (2013), esta situación podría estar relacionada con la predisposición asociada a la inmunidad específica de cada raza, al contacto con el vector parasitado y la condición general de salud de cada individuo (Neer y Harrus, 2006).

Smith *et al* (1976), McBride *et al* (1996), Wen *et al* (1997) y Little (2010), sugirieron que el sangrado nasal presentado durante la forma aguda de la infección por *E. canis* puede ser producto de la vasculitis, lo que a su vez genera una trombocitopenia por consumo. Sin embargo, los estados crónicos de

enfermedad hemoparasitaria con afección de la médula ósea, esplenomegalia o parasitismo celular podrían estar asociados a trombocitopenias por pobre producción, secuestro esplénico o destrucción celular respectivamente (Gaunt, 1996; Bulla et al., 2004).

La identificación de esplenomegalia y fiebre durante la evaluación clínica fueron consideradas como los signos más prevalentes en los animales seropositivos, con una probabilidad de asociación con la seroreacción a *E. canis* del 86% y 79% respectivamente; hallazgos que se comparten parcialmente con lo reportado por Little, (2010) en donde se afirma que diversos hallazgos clínicos también han sido relacionados con la presencia de Ehrlichiosis, entre los que se incluyen: fiebre, anorexia, esplenomegalia y uveítis; sin embargo, este estudio no evidenció asociación con algún otro hallazgo clínico de relevancia, lo que sugiere que los signos clínicos rutinariamente asociados a la enfermedad que responden a desafíos terapéuticos antimicrobianos, no serían suficientes para realizar un diagnóstico de *E. canis*; debido a que es posible que otros agentes hemoparasitarios estén implicados o coexistan en las manifestaciones clínicas prevalentes en la región.

En esta investigación los animales seropositivos a *E. canis*, pero asintomáticos fueron el 4,8% (6/126). Lo anterior sugiere un riesgo de infección para otros perros toda vez que estos animales pueden comportarse como reservorios del patógeno durante meses a años (Otranto et al., 2009), por esta razón el seguimiento serológico del microorganismo estaría indicado para su identificación y tratamiento precoz (Cardozo et al., 2012).

La trombocitopenia ha sido un hallazgo hematológico que tradicionalmente ha sido asociado a la Ehrlichiosis canina (Parrado et al., 2003). Sin embargo, la presentación de trombocitopenia (≤ 200.000 plaquetas) no tuvo asociación con los animales seropositivos a *E. canis*. Un trabajo desarrollado por Bulla et al (2004) encontraron una asociación entre el número de plaquetas y la presencia de *E. canis*, particularmente en animales con recuento celular plaquetario inferior a 100.000 plaquetas mm^3 .

Las limitantes observadas en el presente estudio estuvieron relacionadas con la no estimación de algunos parámetros de correlación con la seroreactividad a *E. canis*, en donde se incluyen el grado de trombocitopenia en los animales

evaluados y la posible coexistencia de otros agentes hemoparasitarios. De igual manera no fueron estimados factores epidemiológicos asociados al uso de antiparasitarios externos y desafíos terapéuticos, por lo que se sugiere la realización de estudios posteriores que consideren la inclusión de estos elementos.

Conclusiones

Este estudio permite concluir que mediante la técnica de IFI y bajo las condiciones específicas del mismo, existe una seroprevalencia de anticuerpos contra *Ehrlichia canis* del 31,66% en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué. Las características medioambientales de la ciudad favorecen la presencia del vector *R. sanguineus* y por lo tanto la seroreactividad a *E. canis*. A pesar de que esta investigación no evidenció diferencias significativas asociadas al género, grupo étnico y raza con respecto a la seroreactividad a *E. canis* se concluye que las hembras, los animales adultos y la raza mestiza conglomeran un grupo de características que favorecen la susceptibilidad a infectarse por *E. canis*.

Los signos clínicos más comúnmente asociados a la seroreactividad para *E. canis* fueron la esplenomegalia y la fiebre, sin embargo la existencia de animales asintomáticos seroreactivos sugieren la existencia de otros microorganismos que podrían estar implicados de manera aislada o coexistente y establecen una pauta para los clínicos veterinarios con fines de monitorización epidemiológica del agente. Finalmente, se puede afirmar que esta investigación se constituye en el primer reporte de la seroprevalencia de *E. canis* en caninos admitidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué y uno de los primeros reportes publicados en Colombia que dimensionan la prevalencia de este microorganismo en perros.

