

Frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en caninos sospechosos de ehrlichiosis en los distritos de Lima Norte, Perú

Serological frequency of *Ehrlichia canis* in canines suspected of ehrlichiosis in the northern districts of Lima, Peru

Juan Cusicanqui S.^{1,3}, Renato Zúñiga F.^{1,2}

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia serológica de *Ehrlichia canis* en pacientes caninos en la zona norte de Lima Metropolitana, Perú. Se utilizó la base de datos de un laboratorio de análisis clínicos, el cual recibe muestras de clínicas veterinarias de Lima Norte. Se tomaron los registros que tuvieran análisis contra *E. canis* durante el periodo 2014-2016 y además, aquellos con análisis de hemograma. Las muestras fueron analizadas con un kit comercial específico para *E. canis*. Se determinó la frecuencia serológica de *E. canis* y la asociación entre las variables sexo, edad y raza con los resultados a la prueba. Se halló una frecuencia de 59.4% (723/1216) de caninos positivos a ehrlichiosis. Se encontró asociación significativa de ehrlichiosis para los pacientes de raza mestiza y de edad mayor a 2 años. En perros adultos, aquellos positivos a la enfermedad presentaron valores menores de la serie roja, blanca y plaquetaria con respecto los perros negativos.

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

ABSTRACT

The study aimed to determine the serological frequency of *Ehrlichia canis* in canine patients in the northern area of Metropolitan Lima, Peru. Data was obtained from a clinical analysis laboratory, which receives samples from veterinary clinics of the area. Records with analyses against *E. canis* during the 2014-2016 period were taken, as well as

¹ Laboratorio de Análisis Clínico Vet Support, Lima, Perú

² Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

³ E-mail: juan.cusicanqui.s@upch.pe

Recibido: 8 de agosto de 2019

Aceptado para publicación: 14 de mayo de 2020

Publicado: 11 de agosto de 2020

those with blood count analysis. The samples were analysed with a commercial kit specific for *E. canis*. The serological frequency of *E. canis* and the association between the serological results with the variables sex, age and breed type were evaluated. A frequency of 59.4% (723/1216) of ehrlichiosis positive canines was found. A significant association of ehrlichiosis was found for patients older than 2 years and for crossbreds. In adult dogs, those positive for the disease have lower values of the red, white and platelet series compared to negative dogs.

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

INTRODUCCIÓN

La ehrlichiosis es una enfermedad causada por una bacteria gram negativa del orden Rickettsiales, género *Ehrlichia* y se la describe como pleomórfica e intracelular obligada (CFSPH, 2013; Silva *et al.*, 2014). En el género *Ehrlichia* hay cinco especies reconocidas: *E. canis*, *E. chaffensis*, *E. ewingii*, *E. muris* y *E. ruminantium*. De estas, *E. canis* causa la ehrlichiosis monocítica canina (CFSPH, 2013).

El principal vector para la transmisión de *E. canis* es la garrapata marrón del perro (*Rhipicephalus sanguineus*), la cual se infecta al ingerir sangre de un animal infectado (Chávez, 2014). Los perros infectados presentan una fase aguda, con una variedad de signos clínicos inespecíficos, tales como fiebre, letargia, anorexia, y signos gastrointestinales, respiratorios, oculares y neurológicos (Waner y Harrus, 2013). Algunos perros que poseen una inmunidad adecuada o con infecciones leves, pueden superar la fase aguda de la ehrlichiosis y llegar a eliminar a la bacteria sin tratamiento. Sin embargo, otros progresan a la fase subclínica, donde son asintomáticos o con signos clínicos leves, pero también pueden desarrollar la enfermedad crónica, con signos clínicos similares a los de la fase aguda, pero más severos, pudiendo afectar los tejidos hepático, renal y hematopoyético (Mylonakis *et al.*, 2010).

La ehrlichiosis se diagnostica por métodos indirectos como la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA e inmunocromatografía (Brandao *et al.*, 2015), o métodos directos como el frotis directo y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Cartagena, 2015). Los sistemas inmunocromatográficos 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).

