

ID: 01640

Tipo: Comunicaciones Libres

Área temática: Patología

Formato Presentación: ORAL

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES FÚNGICAS EN PERROS SANOS Y CON DIARREA CRÓNICA

Mariano José Morales¹, Mariano José Morales², Mercedes Serrano¹, Mercedes Serrano², Ana Requena², Luis López², Benardino Moreno²

1) LABORATORIOS ALBÉITAR. ZARAGOZA. ESPAÑA 2) Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza

OBJETIVOS DEL TRABAJO

INTRODUCCIÓN y OBJETIVOS

Las levaduras y hongos filamentosos forman parte de la microbiota normal de los mamíferos, junto con las bacterias y algunos protozoos, y esta varía según la localización en el organismo y según diversos factores. La función de estos hongos como microflora es desconocida y los estudios realizados son escasos, por lo que la información sobre la prevalencia y clasificación taxonómica de los hongos del tracto gastrointestinal de los perros es muy limitada.

El conocimiento de la flora intestinal es un requisito indispensable para valorar el papel de los distintos agentes patógenos en cuadros digestivos. A este respecto, el papel de los hongos en los procesos diarreicos de los animales está todavía por determinar^{1,2}. Normalmente, se considera a los hongos como patógenos oportunistas, que se benefician de situaciones estresantes, infecciones previas o tratamientos antibióticos que produzcan disbiosis intestinales. Esporádicamente se han asociado con procesos diarreicos, especialmente crónicos, en diversas especies animales.

Este trabajo describe la caracterización de hongos en heces de perros sanos y de perros con diarrea crónica de origen incierto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron heces de 73 perros con diarrea crónica y de 20 perros sanos, de diferentes edades, a lo largo de un periodo de dos años. En todos los perros con diarrea crónica se habían descartado previamente los patógenos más habitualmente relacionados con diarreas en perros, tales como virus, bacterias y parásitos. Los animales se dividieron en tres rangos de edad, animales jóvenes (<1 año), adultos (1-7 años) y geriátricos (>7 años). De los perros sanos, algunos de ellos se correspondían con perros de trabajo (12) y otros con animales de compañía (8). La alimentación era con piensos comerciales

Las muestras se procesaron en la Unidad de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y en el laboratorio Albéitar de Zaragoza. Las muestras se sembraron en agar Sabouraud-Cloranfenicol durante 15 días a 37°C. La identificación de hongos filamentosos se realizó por el aspecto macroscópico y microscópico de las colonias, mientras que los levaduriformes mediante el sistema Vitek2 (Biomerieux).

RESULTADOS

Los resultados de este trabajo muestran que en perros con diarrea crónica y en perros sanos la presencia de hongos es frecuente. En los perros con diarrea, se aislaron hongos en el 45,8% (11 de 24) de animales menores de un año, en el 40,9% (9 de 22) de animales de entre 1 y 7 años y en el 5,9% (1 de 17) de animales mayores de 7 años. Respecto a los animales sanos, en el 68,75% (11 de 16) de los animales de 1 a 7 años se aislaron hongos. En los otros dos rangos de edad se aislaron hongos en el 100% de los animales, sin embargo su número era escaso (uno < 1 año y tres >7).

Sin embargo, se han observado algunas diferencias; mientras en perros con diarrea los géneros más frecuentes fueron *Candida* y *Aspergillus*, en perros sanos no se aisló *Aspergillus*. Las especies de *Candida* también fueron diferentes; en perros con diarrea se aislaron *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* y *C. lusitaniae*, mientras que en perros sanos *C. auris*. *Penicillium* solo se detectó en animales sanos mientras que *Rhizopus* y *Saccharomyces* solo en animales con diarrea.

También se observaron diferencias en relación con la edad, en los animales con enteritis crónica. *Candida albicans* fue la especie predominante en perros de 1 a 7 años, no aislándose *C. parapsilosis*; en animales menores de un año ambas especies fueron las predominantes. En perros mayores de 7 años con enteritis crónica no se aisló *Candida*, detectándose solo *Saccharomyces*.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que en perros con diarrea crónica y en perros sanos la presencia de hongos es frecuente, lo cual coincide con la literatura³. Sin embargo, parecen existir diferencias en los géneros y especies aisladas y en relación con la edad.

Un hallazgo importante es el aislamiento de *Candida auris* en animales sanos. *C. auris* se considera como un patógeno emergente, descrito recientemente, que se asocia con infecciones nosocomiales en humana⁴, sin embargo no se ha descrito todavía en perros. Según nuestro trabajo habría que considerar al perro como portador de *C. auris*, con la precaución especialmente para personas inmunodeprimidas.

También *Malassezia furfur* fue detectada solo en animales sanos, y esta especie es causa de enfermedades en humanos.

Otro hallazgo interesante es que *Aspergillus* parece relacionarse con enteritis crónica en perros. Aunque su papel etiológico es incierto, una cierta participación en el proceso digestivo podría intuirse.

Este estudio también sugiere que el ambiente puede modular la presencia de hongos en perros. Así, mientras en perros de compañía se aislaron hongos en el 100% de los mismos, en los perros de trabajo solo se detectaron en el 58,3%. Esto sugiere que un ambiente y alimentación más controlados puede hacer que la presencia de hongos sea menor.

