



## Evaluación del proteinograma sérico en caninos con ehrlichiosis monocítica en el nordeste argentino

Delgado, M.B.<sup>1,2,3\*</sup> ; Mansilla, S.L.<sup>1,2</sup> ; Cainzos, R.P.<sup>1</sup> ; Pereyra, N.<sup>3</sup>;  
Rossner, M.V.<sup>1,4</sup> 

<sup>1</sup>Catedra de Patología Médica. Departamento de Clínicas. Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional Nordeste (UNNE), Sargento Cabral 2139, Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional Investigación Científica y Técnica. (CONICET), Argentina. <sup>3</sup>Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda- Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Marcos Briolini N° 750, Colonia Benítez, Chaco. Argentina. ✉ [mabelendelgado@hotmail.com](mailto:mabelendelgado@hotmail.com)

### Resumen

La ehrlichiosis monocítica canina (EMC), es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas que desencadena una respuesta inflamatoria aguda en caninos. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar las alteraciones del proteinograma sérico en caninos con EMC, con el fin de identificar posibles biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad. Se analizaron muestras de suero de ocho caninos con diagnóstico confirmado de EMC mediante reacción en cadena de la polimerasa. Los resultados del proteinograma revelaron alteraciones significativas en las fracciones proteicas. Se observó en siete casos hipoalbuminemia, en seis hipogammaglobulinemia, en siete casos hiperalfa-2 globulinemia y en dos casos hiperbeta-globulinemia. Estos hallazgos sugieren una disminución en la síntesis de proteínas hepáticas, una respuesta inmune alterada y un proceso inflamatorio activo. La hipergammaglobulinemia policlonal, identificada en dos casos, sugiere una activación crónica del sistema inmunológico. A diferencia de la hipogammaglobulinemia, que se presentó en seis pacientes, esta condición no es una manifestación común de la enfermedad y podría estar vinculada a los procesos patogénicos de la EMC, además de aumentar la predisposición a infecciones secundarias. En conclusión, el proteinograma sérico es una herramienta útil para evaluar la respuesta inflamatoria en los casos de EMC. Las alteraciones observadas en las fracciones proteicas pueden servir como biomarcadores para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad. Este estudio establece las bases para futuras investigaciones que profundicen en la comprensión de la patogénesis de la enfermedad y en el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas.

**Palabras clave:** electroforesis, proteínas de fase aguda, gammapatía

## Serum proteinogram evaluation in dogs with monocytic ehrlichiosis in northeastern Argentina

**Abstract.** Canine monocytic ehrlichiosis (CME) is a tick-borne infectious disease that triggers an acute inflammatory response in dogs. The aim of this study was to evaluate serum protein profile alterations in dogs with CME, to identify potential biomarkers for diagnosis and disease monitoring. Serum samples from eight dogs with a confirmed CME diagnosis through polymerase chain reaction was analyzed. The results of the proteinogram revealed significant alterations in protein fractions. Hypoalbuminemia was observed in seven cases, hypogammaglobulinemia in six, hyperalpha-2 globulinemia in seven, and hyperbeta-globulinemia in two cases. These findings suggest a decrease in hepatic protein synthesis, an altered immune response, and an active inflammatory process. Polyclonal hypergammaglobulinemia, identified in two cases, indicate chronic immune system activation. Unlike hypogammaglobulinemia, which was present in six patients, this condition is not a common manifestation of the disease and could be linked to the pathogenic processes of CME, potentially increasing the susceptibility to secondary infections. In conclusion, serum protein profile is a useful tool for evaluating the inflammatory response in CME cases. The observed alterations in protein fractions can serve as biomarkers for disease diagnosis and monitoring. This study provides relevant information for future research aimed at better understanding the disease pathogenesis and developing new diagnostic tools.