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, permite realizar la serovigilancia del estado epidemiológico de la enfermedad. Los kits inmunocromatográficos para la detección de anticuerpos contra *E. canis* poseen una alta sensibilidad y especificidad en comparación con la prueba de IFI, que es considerada como la prueba de oro.

En el Perú, la ehrlichiosis canina fue detectada en caninos a partir de 1982, y desde ahí se ha incrementado el número de casos reportados (Huerto y Dámaso, 2015). Varios autores han estudiado la enfermedad y su epidemiología, así Carpio (2008) y Aguirre reportaron prevalencias de 70% en caninos de Máncora y Chosica, respectiva-

mente, Velásquez (2008) encontró 21% en perros de la Reserva Nacional de Paracas, Jara (2013) halló 23% de perros infectados en clínicas veterinarias de Chimbote, y Huerto y Dámaso (2015) reportaron 51.3% positivos en Huánuco. Por otro lado, en Lima Metropolitana se han reportado seroprevalencias entre 9 y 20%, dependiendo del distrito (Adrianzen *et al.*, 2003).

Se tiene evidencia que al menos el 30% de la población canina en los distritos de la zona de Lima Norte presentan garrapatas (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 82 794 de canes con dueño en el distrito de San Martín de Porres y 85 934 canes para el distrito de Comas. A esto se suma la alta cantidad de perros deambulantes (Ochoa *et al.*, 2013).

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia serológica de *E. canis* a partir de resultados de un kit inmunocromatográfico en muestras de pacientes caninos remitidas a un laboratorio de la zona norte de Lima en el periodo 2014-2016. Asimismo, evaluar la asociación entre las variables sexo, edad y raza con la seropositividad y la asociación entre los resultados serológicos y los hallazgos hematológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de análisis clínico veterinario Vet Support, que recibe muestras remitidas por clínicas veterinarias de los distritos de Carabayllo, Los Olivos, Comas, San Martín de Porres, Independencia y Puente Piedra de Lima Norte.

El estudio fue de tipo observacional y analítico. La población objetivo fueron los registros completos de pacientes entre 2014 y 2016, en los cuales se realizó serología de anticuerpos contra *E. canis*, utilizando el kit

comercial *Anigen Rapid E. canis Ab Test Kit* (Bionote). El kit presenta una alta sensibilidad (97.6%) y especificidad (99%) en comparación con la prueba de IFI (Bélanger *et al.*, 2002). Además, se recopiló la información de los análisis hematológicos realizados y se utilizaron los valores de referencia del laboratorio, tanto para el grupo de perros adultos (mayores de cinco meses) como de cachorros (hasta cinco meses).

Se determinó la frecuencia de resultados positivos en base al total de muestras analizadas para cada año. Se elaboraron tablas de estadística descriptiva y se utilizó la prueba de Chi cuadrado para determinar 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 de t de Student. Para los registros que tuvieron 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 estándar para la serie roja, blanca y plaquetaria. La distribución normal de los datos de las variables cuantitativas continuas se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov de una muestra. Los datos que siguieron la distribución normal fueron evaluados mediante la prueba de t de Student y para los demás se utilizó la prueba de U de Mann Whitney.

El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Solo tuvieron acceso a la información generada durante el trabajo el investigador principal, el asesor y los revisores.

RESULTADOS

Se obtuvieron 1216 registros con orden de serología para investigación de la presencia de anticuerpos para *E. canis*. De estos,

Cuadro 1. Resultado a la prueba serológica para detectar *Ehrlichia canis* en perros de Lima Norte, según edad

Edad	Pos	Neg	Total
0 - 5 meses	51	55	106
5 m - 1.9 años	174	134	308
2 - 3.9 -años	138	80	218
4 - 5.9 -años	95	37	132
6 - 7.9 -años	51	27	78
8 - 9.9 -años	33	27	60
10 - 11.9 -años	27	10	37
12 - 13.9 -años	10	7	17
14 - 16 -años	7	1	8
Sin datos	137	115	252
Total	723	493	1216

768 registros incluyeron los datos del hemograma. Se hallaron 68 muestras de cachorros y 557 de adultos; asimismo, 143 no tenían información sobre la edad, por lo que se excluyeron para el análisis de las variables hematológicas.

