

Descripción de un foco de rangeliosis canina en el litoral noroeste del Uruguay

Description of an outbreak of canine rangeliosis in the northwest littoral of Uruguay

Rivero R^{1*}, Minoli P², Parodi P³, Matto C¹, Armúa-Fernández MT⁴, Giannechini E¹, Carvalho L⁴, Venzal JM⁴

¹ Laboratorio Regional Noroeste “Miguel C. Rubino”, División de Laboratorios Veterinarios “Miguel C. Rubino”, Ruta 3 Km 369, Paysandú, 60000, Uruguay.

² Laboratorio de Análisis Veterinarios Young Dras. Alonso y Minoli, Young, Rio Negro, Uruguay.

³ Becario de Maestría INIA, Plataforma de Salud Animal, La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

⁴ Laboratorio de Vectores y enfermedades transmitidas, Facultad de Veterinaria, CENUR Litoral Norte - Salto, Universidad de la República, Rivera 1350, Salto, 50000, Uruguay.

*Autor para correspondencia: rrivero@mgap.gub.uy

Veterinaria (Montevideo) Volumen 54 DOI: <https://doi.org/10.29155/VET.23.208.3> Recibido :11/10/2017

Nº 208 (2017) 15-22

Aceptado: 21/11/2017

Resumen

La rangeliosis canina es una enfermedad causada por el protozooario *Rangelia vitalii* y transmitida por garrapatas. Afecta caninos domésticos y silvestres, provocando un cuadro de anemia hemolítica y trombocitopenia. En Uruguay ha sido reportada en los Departamentos de Artigas, Salto y Treinta y Tres. El presente trabajo describe un foco de rangeliosis canina en el litoral oeste del Uruguay, diagnosticado mediante estudios epidemiológicos, clínicos, hematológicos, anatomopatológicos y técnicas moleculares (PCR/secuenciación). El estudio se basó en 9 casos de perros raza Griffon Fauve de Bretagne provenientes de un predio rural próximo a Quebracho, Departamento de Paysandú. De los animales ocho murieron y uno respondió al tratamiento. Los principales signos clínicos fueron apatía, ictericia, fiebre, diarrea con sangre y sangrado por narinas y punta de orejas. Hematológicamente se constató anemia, trombocitopenia y leucocitosis. Los hallazgos macroscópicos se caracterizaron por palidez, ictericia generalizada, esplenomegalia, linfadenomegalia y hepatomegalia. Al examen histopatológico se destacó: nefritis intersticial con degeneración y necrosis tubular, miocarditis, necrosis hepática centrolobulillar. Congestión y edema pulmonar, linfadenitis, y en bazo infiltrado inflamatorio difuso perivascular de tipo mononuclear. En diversos órganos se visualizaron zoítos de *R. vitalii* intracitoplasmáticas en las células endoteliales. En algunos animales así como en los caniles de los perros se constató presencia de *Amblyomma aureolatum*. De dos casos se extrajo ADN de sangre y mediante PCR se amplificó un fragmento del gen 18s ARN ribosomal de Piroplasmas. La secuencia obtenida fue comparada con secuencias registradas en el GenBank utilizando la herramienta BLAST. El resultado reveló una homología entre 99-100% con *R. vitalii*.

Palabras claves: rangeliosis canina, *Rangelia vitalii*, anemia hemolítica, trombocitopenia, Uruguay.

Summary

Canine rangeliosis is a disease caused by the protozoan *Rangelia vitalii* and transmitted by ticks. It affects domestic and wild canines, causing hemolytic anemia and thrombocytopenia. In Uruguay it has been reported in the following counties: Artigas, Salto and Treinta y Tres. The present study describes a canine rangeliosis outbreak in the northwest littoral of Uruguay, diagnosed by epidemiological, clinical, hematological, anatomopathological and molecular techniques (PCR / sequencing). The study was based on 9 cases of dogs, Fawn Brittany Griffon breed, used for hunting; from a farm near Quebracho, Paysandú County. Eight animals died and one responded to the treatment. The main clinical signs were apathy, jaundice, fever, bloody diarrhea and bleeding from nostrils and tips of the ears. The hematological findings were anemia, thrombocytopenia and leukocytosis. Main macroscopic lesions were characterized by paleness, generalized jaundice, splenomegaly, lymphadenomegaly, and hepatomegaly. The principal histopathological lesions were interstitial nephritis with tubular degeneration and necrosis, myocarditis, centrolobulillar hepatic necrosis, edematous and congestive lung, lymphadenitis and perivascular mononuclear inflammatory infiltration in spleen. In several organs were observed *R. vitalii* zoites inside the cytoplasm of endothelial cells. In some animals and as well as in dog kennels were present *Amblyomma aureolatum*. DNA was extracted from blood of two cases and a fragment of the 18s ribosomal RNA gene of Piroplasm was amplified by PCR. The sequence obtained was compared to the sequences registered in the GenBank using the BLAST tool. The result showed a homology between 99-100% with *R. vitalii*.

Keywords: canine rangeliosis, *Rangelia vitalii*, hemolytic anemia, thrombocytopenia, Uruguay.

