

Caso clínico: *Anaplasma phagocytophilum* en un paciente canino.

Case report: *Anaplasma phagocytophilum* in a dog.

Ignacio Troncoso¹ MV, Christof Fischer² MV Ph.D, Cherres Villarroel³ MV, Daniel Herzberg⁴ MV.

Recibido: 22 Abril 2014
Aceptado: 22 de Junio 2014

Resumen

Se describe el caso de un paciente canino hembra entera, Cocker Spaniel, de 6 años de edad, el cual presenta una rinorragia unilateral. Las alteraciones al hemograma (trombocitopenia) y exámenes complementarios (ELISA SNAP 4DX) permiten concluir que el cuadro era producido por *Anaplasma phagocytophilum*.

Palabras claves: rinorragia, anaplasmosis, trombocitopenia, ELISA.

Summary

The case of a female patient canine whole, Cocker Spaniel, 6 years old, which has a unilateral rinorragia described. Alterations in blood count (thrombocytopenia) and complementary tests (ELISA SNAP 4DX) allow to conclude that the picture was produced by *Anaplasma phagocytophilum*.

Keywords: nosebleed, , thrombocithopeny, ELISA.

Antecedentes: Se presenta a consulta "Kiara" canino (*Canis lupus familiaris*), hembra entera, de aproximadamente seis años de edad, Cocker Spaniel y de 12 kg. de peso.

Motivo de consulta: Paciente manifestó sangrado nasal profuso unilateral (rinorragia) y lesión hemorrágica (hematoma) a nivel abdominal.

Anamnesis remota: El paciente cuenta con su calendario de vacunación y desparasitación al día.

Anamnesis actual: El paciente presenta rinorragia unilateral, de inicio 24 horas previas al momento de la consulta. Habita en departamento, no tiene contacto con otros animales. No existen antecedentes previos de trauma en la zona y se descarta el empleo de roenticidas en el hogar. Dos semanas previas al cuadro, la paciente fue llevada a una peluquería, en la cual se contagió con garrapatas, las cuales fueron tratadas con Fipronil; (Frontline®) en modalidad pipeta.

Examen Clínico: Al examen clínico se encuentra levemente excitada, mucosas rosadas pálidas, tiempo de llenado capilar de dos segundos, condición corporal 3 de 5, FC 120 latidos por minuto, respiración agitada (jadeos) T° 38.9°C, linfonodos aumentados de tamaño, con deshidratación del 5%. Se observa hemorragia nasal unilateral izquierda y hematoma en la línea media ventral.

Prediagnósticos: Trauma, carcinoma de células escamosas, TVT (Tumor venéreo transmisible), coagulopatía (intoxicación por roenticidas), rinitis micótica o Anaplasmosis canina.

Luego de descartar al examen clínico un problema de origen traumático, se procede a sospechar como posible cuadro anaplasmosis, ya que el paciente presentaba antecedentes de infestación por garrapatas, y signos de epistaxis, a pesar de no presentar petequias, ni alteraciones constantes para esta enfermedad. También existía la alternativa de coagulopatías aunque no existía

¹ Docente área de Patología y Jefe de Carrera Universidad Santo Tomás Sede Concepción. ignaciotroncoso@santotomas.cl

² Director de Hospital Veterinario Docente Universidad Santo Tomás Sede Concepción. cfischer@santotomas.cl

³ Centro Veterinario Alemán Kleintierklinik, Concepción, Chile.

⁴ Colaborador Docente Anestesiología Veterinaria, Clínica Veterinaria Universidad de Concepción. danielherzberg@udec.cl

alteración del tiempo de coagulación. Como último prediagnóstico se evaluó la posibilidad de presentación de neoplasias tipo carcinoma o TVT, que sería descartado en una segunda etapa al no existir criterios citológicos compatibles con la enfermedad. Ante los antecedentes descritos, se recurre a realizar un hemograma, perfil bioquímico y análisis citológico.

