

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Diagnóstico de *Anaplasma phagocytophilum* mediante la técnica de Elisa Snap 4Dx Plus en un gato persa rojo (*Felis catus*) Indoor en el Distrito Metropolitano de Quito

Chelsea Samantha Lucero Carrera

Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 13 de mayo de 2021

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Diagnóstico de *Anaplasma phagocytophilum* mediante la técnica de Elisa Snap 4Dx Plus en un gato persa rojo (*Felis catus*) Indoor en el Distrito Metropolitano de Quito

Chelsea Samantha Lucero Carrera

Nombre del profesor, Título académico

Lenin Vinueza, DMVZ, M.Sc

Quito, 13 de mayo de 2021

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Chelsea Samantha Lucero Carrera

Código: 00140274

Cédula de identidad: 1727364794

Lugar y fecha: Quito, 13 de mayo de 2021

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

La bacteria *Anaplasma phagocytophilum* es un hemoparásito intracelular Gram –, que infecta a: humanos, bovinos, equinos, caninos y felinos. Su diagnóstico temprano permite una mejor evolución en el tratamiento, los métodos diagnósticos para felinos son: la anamnesis, frotis sanguíneo, hemograma y bioquímica sanguínea. En el caso de canes para enfermedades vectoriales se usa Elisa SNAP 4DX Plus. El objetivo de este trabajo fue establecer la utilidad de la prueba SNAP 4DX Plus como examen diagnóstico en gatos para *Anaplasma* y sistematizar lo que señala la literatura en relación al beneficio del test. La paciente fue una gata de 4 años de edad que presentaba ectoparásitos, fiebre, mucosas pálidas y pérdida de peso. Se realizó la bioquímica sanguínea obteniendo ALB alta, frotis sanguíneo y SNAP 4DX Plus positivos. Se trató con doxiciclina; 10mg/kg SID por una semana y 5 mg/kg SID 2 semanas más. La paciente resultó negativa al test a los 28 días. El test SNAP 4DX Plus para detección de anaplasmosis se ha usado en varios estudios en caninos donde la especificidad y sensibilidad superaban el 95% siendo más efectiva que otras pruebas como: IFI o el frotis sanguíneo. En gatos los signos son inespecíficos, además se vuelven portadores crónicos y los signos se presentan de forma tardía. El modo de transmisión no está claro. Las ventajas del examen es que se puede aplicar en estados crónicos o con signos no específicos debido a que es un test de acción rápida (8 min) y es sencillo de aplicar. La desventaja es la necesidad de seroconversión del paciente. En conclusión, en este caso el test fue una opción para diagnóstico para anaplasmosis en gatos ya que fue compatible su resultado con los signos, anamnesis y frotis sanguíneo. Se recomienda realizar estudios de esta técnica en felinos u otras especies que presenten la misma bacteria. Además, realizar un hemograma para contrastar los resultados con el test.

Palabras clave: *Anaplasma phagocytophilum*, SNAP 4DX Plus, gatos, tratamiento, signos, ventajas, desventajas.

ABSTRACT

The bacterium *Anaplasma phagocytophilum* is a Gram - intracellular hemoparasite that infects: humans, bovines, horses, equines, canines and felines. An early diagnosis allows a better evolution in the treatment. The diagnostics methods for felines are: the anamnesis, blood smear, blood count and blood biochemistry. In the case of dogs for vector diseases is used Elisa SNAP 4DX Plus. The objective of this work was to establish the usefulness of the SNAP 4DX Plus as a diagnostic test in cats for anaplasma and to systematize what the literature indicates in relation to the benefit of the test. The patient was a 4-year-old female cat with ectoparasites, fever, pale mucous membranes, and underweight. In the blood biochemistry was obtained high ALB, blood smear and SNAP 4DX Plus positive. She was treated with doxycycline; 10mg / kg SID for one week and 5mg / kg SID for 2 more weeks. The patient was negative to the test at 28 days. The SNAP 4DX Plus test for the detection of anaplasmosis has been used in several studies in canines where the specificity and sensitivity exceeded 95%, being more effective than other tests such as: IFI or blood smear. In cats the signs are nonspecific, they also become chronic carriers patients and the signs appear late. The mode of transmission is unclear. The advantages of the test are that it can be applied in chronic states or with non-specific signs due to the fast action of the test (8 min) and it is easy to apply. The disadvantage is the need for seroconversion of the patient. In conclusion, in this case the test was an option for diagnosis for anaplasmosis in cats since its result was compatible with the signs, anamnesis and blood smear. It is recommended to carry out studies of this technique in felines or in other species with the same bacteria. In addition, to carry out a blood count to contrast the results with the test.

Keywords: *Anaplasma phagocytophilum*, SNAP 4DX Plus, cats, treatment, signs, advantages, disadvantages.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	10
Desarrollo del Tema.....	13
Conclusiones	25
Referencias bibliográficas.....	27
Anexo A: Bioquímica sanguínea	31
Anexo B: Resultados frotis sanguíneo.....	32
Anexo C: Frotis sanguíneo.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla #1. Datos del paciente.....	13
Tabla #2. Constantes del paciente.....	14
Tabla #3. Signos del paciente vs Diagnósticos presuntivos.....	15
Tabla #4. Valores alterados del caso en exámenes complementarios.....	17
Tabla #5. Tratamiento.....	18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura #1. Metodología.....	13
Figura #2. Toma de muestra de sangre.....	15
Figura #3. Procedimiento de frotis y SNAP 4DX.....	16

INTRODUCCIÓN

El *Anaplasma phagocytophilum* es un hemoparásito intracelular Gram - que se transmite por la picadura de garrapatas de especie *Ixodes*. Después de la reorganización de las familias Rickettsiaceae y Anaplasmataceae en el orden Rickettsiales el nombre *Anaplasma phagocytophilum* se designó como el que engloba a tres especies de bacterias granulocíticas, *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* y la *ehrlichiosis granulocítica humana* (Woldehiwet, 2010).