La frecuencia de casos con serología positiva a *E. canis* fue de 59.4% (723/1216) (Cuadro 1). Se encontró asociación estadística mediante la prueba de Chi cuadrado entre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y la edad en perros mayores a dos años ($p < 0.05$). Los perros positivos tienen una media de edad de 3.5 ± 3.2 y los negativos 3.0 ± 3.0 , diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). La prueba de Chi cuadrado indicó una asociación significativa entre raza y la seropositividad ($p < 0.05$), pero no con el sexo de los animales (Cuadro 2).

De los registros con hemogramas ($n = 768$), 68 corresponden a cachorros. En el Cuadro 3 se describe los resultados obtenidos para los valores hematológicos con respecto al resultado del kit para anticuerpos de

E. canis en cachorros. Se encontró diferencia significativa entre positivos y negativos a *E. canis* para los valores de hematocrito, glóbulos rojos y plaquetas ($p < 0.05$), mientras que para las variables hemoglobina y glóbulos blancos no hubo diferencia estadística significativa. Por otro lado, en perros adultos se encontró diferencia significativa en los valores de hematocrito, hemoglobina, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas ($p < 0.05$) entre positivos y negativos a *E. canis* (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

Si bien se halló que el 59.4% de las muestras resultaron positivas a *E. canis*, es posible que este valor sea muy diferente si se incluyen los perros con dueños que no son llevados a veterinarias y perros vagabundos que pueden portar la enfermedad. Se debe considerar, además, que el resultado corresponde a muestras analizadas provenientes de clínicas veterinarias cuyos pacientes tenían sospecha o diagnóstico presuntivo de ehrlichiosis.

Se debe tener en cuenta que los anticuerpos son producto de la inmunidad adquirida de tipo humoral, producidos por las células plasmáticas después de la estimulación del linfocito B (Vega, 2008). Los perros positivos no necesariamente desarrollan la enfermedad, pero han sido expuestos a la enfermedad (McBride *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.

La frecuencia encontrada puede deberse a la gran cantidad de perros vagabundos en los distritos de Lima Norte (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 parques, aumentan el riesgo de contagio por el vector (Huerto y Dámaso, 2015)

Cuadro 2. Resultados serológicos de la prueba de inmunocromatografía para la detección de *Ehrlichia canis* en perros de Lima Norte (2014-2016), según raza y sexo

Perros	Total (n)	Resultado		Porcentaje de positividad (%)	
		Positivo (n)	Negativo (n)		
Raza	De raza	588	335	253	57.0 ^a
	Mestizo	427	270	157	63.2 ^b
	No menciona	201	118	83	58.7
Sexo	Macho	628	381	247	60.7 ^a
	Hembra	479	279	200	58.2 ^a
	No menciona	109	63	46	57.8
Total	1216	723	493	59.4	

^{a,b} Diferentes letras dentro de las variables raza y sexo son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Cuadro 3. Valores hematológicos de 68 perros cachorros (hasta cinco meses) con serología para *Ehrlichia canis* en la zona de Lima Norte (2014-2016)

Hemograma	<i>E. canis</i>		Rango de referencia ¹
	Positivo	Negativo	
Hematocrito	24 ± 11.8 ^a	29.7 ± 9.4 ^b	29-34%
Hemoglobina	7.8 ± 4 ^a	9.5 ± 3.3 ^a	9.4-11.2 g/dl
Glóbulos rojos	3.54x10 ⁶ ± 1.87x10 ⁶ ^a	4.36x10 ⁶ ± 1.36x10 ⁶ ^b	4.3-5.1x10 ⁶ /μl
Leucocitos	10,719 ± 5,549 ^a	9,845 ± 4,517 ^a	11,300-20,000/μl
Neutrófilos	7,272 ± 3,970	6,885 ± 3,457	5,600-12,000/μl
N. Abastoados	86.7 ± 206.6	200.2 ± 535.5	0-600/μl
N. Segmentados	7,164 ± 3,949	6,685 ± 3,162	5,600-11,400/μl
Linfocitos	3,023 ± 2,541	2,404 ± 1,550	3,500-6,500/μl
Monocitos	573.9 ± 481.2	671 ± 642.7	700-2,100/μl
Eosinófilos	187.6 ± 539.7	140.5 ± 228.9	0-800/μl
Basófilos	0	0	0-90/μl
Plaquetas	89,262 ± 80,655 ^a	176,430 ± 136,157 ^b	200,000-410,000