**Key words:** electrophoresis, acute phase proteins, gammopathy

## INTRODUCCIÓN

El proteinograma constituye una herramienta complementaria valiosa para el diagnóstico de diversas enfermedades, tanto agudas como crónicas. Su utilidad radica en la capacidad para reflejar cambios en las proteínas plasmáticas, las cuales pueden verse afectadas por una amplia gama de procesos fisiopatológicos, entre los que se encuentran la inflamación y la estimulación de la respuesta inmune humoral (Cray et al. 2009). Las proteínas de fase aguda (APP, por sus siglas en inglés de *acute phase protein*) son un grupo de proteínas plasmáticas que experimentan cambios notables en su concentración en respuesta a diversos estímulos inflamatorios, especialmente infecciones (Murata et al. 2004). Entre las APP, la proteína C-reactiva (pCr) se destaca por su importancia en la respuesta inflamatoria de caninos. La pCr es sintetizada principalmente por los hepatocitos en respuesta a citocinas proinflamatorias liberadas por células inmunitarias como macrófagos y células endoteliales tras un estímulo inflamatorio. Sin embargo, otras células como las células musculares lisas, linfocitos y adipocitos también pueden contribuir a su producción en menor medida. La pCr forma parte de la fracción  $\gamma$ -globulina del proteinograma sérico, su concentración aumenta drásticamente en respuesta a la inflamación, infección por patógenos (incluidas bacterias y parásitos), así como en otras lesiones, y se ha utilizado como marcador predictivo del riesgo de enfermedad y para monitorear la respuesta al tratamiento (Sproston y Ashworth 2018).

La ehrlichiosis monocítica canina (EMC), es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria *Ehrlichia canis*, que es transmitida por la garrapata común del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) (Breitschwerdt et al. 2014). Es una enfermedad potencialmente mortal que desencadena una respuesta aguda del sistema inmunitario. Este proceso se caracteriza por un aumento en los niveles de APP, como se observó en estudios realizados por Gabay y Kushner (1999). En años recientes, se ha investigado el papel de las APP en una variedad de enfermedades caninas, incluyendo enfermedades infecciosas, neoplásicas, inflamatorias e inmunomediadas. Las APP proporcionan una medida adicional de la respuesta inflamatoria, complementando la evaluación tradicional que se basa en el recuento y perfil de leucocitos (Ceron et al. 2005). Una técnica clave para el análisis de estas proteínas es la electroforesis de proteínas séricas, conocida también como proteinograma. Esta técnica permite separar y analizar las proteínas presentes en el suero sanguíneo, utilizando las propiedades físicas de las proteínas, como su carga eléctrica, para clasificarlas en cinco fracciones: albúmina,  $\alpha$ 1-globulina,  $\alpha$ 2-globulina,  $\beta$ -globulinas y  $\gamma$ -globulinas (Jasensky et al. 2014, Tóthová et al. 2020). Las distintas fracciones proteicas presentan los siguientes componentes: en la fracción de albúmina se encuentra la albúmina misma; en las  $\alpha$ 1-globulinas se identifican ceruloplasmina,  $\alpha$ 1-lipoproteína,  $\alpha$ 1-antitripsina y  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida; en las  $\alpha$ 2-globulinas se hallan haptoglobina, amiloide sérico y  $\alpha$ 2-macroglobulina. En la fracción de  $\beta$ -globulinas se encuentran transferrina y las proteínas del complemento C3 y C4. Finalmente, en la fracción de  $\gamma$ -globulinas se pueden identificar la pCr y las inmunoglobulinas (Tóthová et al. 2020). El proteinograma sérico se ha consolidado como una herramienta diagnóstica

valiosa para evaluar la respuesta inflamatoria en diversas enfermedades, incluida la EMC.

Dado que la EMC desencadena una respuesta de fase aguda, el proteinograma permite identificar los cambios en las concentraciones de las proteínas plasmáticas que ocurren durante esta condición. Estos cambios reflejan la intensidad y la magnitud de la respuesta inflamatoria, lo que puede ofrecer información clínica relevante para el manejo y tratamiento del paciente afectado (Asawakarn et al. 2021). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el proteinograma sérico en caninos con diagnóstico confirmado de EMC, mediante el análisis de las diferentes fracciones proteicas. Además, se buscaron alternativas para la identificación de alteraciones que puedan servir como indicadores de la respuesta inflamatoria y del curso clínico de la enfermedad, así como enriquecer la comprensión de los cambios proteicos séricos asociados con la EMC y obtener herramientas diagnósticas adicionales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Animales.** Para este estudio, se seleccionaron ocho caninos con diagnóstico confirmado de EMC mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los pacientes fueron atendidos en dos consultorios veterinarios privados, ubicados en Resistencia (Chaco) y Corrientes Capital, durante un intervalo de un año, que abarcó desde la primavera-verano de 2019 hasta el invierno del año siguiente. Los animales, de ambos sexos y diversas razas, tenían entre 1 y 7 años y presentaban al menos uno de los siguientes signos clínicos asociados con EMC: anorexia, depresión, hipertermia, petequias, equimosis y/o vasculitis. Los sueros fueron obtenidos de muestras de sangre recolectada mediante punción de la vena cefálica antibraquial y sin anticoagulante.