Introducción

La rangeliosis es una enfermedad que afecta a caninos domésticos y silvestres (Soares, 2014; Fredo y col., 2015), causada por el protozooario *Rangelia vitalii*, perteneciente al phylum Apicomplexa, orden Piroplasmida, familia Babesiidae (França y col., 2014).

Este protozooario es transmitido por garrapatas de la familia Ixodidae: *Amblyomma aureolatum* que ha sido demostrado como vector competente y *Rhipicephalus sanguineus*, la cual ha sido hallada en perros clínicamente enfermos (Loretti y Barros, 2004; Loretti y Barros, 2005; Soares, 2014; Sánchez y col., 2015).

Carini, 1908 relató por primera vez en perros de Brasil, una enfermedad hemorrágica febril de etiología incierta. Posteriormente Pestana, 1910 describe la morfología de un extraño protozooario, el cual denominó *Piroplasma vitalii*. Carini y Maciel, 1914 renombran al protozooario pasándose a llamar *Rangelia vitalii*, describiendo además la capacidad del mismo de parasitar eritrocitos, leucocitos y células endoteliales. Además de Brasil, la rangeliosis también ha sido reportada en Uruguay (en los Departamentos de Artigas, Salto y Treinta y Tres); todos ellos fueron casos de animales que habitaban en zonas rurales o suburbanas (Sarasúa y Donati, 1976; Soares y col., 2015). En Argentina, Eiras y col., 2014 y Sánchez y col., 2015, también han reportado casos.

Esta enfermedad también es conocida como "Peste de sangre", "Nambiuví" (orejas sangrantes en guaraní) o "Fiebre amarilla de los perros" (Loretti y Barros, 2004). Comúnmente afecta animales jóvenes, que habitan zonas suburbanas o rurales. Los casos se dan en las estaciones más calurosas, coincidiendo con la época donde en el ambiente hay mayor cantidad de garrapatas (Loretti y Barros, 2005).

En cuanto a la patogenia, la enfermedad produce un cuadro de hemólisis extravascular inmunomediada, los eritrocitos parasitados expresan proteínas en su superficie, de las cuales se generan anticuerpos. Estos eritrocitos son opsonizados, reconocidos como cuerpo extraño y el sistema fagocítico mononuclear retira los eritrocitos hacia el bazo o linfonodos, causando la hemólisis fuera del torrente sanguíneo, lo que justificaría la ocurrencia de esplenomegalia en casos de anemia hemolítica inmunomediada (McCullough, 2003).

La enfermedad se puede presentar de tres formas: forma aguda o icterica; subaguda o hemorrágica; y crónica, siendo esta última leve o benigna. Los caninos que se recuperan de la infección por *R. vitalii* se tornan portadores asintomáticos del patógeno, condición esta que se mantiene por varios meses después de la cura de la enfermedad (Carini y Maciel, 1914). La presentación de la enfermedad depende de la edad y el estado inmunitario del animal (Pestana, 1910). Dentro de los signos clínicos se destacan fiebre, apatía, anorexia, deshidratación, pérdida de peso, linfadenomegalia, petequias, equimosis, ictericia, palidez de

las mucosas y diarrea sanguinolenta. Además de lo anterior se constatan sangrados persistentes por la nariz, boca, ojos, ano, y borde de las orejas, aunque no en todos los casos. Dentro de los principales hallazgos de necropsia se destacan: mucosas ictericas, esplenomegalia, hepatomegalia y linfadenomegalia, además de hemorragias en órganos especialmente pulmón, intestino y corazón. En el hígado es posible observar alteración del color y vesícula biliar llena. La médula ósea está reactiva mostrando una hiperplasia eritroide. Los riñones cambian de color a un tono más oscuro por la impregnación de bilirrubina en la superficie. La orina puede presentarse de un color marrón oscuro (Figuera y col., 2010).

El diagnóstico de *R. vitalii*, se basa en los signos clínicos típicos, frotis de sangre periférica, visualización del agente en cortes histológicos y diagnóstico molecular. La respuesta favorable farmacológica a los tratamientos con Aceturato Diaminoaceno, Imidocarbo y Doxiciclina también serían orientativos al diagnóstico de rangeliosis (Loretti y Barros, 2004; Da Silva y col., 2011).

El objetivo del presente trabajo es describir un foco de rangeliosis en caninos procedentes del litoral oeste del Uruguay.

Materiales y métodos

Historia

Durante el periodo comprendido entre los años 2001 a 2013 se presentaron nueve casos en perros de 1 a 7 años de edad, con un cuadro de anemia hemolítica, ictericia y sangrado por los ollares y orejas. Dichos animales provenían de un criadero de raza Griffon Fauve de Bretagne, localizado en un establecimiento agropecuario en las proximidades de Arroyo Malo, Quebracho (31°55'23.10"S, 58°08'51.85"O), Departamento de Paysandú, Uruguay. Cinco de estos caninos habían sido importados de Bretagne, Francia, y el resto descendientes de ellos, nacidos en el establecimiento. La actividad principal que desarrollaba el propietario con estos animales era la caza a nivel del predio y montes de la zona. Además, estos convivían con perros raza cruce del personal del establecimiento y de otras razas del mismo propietario como ser Labrador retriever, Dachshund, todos nacidos en Uruguay, no registrándose casos clínicos en ellos durante este periodo de tiempo.