^{a,b} Diferentes letras dentro de los parámetros hematológicos son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

¹ Clínica de Animales de Compañía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

Cuadro 4. Valores hematológicos de 557 perros adultos (más de cinco meses) con serología para *Ehrlichia canis* en la zona de Lima Norte (2014-2016)

Hemograma	<i>E. canis</i>		Rango de Referencia ¹
	Positivo	Negativo	
Hematocrito	34.2 ± 10.6 ^a	41.1 ± 10.1 ^b	36-54%
Hemoglobina	11.3 ± 3.6 ^a	13.6 ± 3.5 ^b	11.8-17.8 g/dl
Glóbulos rojos	5x10 ⁶ ± 1.61x10 ⁶ ^a	5.97x10 ⁶ ± 1.49x10 ⁶ ^b	5,200-8,150x10 ⁶ /μl
Leucocitos	10,9583 ± 7,402 ^a	13,404 ± 8,266 ^b	9,000-15,000/μl
Neutrófilos	8,335 ± 6,465	10,253 ± 7,510	4,700-11,550/μ
N. Abastoados	157.7 ± 529	232.2 ± 885	0-225/μl
N. Segmentados	8,176 ± 6,289	10,018 ± 7,260	4,500-11,550/μl
Linfocitos	2,017 ± 1,865	2,051 ± 1,408	1,350-4,500/μl
Monocitos	651.5 ± 566	827.5 ± 769.8	90-750/μl
Eosinófilos	233 ± 429.3	391.6 ± 676.3	90-825/μl
Basófilos	1.6 ± 12.3	12.9 ± 120.8	0-90/μl
Plaquetas	112,973 ± 96,823 ^a	191,404 ± 137,356 ^b	200,000-450,000

^{a,b} Diferentes letras dentro de los parámetros hematológicos son significativamente diferentes (p<0.05)

¹ Clínica de Animales de Compañía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

El estudio demostró una mayor presencia de anticuerpos contra *E. canis* en perros mayores de dos años. En este sentido, se ha reportado una mayor frecuencia de ehrlichiosis canina en perros mayores de un año (Asgarali *et al.*, 2012), mayores de 2-4 años (Contreras, 2006) y mayores de 4 años (Jara, 2014) Estos resultados pueden ser explicados debido a que los perros a partir de edad mediana tienen mayor probabilidad de exposición a garrapatas que los cachorros, por la costumbre de los dueños de pasear a sus canes una vez completadas las vacunas (Huerto y Dámaso, 2015).

La asociación significativa entre grupo racial y seropositividad a *E. canis* estuvo de acuerdo con el trabajo de Cartagena *et al.* (2015), quienes encontraron una mayor prevalencia en perros mestizos; no obstante,

Huerto y Dámaso (2015) no encontraron diferencias significativas entre razas. Por otro lado, no se encontró asociación significativa entre la presencia de anticuerpos contra *E. canis* y el sexo de los caninos, habiendo resultados contradictorios en la literatura; así, Adrianzen *et al.* (2003) reportan una mayor prevalencia en hembras, mientras que Asgaraly *et al.* (2012), Contreras (2006) y Cartagena *et al.* (2015) no encontraron diferencias significativas entre estas variables.

Se ha descrito un comportamiento fisiológico diferente entre perros jóvenes y adultos para los valores eritrocitarios y leucocitarios (Harper *et al.*, 2003; Lawler *et al.*, 2007; Brenten *et al.*, 2016), de allí que en este estudio se analizaron por separado. 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 que la significancia para la hemoglobina fue muy cercana a 0.05 ($p=0.058$).