La bacteria puede afectar a humanos, bovinos, equinos, caninos y felinos (Chala et al., 2016). En el campo veterinario anaplasmosis es una enfermedad de que presenta signos clínicos inespecíficos en las diferentes especies y producen daños en los portadores como insuficiencia respiratoria, hemorragias, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, problemas neurológicos en el sistema nervioso central, convulsiones y coma. En casos donde no es tratada la enfermedad puede ser fatal (Calleja Bueno, 2018).

En el caso de bovinos *Anaplasma phagocytophilum* es de gran importancia económica, en 2019 en Madrid se estimó que las pérdidas económicas iban entre 13.900 y 18.700 mil millones de dólares anuales debido a que las vacas presentaban abortos, reducción de la producción de leche y una mortalidad del 36-60%. En el caso de los animales de compañía, al estar en contacto con más especies como son: los seres humanos, gatos, perros, equinos, entre otros la diseminación es rápida si la bacteria no es detectada a tiempo. Además, si la enfermedad no es tratada durante en la fase aguda puede conducir a la muerte del animal (Pesquera et al., 2015).

Los reportes de varios estudios internacionales sobre seroprevalencia indican que la infección por *Anaplasma phagocytophilum* se encuentra extendida globalmente, aunque es poco diagnosticada (Dumler et al., 2005).

Esta patología es importante tanto en la medicina veterinaria como en medicina humana ya que es una enfermedad zoonótica vectorial. Esta enfermedad en el caso de los humanos se desarrolla gravemente siendo letal en algunos casos, no obstante, no se ha identificado la razón por la que algunos animales se convierten en hospedadores o reservorios (cita).

Según datos de la OMS (2020). Las patologías transmitidas por vectores generan cada año más de 219 millones de casos y 700 000 defunciones. Esas alarmantes cifras representan aproximadamente el 17% de todas las enfermedades infecciosas mundiales.

Entre los exámenes diagnósticos de laboratorio comunes para felinos se encuentran el hemograma, en el cual se espera una anemia, leucopenia (blancos $<4,500/\text{mm}^3$), trombocitopenia (plaquetas $<150.000/\text{mm}^3$) y aumento de las transaminasas (ESCCAP, 2009). La bioquímica sanguínea, la anamnesis completa y el frotis sanguíneo, en el que se identifica la bacteria mediante tinciones especiales (tinción de Wright, Giemsa).

En el microscopio la bacteria se identifica por la formación de mórulas en la superficie del citoplasma de los neutrófilos en los gatos infectados de anaplasmosis (Valenciano et al., 2016)

Por otro lado, existen pruebas de mayor complejidad en las que las muestras pasan por procesos largos como es la prueba de Inmunofluorescencia y PCR.

El test SNAP 4Dx Plus es una prueba que emplea la técnica de Elisa, suele aplicarse generalmente para la especie canina. Este método identifica los anticuerpos producidos por 6 enfermedades vectoriales por medio del análisis de una gota de sangre. Entre las patologías que detecta el test se encuentran la *Dirofilaria*, la enfermedad de Lyme causada por *Borrelia burgdorferi*, la *Ehrlichia canis* o *Ehrlichia ewingii* y finalmente *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys* (Restrepo, 2017).

En el caso de los gatos los exámenes diagnósticos que confirman esta enfermedad son: la anamnesis completa junto con el hemograma y el frotis sanguíneo. Y en el caso de los perros, el frotis sanguíneo o la prueba SNAP 4Dx Plus.

El uso de la técnica de Elisa SNAP 4Dx Plus generalmente es empleada en caninos ya que las enfermedades que detecta la prueba son más frecuentes en canes, pero extremadamente raras en felinos. Sin embargo, el SNAP 4Dx Plus tiene un 95% de sensibilidad a la detección de *Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma Platys* el último descrito netamente en perros (Ebani & Bertelloni, 2014). Por ello es importante conocer los detalles de su funcionamiento en la especie felina.

El presente trabajo describe el diagnóstico y tratamiento de anaplasmosis felina en un caso clínico con el objetivo de verificar si existe compatibilidad entre el diagnóstico por SNAP 4DX Plus en contraste con los signos, anamnesis y el frotis sanguíneo del paciente. Además de discutir la técnica de Elisa SNAP 4DX Plus, sus ventajas desventajas, funcionamiento y casos previos que emplearan la técnica en relación con las técnicas convencionales mediante la información recopilada en buscadores como *Pubmed*, *Research Gate*, *Redalyc*, *Elsevier* en español, inglés y portugués sin un límite de fecha de publicación.

DESARROLLO DEL TEMA

Antecedentes y datos del paciente

La paciente tratada fue una gata doméstica esterilizada con estilo de vida INDOOR es decir que vivía encerrada en su domicilio. Fue sometida a un examen de control renal, ya que 4 semanas atrás presentaba problemas en riñones por lo que se optó por cambiar el alimento a una marca premium. La consulta se realizó a domicilio en el sector de los Arrayanes en Quito. Los datos del paciente se recopilaron en la Tabla # 1.

Tabla # 1

Datos del paciente

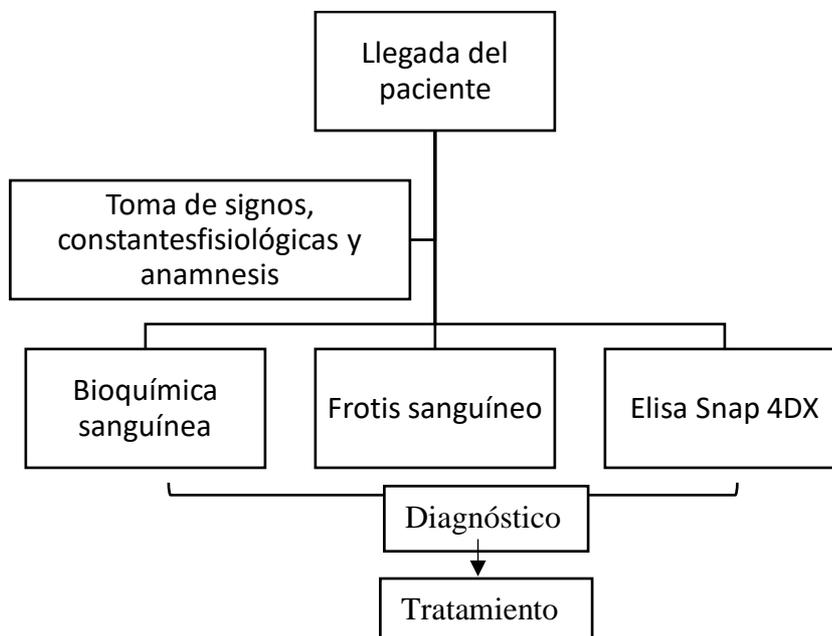
Datos del paciente		
Especie:	Color:	Sexo:
Felino	Naranja	Femenino
Raza:	Edad:	Nombre:
Persa Tabí rojo	4 años	Lola