Exámenes solicitados: Se procedió a realizar un hemograma, en el que se establece la presencia de una anemia aregenerativa, leucocitos con neutrofilia, monocitosis y una marcada trombocitopenia. Al efectuar un perfil bioquímico, se evidenció aumento del NUS y urea (Tabla 1). Además, se realiza un análisis citológico de la secreción nasal, observando la presencia de abundantes eritrocitos, moderada cantidad de neutrófilos degenerados y escasa cantidad de linfocitos (Fig.1). En ciertas zonas destaca la presencia de células poligonales, de bordes angulares, de tipo epitelial no queratinizadas descamativas, con la presencia de estructuras compatibles con cuerpos de inclusión

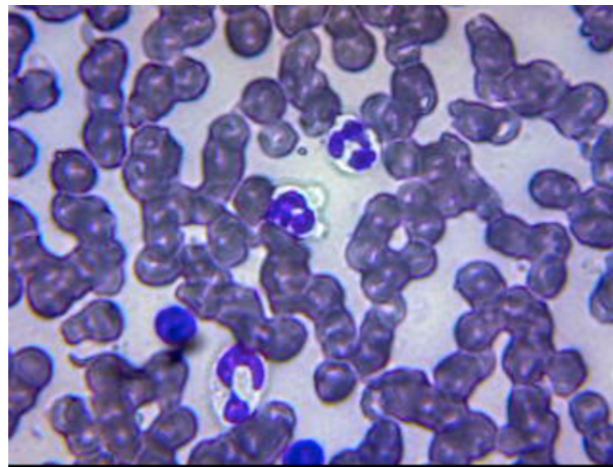


Figura 1. Frotis de secreción nasal con tinción Diff-Quick objetivo 100X. Abundantes eritrocitos, neutrófilos degenerados y escasos linfocitos. (Dr. MV. Ignacio Troncoso, Patología Veterinaria UST).

Tabla 1: Perfil bioquímico y hemograma del paciente.

Parámetro	Paciente	Valores de referencia
Hematocrito	33%	37-55
Hemoglobina	11 gr/Dl	12-18
V. C. M	66.0 fL	60-77
C. H. C. M	33 gr/Dl	32-37
Reticulocitos	< 1%	1
Rcto. Plaquetas 1000/ µL	20	200-500
Rcto. Leucocitos	17.300 / µL	8.000 - 14.000
Rcto. Eritrocitos	5,0 X 10 ⁶ / µL	5.5-8.5
Segmentados	11.764/ µL	3.300 - 10.000
Linfocitos	4.152/ µL	1.000 - 4.500
Baciliformes	0	0,0 - 300
Monocitos	1038/ µL	100-700
Eosinofilos	173 / µL	100-1500
Proteínas totales	58 g/L	55-75
Albumina	28 g/L	26-28
NUS	31 mg/ dL	10-28
Creatinina	0,7 mg/ dL	0,5 - 1,5
Urea	67 mg/ dL	22-56
Glucosa	119 mg/ dL	80-120
G.P.T	33 UI / L	8,2-57,3
F.A	88 UI / L	10,6- 100,7
G.G.T	8 UI/ L	1-9,7

(DT. Dra. Mitzi Cherras, Centro Veterinario Alemán).

a nivel citoplasmático (Fig 2). Ante la sospecha de infección por *Ehrlichia spp*, se realiza la búsqueda de hemoparásitos al frotis sanguíneo y el test serológico de ELISA SNAP 4DX de IDEXX, resultando negativo ambos, sin embargo, se observó reacción positiva para *Anaplasma phagocytophilum*. (Fig. 3)

Tratamiento: Ante los resultados expuestos el paciente es tratado con Fitomenadiona (2,5 mg/kg IV c/12 horas, fluido Ringer Lactato 50 mL/kg/día y doxiciclina 5 mg/kg cada 12 horas, durante 20 días.

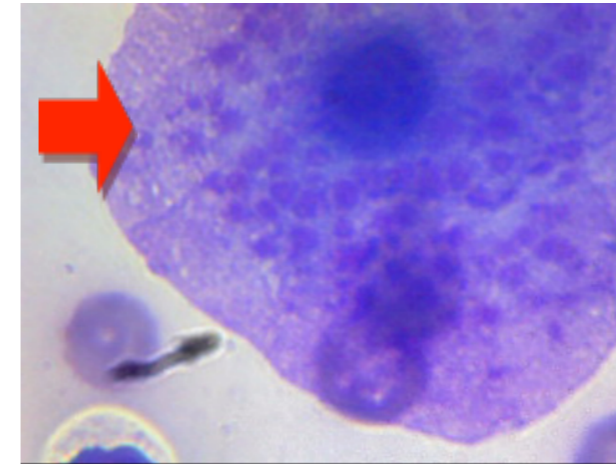


Figura 2. Frotis de exudado nasal con tinción Diff-Quick objetivo 100X. Presencia de célula epitelial con múltiples inclusiones intracitoplasmáticas (Flecha roja). (Dr. MV. Ignacio Troncoso, Patología Veterinaria UST).



Figura 3. SNAP 4dx IDEXX, resultado positivo para IgG contra *Anaplasma phagocytophilum* (Flecha roja). (Dr. MV. Ignacio Troncoso, Patología Veterinaria UST).

