

Infección por *Theileria annae* en un perro esplenectomizado

El presente trabajo describe uno de los primeros casos publicados de una nueva forma de *Theileria annae* en un perro Basset Hound de 14 años, esplenectomizado. Una muy intensa parasitemia junto a una severa anemia hemolítica y trombocitopenia fueron los hallazgos más relevantes. La instauración de un rápido tratamiento con dipropionato de imidocarb, hizo que el cuadro clínico evolucionase con rapidez hacia la curación.

Palabras clave: *Theileria annae*. Perro. Parasitemia.
Rev. AVEPA, 24(3):145-148, 2004

A.T. Camacho¹, E. Pallas²,
F. J. Guitián¹, J. Fraga¹,
S. González², A.S. Olmeda³,
H.K. Goethert⁴, S.R. Telford 3rd⁵,
A. Spielman⁵

¹ Laboratorio Lema & Bandín.
C./Lepanto, 5, bajo.
36201. Vigo. España

² Servicio de
Otorrinolaringología. Hospital
Xeral-Cies.
C./ Pizarro.
36203. Vigo. España

³ Centro Veterinario Sanxenxo.
C./Progreso, 34, bajo.
Sanxenxo (Pontevedra). España

⁴ Departamento de Patología
Animal I.
Facultad de Veterinaria.
Universidad Complutense.
Avda. Puerta de Hierro s/n.
28040. Madrid. España.

⁵ Laboratory of Public Health
Entomology.
Department of Immunology and
Infectious Diseases.
Harvard School of Public Health,
665 Huntington Avenue, Boston,
Massachusetts 02115 (U.S.A.)

Introducción

La babesiosis es una zoonosis de distribución mundial causada por parásitos intraeritrocitarios del género *Babesia* y transmitida por garrapatas. Normalmente causa un síndrome caracterizado por hipertermia, anemia y hemoglobinuria. En perros ha sido tradicionalmente asumido que las únicas especies que causan enfermedad en la especie canina son *Babesia canis* y *Babesia gibsoni*, pero publicaciones¹⁻³ recientes demuestran que una tercera especie (*Theileria annae*) también puede causar enfermedad. Un amplio trabajo realizado por nuestro grupo de investigación en Galicia demostró que la infección por este parásito tiene una naturaleza endémica en nuestra comunidad y evoluciona con frecuencia a insuficiencia renal⁴. Estas observaciones han introducido un gran cambio en el conocimiento de la epidemiología de la babesiosis canina.

La diferenciación morfológica entre *Babesia canis* y *Babesia gibsoni/Theileria annae* es clara. *B. canis* es relativamente alargada (2.4 µm x 5.0 µm), de forma piriforme y aparece normalmente en parejas dentro de los hematíes. *B. gibsoni* y *Theileria annae* son más pequeñas (1 a 2 µm), ambas indistinguibles morfológicamente y normalmente se observan de forma individual. La infección por *B. canis* es considerada endémica en regiones tropicales y subtropicales, mientras que *B. gibsoni* es endémica en áreas de Asia, África y Norte América, apareciendo en Europa sólo como consecuencia de la introducción de perros infectados del extranjero⁵. *Theileria annae*, por el contrario, sólo ha sido observada hasta el momento actual en nuestro país²⁻⁴. El diagnóstico definitivo se realiza mediante PCR. Tradicionalmente las formas "pequeñas" son más patógenas que las grandes, la severidad de la anemia hemolítica es mayor y evolucionan con mayor frecuencia a insuficiencia renal, siendo la respuesta al tratamiento menos favorable^{2,6}.

El conocimiento de los aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección por el piroplasma *Theileria annae*, recientemente descrito en Europa, es todavía muy limitado. Este trabajo describe el segundo caso publicado en la literatura de un perro esplenectomizado infectado de forma natural por esta especie de *Theileria annae*⁷, pero con resultado final muy diferente.

