

PIROPLASMOSIS CANINA POR *Rangelia vitalii* (PROTOZOA, PIROPLASMIDA) EN LA CIUDAD DE CONCORDIA, ENTRE RÍOS

R. O. Sánchez¹, G.A.Moré^{2,3}, C. A. Boero¹, D. F. Eiras^{2,4}

¹ Laboratorio Mesopotámico de Diagnóstico Veterinario. Ramirez 72, Concordia, Entre Ríos, Argentina.

² Laboratorio de Inmunoparasitología, Dto. Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, CC 296 (B1900AVW), La Plata, Argentina.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

⁴ Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Pueyrredón 1098 (B1828ADD), Banfield, Buenos Aires, Argentina

e-mail: ricardosanchez74@gmail.com

Introducción

La piroplasmosis canina producida por *Rangelia vitalii* es una parasitosis transmitida por garrapatas denominada usualmente “*nambiuvú*” (orejas sangrantes). La infección está descrita en perros del sur y sudeste del Brasil desde principios del siglo XX y en los últimos años ha cobrado gran importancia dentro de los hemoparásitos que afectan a los caninos de esa región. Esta enfermedad se encuentra reportada también en Uruguay y, más recientemente, en un perro de Misiones, Argentina. *Rangelia vitalii* es un protozooario piroplasmida cuyos merozoítos se observan dentro de los eritrocitos, leucocitos y en las células endoteliales de los capilares de diversos órganos, pero también pueden encontrarse libres en el plasma sanguíneo. Los merozoítos son morfológicamente indistinguibles de los de otras especies de piroplasmas grandes (>2.5 µm) que afectan a los perros (ej. *Babesia vogeli*). La garrapata *Amblyomma aureolatum* es el principal vector involucrado en la trasmisión de la enfermedad y se ha demostrado trasmisión transovárica y transestadial del parásito en esta especie.

Muchos de los cambios clínico-patológicos asociados a la infección son similares a los descritos en otras enfermedades transmitidas por vectores que afectan a los eritrocitos o leucocitos de los caninos. Las manifestaciones clínicas más frecuentes comprenden fiebre, anemia, ictericia, esplenomegalia, linfadenomegalia, hemorragia gastrointestinal, debilidad, apatía y sangrado nasal, oral y/o de la punta, márgenes y superficie externa del pabellón auricular.

El presente reporte alerta sobre la presencia de rangeliosis canina por *Rangelia vitalii* en perros de Concordia, Entre Ríos, a fin de incluirla dentro del diagnóstico diferencial de los patógenos que afectan a los perros de la región.

Materiales, métodos y resultados

Descripción de los casos:

Los casos reportados en este trabajo provienen de estudios solicitados al Laboratorio Mesopotámico de Diagnóstico Veterinario, a partir de muestras de caninos oriundos de la Ciudad de Concordia, Entre Ríos (fotos 1, 2, 3 y 4).

Canino 1: Noviembre de 2012, macho, Boxer, 1 año de edad. Presentaba signos de debilidad, fiebre y anemia. Presencia de garrapatas en los días previos al diagnóstico. En el frotis de sangre se observaron piroplasmas grandes ($>2.5 \mu\text{m}$) dentro de los eritrocitos y fue diagnosticado inicialmente como babesiosis.

Canino 2: Enero de 2013, macho, mestizo, 10 años de edad. Presentaba sangrado espontáneo en la pared derecha del abdomen, sin laceraciones en la piel; mucosas pálidas e ictericas. No se observaron hemoparásitos en el frotis de sangre venosa. Se realizó una citología de nódulo linfático para diagnóstico de leishmaniosis y se observó la presencia de merozoítos fuera de globulos rojos de tamaño grande.

Canino 3: Noviembre de 2013, bóxer, 1 año de edad. Presentaba anemia, decaimiento y caminaba con dificultad. Se realizó un hemograma y no se observaron hemoparásitos en el frotis de sangre venosa. Al día siguiente presentó ictericia marcada. Se realizó un frotis de sangre capilar (oreja) y se observaron glóbulos rojos parasitados con merozoítos de piroplasmas de tamaño grande. El animal murió un día después del diagnóstico sin alcanzar a realizar tratamiento.

Canino 4: Enero de 2014, macho, ovejero alemán, 1 año de edad. Presentaba anemia y sangrado espontáneo en las orejas y en el borde de hocico. El propietario había tenido dos perros con la misma sintomatología anteriormente y ambos murieron. Ante la sospecha clínica, se realizó un extendido del sangrado de la oreja donde se observó la presencia de merozoítos de piroplasmas de tamaño grande dentro y fuera de los eritrocitos. Se realizó el tratamiento con imidocarb con muy buenos resultados y respuesta clínica.