Metodología

La metodología empleada para la realización del caso fue recogida en el Gráfico N°1

Figura #1

Metodología



Hallazgos de Examen clínico

Al realizar la consulta de control se evidenció la presencia de pulgas, a simple vista no se evidencio la presencia de otros ectoparásitos. Sin embargo, se notaron las mucosas pálidas, por lo que se procedió a recolectar una muestra sanguínea para realizar un frotis sanguíneo y bioquímica sanguínea.

Examen físico

Se recopilaron las constantes fisiológicas que fueron halladas durante el examen físico de la paciente en la Tabla # 2 que se presenta a continuación.

Tabla #2

Constantes del paciente

CONSTANTES FISIOLÓGICAS		
Peso:	FC:	Mucosas:
4,2 kg	180 Lpm	Pálidas
Temperatura:	FR:	% Deshidratación:
39.2°C	40rpm	7%
TLLC:	Auscultación torácica:	Linfonodos:
2 seg.	Sin particularidades	Sin particularidades
ICC:	Palpación abdominal:	Estado de conciencia:
2/5	Sin particularidades	Alerta

Diagnósticos presuntivos

Los dos primeros diagnósticos presuntivos del paciente fueron *Haemobartonella Felis* o LVF. No obstante, el dueño recordó que en la misma calle existía un perro que salía cuando los dueños abrían la puerta al llegar a casa y recorría por el vecindario hasta llegar a su acera, también mencionó que sus vecinos habían salido de viaje con el can a la costa aproximadamente 3 semanas atrás por lo que se procedió a colocar dos diagnósticos diferenciales más. La tabla # 3 es un cuadro de decisión en el que se observa los signos que presentó el paciente junto con los diagnósticos presuntivos compatibles con dichos signos.

Tabla # 3

Signos del paciente vs Diagnósticos presuntivos

Signos del caso	Diagnósticos presuntivos			
	<i>Haemobartonella Felis</i>	Leucemia viral felina	Babesiosis	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
Ectoparásitos	X		X	X
Mucosas pálidas	X	X	X	X
Fiebre		X		X
Pérdida de peso	X	X	X	X

Exámenes complementarios

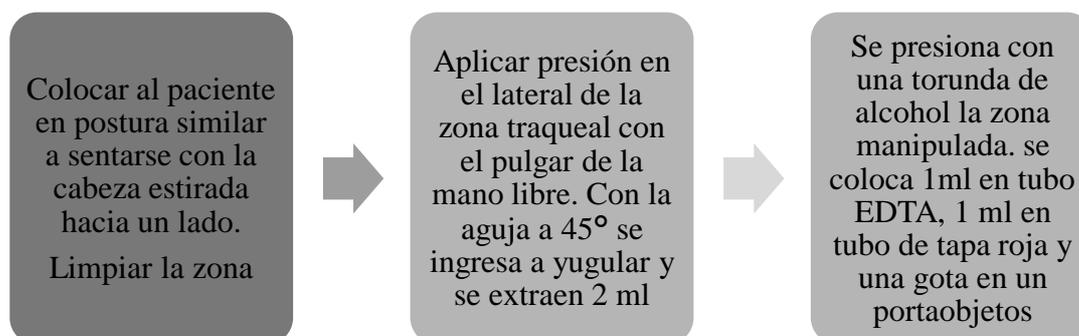
A partir de la historia clínica, anamnesis y signos del paciente se sospechó como primer diagnóstico presuntivo la Anaplasmosis por lo que se decidió realizar una toma de muestra para los exámenes sanguíneos (Figura #2), frotis y prueba SNAP 4DX (Figura #3).

La toma de muestra en la gata se recomendó en la vena yugular con la técnica descrita como punción indirecta la cual es puncionar la zona cercana al vaso y redirigir la aguja al trato venoso una vez dentro para evitar la infiltración en la vena (Coppo, 2019).

Se escogió la vena yugular ya que permite una rápida extracción, mejor contención del animal y es menos “móvil” que la vena cefálica.

