

Organismos Rickettsiales de interés veterinario y humano, y sus posibles vectores

Medina Bolivar, O. C.(1) y Ferrer, O.(2)

(1) Doctorado en Clínica e Investigación Terapéutica de la ULPGC

(2) Dpto. Patología Animal. Facultad de Veterinaria de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria
Carolinamedi@gmail.com

Los organismos rickettsiales son conocidos por producir diversas enfermedades tanto en los animales como a los humanos. Antigüamente a estos microorganismos se les clasificaba dentro de una taxonomía que hoy día, se reestructuró gracias al uso de los estudios filogenéticos moleculares y PCR (reacción en cadena de la polimerasa), esta prueba permitió identificar el ADN de las rickettsias en diversas muestras biológicas, aportando datos para reclasificar algunas especies taxonómicamente, quedando de la siguiente manera.

Actualmente, con la secuenciación de ARN, algunos organismos que previamente se consideraban ehrlichias, se han reclasificado en otros grupos (1). Esta nueva nomenclatura aún después de varios años resulta confusa o desconocida para muchos veterinarios. Los caninos pueden infectarse con diferentes especies de los géneros de Ehrlichia y Anaplasma, mientras que los felinos pueden infectarse con organismos de los tres géneros.

Su descripción agrupó a estas especies para describirlos como organismos parásitos intracelulares obligatorios, de forma coccoide a elipsoidal, pequeños, a menudo pleomórficos, Gram (-) negativos, que residen dentro de las vacuolas citoplasmáticas solas o en inclusiones compactas como mórulas, presentes a menudo en las células hematopoyéticas maduras o no maduras, particularmente células mieloides y neutrófilos, incluyendo eritrocitos, en sangre periférica o en tejidos, generalmente órganos

del sistema fagocítico mononuclear (bazo, hígado, médula ósea) de hospedadores mamíferos (1).

Análisis de su ultraestructura, se han observado dos formas, las reticulares grandes y las pequeñas con protoplasma condensado o también llamadas formas núcleo-densas (2).

Morfológicamente, los miembros del género Ehrlichia no parecen tener gran cantidad de peptidoglicano (3) y se cree que realizan catabolismo aerobio y sacarolítico. En dos especies del género se han estudiado las actividades metabólicas y estas pueden utilizar la glutamina y el glutamato para generar ATP (4,5), como hacen las rickettsias, pero a diferencia de estas, *Ehrlichia spp.*, prefiere utilizar la glutamina ya que así son envueltos por la

membrana del anfitrión penetrando mejor al fagosoma, no así utilizando glutamato.

Se ha demostrado que otros miembros del género no pueden utilizar glucosa-6-fosfato o glucosa, y que la mayor actividad metabólica de los organismos erlichiales es observada a un Ph de 7.2 a 8; declinando rápidamente a un Ph más bajo de 7 (4).

Su actividad dentro de células sanguíneas aún no está del todo conocida, al parecer el microorganismo logra liberarse no sólo por la lisis celular, sino también por exocitosis, debido a la fusión entre la vacuola donde se encuentra, con la membrana plasmática.

In vitro, los monocitos y macrófagos de los huéspedes, no tienen resis-

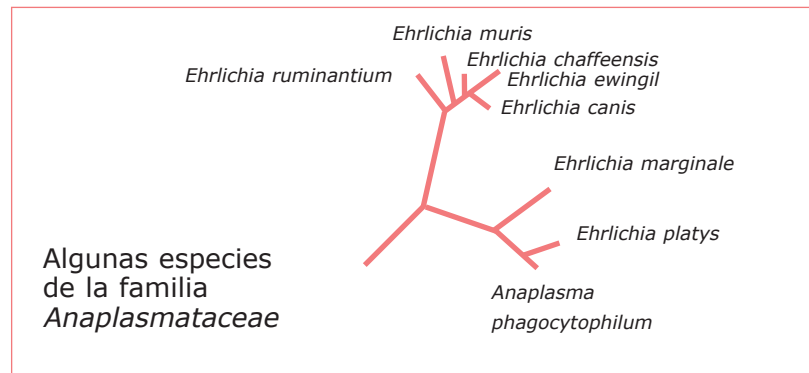


Tabla 1.