Pruebas moleculares:

Las muestras de sangre con anticoagulante (EDTA) de los 4 animales se conservó a -20°C hasta el momento de la extracción y amplificación del ADN parasitario en el Laboratorio de Inmunoparasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Se realizó la amplificación parcial de gen 18S ARNr mediante *nested-PCR* con primers BT específicos para protozoarios de los géneros *Babesia* y *Theileria*. Las 4 muestras evidenciaron un producto de amplificación (de aprox. 800 pares de bases) que se cortó con las enzimas de restricción HinfI, BstI y HindIII. Se observó un patrón de corte característico para la especie *R. vitalii* en todos los casos (Figura 1).

Además, el producto sin cortar se purificó y remitió para secuenciación. El consenso de las secuencias obtenidas mostró un 99-100% de identidad con otras secuencias de *R. vitalii* publicadas en el Gen Bank mediante análisis BLAST.

Discusión

El diagnóstico de rangeliosis canina ha tomado gran importancia durante los últimos años en Brasil. En nuestro país, en relación al primer reporte en un perro proveniente de Misiones, ha comenzado a difundirse la presencia de casos con sintomatología compatible. Si bien la ciudad de Concordia es, hasta el momento, la localización más austral donde se ha documentado la enfermedad, existen reportes en proceso de publicación que constatan la presencia de *R. vitalii* en perros de los Departamentos de Treinta y Tres y Salto (Uruguay). Creemos que la infección se encuentra actualmente en expansión en relación a la presencia de su vector. En la Provincia de Entre Ríos (Estación Yerua) hay registros de *A. aureolatum* desde el año 2003, aunque no se pudo constatar en ninguno de los perros estudiados. Por otro lado, la presencia de rangeliosis exclusivamente en el sur de Brasil, Uruguay y noreste Argentino, hacen sospechar de una distribución restringida del vector, situación que no se corresponde con la amplia distribución mundial de *R. sanguineus*, que había sido anteriormente propuesta como posible vector. También ha sido demostrada la infección con *R. vitalii* en canidos silvestres como el zorro de monte (*Cerdocyon thous*) en Brasil, sugiriendo que la infección en vida silvestre puede ser un reservorio que acompaña la distribución de rangeliosis en la región. En este sentido, se sabe que *A. aureolatum* está mejor adaptada a ambientes rurales y la mayoría de los casos clínicos diagnosticados en Brasil provienen de animales provenientes de áreas rurales o peri-urbanas.

Los hallazgos clínico-patológicos asociados a la infección por *R. vitalii* puede confundirse con otras enfermedades transmitidas por vectores en perros (babesiosis, hepatozoonosis, ehrlichiosis, leishmaniosis), por lo que resulta necesaria su inclusión como diagnóstico diferencial dentro de este grupo de enfermedades y otras productoras de anemia, ictericia, y trastornos hemostáticos como por ejemplo la leptospirosis. Los hallazgos de laboratorio suelen corresponderse con anemia extravascular hemolítica inmunomediada. La anemia comienza como normocítica y normocrómica y evoluciona hacia macrocítica e hipocrómica en la medida que la enfermedad progresa. La anisocitosis con policromasia, reticulocitosis y eritroblastosis, junto a la presencia de cuerpos de Howell-Jolly, son los hallazgos comunes observados en el extendido sanguíneo de perros infectados con *R. vitalii* e indican el carácter regenerativo de la anemia. Puede observarse también esferocitosis, aglutinación de glóbulos rojos y eritrofagocitosis. El recuento total de leucocitos puede ser normal o presentar leucopenia o leucocitosis. En este último caso, la leucocitosis se suele producir debido a un aumento en el número de neutrófilos (células en banda y metamielocitos), linfocitos y monocitos. Puede haber trombocitopenia leve a moderada. La trombocitopenia no es el único mecanismo responsable de las hemorragias que se observan en los perros infectados con *R. vitalii*, teniendo una importancia mayor en este sentido, la infección y destrucción que sufren las células endoteliales de los capilares sanguíneos por este parásito. Dentro de los hallazgos en la bioquímica sérica, suelen observarse alteraciones de las enzimas hepáticas a causa de la hipoxia que sufre el hígado durante la anemia. La urea y creatinina suelen estar dentro de parámetros normales. Un aumento de la bilirrubina sérica debido a la hemólisis extravascular es un hallazgo significativo en estos casos. La orina de estos animales suele ser oscura debido a la presencia de urobilinógeno y bilirrubina.

Si bien no hay signos clínicos patognomónicos, los más comunes son: anemia, ictericia, sangrado persistente de las fosas nasales, cavidad bucal, ojos, sitios de venopunción y márgenes y superficie lateral del pabellón auricular. Suele haber hepatoesplenomegalia y linfadenopatía. El curso clínico de la enfermedad varía desde unos pocos días hasta un máximo de 3 meses y los primeros signos clínicos se observan 5 a 15 días después de la primoinfección. Durante la fase aguda de la enfermedad, los animales pueden estar febriles, apáticos, debilitados y con las membranas mucosas pálidas o de color amarillento. Pueden morir 3 a 5 días después de los primeros signos clínicos si no se tratan adecuadamente.