Caso clínico

En mayo del 2003 un perro macho de 14 años, raza Basset Hound, de 20 Kg de peso, que vivía en un área rural de Galicia, acudió a la clínica veterinaria con una intensa esplenomegalia, de origen incierto. A consecuencia de ella fue esplenectomizado y posteriormente dado de alta sin profilaxis para babesia. El 30 de octubre del 2003, cinco meses más tarde, el perro acudió de nue-



vo a la consulta del veterinario mostrando signos de hipertermia (39.2°C), temblores, apatía y orina "cargada". El examen físico reveló una importante palidez de mucosas, linfadenitis bilateral que afectaba a ganglios poplíteos y preescapulares, taquicardia y ausencia de garrapatas. Ante la sospecha de babesiosis se realizó un exámen de laboratorio. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena cefálica durante la fase febril. El recuento hematológico y los parámetros bioquímicos se realizaron en un contador automático STKS-2 VCS (Coulter®) y en un autoanalizador bioquímico CL-7200 (Shimadzu®), respectivamente. Las extensiones de sangre periférica se tiñeron con azul de cresilo brillante para el recuen-

Parámetros (rango normal de referencia y unidades)	
Leucocitos (6.0-17.0 x 10 ⁹ /L)	6.0
Neutrófilos (60-77 %)	45.4
Linfocitos (12-30 %)	35.7
Monocitos (3-10 %)	19.3
Eosinófilos (2-10 %)	0.40
Basófilos (0-1 %)	0.20
Neutrófilos (3.0-11.5 x 10 ⁹ /L)	2.72
Linfocitos (1.0-4.8 x 10 ⁹ /L)	2.14
Monocitos (0.15-1.35 x 10 ⁹ /L)	1.15
Eosinófilos (0.16-1.60 x 10 ⁹ /L)	0.024
Basófilos (0.0-0.17 x 10 ⁹ /L)	0.012
Hematies (5.5-8.5 x 10 ¹² /L)	2.65
Reticulocitos (0.5-1.5 %)	3.9
Hemoglobina (120-180 g/L)	76
Hematocrito (37.0-55.0 %)	22.5
Índice distribución hematies (IDH) (< 15.0 %)	16.1
Plaquetas (120-500 x 10 ⁹ /L)	14
Glucosa (3.44-6.00 mmol/L)	4.19
Urea (3.16-9.16 mmol/L)	9.10
Creatinina (44.2-141.4 µmol/L)	86.7
Aspartato aminotransferasa (AST) (8-57 U/L)	129
Alanina aminotransferasa (ALT) (8-48 U/L)	237
Fosfatasa alcalina (FA) (10-120 U/L)	134
Creatinina (CK) (14-120 U/L)	118
Lactato deshidrogenasa (LDH) (65-149 U/L)	569
Amilasa (270-1462 U/L)	1096
Lipasa (<200 U/L)	46
Proteínas totales (55-75 g/L)	67
Albumina (23-34 g/L)	32
Colesterol (3.02-6.60 mmol/L)	5.74
Bilirrubina total (1.71-10.2 µmol/L)	11.7
Triglicéridos (0.11-1.32 µmol/L)	0.91

Tabla 1. Resultados de los parámetros analíticos durante la fase aguda de una parasitación por *Theileria annae* en un perro esplenectomizado.

to de los reticulocitos y Giemsa para la observación directa del parásito, como describe Nelson y Morris⁶. Los resultados analíticos se presentan en la Tabla 1.

El principal hallazgo analítico fue una marcada anemia con disminución de los hematíes, hemoglobina y hematocrito y la presencia de una trombocitopenia absoluta. En la fórmula leucocitaria se observó neutropenia y eosinopenia. En la extensión de sangre periférica se visualizaron múltiples merozoitos intraeritrocitarios (22%) y extraeritrocitarios de pequeño tamaño (1-2 µm), forma anular y presentación única en cada hematíe en un 89%; además se constataron formas intraeritrocitarias dobles y en tetradas (9% y 2% respectivamente). No se observaron formas compatibles con *B. canis*. Otros hallazgos fueron un aumento del número de reticulocitos y eritroblastos, corpúsculos de Howell-Jolly y la presencia de linfocitos reactivos atípicos de aspecto polimorfo, macrófagos vacuolados y el raro fenómeno de la eritrofagocitosis (Figura 1).