Orden	Rickettsiales		
Familia	Anaplasmataceae		
Genero	Ehrlichia	Anaplasma	Neorickettsia
Especie	E. canis E. chaffeensis E. ewingii E. muris E. ruminatum	A. Bovis A. Platys A. Phagocytophila/um	N. risticii N. sennetsu N. helmintoeca

tencia intrínseca a la infección a *E. canis* y otras ehrlichias. En otro sentido, las células epiteliales intestinales, y los mastocitos que no son células fagocíticas, son inducidas a ingerir cierto tipo de ehrlichia. En macrófagos infectados con *Ehrlichia spp.*, hay inhibición de la fusión lisosomal con la vacuola donde ella reside.

No se conoce a ciencia cierta si la especificidad para los monocitos y los granulocitos, es debido a un receptor específico para cada especie, o si *Ehrlichia spp.*, no puede sobrevivir y proliferar simplemente en otros tipos de leucocitos.

Ehrlichia spp., no activa macrófagos in vitro, y otras especies no inducen la producción de interleukina 1 ni la producción del factor de necrosis tumoral en macrófagos.

Estos macrófagos infectados, sin embargo, pueden ser activados y pueden matar *Ehrlichia spp.*, especialmente en etapas tempranas de la infección por ciertos estímulos exógenos, de los que se sabe aumentan el Ca²⁺ a nivel intracelular de los macrófagos no infectados. Tales estímulos incluyen (en orden de decreciente actividad) Ca²⁺ ionóforo A23187, interferón gamma y concanavalina A. Aunque algunos de estos agentes se sabe aumentan la actividad de la proteína C quinasa en macrófagos no infectados, un activador directo de la proteína C quinasa, acetato de forbol mirístico 1, no es efectivo, lo que sugiere que la proteína C quinasa no se pueda implicar en este proceso (1). Los organismos Ehrlichieae en general no induce una reacción inflamatoria severa en los tejidos, según lo observado por Rikihisa y Cowdry (1,6). Esto puede deberse a que la activación completa del macrófago no se hace efectiva y no se produce la reacción inflamatoria.

Un factor inhibitorio de la migración de la plaqueta con un peso molecular de 150.000 a 190.000, que es distinto del anticuerpo antiplaquetario y es producido por los linfocitos de perros infectados con *E. canis*, se

sugieren como la causa de trombocitopenia la cual puede ser inmunomediada (7, 8).

En el campo de la inmunidad, todos los organismos ehrlichiales inducen una respuesta específica de anticuerpos dentro del hospedador natural o en animales de experimentación. Sin embargo el hecho de encontrar anticuerpos, no se correlaciona siempre con el aislamiento de *Ehrlichia spp.*, ni con inmunidad protectora. Es de hacer notar que las infecciones persistentes y reinfecciones, después de la recuperación de la enfermedad clínica, se presentan para varias especies de *Ehrlichia*.

Con la infección de *E. canis*, la parasitemia dura años, a menos que se trate con tetraciclinas, y aun así, después de la terapia, los perros recuperados de una infección clínica y con títulos perceptiblemente positivos por inmunofluorescencia (IFA) para *E. canis*, son de nuevo susceptibles (9).

Los perros infectados de forma crónica, con parasitemia demostrable, con infiltración en células de varios órganos, presentan una inmunorespuesta humoral vigorosa (10). El suero canino inmune suprime levemente la infección de *E. canis*, de macrófagos normales in vitro pero al parecer no es efectivo in vivo (11).

El período de incubación para la ehrlichiosis es de aproximadamente de 1 a 3 semanas, y la infección se caracteriza generalmente por fiebre, depresión, y anorexia.

Aunque puede ser aislado de la sangre en las etapas agudas de la infección, cada especie de *Ehrlichia* parece tener un tropismo característico del tejido donde causa una enfermedad, sitio-específica.

Las células infectadas con *E. canis* son vistas comúnmente en la microvasculatura de los pulmones, riñones, meninges de los caninos, puede verse además, epistaxis causada por hemorragias en pulmones o mucosa nasal (3, 10, 12).

Importancia veterinaria

Los vectores conocidos como transmisores de estos organismos, son garrapatas, pulgas; sin embargo para algunas especies no está claro aún quien es el vector transmisor.