El diagnóstico de rangeliosis canina en el animal vivo se basa en la historia clínica, la sintomatología, el curso de la enfermedad, el hemograma, la evaluación de frotis de sangre periférica y la respuesta a la terapia. En los casos con infección experimental, *R. vitalii* fue encontrado en muestras de sangre periférica 5 días después de la inoculación. El pico de la parasitemia se observó alrededor del día 10 post infección con parasitemias muy bajas después de ese momento. El examen de un extendido de sangre teñido con Giemsa, Romanovsky u otro colorante habitual utilizado para hematología, puede dar resultados positivos hasta en un 71% de los casos. La sensibilidad de esta técnica aumenta cuando se utiliza sangre periférica (borde de la oreja o punta de la cola). La punción de nódulos linfáticos o de medula ósea puede ser de ayuda en el diagnóstico. Se destaca, por último, la importancia del diagnóstico molecular a fin de arribar al diagnóstico definitivo; sobre todo cuando solo se observan en el frotis sanguíneo piroplasmas intraeritrocitarios.

Para el tratamiento, se ha utilizado con éxito el aceturato de diminaceno en una sola dosis (3.5 mg/kg/IM), logrando eliminar completamente al parásito. Se han reportado tratamientos exitosos con imidocarb (5 mg/kg/IM), en una dosis y doxiciclina (10mg/kg c/12hs/VO) durante 7 días. La prednisolona puede utilizarse como terapia complementaria para tratar los procesos inmunomediados provocados por el parásito. Se recomienda el monitoreo del paciente debido a la toxicidad que presentan las drogas antiprotozoarias.

El presente trabajo reporta la presencia de rangeliosis canina por *R. vitalii* en perros de Concordia, Entre Ríos, diagnosticada con los métodos hematológicos habituales y confirmada con técnicas moleculares. Resulta muy probable que la rangeliosis canina se encuentre actualmente sub-diagnosticada en los perros de todo el noreste Argentino. Nuestra recomendación para los veterinarios de la zona es estar atentos a la presencia de signos compatibles a fin de establecer un diagnóstico diferencial específico.

Bibliografía consultada

1. Da Silva, A.S., Martins, D.B., Soares, J.F., Franca, R.T. 2012. Canine rangeliosis: the need for differential diagnosis. *Parasitol Res* 112,1329–32.
2. Da Silva, A.S., Franca, R.T., Costa, M.M., Paim, C.B., Paim, F.C., Dornelles, G.L., Soares, J.F., Labruna, M.B., Mazzanti, C.M., Monteiro, S.G., Lopes, S.T., 2011. Experimental infection with *Rangelia vitalii* in dogs: acute phase,

- parasitemia, biological cycle, clinical–pathological aspects and treatment. *Exp. Parasitol.* 128, 347–352.
3. Fighera, R.A., Souza, T.M., Kommers, G.D., Irigoyen, L.F., Barros, C.S.L., 2010. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985–2009). *Pesq. Vet. Bras.* 30, 974–987.
 4. Eiras, D.F., Craviotto, M.B., Baneth, G., Moré, G.A. 2014. First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangellosis) in Argentina. *Parasitology International* 63, 729-734.
 5. Franca, R.T., Da Silva, A.S., Paim, F.C., Costa, M.M., Soares, J.F., Mazzanti, C.M., Lopes, S.T.A., 2010. *Rangelia vitalii* in dogs in southern Brazil. *Comp. Clin. Pathol.* 19,383–387.
 6. Franca, R.T., Da Silva, A.S., Loretti, A.P., Mazzanti, C.M., Lopes, S.T.A. 2014. Canine rangellosis due to *Rangelia vitalii*: From first report in Brazil in 1910 to current day – A review. *Ticks and Tick-borne Diseases* 5, 466-474.
 7. Guglielmone, A.A., Mangold, A.J., Boero, C.A., Azcue, R.A. 2002. Nuevo Registro de *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (*Amblyomma striatum* Koch, 1884) en Entre Ríos, Argentina. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 1 (2), 33-35,
 8. Jefferies R., Ryan U.M., Irwin P.J. 2007. PCR-RFLP for the detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. *VetParasitol* 144:20–7.
 9. Loretti, A.P., Barros, S.S., 2004. Parasitismo por *Rangelia vitalii* em cães (“nambiuú”, “peste de sangue”)–uma revisão crítica sobre o assunto. *Arq. Inst. Biol., São Paulo* 71, 101–131.
 10. Loretti, A.P., Barros, S.S., 2005. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 134, 193–213.
 11. Loretti, A.P. 2012. Infecção por *Rangelia vitalii* (rangeliase) em cães. *Rev. Cães&Gatos* 156, 50–53.
 12. Soares, J.F., Costa, F.B., Soares, H.S., Da Silva, A.S., Franca, R.T., Miyashiro, S., Lopes, S.T.A., Monteiro, S.G., Hagiwara, M.K., Labruna, M.B., 2012. Caracterização morfológica, molecular, e estudos dos ixodídeos vetores

de *Rangelia vitalii*. In: XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. São Luis, MA, Brazil, Proceedings, abstract 0PPR, p. 087.

13. Soares, J.F. 2014. História natural da rangeliose. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2014. 121p