Figura # 2

Toma de muestra de sangre



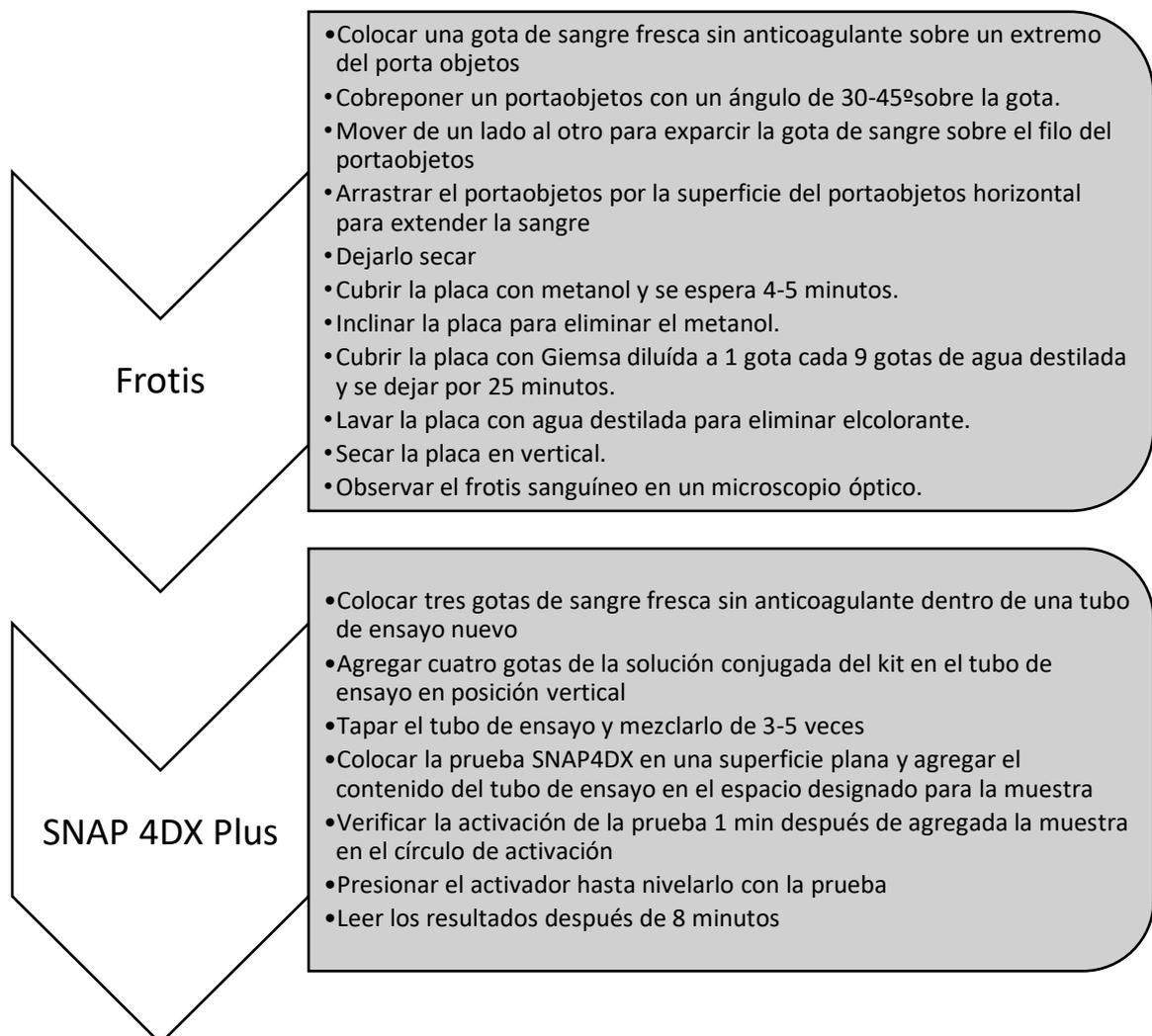
En cuanto al frotis sanguíneo se realizó bajo la tinción de Giemsa con la técnica descrita por Enrique (2016). En la cual se observaron neutrófilos que contenían mórulas en el citoplasma

siendo compatible con *Anaplasma phagocytophilum* siendo diferente de las otras dos enfermedades.

Haemobartonella infecta la superficie marginal de los eritrocitos mientras que la Piroplasmosis permite observar la Babesia con los merozoitos en parejas grandes o pequeños de forma piriforme en el interior de los eritrocitos. Finalmente, la prueba SNAP 4DX Plus se realizó ejecutando cada paso que se mencionaba en el instructivo que contenía el fabricante de la caja de la prueba Elisa.

Figura #3

Procedimientos de Frotis y SNAP 4DX



Los resultados de los exámenes sanguíneos que se encontraban fuera del parámetro normal se recopilaron en la Tabla # 4.

Tabla # 4

Valores alterados del caso en exámenes complementarios

Bioquímica sanguínea	BAJO	NORMAL	ALTO
Albúmina			X
Frotis sanguíneo	POSITIVO	NEGATIVO	
Anaplasma Phagocytophilum	X		
Elisa SNAP 4Dx Plus	POSITIVO	NEGATIVO	
Anaplasma Phagocytophilum	X		

Diagnóstico definitivo

Una vez comparada la anamnesis, exámenes de laboratorio, frotis sanguíneo y prueba Elisa se confirmó que el animal presentaba *Anaplasma phagocytophilum*. Por lo que se inició el tratamiento de forma inmediata.

Tratamiento y resolución

El tratamiento se realizó con antibióticos como indica la Tabla # 5. Posterior a la aplicación de dicho tratamiento se realizó una evaluación de control de signos. A los 21 días se encontró notables mejoras en la paciente ya que los signos habían desaparecido completamente, a los 28 días se aplicó la prueba SNAP 4DX Plus obteniendo un resultado negativo. Finalmente, al cabo de 1 mes el paciente logró recuperarse completamente.

Tabla # 5

Tratamiento

Tratamiento para Anaplasmosis				
Dosis Doxiciclina (Supramycina)	Frecuencia	Semana 1	Semana 2	Semana 3
10 mg/ kg/día	SID	X		
5 mg/kg/día	SID		X	X

Discusión

La *Anaplasma phagocytophilum* es de relevancia veterinaria debido a su importancia en salud pública. Esta bacteria intracelular es zoonótica, siendo potencialmente letal en humanos al causar Anaplasmosis granulocítica humana (Raiden Grandía et al., 2019).

Se transmite por la picadura de garrapatas o casos de coinfección por compartir el mismo vector con su mascota. Sin embargo, el mecanismo en otras vías de infección por animales de compañía no está claro. Por lo que es de importancia que esta enfermedad se diagnostique y trate a tiempo para evitar su diseminación a más especies dentro del círculo social del animal. Es decir que si el minino convive con otras mascotas ya sean perros o gatos, el propietario o en caso de que el felino se encuentre cerca de equinos o bovinos el agente los infectaría si no es tratado a tiempo (García et al., 2015).

En este caso, los hallazgos del examen físico contribuyeron al médico tratante para obtener 4 diagnósticos presuntivos como muestra el cuadro de decisión de la Tabla # 3 de resultados. los diagnósticos se evaluaron de acuerdo a los signos que el paciente presentó y se descartaron como se indica a continuación.

Ebani y Bertelloni indican que la transmisión en gatos de esta patología es inespecífica puesto a que la enfermedad puede transmitirse tanto por garrapatas, palomas portadoras de garrapatas, o incluso pulgas (Ebani & Bertelloni, 2014).