Se han hecho pruebas con garrapatas cultivando en ellas a estos agentes, pero aún no se realizan estudios en medios sin células o en embriones. Otras especies se han cultivado en neutrófilos, en líneas de células mielomonocítica, en células promielocíticas, eritrocitos y múltiples células marcadas, pero las infecciones son variables en patogenicidad para los hospedadores (1).

Existen una cantidad variable de rickettsias que afectan al perro, y dependiendo de la especie, estos infectan principalmente los monocitos, granulocitos neutrófilos, linfocitos o plaquetas circulantes, y pueden ser aislados de la sangre (3).

Las especies que infectan principalmente a los perros, son *E. canis*, *E. ewingii*, *Anaplasma platys* y ocasionalmente *E. chaffeensis* (de humanos) (13).

E. Canis, es el agente causal de ehrlichiosis canina (pancitopenia canina tropical), causada por la garrapata-oso y descrita originalmente en Argelia en 1935, luego en el Este y Oriente Medio. Sin embargo los diversos estudios indican que es considerada la menos frecuente (3),

Aunque fue reconocida por primera vez en los Estados Unidos de America en 1962 (14), la enfermedad está ahora distribuida en el mundo entero; ésta fue observada especialmente durante la Guerra de Vietnam, donde centenares de perros militares de los EE.UU., dentro de este país, murieron a causa de la infección.

Las manifestaciones clínicas pueden ser: agudas, subclínicas, o crónicas. En la fase aguda el paciente presenta fiebre, depresión, disnea, y anorexia con linfadenopatía y una pérdida ligera de peso.

La fase crónica se caracteriza por presentar hemorragias, epistaxis, edema periférico, depresión, y choque hipotenso que lleva a la muerte (3,9).

Los resultados de laboratorio son: trombocitopenia, leucopenia, e hiper-gammaglobulinemia (18, 3, 15). La severidad de la enfermedad puede estar relacionada con la raza del perro infectado, ya que se ha observado que los Pastores Alemanes desarrollan con más frecuencia un síndrome hemorrágico crónico (10).

El hecho de que existan enfermedades concomitantes como babesiosis o hemobartonellosis, puede intensificar los resultados de las muestras clínicas, así como la sintomatología (14).

E. canis, crece dentro del citoplasma de los monocitos y puede aislarse de esta misma célula, en sangre de perros infectados (16).

En necropsias realizadas a perros infectados con *E. canis*, se han encontrado esplenomegalia, linfadenopatía, y necrosis (10); encontrándose un número de inclusiones elevadas en forma de “mórulas” en los pulmones, el bazo, y los ganglios mesentéricos de perros infectados experimentalmente (11).

Por microscopía electrónica, pueden observarse, inclusiones de *E. canis* (monolítica) en macrófagos alveolares de perros que también han sido infectados experimentalmente (12).

El adquirir la enfermedad está unida a la presencia del vector *Rhipicephalus sanguineus*, garrapata marrón del perro, y es transmitida por los estadios de larva, ninfa y adulto (15), aunque no se descartan otras garrapatas transmisoras como *Amblyomma americanum* (Ixodidae) y/o *Octobius magnini* (Argasidae) las cuales han servido de vector en estudios experimentales (3).

La atracción de células mononucleares hacia el sitio de la inflamación por la presencia del vector en la piel del huésped, puede ayudar en el proceso de la infección de monocitos con *E. canis*. Así puede pasar el microorganismo a las glándulas salivales de la garrapata vector, incorporándose luego a la zona digestiva, y después infectando el epitelio del intestino medio (16). Todo apunta a que el microorganismo se desarrolla

dentro de este vector, pero aún no se ha comprobado que lo haga a nivel transovario (18).

La garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, en etapa adulta, puede transmitir *E. canis* en un máximo de 155 días después de separarse del huésped (19). Los perros pueden estar infectados de forma crónicas sin evidencias clínicas por más de 5 años. Así, canidos domésticos y salvajes se consideran reservorios naturales de *E. canis* (18).



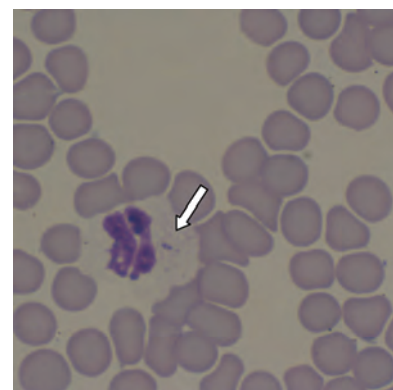
▲ Figura 1. Larva de *Rhipicephalus sanguineus*.