**Diagnóstico Molecular de EMC por PCR.** Para la extracción de ADN se utilizó el kit High Pure PCR Template Preparation Kit de Roche®, siguiendo las instrucciones del fabricante. Para la detección de *Ehrlichia* spp., se amplificó un segmento de 409 pb del gen mediante los primers dsb 330/728 y dsb 321/671, siguiendo las condiciones de PCR establecidas por Doyle et al. (2005) y Aguiar et al. (2014).

### Evaluación del proteinograma sérico.

**Determinación de las concentraciones totales de proteínas séricas.** Las concentraciones totales de proteínas en suero se determinaron mediante el método colorimétrico Proti 2 de Wiener Laboratorios SAIC (Argentina), de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Para realizar las mediciones, se utilizó un espectrofotómetro digital 752 UV-visible Exylon, que abarca un rango de 195 a 1000 nm.

**Proteinograma electroforético.** El proteinograma se obtuvo mediante gel de agarosa utilizando el sistema Quick Gel Split Beta SPE. Las bandas de proteínas se visualizan tras la tinción del gel y se cuantifican utilizando el programa QuickScan Touch. Los resultados se representan gráficamente en forma de curva, lo que permite observar la distribución y las concentraciones relativas de las diferentes fracciones proteicas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los valores del proteinograma con las concentraciones de las principales fracciones proteicas de los ocho caninos estudiados, junto con los valores de referencia utilizados para su evaluación.

**Tabla 1.** Valores totales de las seroproteínas establecidos por QuickGel Split Beta de los ocho caninos con diagnóstico confirmado de EMC de Chaco y Corrientes.

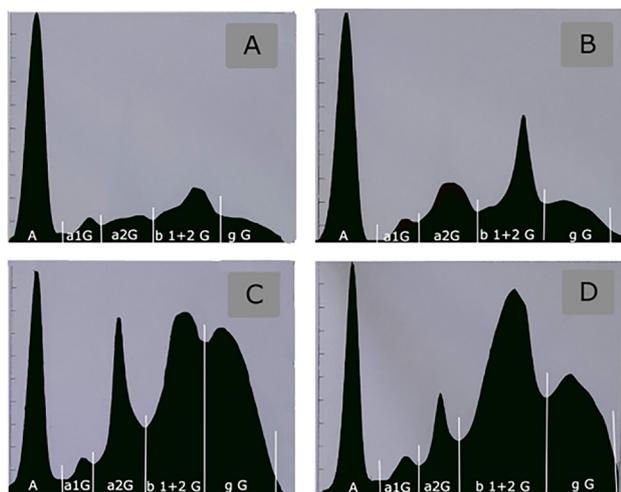
Paciente	Albumina	Alfa 1	Alfa 2	Beta <sub>(1+2)</sub>	Gamma	Proteínas totales
1	3,82	0,09	0,34	1,46	0,50	6,25
2	1,36	0,19	0,81	1,18	0,65	4,20
3	1,48	0,21	1,19	1,26	0,60	4,76
4	0,84	0,20	0,64	1,29	0,46	5,53
5	1,12	0,21	1,21	2,16	2,33	7,05
6	1,10	0,29	0,68	3,43	1,91	7,43
7	1,61	0,15	0,69	0,72	0,58	3,81
8	2,43	0,35	0,66	1,38	0,74	5,57
Ref. g dL <sup>-1</sup>	3,3-3,9	0,2-0,3	0,3-0,4	0,9-1,8	0,9-1,3	6,4-7,5

Globulinas: Alfa1, Alfa 2, Beta 1, Beta2 y Gamma.

Los resultados de los proteinogramas de los caninos del presente estudio contrastan con lo reportado por otros autores (Harrus et al. 1996, Ravnick et al. 2014), quienes documentaron un aumento en los niveles de proteínas totales en pacientes con esta condición, sin embargo, este estudio identificó a la hipoproteinemia como la principal alteración, presente en seis de los ocho casos analizados. En los otros dos casos analizados, aunque los valores de concentración de proteínas séricas se encontraban dentro del rango normal, el examen detallado de cada fracción en el proteinograma reveló un aumento significativo de las fracciones de globulinas, tal como se observa en los

Los datos obtenidos se comparan con los intervalos de referencia establecidos para una población canina sana, conformada por animales de distintas razas y edades que oscilan entre 6 meses y 10 años, según lo reportado por Coppo (2001).

perfiles C y D (Figura 1). Esto coincide con lo observado por Asawakarn et al. (2021), donde se describe un patrón de gammapatía similar en el proteinograma de pacientes con EMC. En cuanto a la fracción de albuminas, detectamos hipoalbuminemia en siete de los ocho casos analizados, y solo en uno de los caninos, los niveles de albúmina estaban dentro del rango esperado para la especie (Coppo 2001). Este resultado coincide con otros reportes de infecciones naturales de la enfermedad, donde se ha observado que la albúmina puede estar por debajo de los valores de referencia para la especie (Santarém et al. 2008).