Se consideró anemia infecciosa felina como señala el cuadro N°3 debido a que la bacteria causante de esta enfermedad, *Haemobartonella felis*, es transmitida a los gatos por la picadura de pulgas (Anderson & Charleston, 1967).

Al paciente se lo encontró infestado de pulgas, las picaduras y la presencia de la bacteria en el interior de los eritrocitos podrían explicar el color pálido en las mucosas. Se asoció esta enfermedad a la pérdida de peso. Sin embargo, se la descartó debido a que esta enfermedad generalmente es asintomática en el gato o de otra forma presenta ictericia relevante, dolor en articulaciones e hiperestesia felina (aumento anormal de sensibilidad en la piel) lo cual, como resultado general dolor neuropático y exceso de lamido, mutilaciones o mordeduras excesivas que lesionan la piel, lo que no se evidenció en el felino (Oro & Paula, 2020).

Se sospechó en Leucemia viral felina debido a que la paciente presentaba signos similares en el caso como son la hipertermia, pérdida de apetito y por ende la pérdida de peso, al igual que la anemia (Álvarez, 2020). Sin embargo, se descartó debido a que el propietario indicó que la gata no mantiene contacto con ningún otro felino, además la paciente contaba con las vacunas al día y se obtuvo un resultado PCR y Elisa negativa a LVF.

Se pensó en nuevos diagnósticos presuntivos entre los cuales se colocó a la Babesiosis, *Piroplasmosis*, la cual es un protozoo hemático que infecta exclusivamente a los eritrocitos. En el caso de los gatos la especie que infecta es la *Babesia spp.* Transmitida por la garrapata *Rhipicephalus spp.* (ESCCAP, 2009). Se pensó en esta enfermedad ya que los signos son parecidos a los de caso. Sin embargo, se descartó ya que no presentaba fiebre alta que es el principal signo, junto a ictericia, vómitos o diarrea (Baneth et al., 2004).

Finalmente se analizó como opción a la *Anaplasma phagocytophilum* la cual es una bacteria intracelular Gram-negativa, transmitida por garrapatas *Ixodes ricinus* que infecta principalmente neutrófilos y ocasionalmente granulocitos- eosinófilos (ESCCAP, 2009). Esta

enfermedad no presenta signos específicos, sin embargo, en ciertas ocasiones se han detectado los signos clínicos compatibles con los del caso clínico presente que se mencionan en la Tabla # 4.

Dichos signos se explican de la siguiente manera: las mucosas pálidas son causadas por la anemia debido al daño en médula ósea y la inhibición de la hematopoyesis, la fiebre se debe a la infección, mientras que la pérdida de peso se debe a la reducción de ingesta que presentó el paciente. Sin embargo, no presentó otros signos en etapa prodrómica como son, diarrea, vómitos o hemorragias petequiales (Cepeda & Zapata, 2013).

Esto posiblemente a que el gato se encontraba finalizando la etapa aguda de la enfermedad o a que no son signos comunes de la enfermedad en felinos (Chala et al., 2016). Por lo que se verifica la compatibilidad de los signos de la literatura con los establecidos en el caso.

Se realizó la química sanguínea en la que se obtuvieron los resultados registrados en la Tabla # 4. La literatura indica que en casos de Anaplasmosis es necesario realizar un hemograma ya que este presentaría trombocitopenia, leucopenia, anemia e hiperproteïnemia (Ayllón, T, 2010). No obstante, el médico tratante considero de mayor relevancia realizar las técnicas de frotis sanguíneo y el SNAP 4DX Plus.

La literatura muestra que los animales infectados con *Anaplasma phagocytophilum* en la química sanguínea obtienen hipergammaglobulinemia, hipo o hiper albuminemia, incremento de las enzimas hepáticas e hiperbilirrubinemia cuando la enfermedad se encuentra en el periodo clínico, sin embargo, el único parámetro que se encontró alterado fue hiperalbuminemia correspondiente con el grado de deshidratación junto a la inflamación producida por la enfermedad (Coppo, 2019). En este caso el tanto el frotis sanguíneo como el test SNAP 4DX Plus resultaron positivos.

El test SNAP 4DX Plus emplea un mecanismo de diagnóstico basado en Elisa tipo sándwich. El test utiliza un péptido sintético derivado de una proteína de *A. phagocytophilum* inmunodominante para detección. La prueba consta de su matriz la cual se encuentra tamizada de un anticuerpo policlonal es decir aquel capaz de reconocer y unirse a varias secciones de un solo antígeno lo que le permite inmovilizar a la mayor cantidad de antígeno posible, sobre este se coloca el conjugado enzimático Anti-Anaplasma spp. mezclado con la muestra de sangre entera (Franco-Zetina et al., 2019). Al activar el test inician 3 pasos, el flujo bidireccional que capta los agentes una segunda vez con un anticuerpo monoclonal de detección, es decir que cada anticuerpo se une a un solo epítipo o región específica del antígeno, permitiendo así aumentar la especificidad. Luego el paso de lavado remueve las partículas que no se enlazaron y que pueden interferir con los resultados y finalmente la amplificación permite una reacción química que da el tono celeste en el test. La casa comercial indica que el test cuenta con una sensibilidad de 97.8% (capacidad de detección de individuos enfermos) y especificidad de 92.3%. (capacidad de detección de individuos sanos) (Paredes, 2014).

El test SNAP 4DX se diferencia de IFI la cual es una técnica que emplea 2 anticuerpos, el primero de reconocimiento sobre células enteras y el segundo de detección el cual cuenta con fluorescencia que permite identificar las células teñidas con la enfermedad (Franco-Zetina et al., 2019). Se consideró al test SNAP 4DX Plus de mayor confianza puesto que emplea péptidos frente a anticuerpos específicos descartando falsos positivos mientras que el otro test detecta todos los anticuerpos producidos contra estos organismos (Abyntek, 2016). Además, el SNAP 4DX al hacer uso del anticuerpo monoclonal en detección le permite medir la concentración de un antígeno en una muestra mixta con mayor sensibilidad (O'Connor et al., 2013).