La producción de anticuerpo contra este organismo es rápida, en perros no tratados se observan a los 80 días postinfección, y el 100% de estos, es seropositivo en títulos medidos por inmunofluorescencia (IFA) (9).

Especies zoonóticas

E. ewingii es el agente causal de ehrlichiosis granulocítica canina y la sintomatología de la enfermedad es mucho más suave que la *E. canis* (monocítica). Ya que Ewing y colaboradores publicaron que la *E. Canis* se asocia a veces a poliartrosis (3, 20).

E. ewingii y *E. chanffeensis* son transmitidos por la garrapata estrella *Amblyomma americanum*, los ciervos de la especie (*Odocoileus virginianus*) son hospedadores de todas las etapas del ciclo biológico de *A. americanum* y reservorios importantes tanto de *E. ewingii* y *E. chanffeensis* (11).



▲ Figura 2. Inclusión intragranulocítica, dentro de una vacuola.

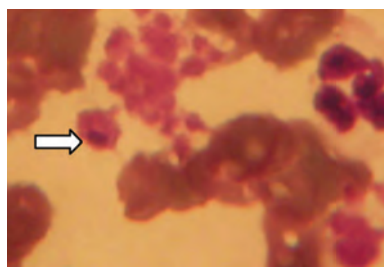
Anaplasma (Ehrlichia) platys, reclasificada por Dumler, et. al., 2001 y descrita originalmente por Harvey et. al., 1978 (21), infecta las plaquetas de los perros (fig. 1), los cuales sufren una trombocitopenia cíclica canina infecciosa. Sin embargo, en los megacariocitos de la médula ósea, no se han encontrado inclusiones de estos organismos.

La forma clínica de esta enfermedad, se manifiesta con fiebre, depresión, anorexia, etc., la parasitemia y la trombocitopenia ocurren en intervalos cíclicos de aproximadamente 10 a 14 días (10).

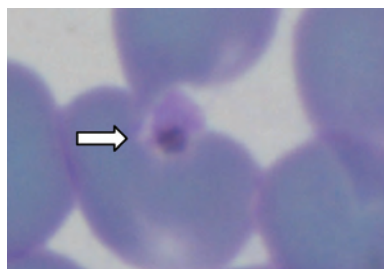
Los cambios patológicos son, aumento generalizado de los nódulos linfáticos, hiperplasia folicular del bazo, e incremento de la celularidad en la médula ósea.

Los perros seropositivos se han encontrado en los Estados Unidos de América (22), España (23) en China (1), en Venezuela, (24) y en muchos otros países en los cuales se han realizado estudios moleculares para su detección.

La distribución geográfica de estos microorganismos parásitos va unida a la presencia de vectores, sin embargo para *Anaplasma (Ehrlichia) platys* el vector no está plenamente identificado, tampoco se conoce con exactitud su ciclo biológico ni sus características antigénicas, por lo tanto, su posición taxonómica se puede juzgar solamente en base a las secuencias de la subunidad 16S, del ARNr (1).



▲ Figura 3.



▲ Figura 4.

Fotografías de frotis sanguíneos, donde se pueden apreciar inclusiones intraplaquetarias en caninos, Figura 3 y humanos, Figura 4.

E. Canis y *A. platys* son infecciones que pueden ocurrir simultáneamente (25). Y se piensa que puede ocurrir reacción cruzada (10, 22). Las relaciones antigénicas con otras especies de *Ehrlichia* son desconocidas.

Otra especie que infecta al perro ocasionalmente es *E. chaffeensis* el cual es el agente de la *ehrlichia* monocítica en humanos.

A partir de 1994 se comenzaron a identificar casos de ehrlichiosis granulocítica humana (HGE) ocasionada por una especie que es genéticamente similar en un 99,9% a *Ehrlichia phagocytophila* (26). HGE y *E. phagocytophila*, se diferencian en 3 nucleótidos por lo que parece ser una sola especie, (3), se ha recogido que serológicamente han mostrado reacciones cruzadas y comparten antígenos comunes, estas afirmaciones también han sido confirmadas por otros investigadores a mediados de los años 90.