Los animales que enfermaron fueron trasladados a la ciudad de Young, Departamento de Río Negro, para su asistencia en una clínica veterinaria particular, donde se obtuvo información de los signos clínicos, así como de las necropsias practicadas. De algunos animales se obtuvieron garrapatas las cuales fueron extraídas manualmente y colocadas en tubos con alcohol 95° hasta su procesamiento. Para la clasificación de las garrapatas se utilizaron las claves específicas propuestas por Nava y col., 2017.

Análisis paraclínicos

A tres caninos se les tomó muestras de sangre con anticoagulante

te (EDTA potásico) y sin anticoagulante, a los cuales se realizó hemograma. Se tomaron muestras de orina, que fueron procesadas en el Laboratorio de Análisis Veterinarios Young de las Dras. Alonso y Minoli, y en un laboratorio de medicina humana de la ciudad de Young. Los sueros fueron enviados a DILAVE Central (Montevideo), a los efectos de determinar anticuerpos de *Leptospira* spp. por la prueba de Microaglutinación (MAT= Micro Agglutination Test) (Manual Terrestre de OIE, 2014).

Histopatología

De los 9 casos clínicos registrados, se realizaron 8 necropsias; remitiéndose muestras de riñón, miocardio, hígado, pulmón, ganglios linfáticos, bazo, intestino grueso y delgado y sistema nervioso central.

Los materiales fueron fijados en formol buferado al 10% y remitidos al Laboratorio Regional Noroeste, DILAVE, Paysandú- Uruguay, del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). Las muestras fueron incluidas en parafina, seccionadas a 5 µm y coloreadas por la técnica de rutina, hematoxilina-eosina (H-E) (AFIP, 1995).

Diagnóstico por técnicas moleculares (PCR/secuenciación)

Muestras de sangre con anticoagulante de dos animales que habían sido conservadas a -18° C, en el laboratorio antes mencionado de la ciudad de Young, (identificados como “canino 1” y “canino 2”), fueron remitidas al Laboratorio de Vectores y Enfermedades Transmitidas, CENUR Litoral Norte-Salto, UdelaR, donde se realizó el diagnóstico mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de ADN fue medida con un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (ThermoScientific). Se llevó a cabo una PCR para amplificar un fragmento del gen 18S rRNA de Piropasmas que incluye los géneros *Babesia*, *Rangelia*, *Theileria* y *Cytauxzoon*. Se utilizaron los cebadores BAB143-167 (5-CCG TGC TAA TTG TAG GGCTAA TAC A-3) y BAB694-667 (5-GCT TGAAAC ACTCTA RTT TTC TCA AAG-3), que amplifican un fragmento aproximado de 500 pb (Soares y col., 2011).

El producto resultante de la PCR se visualizó utilizando un transiluminador UV inmediatamente luego de una corrida de electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, conteniendo un intercalante GoodView® Nucleic Acid Stain (Beijing SBS Genetech Co., LTd). Los amplicones de tamaño esperado fueron purificados mediante el kit comercial PureLink® Quick PCR Purification kit (Invitrogen, Alemania) y enviados a secuenciar a Macrogen (Corea del Sur). Para el estudio de la homología, la secuencia obtenida y corregida fue comparada con las disponibles en el GenBank mediante la búsqueda BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Resultados

Historia

De los nueve casos clínicos, se registraron uno en 2001 (setiembre), otro en 2002 (mayo), dos en 2003 (enero y diciembre), tres en 2005 (dos en mayo y uno noviembre), uno en 2011 (agosto), y uno en 2013 (diciembre). Todos de la raza Griffon Fauve de Bretagne, de ambos sexos (tres hembras y seis machos), de edades que comprendían entre 1 y 7 años. De los mismos, ocho caninos murieron y el animal que sobrevivió (enero 2003), respondió al tratamiento con Imizol® (dipropionato de imidocarb 120mg/ml), dosis 5 mg/kg repetida a los 15 días. No enfermaron los perros cruce del personal ni los perros de otras razas del mismo propietario.

Signos clínicos

Los animales presentaron emaciación abrupta (6/9 [66,6%]), apatía (6/9 [66,6%]), anorexia (6/9 [66,6%]), temperatura con rangos que iban desde 38,5 a 39,8°C, ictericia marcada (3/9 [33,3%]), depresión (9/9 [100%]), diarrea con sangre (4/9 [44,4%]), vómito (1/9 [11,1%]), y deshidratación (1/9 [11,1%]). En ciertos animales (3/9 [33,3%]) se observó sangrado por narinas (epistaxis) y orejas (Figura 1). En algunos caninos así como en los caniles se constató presencia de *A. aureolatum* (4/9 [44,4%]) (Figura 2).

Datos paraclínicos

Los datos hematológicos registrados de 3 animales mostraron una marcada anemia, macrocitos, policromatofilia, presencia de esferocitos, metarrubricitos y corpúsculos de Howell-Jolly (anemia regenerativa), trombocitopenia y leucocitosis (Cuadro 1).

El estudio serológico contra *Leptospira* resultó no reactiva. En orina se destacó la presencia de bilirrubina, hemoglobina, algunos cilindros granulosos y células epiteliales.