Referencias

- Adrianzén, J., Chávez, A., Casas, E. y Li, O. (2003) Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 14(1): 43-48
- Aguirre, E., Sainz, A., Dunner, S., Amusatogui, I., López, L., Rodríguez-Franco, F., Luaces, I., Cortés, O. y Tesouro, M.A. (2004). First isolation and molecular characterization of *Ehrlichia canis* in Spain. Veterinary Parasitology, 125 (3-4):365-372

- Beall, M.J., Alleman, A.R., Breitschwerdt, E.B., Cohn, L.A., Couto, C.G., Dryden, M.W., Guptill, L.C., Iazbik, C., Kania, S.A., Lathan, P., Little, S.E., Roy, A., Sayler, K.A., Stillman, B.A., Welles, E.G., Wolfson, W. y Yabsley, M.J. (2012). Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. *Parasites & Vectors* 5(29): 1-11
- Benjamin, M. Counting of blood cells. En: *Journal Veterinary Clinical Pathology*, 3 editions. The Iowa State University Press, Iowa 1979, pg. 48-59.
- Bulla, C., Kiomi, R., Pessoa, J., Trinca, L.A., Souza, R. y Wiedmeyer, C.E. (2004) The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Veterinary Research*, 35(1):141-146
- Cardozo, L., Mendão, C. y Carvalho, L. (2012) Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - a national serological study. *Parasites & Vectors*, 5(1):62
- Carvalho, F.S., Wenceslau, A.A., Carlos, R.S. y Albuquerque, G.R. (2008). Epidemiological and molecular study of *Ehrlichia canis* in dogs in Bahia, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 7(3): 657-662
- Castro, M.B., Machado, RZ, Tomaz de Aquino, L., Alessib, A.C. y Costa, M. (2004). Experimental acute canine monocytic Ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary Parasitology*, 119 (1): 73 - 86
- Cortés-Vecino, J.A. (2011) Garrapatas: estado actual y perspectivas. *Biomédica*, 31(sup.3):268-271
- DANE. (2007) www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06_20/Estima_municipales_06_07.pdf (consultado 28 de junio de 2013).
- Das, M. y Konar, S. (2013). Clinical and hematological study of canine Ehrlichiosis with other hemoprotozoan parasites in Kolkata, West Bengal, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(11): 913-915
- Espitia, A., Revueltas, G. y Mendoza, A. (2000) Prevalencia de *Ehrlichia canis* en la ciudad de Montería, Córdoba, Colombia. *M.V.Z. Córdoba*, 5(2):20
- Gaunt, S.D., Corstvet, R.E., Berry, C.M. y Brennan, B. (1996). Isolation of *Ehrlichia canis* from dogs following subcutaneous inoculation. *Journal of Clinical Microbiology*, 34 (6): 1429-1432
- Gonzales, H. y Loaiza, J. (2012) 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*. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(1):47-51
- Harrus, S., Waner, T., Friedmann-Morvinski, D., Fishman, Z., Bark, H. y Harmelin, A. (2003). Down-regulation of MHC class II receptors of DH82 cells, following infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96 (3-4):239 - 243
- Harrus, S. y Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*, 187 (1):292 - 296
- Little, S.E. (2010). Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. *Vet Clin Small Anim* 40 (1):1121-1140
- Magela, S., Machado, R. y Friche, L. (2005). Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of experimentally infected dogs. *Ciência Rural*, 35 (4): 958-960
- Manna, L., Alberti, A., Pavone, L.M., Scibelli, A., Staiano, N. y Gravino, A.E. (2004). First molecular characterization of a granulocytic Ehrlichia strain isolated from a dog in South Italy. *The Veterinary Journal*, 167 (3): 224-227
- McBride, J.W., Corstvet, R.E. Gaunt, S.D., Chinsangaram, J., Akita, G.Y. y Osburn, B.I. (1996). PCR detection of acute *Ehrlichia canis* infection in dogs. *En Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 8 (1): 441 - 447
- Neer, T.M. y Harrus, S. Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu*, and *N. risticii* infections). In: Greene CE, editor. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd edition. St Louis (MO): Saunders Elsevier; 2006. p. 203-216.
- O'Connor, T.P., Hanscom, J.L., Hegarty, B.C., Groat, R.G. y Breitschwerdt, E.B. (2006). Comparison of an indirect immunofluorescence assay, western blot analysis, and a commercially available ELISA for detection of *Ehrlichia canis* antibodies in canine sera. *American Journal Veterinary Research*, 67 (2): 206 - 210
- Osorio, M.P. (2013) Detección molecular de Rickettsia sp. en garrapatas de la familia Ixodidae Ibagué, Tolima
- Otranto, D., Dantas-Torres, F. y Breitschwerdt, E.B. (2009) Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. *Trends in Parasitology*, 25 (1):157-163.
- Parrado, M., Vargas, F., Hernández, G. y Vergara, H. (2003). Asociación de los resultados de una prueba serológica (ELISA) y frotis sanguíneo en caninos con sintomatología compatible de Ehrlichiosis. *Revista Orinoquia*, 67 (1): 6-11
- Ristic, M., Huxsoll, D.L., Weisiger, R.M., Hildebrandt, P.K. y Nyindo, M.B. (1972). Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. *Infection and Immunity*, 6(3):226-231
- Procajlo A, Skupień EM, Bladowski M, Lew S. (2011) Monocytic ehrlichiosis in dogs. *Polish Journal of Veterinary Science*, 14(3):515-520.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Albornoz, R.E.F. y Bolio, G.M.E. (2005) *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatán, México: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology*, 127(1):75-79
- Silva, J.N., Parto, A.B. y Cruz, E. (2010) Soroprevalência de anticorpos anti *Ehrlichia canis* em cães de Cuiabá, Mato Grosso. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19 (2):108-111
- Silva-Molano, R.F., Sánchez-Ucrós, N. y Loaiza-Echeverri, A.M. (2008) Reporte de presentación de *Ehrlichia canis* en muestras sanguíneas de caninos en la ciudad de Cali, Colombia. *Veterinaria y Zootecnia*, 2(1):27-31
- Smith, R.D., Sells, D.M., Stephenson, E.H., Ristic, M.R. y Huxsoll, D.L. (1976). Development of *Ehrlichia canis*, causative agent of canine ehrlichiosis, in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and its differentiation from a symbiotic Rickettsia. *American Journal Veterinary Research*, 37 (2): 119-126
- Souza, B.M., Leal, D., Barboza, D.C., Uzêda, R., Alcântara, A., Ferreira, F., Labruna, M., Gondim, L.F. y Franke, C.R. (2010)