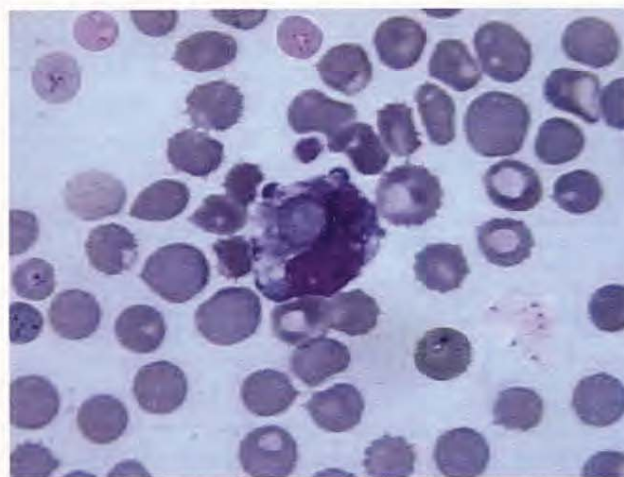


Figura 1. Extensión de sangre periférica (Giemsa x1000) de un perro esplenectomizado parasitado por *Theileria annae* en la cual se observan numerosos parásitos intra y extraeritrocitarios, asociados al fenómeno de la eritrofagocitosis.

En la bioquímica, el dato más significativo observado durante la fase aguda del proceso fue una moderada elevación de las enzimas hepáticas. La función renal, por el contrario, fue absolutamente normal.

Tras la confirmación en la extensión de sangre periférica de formas compatibles con *Theileria annae* se inició tratamiento con dipropionato de imidocarb (Imizol®, Schering-Plough; 4 mg/Kg, SC), doxiciclina (Vibracina®, Pfizer; 60 mg/12 horas, PO, durante 14 días) y prednisona (Dacortin®, Merck; 1 mg/kg/24 horas, PO, durante 3 días). A las 72 horas de iniciado el tratamiento se produjo remisión de los signos clínicos anteriormente citados. Al cabo de dos semanas, coincidiendo con la segunda dosis de tratamiento de Imizol®, se constató la resolución del cuadro clínico, siendo dado de alta de forma definitiva.

Con posterioridad se realizó análisis confirmatorio por PCR del parásito observado en la extensión de sangre periférica.

rica en el Departamento de Inmunología y Enfermedades Infecciosas de la Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA. El DNA fue extraído y el fragmento 1200bp del 18S rDNA fue amplificado usando los primers Piro A y PiroB DNA. El resultado de los análisis de los fragmentos de la secuencia 1200bp 18S rDNA ofrece una identidad del 100% con *T. annae* (GenBank AF188001; new GenBank accessions AY457974, AY457975, AY457976). Así pues, concluimos que el perro incluido en este estudio estaba infectado por *T. annae*.

Discusión

La anemia que presentaba el animal tenía claras características regenerativas como lo demuestra el recuento de reticulocitos ($103350 \times 10^9/L$) y la presencia de eritroblastos en la extensión de sangre periférica. Los altos valores obtenidos en el índice de distribución de hematíes (IDH) refuerzan este hallazgo, dado que la anisocitosis refleja la presencia de dos poblaciones eritrocitarias; una normocítica representada por los eritrocitos y una macrocítica que correspondería a los reticulocitos. El comportamiento de los niveles de la LDH está en consonancia con la intensa anemia hemolítica. El elevado número de parásitos en sangre circulante, junto con los abundantes corpúsculos de Howell-Jolly intraeritrocitarios, reflejan la incapacidad de depuración ejercida por el bazo ausente⁹. La severidad de la inmunosupresión se manifiesta con la presencia de merozoitos formando tetradas (cruz de malta) en el interior de los hematíes, formas que sólo se observan en situaciones de inmunosupresión extrema^{10,11}. Finalmente, la presencia de linfocitos reactivos, macrófagos vacuolados y el hallazgo inhabitual del fenómeno de la eritrofagocitosis¹², estaría en relación con la hiperactivación del sistema reticulo-endotelial a consecuencia de la infección.

Durante la fase febril aguda, una importante trombocitopenia fue observada junto con la presencia de plaquetas gigantes en la extensión de sangre periférica. Este carácter regenerativo de la trombocitopenia es consistente con los cambios hematológicos observados en trabajos previos¹³, apoya su origen periférico y está en contra de una afectación central megacariocítica.

La elevación de las enzimas hepáticas junto con la fosta-tasa alcalina podría estar asociada con un cierto grado de colestasis observado en el animal durante la fase febril, hecho citado por otros autores¹⁴. Finalmente, la aparente contradicción entre la acusada anemia hemolítica y la moderada elevación de bilirrubina total en suero podría ser explicada por la interferencia entre el método de Jendrassik para la medida de la bilirrubina y la presencia de hemoglobina libre en el suero que puede producir falsos resultados por defecto¹⁵.

