

COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS IFA Y FROTIS SANGUÍNEO  
PARA EL DIAGNÓSTICO DE EHRlichiosis CANINA

FABIAN ALEJANDRO GOMEZ TORRES

Informe final de Práctica Profesional para optar al título de  
Médico Veterinario y Zootecnista

Director:

JORGE RICARDO REYES VILLA  
Médico Veterinario y Zootecnista

UNIVERSIDAD COOPERATIVA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECCNIA  
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS ANIMALES  
BUCARAMANGA

2002

## **OBJETIVO GENERAL**

Instaurar la prueba diagnóstica en frotis sanguíneo para perros sospechosos de Ehrlichiosis canina, mejorando la efectividad en los tratamientos debido a que esta prueba facilita el diagnóstico de la enfermedad, por su bajo costo y rápida realización.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Instaurar la prueba diagnóstica hematológica para la Ehrlichiosis canina en la Clínica Veterinaria Pequeños Animales de la ciudad de Bucaramanga.
- Usar diferentes técnicas de coloración (Hemacolor y Wright) para el diagnóstico en placa de la Ehrlichiosis canina, determinando cual de ellas permite una mejor caracterización morfológica del microorganismo.
- Disminuir el índice de diagnósticos y tratamientos erróneos mediante la prueba diagnóstica en frotis sanguíneo para Ehrlichiosis canina, con el fin de obtener una recuperación clínica más rápida del paciente.
- Hacer el acompañamiento de los pacientes de las muestras colectadas.
- Realizar practica clínico quirúrgica como parte del desarrollo médico integral.

## **EHRlichiosis Monocítica y Granulocítica Caninas**

### **CAUSA Y EPIDEMIOLOGIA**

Enfermedad transmitida POR GARRAPATAS (*Rhipicephlus sanguineus*) y causada por parásitos intracelulares del género *Ehrlichia* de la familia *Rickettsiaceae*. El agente causal de la Ehrlichiosis Monocítica Canina (EMC) es la rickettsia *E. canis* y el de la Ehrlichiosis Granulocítica Canina (EGC) es *E. ewingii*, los cuales se multiplican por fisión binaria.

Los humanos pueden adquirir la ehrlichiosis canina. La enfermedad solo se transmite a través de la mordedura de las garrapatas.

### **PATOGENIA**

La infección del huésped vertebrado ocurre cuando una garrapata infectada ingiere sangre y sus secreciones salivales contaminan el sitio donde se alimentan pasando a la circulación del huésped susceptible. El curso subsecuente se ha dividido en tres fases: aguda, subclínica y crónica.

La fase aguda se inicia después de un período de incubación de 8 a 20 días y dura de dos a cuatro semanas. El microorganismo invade las células del sistema fagocítico mononuclear en el bazo, hígado y nódulos linfáticos. Se observan

signos inespecíficos como fiebre, exudado oculonasal, anorexia, depresión, vómito, pérdida de peso y linfadenomegalia. Las anormalidades de laboratorio incluyen: trombocitopenia, leucopenia y anemias variables. A continuación se presenta la fase subclínica de 40 a 120 días. La forma crónica grave se caracteriza por deterioro de la producción medular de elementos sanguíneos que da por resultado Pancitopenia.

## **SIGNOS CLINICOS**

**Multisistémicos.** Depresión, letargo, pérdida de peso y anorexia con hemorragias o sin ellas (petequias y equimosis), siendo más frecuente la epistaxis.

**Oculares.** Cambios en el color y aspecto de los ojos que puede presentar ceguera. Uveítis anterior y afección de la retina.

**Neuromusculares.** Meningitis por inflamación, hemorragias o ambas. Se han observado convulsiones, estupor, ataxia, disfunción vestibular aguda, anisocoria, temblor de intención e hiperestesia generalizada o localizada. Polimiositis.

**Poliartritis.** Cojera con marcha rígida secundaria a poliartropatía. La enfermedad articular por hemartrosis o depósito de complejos inmunitarios.

**Reproductivos.** Prolongación del sangrado durante el estro, incapacidad para concebir, aborto y muerte neonatal.

**Fase crónica.** Anorexia, depresión, pérdida de peso crónica y emaciación, membranas mucosas pálidas, distensión abdominal, fiebre y edema periférico sobre todo de los miembros posteriores y el escroto.

## **DIAGNOSTICO**

**Hematología.** Anemia (82%), trombocitopenia (82%) y leucopenia (32%).  
Pancitopenia en fase crónica.

**Bioquímica.** Hiperproteinemia (33%), hiperglobulinemia (39%), hipoalbuminemia (43%) y ALT elevada.

**Extendido.** Mórulas con una positividad del 4 – 6 %, pero este porcentaje aumenta considerablemente cuando se demuestran cuerpos elementales.