El test de SNAP 4DX Plus se ha empleado en varios estudios en caninos. En Colombia se utilizó el SNAP 4DX Plus como la técnica en caninos para detección de Anaplasmosis obteniendo una prevalencia del 40% de *Anaplasma phagocytophilum* en la ciudad de Barranquilla. En un estudio reportado por (Bonilla et al., 2012), en la ciudad de Medellín, la prueba de ELISA tiene un 96,2 % de sensibilidad y una especificidad de 97,7% en la detección de este agente infeccioso por lo que se consideró en su estudio como una de las mejores pruebas diagnósticas en la actualidad.

Mientras que un estudio realizado en el año 2016 en la ciudad de Guayaquil mediante la técnica de SNAP 4Dx se obtuvo una prevalencia del 3% en Anaplasmosis canina, en Puerto López el 36% y finalmente en la ciudad de Santo Domingo, por el mismo método de diagnóstico se obtuvo el 47.72% de prevalencia en Anaplasmosis canina (Paredes, 2014).

En otro estudio se comparó la técnica de inmunofluorescencia IFA y la técnica de Elisa SNAP 4DX en el noreste de Estados Unidos con una seroprevalencia de 4.3 y 1.8% respectivamente. El estudio se realizó nuevamente empleando la prueba Elisa SNAP 4Dx Plus la cual consta de 96,5% de sensibilidad y 99% especificidad en comparación con la técnica de Inmunofluorescencia encontrando una seroprevalencia de 15.4 y 3.6 % en la misma zona (Qurollo, 2019).

La Anaplasmosis es una enfermedad que afecta a varias especies, tal como lo indican Ebani & Bertelloni (2014), quienes en su investigación en Italia detectaron por PCR y frotis sanguíneo la subespecie que afecta en mayor grado al gato siendo *Anaplasma phagocytophilum*.

Por otra parte, en la misma área geográfica se evaluaron con IFI a 21 gatos, las cifras de seroprevalencia de Anaplasmosis eran menores a las caninas posiblemente a que los gatos eliminan garrapatas al acicalarse o a que no se diagnóstica la enfermedad al no reportarse signos clínicos en los gatos, ya sea por cronicidad, estado de portador o signos subclínicos.

Además, el sexo del animal no influía en la detección de la enfermedad, la edad en gatos adultos permite que a enfermedad se albergue como crónica asintomática, y la raza no influía en la detección del Test, aunque los gatos de raza “pura” al ser cepillados con mayor frecuencia mostraron una menor seroprevalencia (Ebani & Bertelloni, 2014).

En el caso clínico descrito no se pensó en Anaplasmosis como primer diagnóstico puesto que en el chequeo físico no se encontró evidencia de garrapatas, sin embargo Morales de los Ángeles (2010) indica en su trabajo que no existe asociación estadística significativa entre la presencia de garrapatas o historial de haberlas tenido con respecto a la existencia de anticuerpos de *Anaplasma spp.*

Otro estudio se basó en la comparación de los resultados obtenidos por frotis sanguíneo y SNAP 4DX Plus en 56 canes y revelo que la sensibilidad de la primera fue de 87.5% mientras que el test obtuvo 91.5% de sensibilidad (Cepeda & Zapata, 2013).

Por otro lado, se recopiló información sobre las ventajas y desventajas del uso de este test frente al uso del frotis sanguíneo como método diagnóstico. En cuanto a las ventajas El SNAP 4DX Plus permite realizar un diagnóstico de esta enfermedad incluso en estadios crónicos y cuando el paciente presenta signos no específicos o intermitentes (McCown et al., 2015). El frotis sanguíneo se encuentra limitado puesto que las mórulas y los cuerpos de inclusión aparecen solo durante la fase aguda de la enfermedad es decir durante las 2 primeras semanas después de estar expuesto al patógeno (Calleja Bueno, 2018). La técnica de Elisa SNAP 4DX es una técnica rápida, y sencilla de realizar

Además, el frotis sanguíneo presenta una menor especificidad debido a que este depende de la vista del observador y su experiencia (Tateishi. Et. Al. 2015). Por otra parte, como desventaja el test SNAP 4DX Plus no permite identificar el estadio de la enfermedad por lo que el test manejará en algunos casos resultados positivos si un animal se mantiene seropositivo, aunque ya haya eliminado al microorganismo (Posada, 2016) y de la misma

forma se debe aplicar este test en animales con seroconversión es decir que haya pasado 1-2 semanas después de la exposición al agente (Troncoso et al., 2014).

CONCLUSIONES

En conclusión, *Anaplasma phagocytophilum* es una enfermedad que se encuentra subdiagnosticada, debido a que no presenta signos patognomónicos, por lo que en varias ocasiones se confunde con otras patologías transmitidas por vectores.

Para llevar a cabo un correcto diagnóstico es necesario realizar una anamnesis profunda, así como pruebas de laboratorio que confirmen el diagnóstico.

El test SNAP 4DX permitió en este caso corroborar que la enfermedad en curso era *Anaplasma Phagocytophilum* ya que este agente infecta tanto a perros como a gatos, además se evidencio la disposición de la bacteria en neutrófilos en el frotis sanguíneo.

Se considera que, al no detectarse cuerpos de inclusión ni mórulas en los neutrófilos en el frotis sanguíneo, no es razón suficiente para descartar el patógeno por lo que se recomienda que si los signos, anamnesis y exámenes de laboratorio concuerdan con el diagnóstico se realice una prueba SNAP 4DX.

El test Snap 4DX se lo considera como una opción nueva de diagnóstico de *Anaplasma phagocytophilum* en gatos ya que el epítipo del antígeno que la prueba capta es el mismo que en los perros. El test tiene alta especificidad y sensibilidad, de igual forma es una prueba rápida ya que se demora 8 minutos en mostrar el resultado y es fácil de aplicar. El tiempo es crucial en esta enfermedad, por lo que al emplearse la técnica de SNAP 4DX se reduce permitiendo colocar el tratamiento adecuado logrando un mejor pronóstico del animal infectado, caso contrario este puede fallecer si en el diagnóstico fallan las pruebas tradicionales o el animal no presenta signos específicos.