Hallazgos de necropsia

Los principales hallazgos macroscópicos se caracterizaban por ictericia (3/8 [37,5%]), tejido subcutáneo de color amarillo (3/8 [37,5%]), grasa peritoneal amarilla (3/8 [37,5%]), esplenomegalia (8/8 [100%]), y ganglios linfáticos superficiales y profundos aumentados de tamaño (6/8 [75%]). Se observaba hepatomegalia con acentuación del padrón lobular en varios de ellos (4/8 [50%]). El hígado presentaba cambios de coloración (7/8 [87,5%]) pálido en algunos casos y rojo anaranjado en otros. El contenido de vesícula biliar estaba espeso y grueso.

Cuadro 1: Datos hematológicos de 3 caninos.

Canino	Hem(%)	VCM (fentolitros)	CHCM (g/dl)	GB	N(%)	L(%)	Mo(%)	P
1	23	64	24.1	25700	85	11	4	59000
2	15	80	31	24800	87	11	2	52000
3	22	71	27.4	25010	83	14	3	80000

Hem= Hematocrito, VCM= Volumen Corpuscular Medio, CHCM= Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, GB= Glóbulos Blancos, N= Neutrófilos, L= Linfocitos, Mo= Monocitos, P= Plaquetas.



Figura 1: Canino hembra de 2 años, raza Griffon Fauve de Bretagne, con sangrado en goteo por la punta de las orejas (flecha).



Figura 2: *Amblyomma aureolatum* (hembra).

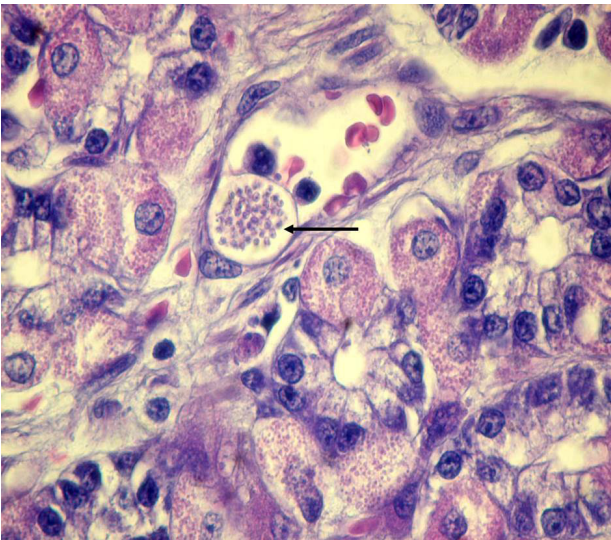


Figura 3: Canino. Riñón, degeneración granular del citoplasma de las células tubulares donde se observan zoitos intracitoplasmáticos (flecha) de las células endoteliales. (HE, 40x).

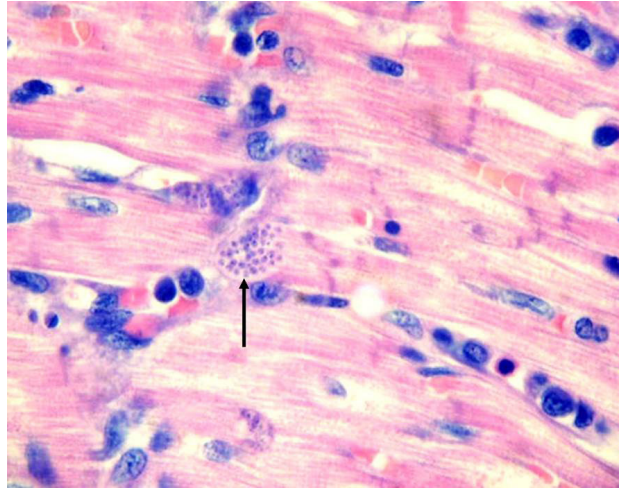


Figura 4: Canino. Miocardio, degeneración miofibrilar con picnosis y células mononucleares con presencia zoitos intraendoteliales (flecha). (HE, 40X)

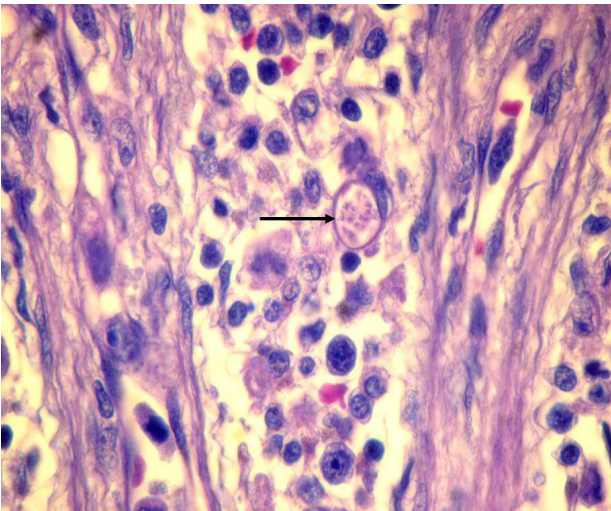


Figura 5: Canino. Ganglio linfático mesentérico, donde se visualizan zoitos intraendoteliales en capilar (flecha). (HE, 40X)