- Prevalence of ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 19(2):89-93
- Torres, A.M. y De la Fuente, J. (2006). Risks Associated with Ectoparasites of Wild Mammals in the Department of Quindío, Colombia. *International Journal Applied Research Veterinary Medicine*, 4 (3):187-190
- Vargas-Hernández, G., André, M.R., Faria, J.L., Munhoz, T.D., Hernandez-Rodriguez, M., Machado, R.Z. y Tinucci-Costa, M. (2012) *Veterinary Parasitology*, 186(3-4):254-260
- Vieira, R.F., Biondo, A., Guimarães, A.M., Santos, A., Santos, R., Dutra, L., Diniz, P.P., Morais, H.A., Messick, J., Labruna, M. y Vidotto, O. (2011) Ehrlichiosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(1):1-12
- Watanabe, M., Okuda, M., Tsuji, M. y Inokuma, H. (2004). Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan. *Veterinary Parasitology* *Veterinary Parasitology*, 124 (1-2): 101-107.
- Watanabe, M., Oikawa, T., Hiraoka, H., Kaneko, N., Itamoto, K., Mizuno, T., Okuda, M. y Inokuma, H. (2006). Experimental inoculation of beagle dogs with Ehrlichia species detected from Ixodes ovatus. *Veterinary Parasitology*, 136 (2): 147-154
- Weinborn, R., Toro, I., Leporati, M. y Castillo, D. (2012) Hallazgos serológicos de Ehrlichia spp. en caninos de la ciudad de Talca, Chile. *Hospitales veterinarios*, 4(2): 29-35
- Wen, B., Rikihisa, Y., Mott, J.M., Greene, R., Kim, H.Y., Zhi, N., Couto, G.C., Unver, A., Bartsch, R. (1997). Comparison of Nested PCR with Immunofluorescent-Antibody Assay for Detection of *Ehrlichia canis* Infection in Dogs Treated with Doxycycline. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (7): 1852 - 1855
- Yu, X.J., McBride, J.W. y Walker, D.H. (2007). Restriction and expansion of Ehrlichia strain diversity. *Veterinary Parasitology*, 143 (3-4): 337-346