Se ha avanzado bastante en los métodos de diagnóstico, logrando cultivar el agente en líneas celulares continuas (27). En Europa no se ha obtenido todavía ningún aislamiento en cultivo, pero los resultados de diversos estudios serológicos (28,

29) inducen a sospechar de su presencia.

Unas cuatro especies afectan al hombre: *E. chaffeensis*, *E. sennetsu*, HGE y la monocítica, descrita en Venezuela.

Estas especies de distribución cosmopolita y de las que aún se desconoce aspectos de su actuación a nivel celular, son consideradas, zoonosis potenciales, debido a la similitud genética que comparten entre especies, sin embargo, aún queda mucho por investigar acerca de estos microorganismos.

En varios casos de perros examinados en el Hospital Clínico de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC, se han demostrado tanto, serológicamente como en frotis sanguíneos, infecciones ocasionadas por *A. platys*, *A. phagocytophila* y *E. canis*.

La prevalencia de hospedadores intermediarios (garrapatas) como posibles transmisores de organismos rickettsiales, no se ha estudiado a fondo en las Islas Canarias, por lo que actualmente se está realizando este tipo de identificación tanto en la isla de Gran Canaria como en la de Tenerife.

Bibliografía

- 1.- Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C., Dasch, G., Palmer, G., Ray, S., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with
- 2.- Popov, V. L., Han, V. C., Chen, S.-M., Dumler, J. S., Feng, H.-M., Andreadis, T. G., Tesh, R. B. & Walker, D. H. (1998). Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus Ehrlichia. *J Med Microbiol* 47, 235-251.
- 3.- Rikihisa, Y. (1991) The Tribe Ehrlichieae and Ehrlichial Diseases. *Clinical microbiology reviews*, Vol. 4, No. 3 p. 286-308.
- 4.- Weiss, E., G. A. Dasch, Y.-H. Kang, and H. N. Westfall. (1988). Substrate utilization by Ehrlichia sennetsu and Ehrlichia risticii separated from host constituents by renografin gradient centrifugation. *J. Bacteriol.* 170:5012-5017.
- 5.- Weiss, E., J. C. Williams, G. A. Dasch, and Y.-H. Kang. (1989). Energy metabolism of monocytic Ehrlichia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1674-1678.
- 6.- Rikihisa, Y., B. D. Perry, Cordes, D., (1985). Ultrastructural study of rickettsial organisms in the large colon of ponies experimentally infected with Potomac horse fever. *Infect. Immun.* 49:505-512.
- 7.- Kakoma, I., C. A. Carson, and M. Ristic. (1980). Direct and indirect lymphocyte participation in the immunity and immunopathology

Tabla 2. Algunas especies, presentes en animales y humanos, en la cual se describe el vector que la alberga así como la célula afectada.

Vector	Especie	Células infectadas in vivo	Hospedador
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>E. canis</i>	monocitos/macrófagos	cánidos
<i>Amblyomma americanum</i>	<i>E. ewingi</i>	granulocitos	cánidos
?	<i>E. platys</i>	plaquetas	cánidos
<i>A. americanum</i>	<i>E. chaffeensis</i>	monocitos/macrófagos	humana, ciervo
<i>Ixodes ricinus</i>	<i>E. phagocytophila</i>	granulocitos	rumiantes