Evolución Clínica: Luego de tres horas posteriores de la administración de los fármacos, la hemorragia se detuvo; solo persistía el hematoma abdominal. La paciente se mantuvo hospitalizada por 72 horas en las cuales el apetito, la ingesta de líquido, ánimo, constantes fisiológicas se mantuvieron dentro de los rangos normales.

Discusión

La anaplasmosis es una enfermedad infecciosa hemoparasitaria producida por bacterias del género *Anaplasma spp.*, que pertenecen a la familia *Anaplasmataceae*.¹ Se conocen varias especies, las cuales pueden afectar a diferentes tipos de animales; dentro de ellos podemos incluir a bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, equinos, perros, gatos, humanos y especies silvestres.²

Por análisis de las secuencias del gen ARNr 16S, se ha realizado una reorganización taxonómica de los miembros del orden Rickettsiales, de tal manera que *A. platys*, *A. phagocytophilum* y *A. bovis*, anteriormente reconocidos como miembros del género *Ehrlichia* (*E. platys*, *E. phagocytophila* y *E. bovis*), pasaron a formar parte del género *Anaplasma* por presentar similitudes de al menos 96.1% en la secuencia genética del gen.³

En el caso de los caninos, podemos mencionar como agente etiológico de la enfermedad a dos especies, éstas son *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys*⁴, bacterias Gram negativas, no móviles, de morfología cocoide a elipsoide, que varían de tamaño entre 0,35 a 1,55 µm de diámetro. Son patógenas intracelulares obligadas de células hematopoyéticas, que se replican dentro de una vacuola derivada de la membrana de la célula eucariota madura o inmadura del hospedero mamífero.⁵ La infección causada por la primera especie es transmitida por garrapatas del género *Ixodes*, produciendo la anaplasmosis granulocítica canina, mientras que, la infección causada por la segunda bacteria es transmitida principalmente por *Rhipicephalus sanguineus*, produciendo la Trombocitopenia Cíclica Infecciosa Canina (TCIC).⁶

La anaplasmosis se encuentra ampliamente distribuida en todas las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, donde sus vectores encuentran las condiciones climáticas que garantizan su evolución durante todas las épocas del año.⁷ A la vez, es endémica en las regiones superiores del Medio Oeste, Este y Noreste de los Estados Unidos, así como las regiones costeras occidentales. Países europeos como el Reino Unido, Noruega, Suecia, Suiza y Alemania también han reportado infecciones en los rumiantes, caninos y personas. La enfermedad ha sido descrita con

menor frecuencia en Asia y América del Sur. En los Estados Unidos, la mayoría de los brotes de enfermedades son estacionales y coinciden con la aparición de vectores de garrapatas en la primavera y principios del verano y luego, nuevamente, en el otoño.⁴

En Chile, se ha registrado la presencia de *A. phagocytophilum* en un estudio realizado en la comuna de San Bernardo, ciudad de Santiago; donde se obtuvo un 86% de seropositividad en un total de 31 pacientes caninos mediante la técnica de IFI.⁸ Otro estudio efectuado en Santiago de Chile, a 77 caninos de zonas urbanas con dueños, en el que se analizaron los sueros mediante IFI comercial de FühlerLab, dio un resultado del 69% con serología positiva para *A. Phagocytophilum*.⁹ A la vez, en la misma ciudad, se analizaron a 30 pacientes caninos que visitaban una clínica veterinaria; resultaron seis positivos a *A. platys*, agente que fue identificado por medio de PCR y, aunque para este agente aún no se ha determinado claramente un vector, se sospecha de *Rhipicephalus sanguineus*, garrapata que se encuentra infestando a la gran mayoría de los caninos en Chile.¹⁰

Los antecedentes más recientes se efectuaron en la ciudad de Talca, donde se determinó la seroprevalencia de *A. phagocytophilum* por medio del SNAP de IDEXX en caninos vagabundos, donde de un total de 25 caninos muestreados, 12 fueron positivos, lo que corresponde al 48% de seroprevalencia, siendo esta la primera vez que se documenta la presencia de anticuerpos contra este agente en perros vagabundos en la ciudad de Talca.¹¹

Finalmente, Uribe y Vidal (2012)¹² realizaron un estudio en la Provincia de Concepción, con el propósito de caracterizar la seroprevalencia de *E. canis* en cinco comunas, con un total de 400 animales muestreados mediante técnica de ELISA (Snap 4DX®). Producto del uso de esta técnica de diagnóstico, se encontró la presencia de anticuerpos contra *Anaplasma spp.*, obteniendo 76 casos seropositivos, estableciéndose con ello una seroprevalencia del 19%.¹²