No se encontró estudios similares que comparen la frecuencia o prevalencia de la enfermedad y las variables hematológicas en cachorros. Sin embargo, en los adultos, la serie roja, blanca y plaquetaria presentaron valores promedio más bajos en perros positivos a ehrlichiosis con respecto a los negativos, lo cual concuerda con el estudio de Elitok y Ungur (2016) y Fonseca *et al.* (2017), aunque Aguirre (2008) no encontró tales diferencias. La trombocitopenia en diferentes grados es el hallazgo hematológico característico en las fases de la enfermedad producida por *E. canis* (Straube, 2010; Waner y Harrus, 2013). La bacteria se multiplica en las células mononucleares y la trombocitopenia se debería a un mayor consumo, secuestro y destrucción de las plaquetas (López *et al.*, 1999).

Hay que tener en cuenta que, en exposiciones agudas, la presencia de anticuerpos no siempre está presente en el animal infectado (Munhoz *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 que presentaron trombocitopenia.

CONCLUSIONES

- Se confirmó la exposición a *Ehrlichia canis* en el 54.8% de perros, cuyas muestras fueron llevadas a un laboratorio de Lima Norte.
- Los animales adultos tienen una mayor probabilidad de haberse expuesto a la enfermedad.

- Los perros diagnosticados como positivos tienen valores hematológicos menores a los negativos.
- El estudio sugiere una alta prevalencia de *E. canis* en Lima Norte.

LITERATURA CITADA

1. **Acosta M. 2003.** Desarrollo y evaluación de una prueba inmunocromatográfica para el diagnóstico de la infección con *Tripanosoma cruzi*. Tesis de Maestría. Paraguay: Univ. Nacional de Asunción. 95 p.
2. **Adrianzen J, Chávez A, Casas E, Li O. 2003.** Seroprevalencia de la dilofirariosis y ehrlichiosis canina en tres distritos de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 14: 45-47. doi: 10.15381/rivep.v14i1.1596
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: Univ. Peruana Cayetano Heredia. 22 p.
4. **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 Tecnol Vet Perú* 2: 83-92. doi: 10.20453/stv.v2i2.2254
5. **Asgarali Z, Pargass I, Adamb J, Mutani A, Ezeokoli C. 2012.** Haematological parameters in stray dogs seropositive and seronegative to *Ehrlichia canis* in North Trinidad. *Ticks Tick-Borne Dis* 3: 207-211. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.03.006
6. **Bélanger M, Sorenson H, France M, Bowie M, Barbet A, Breitschwerdt E, Rick A. 2002.** Comparison of serological detection methods for diagnosis of *Ehrlichia canis* infections in dogs. *J Clin Microbiol* 40: 3506-3508. doi: 10.1128/JCM.40.9.3506-3508.2002
7. **Brenten T, Morris PJ, Salt C, Raila J, Kohn B, Schweigert FJ, Zentek J. 2016.** Age-associated and breed-