- of tropical canine pancytopenia-a review. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 3:291-298.
- 8.- Kakoma, I., C. A. Carson, M. Ristic, E. M. Stephenson, P. K. Hildebrandt, and D. L. Huxsoll. (1978). Platelet migration inhibition as an indicator of immunologically mediated target cell injury in canine ehrlichiosis. *Infect. Immun.* 20:242-247.
 - 9.- Buhles, W. C., D. L. Huxsoll, and M. Ristic. (1974). Tropical canine pancytopenia: clinical, hematologic, and serologic response of dogs to Ehrlichia canis infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. *J. Infect. Dis.* 130:357-367.
 - 10.-Baker, D. C., H. Simpson, S. D. Gaunt, and R. E. Corstvet. (1987). Acute Ehrlichia platys infection in the dog. *Vet. Pathol.* 24:449-453.
 - 11.-Aronson, J., J. Scimeca, D. Harris, and D. H. Walker.(1990). Immunohistologic demonstration of Ehrlichia canis. In K. E. Hechemy (ed.), *Rickettsiology: current issues and perspectives.* Ann. N.Y. Acad. Sci. 590:148-156.
 - 12.-Simpson, C. F.(1974). Relationship of Ehrlichia canis-infected mononuclear cells to blood vessels of lungs. *Infect. Immun.* 10:590-596.
 - 13.-Sparagano, O., de Vos, A., Paoletti, B., Camma, C., de Santis, P., (2003). Otranto, D., Giangaspero, A. Molecular detection of Anaplasma platys in dogs using polymerase chain reaction and reverse line blot hybridization. *J Vet Diagn Invest* 15: 527-534.
 - 14.-Ewing, S. A., and R. G. Buckner. 1965. Manifestations of babesiosis, ehrlichiosis, and combined infection in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 26:815-828
 - 15.-Kuehn, N. F., and S. D. Gaunt. 1985. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186:355-358.
 - 16.-Nyindo, M. B. A., M. Ristic, D. L. Huxsoli, and A. R. Smith. (1971). Tropical canine pancytopenia-in vitro cultivation of the causative agent, Ehrlichia canis. *Am. J. Vet. Res.* 32:1651-1658
 - 17.-Smith, R. D., D. M. Sells, E. H. Stephenson, M. Ristic, and . L. Huxsoll. (1976). Development of Ehrlichia canis, causative gent of canine ehrlichiosis, in the tick Rhipicephalus sanguineus and its differentiation from a symbiotic rickettsia. *Am. J. Vet. Res.* 37:119-126.
 - 18.-Groves, M. G., G. L. Dennis, H. L. Amyx, and D. L. Huxsoll. (1975). Transmission of Ehrlichia canis to dogs by ticks (Rhipicephalus sanguineus). *Am. J. Vet. Res.* 36:937-940.
 - 19.-Lewis, G. E., M. Ristic, R. D. Smith, et al. (1977). The brown dog tick Rhipicephalus sanguineus and the dog as experimental hosts of Ehrlichia canis. *Am. J. Vet. Res.* 38:1953-1955.
 - 20.-Ewing, S. A., W. R. Robertson, R. G. Buckner, and C. S. Hayat. (1971). A new strain of Ehrlichia canis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 159:1771-1774.
 - 21.-Harvey, J. W., C. F. Simpson, and J. M. Gaskin. (1978). Cyclic thrombocytopenia induced by a rickettsia-like agent in dogs. *J. Infect. Dis.* 137:182-188.
 - 22.-French, T. W., and J. W. Harvey. (1983). Serologic diagnosis of infectious cyclic thrombocytopenia in dogs using an indirect fluorescent antibody test. *Am. J. Vet. Res.* 44:2407-2411.
 - 23.-Sainz A, Amusatogui I, Tesouro MA. (1998) Canine ehrlichiosis in the Comunidad de Madrid in central Spain. *Ann N Y Acad Sci.* Jun 29;849:438-40.
 - 24.-Suksawat, J., Pitulle, C., Arraga-Alvarado, C., Madrigal, K., Hancock, S., Breitschwerdt, E. (2001). Coinfection with Three Ehrlichia Species in Dogs from Thailand and Venezuela with Emphasis on Consideration of 16S Ribosomal DNA Secondary Structure. *Journal of Clinical Microbiology.* 39(1) 90-93.
 - 25.-Hoskins, J. D., E. B. Breitschwendt, S. D. Gaunt, T. W. Fench, and W. Burgdorfer. (1988). Antibodies to Ehrlichia canis, Ehrlichia platys and spotted fever group rickettsiae in Louisiana dogs. *J. Vet. Int. Med.* 2:55-59.
 - 26.-Chen, S. M., J. S. Dumler, J. S. Bakken & D. H. Walker, (1994a). Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. *J. Clin. Microbiol.*,32: 589-595.
 - 27.-Goodman, J. L., C. Nelson, B. Vitale, J. E. Madigan, J. S. Dumler, T. J. Kurtti & U. G. Munderloh, (1996). Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *New Engl. J. Med.*,334: 209-215.
 - 28.-Brouqui, P., J. S. Dumler, R. Lihenard, M. Brossard & D. Raoult, (1995). Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Lancet*, 346:782-783.
 - 29.-Sumption, K. J., D. J. M. Wright, S. J. Cutler & B. A. S. Dale, (1995). Human ehrlichiosis in the UK. *Lancet*, 346: 1487-1488.