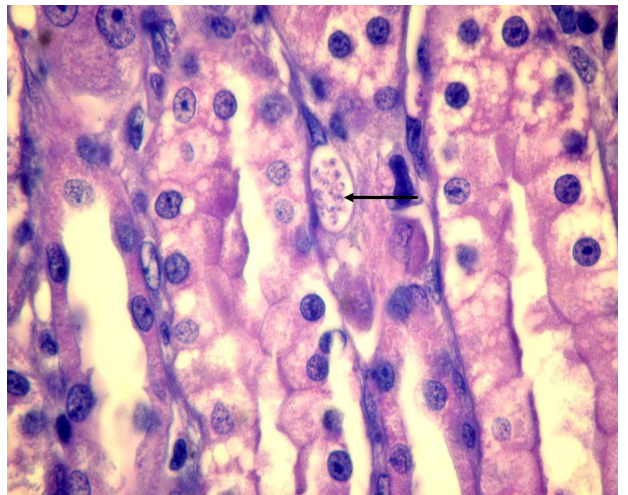


Figura 6: Canino. Intestino delgado, se aprecian zoitos a nivel intracitoplasmático en célula endotelial (indicados por círculo y flecha) (HE, 40X).

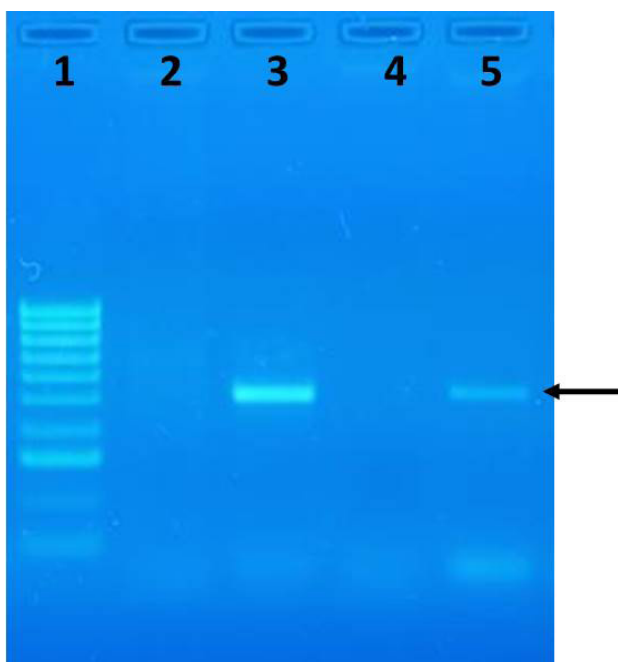


Figura 7: Gel de electroforesis mostrando los amplicones obtenidos luego de la reacción de PCR utilizado para detección del gen 18srARN de Piroplasmas (tamaño de banda esperada ~550 pares de bases –flecha). Carril 1: marcador de peso molecular; carril 2: canino 1; carril 3: canino 2; carril 4: control negativo; carril 5: control positivo.

En los casos con franca ictericia los riñones tenían coloración amarillenta (3/8 [37,5%]), y en aquellos que contenía orina en vejiga, estaba de color ambarino oscuro. (6/8 [75%]) Enteritis hemorrágica fue un hallazgo recurrente (7/8 [87,5%]). Otros hallazgos menos frecuentes eran estómago congestivo, edema y congestión pulmonar.

Histopatología

A nivel de riñón se observó, en cinco de los animales severa nefritis intersticial caracterizada por infiltrado difuso del intersticio intertubular a predominio mononucleares (histiocitos, plasmocitos y linfocitos), degeneración y necrosis tubular asociadas con presencia de morfologías parasitarias ovaladas y/o alargadas basófilas con pequeñas partículas en su interior (zoítos) de 2 a 2,5 μm de diámetro, ubicadas intracitoplasmáticamente en las células endoteliales de los capilares sanguíneos (Figura 3). En el miocardio había infiltrado inflamatorio de tipo mononuclear interfibrilar con presencia de zoítos intraendoteliales (Figura 4). El hígado presentaba áreas difusas de necrosis coagulativa a predominio centrolobulillar, presencia de células inflamatorias mononucleares con numerosos plasmocitos, proliferación de las células de Kupffer, estasis biliar y presencia de morfologías parasitarias en las células endoteliales de los vasos. En los pulmones se observó moderada distensión de los tabiques interalveolares por elementos mononucleares y congestión vascular. En los ganglios linfáticos se constató hiperplasia linfoide difusa con presencia de zoítos (Figura 5). El bazo presentaba una marcada celularidad de la pulpa roja con numerosos plasmocitos y eritropoyesis extramedular aumentada, asociados a infiltraci-

ón perivascular de las arteriolas por monocitos y macrófagos. Como en los otros órganos también se observaban parásitos con la morfología ya descritas. En el intestino había enteritis catarral moderada linfoplasmocitaria con presencia de zoítos intraendoteliales (Figura 6).