El presente estudio muestra como una infección natural por el parásito *Theileria annae* recientemente descrito como causante de enfermedad severa en la especie canina y que se presenta de forma endémica en la comunidad autónoma de Galicia, es capaz de inducir enfermedad severa en animales esplenectomizados de manera similar a como lo hacen otras especies de *Babesia* en la misma situación clínica. Como característica particular del caso destacamos la elevada parasitemia que evoluciona a una rápida recuperación tras el tratamiento específico, en contra de lo que es habitual en los casos de esplenectomizados⁷. Es importante destacar la rapidez en el diagnóstico como factor clave para una resolución del cuadro clínico.

La infección por *Theileria annae* en perros esplenectomizados debería ser considerada como una emergencia médica. La naturaleza a menudo fatal del cuadro en estos animales justificaría la adopción de medidas preventivas tales como la administración profiláctica de compuestos babesicidas para los perros esplenectomizados que viven en áreas endémicas.

Title

Theileria annae infection in a splenectomized dog

Summary

Babesiosis is a worldwide zoonosis caused by tickborne haematozoan parasites of the genus *Babesia*. It has been traditionally assumed that only two of the 73 identified *Babesia* species are a cause of natural infection in dogs, that is, *Babesia canis* and *Babesia gibsoni*, but a recent report demonstrates that a different piroplasm can parasitise dogs. This parasite, genetically related to *Theileria annae*, is a cause of disease in dogs in north-west Spain, where it could have an endemic nature amongst the canine population. These observations have introduced a major change in the approach to the epidemiology of babesiosis in dogs.

The present report describes a case of non-experimental babesiosis in a 14-year-old male Basset Hound, splenectomized May 2003. Following splenectomy, in October 2003, a very intense parasitaemia (22 per cent), thrombocytopenia and regenerative haemolytic anaemia were the most relevant findings. Seventy-two hours after the onset of symptoms and specific treatment with babesicidal compounds (imidocard dipropionate) the dog improved.

Key words: *Theileria annae*. Dog. Parasitaemia.

Bibliografía

1. Zahler M, Rinder H, Schein E, Gothe R: Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. *Vet Parasitol* 2000; 89(3):241-248.
2. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ et al: Infection of dogs in north-west Spain with a *Babesia microti*-like agent. *Vet Rec* 2001; 149(18):552-555.
3. Guitián FJ, Camacho AT, Telford SR: Case-control study of canine infection by a new *Babesia microti*-like piroplasm. *Prev Vet Med* 2003; 61(2):137-45.
4. Camacho AT, Guitián FJ, Pallas E et al: Relationship between canine infection by *Theileria annae* and renal failure. *J Vet Intern Med* 2003. En prensa.
5. Taboada J: Babesiosis. En: Greene CE (2nd ed): *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, Philadelphia, WB Saunders, 1988; 473-481.
6. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitián FJ, Olmeda AS: Parasitación por *Babesia canis* en Galicia, España. *Rev. AVEPA* 2003; 23(1):50-53.
7. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitián FJ, Olmeda AS: Natural infection by a *Babesia microti*-like piroplasm in a splenectomised dog. *Vet Rec* 2002; 150(12):381-382.
8. Nelson DA, Morris MW: Basic examination of blood. En: Henry JB (ed): *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, Philadelphia, WB Saunders, 1996; 549-593.
9. Taboada J, Merchant SR: Babesiosis of companion animals and man. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1991; 21(1):103-123.
10. Yokoyama N, Bork S, Nishisaka M et al: Roles of the mltese cross form in the development of parasitemia and protection against *Babesia microti* infection in mice. *Infect Immun* 2003; 71(1):411-417.
11. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ et al: *B. microti*-like en un perro inmunocompetente. *Rev. AVEPA* 2003; 23(2):97-99.
12. Abdullahi SU, Mohammed AA, Trimnell AR et al: Clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine babesiosis. *J Small Anim Pract* 1990; 31:145-147.
13. Pagès JP, Trouillet JL: Thrombocytopenie dans la babesiosis du chien. A propos de 153 observations. *Prat Med Chir Anim Comp* 1984; 19(3):222-227.
14. Wozniak EJ, Barr BC, Thomford JW et al: Clinical, anatomic and immunopathologic characterisation of *Babesia gibsoni* infection in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Journal of Parasitology* 1997; 83(4):692-699.
15. Caraway WT, Kammeyer CW: Chemical interference by drugs and other substances with clinical laboratory test procedures. *Clin Chim Acta* 1972; 41(12):395-434.