Para el uso de SNAP 4DX Plus se debe tomar en cuenta el tiempo de curso de la enfermedad, así como la historia clínica y los recursos del propietario. La prueba SNAP 4DX podría emplearse tanto para diagnóstico de la enfermedad como para la confirmación

posterior de la ausencia de la bacteria en el organismo y por consiguiente la efectividad del tratamiento que se empleó.

En el presente trabajo se concluye que los signos y el resultado de la prueba diagnóstica SNAP 4DX Plus es compatible con *Anaplasma phagocytophilum* confirmando con los resultados del frotis sanguíneo.

Se recomienda realizar el hemograma para verificar la presencia de los parámetros afectados descritos en la literatura y se recomienda realizar una prueba PCR en caso de requerir confirmar la subespecie del patógeno, puesto que a pesar de que *Anaplasma phagocytophilum* es el tipo de *Anaplasma* que afecta al gato, la literatura ha descrito casos raros de *Anaplasma platys* en gatos que la prueba SNAP 4DX Plus validaría como positivo.

Además, se recomiendan realizar mayores estudios sobre la validez del test en otras especies que pudieran ser afectadas por *Anaplasma phagocytophilum*. Así como un estudio sobre las posibles vías de transmisión a los felinos y la zoonosis de la misma.

Las limitaciones del estudio se relacionaron con la escasa información sobre el funcionamiento exacto de la prueba y los pocos estudios realizados en gatos hacia la misma patología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abyntek. (2016, julio 14). Claves para seleccionar pares de anticuerpos. *Abyntek Biopharma*.
<https://www.abynetek.com/seleccionar-pares-de-anticuerpos/>
- Alvarez, D. A. (2020). *Fisiopatología, diagnóstico y prevención de leucemia viral felina*.
<https://repository.udca.edu.co/handle/11158/3345>
- Anderson, D. C., & Charleston, W. A. (1967). *Haemobartonella felis*. *New Zealand Veterinary Journal*, 15(3), 47. <https://doi.org/10.1080/00480169.1967.33688>
- Ayllón, T. (2010). *Enfermedades vectoriales en gatos de la Comunidad de Madrid: Estudio serológico, molecular y epidemiológico de la infección por «Ehrlichia spp, Anaplasma spp, Neorickettsia spp, Leishmania spp y Bartonella spp»—E-Prints Complutense*. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/10168/>
- Baneth, G., Kenny, M. J., Tasker, S., Anug, Y., Shkap, V., Levy, A., & Shaw, S. E. (2004). Infection with a Proposed New Subspecies of *Babesia canis*, *Babesia canis* subsp. *Presentii*, in Domestic Cats. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 99-105.
<https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.99-105.2004>
- Bonilla, L. M. C., Cardona, S. B., Cardona, D. R., Jaramillo, J. E. P., Rivera, D. G., Echeverri, É. T. L., & Echeverri, C. A. G. (2012). *Implementación de un método basado en PCR, para el diagnóstico de Ehrlichia spp., en caninos de Medellín (Colombia)*. 7(2), 10.
- Calleja Bueno, L. (2018, diciembre 19). *Estudio epidemiológico de la infección por «Anaplasma phagocytophilum, A. marginale, A. Centrale, Babesia bigemina, B. divergens y Theileria annulata» en ganado vacuno en extensivo de la Comunidad de Madrid* [Info:eu-repo/semantics/doctoralThesis]. Universidad Complutense de Madrid. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/55107/>

- Cepeda, O. A., & Zapata, J. S. (2013). *Detección serológica por Elisa indirecta de hemoparásitos y Dirofilaria immitis en caninos en Bogotá, Colombia*. 98.
- Chala, A., Milena, G., & Restrepo, M. (2016). *Reporte de caso: Infestación por Ehrlichia spp en felino mestizo – Case report: Ehrlichia spp infestation in mixed breed*. 17(11), 12.
- Coppo, J. A. (2019). *Interpretación de análisis clínicos en perros y gatos*. Ediciones Universidad Católica de Salta.
- Dumler, J. S., Choi, K.-S., Garcia-Garcia, J. C., Barat, N. S., Scorpio, D. G., Garyu, J. W., Grab, D. J., & Bakken, J. S. (2005). Human Granulocytic Anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1828-1834. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050898>
- Ebani, V. V., & Bertelloni, F. (2014). Serological evidence of exposure to Ehrlichia canis and Anaplasma phagocytophilum in Central Italian healthy domestic cats. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(6), 668-671. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.04.019>
- Enrique, M. (2016). Tinciones en frotis sanguíneo. *Axon Comunicacion. Expertos en soluciones integrales y formación en veterinaria*, 6(11), 14-25.
- ESCCAP. (2009). *Conferencia. Enfermedades transmitidas por vectores – ESCCAP España*. <https://www.esccap.es/conferencia-esccap-2016-vector-borne-diseases/>
- Franco-Zetina, M. E., Adame-Gallegos, J. R., & Dzul-Rosado, K. R. (2019). Efectividad de los métodos diagnósticos para la detección de ehrlichiosis monocítica humana y canina. *Revista Chilena de Infectología*, 36(5), Article 5. <https://www.revinf.cl/index.php/revinf/article/view/243>
- García, J. C., Núñez, M. J., Portillo, A., & Oteo, J. A. (2015). Anaplasmosis humana: Comunicación de 2 casos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(1), 68-69. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.05.009>