**Serología.** El diagnóstico suele basarse en resultados positivos de la prueba de IFA. También PCR, Western Inmunoblot y ELISA.

## **DATOS HISTOPATOLÓGICOS**

Hemorragias Petequiales y equimóticas en las superficies serosas y mucosas de la mayor parte de los órganos. Infiltrado perivascular de células plasmáticas en pulmón, cerebro, meninges, riñones, ganglios linfáticos, médula ósea, bazo y en ocasiones piel y mucosas. Neumonía intersticial. La médula ósea es hiper celular y de color rojo en la fase aguda, pero en la crónica hipoplásica y pálida.

## **TERAPEUTICA**

**Protocolo 1.** Oxitetraciclina 15-25 mg/kg/12 H. IV durante 5-7 días y posteriormente Doxiciclina 3-5 mg/kg/12 H. VO durante 15 días. No usar en

pacientes menores a 6 meses por producir hipoplasia del esmalte dentario, tampoco en fallos renales, ni en recidivas.

**Protocolo 2.** Ciprofloxacina 5-10 mg/kg/12 H. IV durante 5-7 días y posteriormente Ciprofloxacina 15 mg/kg/12 H. VO durante 15 días. No usar en pacientes menores a un año por deformidad en las líneas de crecimiento.

**Protocolo 3.** Cloranfenicol 30-50 mg/kg/12 H. IV durante 5-7 días. Se utiliza en cachorros y no es recomendable en pacientes con pancitopenia o anemias muy graves.

Se utiliza como tratamiento complementario el dipropionato de imidocarb 5 mg/kg SC o IM, dos aplicaciones con intervalo de 15 días para estimular las defensas.

Terapia de apoyo con líquidos, vitamina C y protectores hepáticos. Glucocorticoides durante los 4-6 primeros días en casos donde se presente una trombocitopenia marcada y para evitar la eritrofagocitosis.

## **EHRlichiosis Trombocítica Canina**

### **CAUSA**

La trombocitopenia cíclica de los perros se debe a un parásito rickettsial pequeño clasificado como Ehrlichia platys. El vector para este agente no es conocido, aunque el Rhipicephalus sanguineus es sospechoso.

### **PATOGENIA**

El período de incubación es de 8-15 días. El porcentaje más alto de plaquetas parasitadas ocurre durante el período inicial de la parasitemia. En unos días hay

una disminución marcada de plaquetas y los microorganismos desaparecen, para así aumentar al número de las mismas. Las parasitemias y trombocitopenias subsecuentes son tan graves como las que se observan después de la parasitemia inicial. Puede ocurrir una destrucción directa de plaquetas y producir la muerte o actuar mecanismos de mediación inmunitaria que lleva a trombocitopenias leves y a una resolución lenta.

### **SIGNOS CLINICOS**

Fiebre, hematoquezia, trombocitopenia, uveítis, hemorragias petequiales y equimóticas de encías, esclerótica y piel; epistaxis, disminución de peso, disminución del apetito y mucosas pálidas.

### **DIAGNOSTICO**

Encontrando Las mórulas en extendidos sanguíneos o serológicamente mediante las pruebas de IFA, PCR o Western Immunoblot.

### **DATOS HISTOPATOLÓGICOS**

Aumento Del tamaño de ganglios linfáticos, hiperplasia linfoide, plasmocitosis en ganglios, bazo, hiperplasia multifocal de células de kupffer en el hígado.

### **TRATAMIENTO**

Oxitetraciclina, doxiciclina, ciprofloxacina o cloranfenicol y terapéutica de apoyo.

## **EHRlichiosis Monocítica Humana (EMH)**

### **CAUSA Y EPIDEMIOLOGIA**

*Ehrlichia chaffeensis* es el agente causal y tres especies de garrapatas han sido identificadas como vectores: *Ixodes scapularis*, *Amblyomma americanum* y *Dermacentor variabilis*. El período de incubación es de 1-21 días.

### **PATOGENIA**

Se produce inoculación de la *ehrlichia* por parte de la garrapata vector y vía fagocitosis inicia la replicación en los leucocitos produciendo una destrucción masiva de ellos, lo que conlleva a infecciones secundarias que produce una disfunción de órganos como bazo, hígado, ganglios y médula ósea principalmente. Posteriormente se producen leucopenias y trombocitopenias acompañadas de aumento en el NUS, la creatinina y enzimas hepáticas.