**Figura 1.** Perfiles electroforéticos de proteínas séricas. Los perfiles electroforéticos presentados en los paneles A-D corresponden a los pacientes 8, 2, 5 y 6, respectivamente. Los valores correspondientes son: A: albúmina; a1G: alfa-1 globulinas; a2G: alfa-2 globulinas; b1+2G: beta globulinas; y gG: gamma globulinas, los cuales se detallan en la Tabla 1. El perfil A muestra un patrón aparentemente normal, sin evidencia de picos o bandas anómalas (ver Tabla 1). El perfil B evidencia un aumento moderado de  $\alpha$ 2-globulinas y un incremento significativo de  $\beta$ -globulinas. Por su parte, los perfiles C y D presentan una elevación marcada de  $\alpha$ 2-globulinas,  $\beta$ -globulinas y una hipergammaglobulinemia (gammapatía) policlonal.

La reducción en las concentraciones de albúmina es un hallazgo frecuente en diversas patologías, como procesos inflamatorios agudos, enfermedades hepáticas, trastornos digestivos o renales. Sin embargo, en la patogénesis de la EMC, esta disminución suele ser consecuencia directa de la inflamación aguda, caracterizada por vasculitis y/o daño hepático (Asawakarn et al. 2021). En tres de los casos analizados se determinó hipoalfa1-globulinemia, esta condición se relaciona con la patogénesis de la enfermedad y es producto de una falla de síntesis de proteínas en el hígado (Mylonakis et al. 2011, Ingrosso Langa et al. 2022). La fracción de alfa-2 globulina se encontró por encima de los valores de referencia de manera consistente en siete de los ocho casos analizados. Este aumento se asocia principalmente con el síndrome inflamatorio y con enfermedades infecciosas, como es el caso de la EMC (Mylonakis et al. 2011). Esta hiperalfa-2 globulinemia está relacionada a la variación en la concentración de la haptoglobina, una de las proteínas que migran en la zona de alfa-2 globulina (Tóthová et al. 2016). Por otra parte, también se identificó hiperbetaglobulinemia en dos de las ocho muestras analizadas (Figura 1). Este incremento en los niveles de beta globulinas se asocia comúnmente con procesos inflamatorios, lo cual concuerda con observaciones de pacientes con EMC (Jania y Andraszsek 2016). En estos reportes, se ha documentado que el aumento de beta globulinas puede ser una respuesta inmunológica a infecciones o inflamaciones agudas, especialmente en la EMC (Harrus 1996, Jania y Andraszsek 2016).

Por otra parte, en uno de los casos analizados se observó hipobetalglobulinemia, que puede estar relacionado con una afección hepática subyacente relacionada con la patogenia de la EMC (Mylonakis et al. 2011, Asawakarn et al. 2021). Finalmente, se observó hipergammaglobulinemia policlonal en dos de los ocho casos evaluados (Figura 1 C y D), siendo que la fracción de gammaglobulina está compuesta por diversas inmunoglobulinas, incluyendo Inmunoglobulina G e Inmunoglobulina M, que forman parte del sistema inmunológico y responden a la estimulación por antígenos (Tóthová et al. 2020). La hipergammaglobulinemia asociada a inflamación crónica, como ocurre en caninos con EMC, suele ser de tipo policlonal (Janía y Andraszek 2016), lo que coincide con lo reportado en este estudio. Este fenómeno puede considerarse resultado de una estimulación exagerada y persistente de la rama humoral del sistema inmunológico, lo que induce la activación de numerosos clones de linfocitos (Harrus et al. 1996, Cidoncha Gallego et al. 2001). La hipogammaglobulinemia, observada en seis de los ocho pacientes (Figura 1), no es una manifestación frecuente en la EMC. Esta alteración podría estar relacionada con los procesos patogénicos de la enfermedad. La disfunción de las células B, la presencia de autoanticuerpos y la pérdida proteica podrían contribuir a la disminución de los niveles de inmunoglobulinas y a la consiguiente susceptibilidad a infecciones (Crisman y Scarratt 2008, Waner et al. 1997). Este resultado coincide con lo descrito por Harrus et al. (1996), quienes documentaron casos de hipogammaglobulinemia en caninos con EMC. Es importante destacar que, en este estudio, se abordaron descriptivamente cada una de las alteraciones del proteinograma de manera individual. Sin embargo, también es fundamental realizar una evaluación conjunta, ya que esto nos permitirá determinar la relevancia de cada alteración en el contexto global del proteinograma.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos revelan una asociación entre la EMC y alteraciones del proteinograma, lo que sugiere su potencial como biomarcador para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. A pesar de las limitaciones del tamaño muestral, este estudio se considera pionero en Argentina y sienta las bases para futuras investigaciones que profundicen en la comprensión de la patogénesis de la EMC y el desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas.