Los signos clínicos de la anaplasmosis en el perro son inespecíficos, pudiendo encontrarse individuos asintomáticos.¹³ En todos los casos, la severidad de la infección dependerá de varios factores, entre los que se incluyen edad, estado del sistema inmune y variante de *Anaplasma spp.* involucrada.¹⁴ Los hallazgos más consistente en la anaplasmosis son fiebre, letargia o depresión y anorexia, que ocurren en el 75% de los perros. En más de la mitad de los perros es evidente el dolor musculoesquelético, caracterizado por incapacidad

para moverse o rigidez, debilitamiento, úlceras y cojeras. Menos del 10% de los perros sufren dolor de articulaciones. Un pequeña cantidad de perros presentan vómito y/o diarrea o signos respiratorios como tos o disnea.¹⁵ Es posible también observar hinchazón, linfadenomegalia y signos neurológicos.¹³

En *A. phagocytophilum* ocurre trombocitopenia, linfopenia y elevación de las transaminasas. En el caso de *A. platys*, la trombocitopenia deriva en un bacteremia y trombocitopenia cíclica de 10 a 14 días de intervalo, anemia no regenerativa, leucopenia e hipoalbuminemia.^{4,13} A diferencia de las manifestaciones asociadas con *E. canis* o *A. platys*, en infección por *A. phagocytophilum* no muestra signos de trastornos hemorrágicos.¹⁵

En el caso de *A. phagocytophilum*, una característica distintiva de esta forma de anaplasmosis es que puede resultar en la enfermedad subclínica o un estado de portador crónico. La enfermedad clínica se ha reportado con mayor frecuencia en perros de ocho años de edad. Golden Retrievers y labradores están excesivamente representados en la mayoría de los informes, pero no está claro si este es el resultado de la susceptibilidad de la raza, es por la frecuencia de la exposición en estas razas o debido a su extensa crianza.⁴ En caninos y equinos, los principales síntomas de la anaplasmosis granulocítica son fiebre, letargia, inapetencia, vómitos y diarrea. Con menor frecuencia se presenta cojera, polidipsia y hemorragia, edema de los miembros, ataxia, ictericia, linfadenopatía, tos no productiva y los signos neurológicos como convulsiones. La alteración en la función neutrofilica y la leucopenia producida por la infección por *A. phagocytophilum* puede predisponer al desarrollo de infecciones oportunistas secundarias, que potencialmente pueden ser causa de mortalidad.¹

El diagnóstico de estas enfermedades se determina a través de los signos clínicos presentados en el paciente, conjuntamente con las alteraciones hematológicas y bioquímicas encontradas.¹³ Se incluyen también la identificación de mórulas o cuerpos de inclusión en frotis sanguíneos y la detección de anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI).² Además, se utilizan pruebas serológicas rápidas en la práctica clínica diaria, debido a su fácil manejo y rapidez en el diagnóstico, como la prueba de ELISA SNAP® 4Dx® (IDEXX Laboratories), y a través de pruebas moleculares capaces para identificar secuencias específicas de ADN, como la prueba de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).¹⁶

Dentro de las alteraciones hematológicas, lo más común observado en perros clínicamente afectados es una leve a grave trombocitopenia, visto en más de 80% de los perros con infección aguda. Además, muchos animales tendrán inicialmente linfopenia, pero más tarde pueden desarrollar una linfocitosis reactiva; en raras ocasiones, se observa neutropenia.⁴

El test ELISA Snap 4Dx es un test que proporciona resultados para la detección de anticuerpos contra *A. phagocytophilum*, *A. platys*, *E. ewingii*, *E. canis*, *B. burgdorferi* y antígenos contra *Dirofilaria immitis*, en ocho minutos. Tiene especificidad de 100% y sensibilidad de 99,1% para *Anaplasma spp.* Este test es de uso clínico y constituye un método de diagnóstico periódico y rápido. El SNAP emplea antígenos purificados que proporcionan mayor sensibilidad y especificidad respecto a test que emplea células enteras (IFI y Western blot), ya que la tecnología basada en péptidos únicamente permite evaluar la presencia de anticuerpos muy específicos frente a los agentes, lo que descarta los falsos positivos. Los otros test que utilizan células enteras detectan todos los anticuerpos producidos contra estos microorganismos, pudiendo dar falsos positivos.¹⁷

La anaplasmosis canina es una enfermedad emergente que se encuentra subdiagnosticada, debido a que no presenta signos patognomónicos, y en muchas ocasiones es confundida clínicamente con ehrlichiosis canina, por lo que se hace necesario realizar un buen diagnóstico clínico, tomando en cuenta el antecedente de infestación por garrapatas, sumado a una prueba diagnóstica (serología) que nos permita detectar el contacto con el agente infeccioso.