Diagnóstico por técnicas moleculares (PCR/secuenciación)

De las dos muestras de sangre procesadas de los casos clínicos mediante PCR, sólo una pudo ser amplificada para el gen 18S rRNA de Piroplasmas (Figura 7). A partir de esta muestra se obtuvo una secuencia de 497 pb. El análisis a través de la herramienta BLASTn evidenció que la misma tiene una homología de entre 99-100% con secuencias correspondientes a *R. vitalii* de Argentina, Brasil y Uruguay.

Discusión

En este estudio, los datos epidemiológicos como ser animales utilizados para la caza con acceso a montes y que habitaban en zona rural, coinciden con las condiciones ambientales principales predisponentes de mayor contacto con el vector, descritas para la presentación de la enfermedad (Sarasua y Donati, 1976; Soares, 2014). El hecho que solo enfermaran perros de la raza Griffon Fauve de Bretagne y que no se observaran casos en los animales de otras razas y nacidos en el establecimiento, podría estar relacionados a una inmunidad adquirida por parte de estos últimos infectados en forma natural. Es posible que los cachorros nacidos de estos perros infectados anteriormente desarrollen cierto grado de resistencia a *R. vitalii*. Tanto Carini y Maciel, 1914 como Carini, 1948 mencionan la existencia de una posible resistencia adquirida en caninos infectados naturalmente, ya que algunos perros inoculados experimentalmente con *R. vitalii* no desarrollaron la enfermedad.

Algunos animales estaban parasitados por *A. aureolatum* (Figura 2), especie de garrapata señalada por Soares, 2014, como principal transmisor de *R. vitalii*. Con respecto a los hallazgos clínicos y hematológicos, asociados a las lesiones observadas en las necropsias realizadas, son típicos de una enfermedad hemolítica extravascular aguda, coincidente con lo reportado por los diferentes autores en la infecciones por *R. vitalii* (Carini y Maciel, 1914; Figuera, 2007). En la hemólisis extravascular la destrucción de los eritrocitos ocurre principalmente en los sinusoides del bazo y otros órganos. Incluye especialmente anemia macrocítica hipocrómica con regeneración excesiva de eritrocitos, visualizado en los extendidos de sangre por presencia de esferocitos (eritrocitos inmaduros) y corpúsculos de Howell-Jolly, como lo encontrado en los hemogramas realizados a 3 de estos animales (Figuera, 2007). Los esferocitos demuestran la ocurrencia de eritrofagocitosis y aglutinación eritroide debido a la opsonización que permite concluir que la patogénesis de esa hemólisis es inmunomediada (Thrall, 2007). Los esferocitos son retirados gradualmente de la circulación por el sistema monocítico-macrofágico, acumulándose en la sangre periférica (Fry y McGavin, 2007). Los animales presentaron apatía, anorexia, ictericia por la destrucción eritrocitaria y liberación de bilirrubina,

sumado a fiebre, linfadenomegalia, hemorragias gastrointestinales causando diarrea con sangre. En algunos de ellos, se observó persistente goteo de sangre por la punta de las orejas y narinas (Figura 1), conforme a lo que describen diversos autores (Pestana, 1910; Carini y Maciel 1914; Loretti y Barros, 2004). La causa del goteo persistente de sangre posiblemente esté relacionado a la trombocitopenia, aún no bien definida, pero se considera que podría ser producida por el consumo de plaquetas en las lesiones endoteliales (Carini, 1948; Soares, 2014). Otra hipótesis es que la *R. vitalii* causa una trombocitopenia inmunomediada, que mediante anticuerpos aceleran la destrucción de las plaquetas (Figuera y col., 2010; Paim y col., 2012).

Los casos clínicos registrados en este foco, han sido de naturaleza aguda. De acuerdo con Carini y Maciel, 1914 y Soares, 2014, podrían existir casos crónicos asintomáticos, que se comportan como portadores del patógeno, lo que se mantendría por varios meses después de la recuperación.

Los hallazgos histopatológicos observados reflejaron una marcada anemia, con necrosis hepática centrolobulillar, esta lesión es el resultado de la hipoxia celular originada por los bajos niveles de hemoglobina, típico aspecto histopatológico de un individuo anémico (Valli, 2007). La inflamación está presente en muchos órganos, pero especialmente en riñones, corazón, hígado y linfonodos. El hallazgo histopatológico de significancia diagnóstica es la visualización de morfologías parasitarias en las células endoteliales de los capilares de diversos órganos. En este trabajo se constataron zoítos en diversos órganos como miocardio, riñón, ganglios linfáticos, hígado, bazo e intestino, de valor diagnóstico por su ubicación y de acuerdo con la bibliografía (Loretti y Barros, 2004; Figuera y col., 2010).

Con respecto al tratamiento de la rangeliosis se utilizan drogas protozoocidas como, Doxiciclina, Dipropionato de Imidocarbo o Aceturato de Diminazeno (Loretti y Barros, 2004; Da Silva y col., 2011). El tratamiento favorable en uno de los casos con un piroplasmicida (Dipropionato de imidocarbo), contribuye en la orientación presuntiva del diagnóstico por *R. vitalii* (Da Silva y col., 2011). Corticoides también han sido usados en el tratamiento, siguiendo las recomendaciones de la terapia para anemia hemolítica inmunomediada primaria o secundaria (Bucher y Cotter, 1995).