## ORCID

Delgado, M.B.  <https://orcid.org/0009-0003-3378-6185>

Mansilla S.L.  <https://orcid.org/0009-0009-7619-8811>

Cainzos, R.P.  <https://orcid.org/0000-0001-8176-3461>

Rosner, M.V.  <https://orcid.org/0000-0002-6359-7794>

## REFERENCIAS

1. Aguiar DM, Ziliani TF, Zhang X, Melo AL, Braga IA, Witter R. *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 1: 1-8.
2. Asawakarn S, Dhitavat S, Taweethavonsawat P. Evaluation of the hematological and serum protein profiles of blood parasite coinfection in naturally infected dogs. *Thai J Vet Med.* 2021; 51: 723-728.
3. Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Qurollo BA, Saito TB, Maggi RG, Blanton LS, Bouyer D. Intravascular persistence of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii* DNA in the blood of a dog and two family members. *Parasit Vectors.* 2014; 7: 298-304.
4. Ceron JJ, Eckersall PD, Martynez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 2005; 34: 85-99.
5. Coppo JA. Fisiología comparada del medio interno. Buenos Aires (Argentina): Dunken; 2001. p. 284.
6. Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute phase response in animals: a review. *Comp Med.* 2009; 59: 517-523.
7. Crisman MV, Scarratt WK. Immunodeficiency disorders in horses. *Comp Vet Ed.* 2008; 24(2): 299-310.
8. Doyle CK, Labruna MB, Breitschwerdt EB, Tang YW, Corstvet RE, Hegarty BC. Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the *dsb* gene. *J Mol Diagnostics.* 2005; 7: 504-10.
9. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999; 340(6): 448-454.
10. Gallego AC, Lucena EP, López AV, Bastanzuri MZ, Mezcua AZ, Roldán CV. El proteinograma en la práctica clínica. *Med Integral.* 2001; 38: 127-132.
11. Harrus S, Waner T, Avidar Y, Bogin, E, Peh H, Bark H. Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. *Vet Parasitol.* 1996; 66(3-4): 241-249.
12. Ingrosso Langa A, Ordás Miguélez MS, Viñuales Aranda MD, Alarcón Sisamón S. Revisión del déficit de alfa 1 antitripsina. *Revista Sanitaria de Investigación.* (s.f.). 2022. Recuperado de <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/revision-del-deficit-de-alfa-1-antitripsina/>
13. Janía B, Andraszek K. Application of native agarose gel electrophoresis of serum proteins in veterinary diagnostics. *J Vet Res.* 2016; 60(4): 501-508.
14. Jasensky A, Bondzio A, Murugaiyan, J, Siebert U, Roesler U, Kohn B, Einspanier R. Characterization of the native C-reactive protein (cCRP) and the corresponding liver mRNA in dogs. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 452(3): 462-467.
15. Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J.* 2004; 168: 28-40.
16. Mylonakis JJ, Cerón L, Leontides V, Siarkou S, Martínez A, Tvarijonavičiute AF, Koutinas S. Proteínas de fase aguda séricas como indicadores de fase clínica y predictores de resultados en la ehrlichiosis monocítica canina de aparición natural. *Rev. Med. Intern. Vet.* 2011; 25(4): 811-817.
17. Ravník U, Tozon, N, Strasek K, Zupanc T. Anaplasmosis in dogs: The relation of haematological, biochemical and clinical alterations to antibody titre and PCR confirmed infection. *Vet. Microbiol.* 2010; 149 (2): 172-176.

18. Santarém VA, de Deus JM, Laposy CB. Alterações bioquímicas em cães citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. *Sem. Ci. Agr.* 2008; 29(4): 845-852.
19. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol.* 2018; 13(9): 754.
20. Tóthová C, Nagy O, Kočvar G. Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: A review. *Vet. Med.* 2016; 61(9): 475-496.
21. Tóthová C, Karasová, M, Blaňarová L, Fialkovičová M, Nagy O. Differences in serum protein electrophoretic pattern in dogs naturally infected with *Babesia gibsoni* and *Babesia canis*. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 18904.
22. Waner T, Harrus S, Bark H, Bogin E, Avidar Y, Keysary A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. *Vet. Parasitol.* 1997; 69(3-4): 307-317.