Referencias bibliográficas:

1. Carrade D, Foley J, Borjesson D, Sykes J. Canine granulocytic Anaplasmosis: a review. J Vet Intern Med; 2009, 23:1129-1141.
2. Ábrego L, Dolz G, Romero L, Campos-Calderón L, Bouza-Mora L, Jiménez-Rocha A. Ehrlichiosis y anaplasmosis en Costa Rica. Acta Médica Costarricense; 2013, 55 (1): 34-40.
3. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC. Reorganization of genera in the families 'Rickettsiae' and 'Anaplasmataceae' in the order Rickettsiales: Unification of some species of *Ehrlichia* and *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int J Syst Evol Microbiol; 2001, 51:2145-2165.
4. Alleman R, Wamsley HL. An update on anaplasmosis in dogs. 2008. [Fecha de consulta 20 de setiembre 2013] Disponible

en: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/vetmed/Medicine/An-update-on-anaplasmosis-in-dogs/ArticleStandard/Article/detail/506867>.

5. Oviedo M. Evaluación de la hemostasia en perros de raza beagle infectados experimentalmente con una cepa de *Anaplasma platys*. Tesis (Médico Veterinario). Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias; 2011.

6. IDEXX. Guía clínica de Referencia de Enfermedades Transmitidas por Vectores. 2010. Disponible en: http://www.idexx.es/pdf/es_es/smallanimal/snap/4dx/snap-4dx-clinical-reference-guide.pdf

7. Soto K. Determinación de la prevalencia de anaplasmosis en el ganado bovino faenado en la empresa Metropolitana de Rastro de Quito (EMRQ) mediante la aplicación de las técnicas de diagnóstico: microscopía de frotis sanguíneos, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y ensayo inmunoenzimático competitivo (cELISA). Tesis (Médico Veterinario). Sangolquí, Escuela Politécnica del Ejército. Ingeniería en Biotecnología; 2010.

8. Gutjahr C. Caracterización de las Alteraciones Clínicas y Hematológicas de la Ehrlichiosis canina. Tesis (Médico Veterinario). Santiago, Chile. Universidad Santo Tomás. Facultad de Medicina Veterinaria; 2005.

9. López Del PJ, Abarca VK, Azócar AT. Evidencia Clínica y Serológica de Rickettsiosis Canina en Chile. Rev Chil Infectol; 2007, 24(3): 189-193.

10. Abarca, K., López, J., Perret, C., Guerrero, J., Godoy, P., Veloz, A., Valiente, F., León U, Gutjahr C, Azocar T. *Anaplasma platys* in dogs, Chile. Emerg Infect Dis; 2007, 13(9): 1392-5.

11. Ortiz M. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* y *Anaplasma phagocytophilum* en caninos vagabundos de dos sectores urbanos de la ciudad de Talca, región del Maule, Chile. Tesis (Médico Veterinario). Talca, Chile, Universidad Santo Tomás, Escuela de Medicina Veterinaria; 2012.

12. Uribe L., Vidal B. Seroprevalencia de *Ehrlichia canis* en perros de cinco comunas de la Provincia de Concepción, Chile. Tesis (Médico Veterinario). Concepción, Chile, Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Veterinarias; 2012.

13. Rubio AM, Salas EA, Gómez G. Presencia de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* y *Anaplasma sp* en canes de la ciudad de Lima. Rev Inv Vet Perú; 2011, 22 (3): 233-238.

14. Stuen S. *Anaplasma phagocytophilum*: the most widespread tick-borne infection in animals in Europe. Vet Res Comm; 2007, 31:79-84

15. Greene C. Ehrlichiosis, neorickettsiosis, anaplasmosis e infección por Wolbachia. En su: Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 3ª ed. Inter-médica. Buenos Aires, Argentina;

2008: 227-250.

16. Hoyos L. Evaluación del Examen Hematológico en el Diagnóstico de Ehrlichiosis canina. Rev Inv Vet Perú; 2007, 18 (2): 129-134.

17. IDEXX. Canine Heartworm Antigen - Anaplasma Phagocytophilum -Borrelia Burgdorferi - Ehrlichia Canis Antibody Test Kit. 2007. Disponible en: www.idexx.es