### **SIGNOS CLINICOS**

Fiebre alta, cefalea, malestar, mialgias, náusea, vómito y anorexia. Proteinuria,

### **DIAGNOSTICO**

Por síntomas y una historia de exposición a garrapatas. Serológicamente mediante test IFA, PCR, Western Inmunoblot (específico para diferenciar entre EMH y EGH).

## **TRATAMIENTO**

Doxiciclina, tetraciclina y cloranfenicol en niños. La mayoría de fatalidades se da en pacientes mayores.

## **EHRlichiosis GRANULOCITICA HUMANA (EGH)**

### **CAUSA Y EPIDEMIOLOGIA**

Producida Por una especie de ehrlichia anónima que infecta neutrófilos.  
Transmitida por la Ixodes scapularis (venado) y Dermacentor variabilis (perro).

**PATOGENIA, SIGNOS, DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO:** Igual a EMH

Para una mejor evaluación de los resultados obtenidos se organizaron los caninos diagnosticados en grupos etáreos según la edad, el sexo y grupo de raza así:

Grupo 1: razas pequeña y miniatura

Grupo 2: razas medianas

Grupo 3: razas grandes

Grupo 4: razas gigantes

También se realizó una comparación final con un grupo pequeño de pacientes sospechosos clínicamente para ehrlichiosis canina, entre la positividad obtenida

mediante el diagnóstico en frotis sanguíneo y la confirmación del mismo utilizando una prueba de alta sensibilidad y especificidad como es el test de IFA; lo que indica que el diagnóstico instaurado es confiable o no al utilizarlo o no como medio único de confirmación de la enfermedad. El kit de inmunofluorescencia utilizado para realizar la prueba de IFA es de los laboratorios PANBIO, cuyas referencias se describen a continuación:

Ehrlichia canis (lámina con 12 pozos): 4025-01-12

Conjugado IgG anti-canino: EC4000-31-200

Conjugado IgM anti-canino: EC4000-25-200

Se complementó la práctica profesional realizada con la participación en otras áreas como la quirúrgica, principalmente lo que corresponde a ortopedia y se adjunta una estadística sencilla de las cirugías realizadas.

## **RESULTADOS**

Se utilizó como medio diagnóstico el frotis sanguíneo y la coloración de hemacolor, para determinar durante el desarrollo del trabajo el porcentaje de positividad de la prueba, para la enfermedad conocida como Ehrlichiosis Canina.

La positividad obtenida fue del 69% donde 169 pacientes eran positivos y 76 negativos. Se encontró que los cachorros eran más susceptibles que los adultos con una positividad del 77% y 67% respectivamente.

Igualmente las hembras se afectaban en mayor proporción (72%) que los machos (67%). La trombocitopenia fue el hallazgo de laboratorio más común y se encontró

que 42 de los 72 pacientes evaluados presentaban un número de plaquetas disminuidas correspondiente al 59%; igualmente el 45% de los pacientes (39 de 87 caninos) presentaban leucopenia y el 30% (26 de 86 caninos) mostraban procesos anémicos.

En procesos de ehrlichiosis es común encontrar proteinuria y se observó que el 86% (55 de 64 pacientes) de los perros evaluados, presentaban esta condición; acompañados de un 83% de los pacientes con densidad urinaria baja (53 de 64 caninos).

Según el análisis realizado a los grupos etéreos conformados se observó que las razas medianas eran las más afectadas por esta enfermedad.

Con la coloración de hemacolor se obtuvo una positividad del 69%, mientras que con la coloración de wright fue del 38%; igualmente las características morfológicas celulares eran mejor observadas con hemacolor.

## **CONCLUSIONES**

La sensibilidad y especificidad obtenida en la prueba de frotis sanguínea fue del 55,51%, comparada con el test IFA cuya sensibilidad y especificidad es del 85 al 90%.

La prueba de frotis sanguíneo no puede ser utilizada como medio único de diagnóstico, sino como una prueba de screening o de barrido.

Los cachorros presentan una susceptibilidad mayor que los adultos, posiblemente por los procesos de inmunosupresión que se presentan en ellos.

Los hallazgos hematológicos más comúnmente encontrados fueron: trombocitopenia, leucopenia y anemia normocítica normocrónica.

La mayoría de los pacientes evaluados presentaron procesos de proteinuria, acompañados de valores bajos en su densidad urinaria indicando el fallo renal presente en cada uno de ellos.

Los perros de razas medianas presentan el mayor porcentaje de positividad de la enfermedad para este estudio.

Las hembras se afectan más en las razas pequeñas, miniatura y grandes; los machos en las razas medianas y las razas grandes se afectan casi por igual.

La coloración de hemacolor permite una mejor visualización de las estructuras celulares, que la coloración de wright.