- associated variations in haematological and biochemical variables in young Labrador retriever and miniature schnauzer dogs. *Vet Rec Open* 3: e000166. doi: 10.1136/vetreco-2015-000166
8. **Carpio L. 2008.** Detección de anticuerpos contra *Ehrlichia Canis* en caninos domesticos infestados con garrapatas en el distrito de Mancora, Piura. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ. Peruana Cayetano Heredia. 21 p.
 9. **Cartagena LM, Ríos LA, Cardona JA. 2015.** Seroprevalencia de *Ehrlichia Canis* en perros con sospecha de infección por patógenos transmitidos por garrapatas en Medellín, 2012-2014. *Rev Med Vet* 29: 51-62.
 10. **[CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. 2013.** Ehrlichiosis and anaplasmosis: zoonotic species. Iowa, USA: CFSPH. 14 p.
 11. **Chávez C. 2014.** *Ehrlichia canis* en caninos y el tratamiento con doxiciclina. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 99 p.
 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: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 45 p.
 13. **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: 134-139.
 14. **Estares L, Chávez A, Casas E. 2000.** Ectoparasitos en caninos de los distritos de la zona climática norte de Lima Metropolitana. *Rev Inv Vet Perú* 11: 72-76. doi: 10.15381/rivep.v11i1.6806
 15. **Farrell B. 2009.** Lateral flow immunoassay. Nueva York: Springer. 225 p.
 16. **Fonseca JP, Bruhn F, Ribeiro M, Hirsch C, Rocha C, Guedes E, Guimarães A. 2017.** Hematological parameters and seroprevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs. *Ciênc Anim Bras* 18: e-36095. doi: 10.1590/1089-6891v18e-36095
 17. **Guedes PE, Oliveira TN, Carvalho F, Carlos RS, Albuquerque G, Munhoz A, Wenceslau A, et al. 2015.** Canine ehrlichiosis: prevalence and epidemiology in northeast Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 24: 115-121. doi: 10.1590/S1984-29612015030
 18. **Harper EJ, Hackett RM, Wilkinson J, Heaton PR. 2003.** Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *J Am Vet Med Assoc* 223: 1436-1442. doi: 10.2460/javma.2003.223.1436
 19. **Huerto-Medina E, Dámaso-Mata B. 2015.** Factores asociadas a la infección por *Ehrlichia canis* en perros infestados con garrapatas en la ciudad de Huánuco, Perú. *Rev Per Med Exp Salud Pública*. 32: 756-760.
 20. **Jara M. 2014.** *Frecuencia de Ehrlichia canis en perros en la ciudad de Chimbote - 2013.* Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca, Perú: Univ. Nacional de Cajamarca. 40 p.
 21. **Lawler DF, Ballam JM, Meadows R, Larson BT, Li Q, Stowe HD, Kealy RD. 2007.** Influence of lifetime food restriction on physiological variables in Labrador retriever dogs. *Exp Gerontol* 42: 204-214. DOI: 10.1016/j.exger.2006.09.010
 22. **López J, Castillo A, Muñoz M, Hildebrandt S. 1999.** Hallazgo de *Ehrlichia canis* en Chile. Informe preliminar. *Arch Med Vet* 31: 211-214. doi: 10.4067/S0301-732X1999000200008
 23. **McBride JW, Corstvet RE, Gaunt SD, Boudreaux C, Guedry T, Walker DH. 2003.** Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* immunoreactive proteins. *Infect Immun* 71: 2516-2524. doi: 10.1128/iai.71.5.2516-2524.2003
 24. **Munhoz TD, Faria JL, Vargas-Hernández G, Fagliari JJ, Santana AE, Machado RZ, Tinucci-Costa M. 2012.** Experimental *Ehrlichia canis* infection changes acute-phase proteins.

- Rev Bras Parasitol V 21: 206-212. doi: 10.1590/s1984-29612012000300006
25. **Mylonakis ME, Siarkou VI, Koutinas AF. 2010.** Myelosuppressive canine monocytic ehrlichiosis: an update on the pathogenesis, diagnosis and management. *Isr J Vet Med* 65: 129-135.
26. **Ochoa Y, Falcón N, Zuazo J, Guevara B. 2013.** Estimacion de la poblacion de perros deambulantes en el distrito de Los Olivos, Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 25: 366-377. doi: 10.15381/rivep.v25i3.-10114
27. **Rodriguez-Vivas RI, Albornoz RE, Bolio GM. 2005.** *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factor. *Vet Parasitol* 127: 75-79. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.08.022
28. **Silva AB, Canseco S, De la Torre, M, Mayoral A, Mayoral M, et al. 2014.** Infeccion humana asintomatica por contacto con perros. Un caso de ehrlichiosis humana. *Gac Med Mex* 150: 171-174.
29. **Soriano J, Nuñez J, León, D, Falcón, N. 2017.** Estimacion de la poblacion de canes con dueño en el distrito de Comas, Lima- Perú. *Rev Cienc Vet* 33: 5-10.
30. **Straube J. 2010.** Canine ehrlichiosis - From acute infection to chronic disease. *CVBD Digest* 7: 7-8.
31. **Vega G. 2008.** La respuesta inmune. *Rev Fac Med UNAM* 51: 128-129.
32. **Velasquez T. 2008.** Evidencia serologica de *Ehrlichia canis* en los caninos domesticos de la Reserva Nacional de Paracas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Univ. Peruana Cayetano Heredia. 16 p.
33. **Waner T, Harrus S. 2013.** Canine monocytic ehrlichiosis - from pathology to clinical manifestations. *Isr J Vet Med* 68: 12-18.