La rangeliosis muchas veces es confundida con otras enfermedades que causan hemólisis, como pueden ser babesiosis, ehrlichiosis, leishmaniosis, y leptospirosis (Loretti y Barros, 2004; Sánchez y col., 2015). Una diferencia importante entre la babesiosis y la rangeliosis, es que *Babesia* spp. se encuentra dentro de los eritrocitos mientras que *R. vitalii* se aloja más frecuentemente dentro de las células endoteliales de los capilares sanguíneos, sumado a la diferencias morfológicas de ambos protozoarios (França y col., 2010). La ehrliquiosis canina también es un diagnóstico diferencial a incluir, principalmente porque ambas causan hemorragias. La diferencia entre ellas es que la ehrliquiosis difícilmente causa ictericia y si la causa está asociada

a una babesiosis. La infección por *Ehrlichia canis* causa una anemia normocítica normocrómica no regenerativa, acompañada de leucopenia y trombocitopenia (Neer, 1998), en contraste de *R. vitalii*, que produce típicamente una anemia macrocítica hipocrómica regenerativa extravascular de tipo inmunomediada (Loretti y Barros, 2004). La leishmaniosis visceral canina fue confundida con *R. vitalii* durante mucho tiempo por su semejanza morfológica en los cortes histológicos (Krauspenhar y col., 2003). Debe señalarse que la epidemiología y cuadro clínico-patológico son diferentes para ambas infecciones. La leishmaniosis visceral generalmente causa adelgazamiento progresivo acompañado de atrofia muscular, palidez de las mucosas, fiebre intermitente, anorexia, polidipsia, lesiones en piel (dermatitis exfoliativa, seca, usualmente no pruriginosa), aumento de volumen de todos los linfonodos, bazo e hígado, diarrea episódica, onicogripos (crecimiento anormal, exagerado de las uñas que quedan largas y curvadas), conjuntivitis, ocasionalmente epistaxis y raramente ictericia (Slappendel, 1988). Se debe diferenciar también de leptospirosis en su forma aguda, causada por *Leptospira interrogans* serovar Icterohemorrhagiae, porque ambas cursan con ictericia, fiebre postración, hemorragias, vómitos, melena y epistaxis, pero una de las diferencias es que *L. interrogans* causa hemólisis intravascular, mientras que *R. vitalii* hemólisis extravascular. En esta situación la visualización de morfologías parasitarias (zoítos) en diversos órganos en células endoteliales, signos clínicos particulares como el sangrado en punta de orejas y las alteraciones patológicas indicativas de un trastorno hemolítico de tipo extravascular, condiciones epidemiológicas favorables para el contacto con garrapatas y el resultado positivo de PCR, nos permite realizar el diagnóstico diferencial con *L. interrogans*. Además, los resultados serológicos para *Leptospira* fueron negativos.

En cuanto a las técnicas moleculares para el diagnóstico como ser PCR/secuenciación, si bien estas son sensibles y específicas, la calidad de las muestras es una limitante. En el caso de las dos muestras procesadas, solo se logró amplificar un fragmento del gen 18S ARN de Piroplasma, debido probablemente a que las mismas tenían varios años de haber sido almacenadas. Cabe destacar que la secuencia obtenida de la muestra positiva reveló una homología del 99-100% con *R. vitalii*. Una ventaja de realizar diagnóstico molecular en la rangeliosis es que se la puede detectar en todas las fases de la enfermedad, incluso en la fase crónica asintomática, donde se ha constatado que perdura hasta 228 días (Soares, 2014).

Conclusiones

Tomando en cuenta la epidemiología, signos clínicos, hallazgos de necropsia, lesiones histopatológicas, presencia de morfologías parasitarias (zoítos) en endotelios de distintos órganos y técnicas moleculares (PCR), se confirman casos de rangeliosis canina en el litoral oeste del Uruguay. La PCR se muestra como una herramienta eficiente junto con la visualización del protozoario en cortes histológicos y extendidos de sangre.

Agradecimientos

Al Sr. Charles de Ganay, propietario de los caninos, establecimiento El Vivero.