- McCown, M., Monterroso, V., & Cardona, W. (2015). *Monitoreo de Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, y Dirofilaria immitis en perros de tres ciudades en Colombia*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321443145015>
- Morales de los Angeles, G. C. (2010). *Utilización de la prueba rápida de Elisa para la determinación de anticuerpos circulantes en perros sospechosos de Anaplasmosis en el municipio de Mixco, Guatemala* [Other, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3148/>
- O'Connor, T. P., Lawrence, J., Andersen, P., Leathers, V., & Workman, E. (2013). Immunoassay Applications in Veterinary Diagnostics. En *The Immunoassay Handbook* (pp. 623-645). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097037-0.00053-1>
- OMS. (2020). *Enfermedades transmitidas por vectores*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
- Oro, D., & Paula, A. (2020). *Síndrome de hiperestesia felina. Revisión bibliográfica*. <http://repositorio.umaza.edu.ar/handle/00261/1098>
- Paredes, I. (2014). *Identificación de hemoparásitos mediante «Snap diagnóstico 4dx Plus» (idexx) en caninos comprendidos entre dos meses a doce años De edad, en clínicas veterinarias urbanas de la ciudad de Santo domingo de los Tsáchilas*. <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2795620>
- Pesquera, C., Portillo, A., Palomar, A. M., & Oteo, J. A. (2015). Investigation of tick-borne bacteria (*Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. And *Borrelia* spp.) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador. *Parasites & Vectors*, 8, 46. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0662-3>

- Quorollo, B. (2019). Feline Vector-Borne Diseases in North America. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.012>
- Raiden Grandía, G., Fuentes, R., Pérez, J., Hernández, J., E, M., Anicama, W., Caballero, J., Rojas, L., Galindo, I., Díaz, L., & Fimia-Duarte, R. (2019). Hallazgos hematológicos en perros y gatos en Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(4), 1395-1413. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17154>
- Restrepo, K. (2017). *Anaplasmosis canina: Caso clínico*. 40.
- Troncoso, M., Fischer, C., Villaroel, C., & Hezberg, D. (2014). *Anaplasma phagocytophilum*. *Issuu*, 6(22), 12-29.
- Valenciano, A., Cowell, R., Rizzi, T., & Tyler, R. (2016). *Atlas de Frotis de Sangre Periférica en Perros y Gatos*. ELSEVIER.
<https://axon.es/ficha/libros/9788496344648/atlas-de-frotis-de-sangre-periferica-en-perros-y-gatos>
- Woldehiwet, Z. (2010). The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Parasitology*, 167(2), 108-122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.013>

ANEXO A: BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

 VetScan VS2 0000V31190	Abaxis Diagnostic Report VET 365 Av. 6 de Diciembre N39- 48 y Portete Quito 0984256540	Results Page
	1 - 12/01/2020 - 07:21	

Patient Information		
Patient ID	Admission / Owner ID	Phone Number
Lola		
Gender	Date of Birth	Patient Age
spayed		4 Años
Doctor ID	Patient Location	Last Vaccination

Rotor Information	
Name	Lot Number
Comprehensive Diagnostic	0381AA8

Sample Information		
Run Date	Run Time	Sample ID
12/01/2020	07:21	
Type	Operator ID	
Gato		
Alternate ID		

Analyte Results				
Name	Value	Reference Range		Units
		Low	High	
ALB	4.5*	2.2	4.4	g/dL
ALP	24	10	90	U/L
ALT	74	20	100	U/L
AMY	782	300	1100	U/L
TBIL	0.2	0.1	0.6	mg/dL
BUN	21	10	30	mg/dL
CA	11.6	8.0	11.8	mg/dL
FOS	6.5	3.4	8.5	mg/dL
CRE	1.5	0.3	2.1	mg/dL
GLU	78	70	150	mg/dL
NA+	152	142	164	mmol/L
K+	5.0	3.7	5.8	mmol/L
TP	7.4	5.4	8.2	g/dL
GLOB	2.9	1.5	5.7	g/dL

ANEXO B: RESULTADOS FROTIS SANGUÍNEO



LABORATORIO CLÍNICO VETERINARIO

Dra. Gabriela Chávez DMVZ., Especializada en UNAM (Mx)
 Dirección: Mariano Egas N 38 - 138 y Av. Antonio Granda Centeno
 Teléfonos: 2442819 / 2437637 / 0981423284
 E-mail: resultadoslabvetquito@hotmail.com

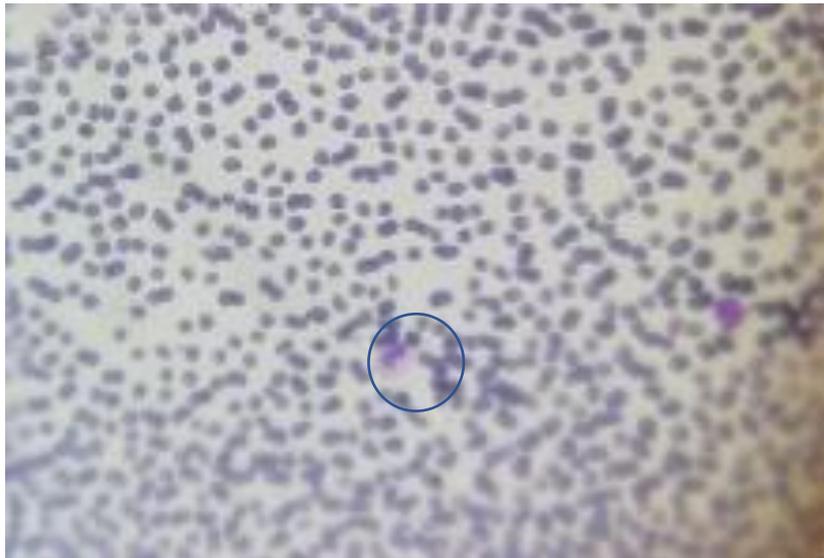
Paciente: Lola	Fecha: 02-12-2020
Raza: Persa	Caso No. : 00121862
Edad: 4 años	Médico Veterinario: Dra. Pamela Echeverria
Sexo: Hembra	Propietario: Dra. Michelle Gallmeier

INVESTIGACION DE HEMOPARASITOS

TIPO DE MUESTRA: Frotis sanguíneo

RESULTADOS: *Anaplasma spp.de* 0 - 1^o/100x

Dra. GABRIELA CHAVEZ R. DMVZ
 PATOLOGA CLINICA

ANEXO C: FROTIS SANGUÍNEO

Descripción. Tinción Giemsa, 40x. neutrófilos con mórulas en citoplasma compatible con *Anaplasma phagocytophilum*.