Bibliografía

1. AFIP (1995). Métodos Histotecnológicos. Registro de Patología de los Estados Unidos de América (ARP) Washington, DC.
2. Bucheler J y Cotter SM. (1995). Canine immune-mediated hemolytic anemia. En: Bonagura JD y Kirk RW. Kirk's current veterinary therapy XII - small animal practice. Philadelphia: WB Saunders pp. 152-157.
3. Carini A. (1908). Noticias sobre zoonoses observadas no Brasil. Red Med Sao Paulo 22:459-462.
4. Carini A y Maciel J. (1914). Sobre a molestia dos caes, chamada Nambi-Uvú, e o seu parasita (Rangelia vitalii). An Paul Med Cir 3:65-71.
5. Carini A. (1948). Sobre a ciclo de desenvolvimiento exo-eritrocitario de um Piroplasma do cao. Arq Biol 258: 49-52.
6. Da Silva A, França RT, Costa MM, Paim CB, Paim FC, Dornelles GL, Soares JF, Labruna MB, Mazzanti CM, Monteiro SG, Lopes STA. (2011). Experimental infection with *Rangelia vitalii* in dogs: Acute phase, parasitemia, biological cycle, clinical-pathological aspects and treatment. Exp Parasitol 128:347-352.
7. Eiras DF, Craviotto MB, Baneth G, Moré G. (2014). First report of *Rangelia vitalii* infection (canine rangelirosis) in Argentina. Parasitol Int 63:729-734.
8. Figuera RA. (2007). Rangelirosis. Acta Sci Vet 35:261-263.
9. Figuera RA, Souza TM, Kommers GG, Irigoyen LF, Barros CSL. (2010). Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985–2009). Pesq Vet Bras 30:974-987.
10. França RT, Da Silva AS, Loretta AP, Mazzanti CM, Lopes STA. (2014). Canine rangelirosis due to *Rangelia vitalii*: From first report in Brazil in 1910 to current day – A review. Ticks Tick Borne Dis 5:466-474.
11. França RT, Da Silva AS, Paim FC, Costa MM, Soares JF, Mazzanti CM, Lopes STA. (2010). *Rangelia vitalii* in dogs in southern Brazil. Comp Clin Pathol 19:383-387.
12. Fredo G, Bianchi MV, De Andrade CP, De Souza SO, Leite Filho RV, Bandinelli MB, Amorim DB, Driemeier D, Sonne L. (2015). Natural Infection of Wild Canids (*Cercopithecus thous* and *Lycalopex gymnocercus*) with the Intraendothelial Piroplasm *Rangelia vitalii* in Southern Brazil. J Wildl Dis 51:880-884.
13. Fry MM y McGavin MD. (2007). Bone marrow, blood cells, and lymphatic system. En: McGavin MD y Zachary JF. Pathologic Basis of Veterinary Disease 4 ed., Ed. Mosby Elsevier, St. pp. 743-832.
14. Krauspenhar C, Figuera RA, Graca DL. (2003). Anemia hemolítica em cães associada a protozoários. Rev Cien Med Vet Pequenos Anim Estim 4:273-281.
15. Loretta AP y Barros SS. (2004). Infecção por *Rangelia vitalii* ("Nambiuvú, "Peste de Sangue") en caninos: revisão. Med Vet P 2:128-144.
16. Loretta AP y Barros SS. (2005). Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified Intraendothelial Piroplasm in southern Brazil. Vet Parasitol 134:193-213.
17. OIE (2014). Leptospirosis. Capítulo 2.1.12. En Manual de la OIE sobre animales terrestres. OIE, Paris, OIE disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.12_LEPTO.pdf Acceso 22 de Setiembre 2017.
18. McCullough S. (2003). Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. Vet Clin North Am Small Anim Pract 33:1295-1315.
19. Nava S, Venzal JM, González-Acuña D, Martins TF, Guglielmone AA. (2017). Ticks of the Southern Cone of America. Diagnosis, Distribution, and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance. 1st Edition. Academic Press 372 p.
20. Neer TM. (1998) Ehrlichiosis: canine monocytic and granulocytic ehrlichiosis. En: Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 2 ed. Philadelphia: WB. Saunders pp 139-154.
21. Paim CB, Paim FC, Da Silva AS, França RT, Costa MM, Leal CAN, Soares JF, Labruna MB, Schetinger MRC, Mazzanti A, Mazzanti CM, Monteiro SG, Lopes STA. (2012). Thrombocytopenia and platelet activity in dogs experimentally infected with *Rangelia vitalii*. Vet Parasitol 185:131-137.
22. Pestana BR. (1910). O Nambyuvú. Rev Méd São Paulo 22:423-426.
23. Sánchez OR, Moré GA, Eiras DF. (2015). Piroplasmosis canina por *Rangelia vitalii* (Protozoa, Piroplasmida), en la ciudad de Concordia, Entre Ríos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad nacional de la plata. Disponible en: <http://labmesopotamico.com.ar/Download/Casos/Poster%20Rangelia%20AAVLD%202014.pdf>. Acceso 22 de junio de 2017.
24. Sarasúa LM y Donati NR. (1976). Constatación de babesiosis canina en el departamento de Artigas (Uruguay). Rev Vet Uruguay 62:137-139.
25. Slappendel RJ. (1988). Canine leishmaniasis: a review based on 95 cases in the Netherlands. Vet Quart 10:1-16.
26. Soares JF, Giroto A, Brandao PE, Da Silva AS, França RT, Lopes STA, Labruna MB. (2011). Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. Vet Parasitol 180:203-208.
27. Soares JF. (2014). Historia natural da rangelirose. Tesis Doctorado de Ciencias- Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia, Universidad de São Paulo, São Paulo, Brasil.
28. Soares JF, Carvalho L, Maya L, Dutra F, Venzal JM, Labruna MB. (2015). Molecular detection of *Rangelia vitalii* in domestic dogs from Uruguay. Vet Parasitol 210:98-101.
29. Thrall MA. (2007). Classificação e diagnóstico das anemias En: Ibid. (Editor), Hematologia e Bioquímica Clínica

Veterinária, Roca, São Paulo pp 78-83.

30. Valli, VEO. (2007). Hematopoietic system. En: Maxie MG (Editor), Jubb, Kennedy y Palmer's. Pathology of Domestic Animals, 5th ed., Saunders Elsevier, Philadelphia pp 107-324.