En conclusión, este trabajo muestra que la presencia de hongos en el digestivo de perros es frecuente, sin embargo parecen variar las especies en animales con diarrea crónica con respecto a animales sanos. Es relevante el aislamiento de *C. auris* en heces de perros sanos por ser la primera descripción en esta especie y por su posible riesgo zoonótico

BIBLIOGRAFÍA

1. Suchodolski, J.S. *et al.* (2008). Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. *Vet. Microbiol.* 132, 379-88.
2. Mandigers, P.J. *et al.* (2014). The clinical significance of *Cyniclomyces guttulatus* in dogs with chronic diarrhoea, a survey and a prospective treatment study. *Vet. Microbiol.* 172, 241-7.
3. Handl, S. *et al.* (2011). Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76, 301-10.
4. Jeffery-Smith, A. *et al.* (2018). *Candida auris*: a review of the literature. *Clin. Microbiol. Rev.* 31, pii:e00029-17.

ID: 01645

Tipo: Comunicaciones Libres

Área temática: Patología

Formato Presentación: ORAL

DESCRIPCIÓN DE LESIONES ATÍPICAS EN PERROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON LEISHMANIA INFANTUM.

Paula Ortega Hernández¹, María Paz Peris Peris¹, Sarah Delacour Estrella¹, David Martínez Duran¹, Mariano José Morales Amella², Mirta García Martínez¹, Juan Antonio Castillo Hernández¹, Bernardino Moreno Burgos¹

1) Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

2) Laboratorios Albéitar, Zaragoza, España

OBJETIVOS DEL TRABAJO

La leishmaniosis visceral canina, producida por el protozoo *Leishmania infantum*, es una enfermedad endémica y ampliamente distribuida por la cuenca Mediterránea. Clínicamente, puede manifestarse desde los 3 meses hasta los 7 años tras la infección y se caracteriza principalmente por adelgazamiento, atrofia muscular, problemas cutáneos y, finalmente fallo renal¹.

A nivel histológico, frecuentemente se observa inflamación granulomatosa en múltiples órganos, predominantemente órganos linfoides tales como bazo y linfonodos. Además, está descrito que se produce un depósito de inmunocomplejos particularmente en el riñón, que conduce a una glomerulonefritis y, finalmente, a un fallo renal. Aunque se han descrito con frecuencia lesiones granulomatosas en hígado, estas generalmente son de carácter microscópico¹. De forma anecdótica, se han citado presentaciones atípicas en órganos variados^{2,3}, aunque todas ellas caracterizadas por inflamación granulomatosa. Sin embargo, a nivel peritoneal solo existe una referencia⁴. Esta se correspondía con una peritonitis esclerosante, aunque, su asociación con la *Leishmania* no fue finalmente demostrada, considerándose un hallazgo incidental.

Este estudio describe lesiones atípicas en hígado y peritoneo, asociadas a la infección por *Leishmania infantum* que, en ausencia de una historia clínica adecuada, podrían admitir diagnósticos alternativos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se trabajó con 20 perros de la raza beagle infectados experimentalmente con 10^8 promastigotes /mL. Un año tras la infección, se eutanasiaron, independientemente de su status clínico. Se recogieron muestras de sangre, suero y tejidos de todos los animales para estudios serológicos, bioquímicos y de PCR para la confirmación de la infección.

Al observarse lesiones atípicas en dos de los animales en la necropsia se recogieron muestras para estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos (para lo que se utilizó anticuerpo policlonal de conejo, previamente optimizado en una infección natural en perro).

RESULTADOS

Macroscópicamente, uno de los perros presentaba múltiples nodulaciones en peritoneo y nodulillos multifocales en bazo e hígado, órganos que mostraban además aumento de tamaño. El otro presentaba lesiones semejantes en bazo y, además, hepatomegalia con presencia de líneas blanquecinas irregulares de distribución difusa.

Microscópicamente, en el primer perro las lesiones peritoneales correspondían con una intensa peritonitis granulomatosa, con hepatitis y esplenitis granulomatosas. En el segundo perro, las lesiones hepáticas correspondían con una severa hepatitis granulomatosa con abundantes linfocitos, de localización principalmente portal, la cual se extendía por el parénquima uniendo varios espacios porta. Asimismo, se observaban granulomas multifocales por el parénquima, de distintos tamaños, aunque, en general, pequeños.

Mediante inmunohistoquímica, se detectó *Leishmania* en las lesiones, aunque en escasa cantidad. El parásito aparecía asociado a macrófagos en zonas en las que el infiltrado de linfocitos era mayor y la estructura de los granulomas estaba menos definida.

El estudio bioquímico reveló un aumento significativo de ácidos biliares en el primer perro en comparación con el segundo, aparte en este último se vio un ligero aumento de la GPT y ligera hipoalbuminemia. En cuanto a la serología el segundo animal presentó un elevado título de anticuerpos frente a *Leishmania* obtenido mediante IFI (1/320) en comparación con el primero que fue negativo. Por último, la PCR resultó positiva en ambos animales, siendo el segundo animal el que presentó mayor carga parasitaria.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En algunos perros infectados con *Leishmania* se han descrito lesiones atípicas^{2,3}, sin embargo, no existe ninguna descripción de peritonitis granulomatosa. Únicamente, se ha descrito un caso de peritonitis esclerosante en un perro infectado por *Leishmania*, en el cual no pudo detectarse el parásito en las lesiones, considerándose, finalmente, como un hallazgo circunstancial⁴. En nuestro caso, debido a las condiciones experimentales y a los estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos, los posibles diagnósticos diferenciales compatibles con estas lesiones fueron descartados. Entre estos destacarían por mayor probabilidad tumores peritoneales, como mesoteliomas o bien peritonitis crónicas de etiologías variadas.

Respecto a las lesiones hepáticas, microscópicamente se ha descrito con frecuencia la presencia de granulomas hepáticos, sin embargo, no existen descripciones macroscópicas asociadas a estos. El aspecto lesional observado en este perro podría confundirse claramente con lesiones de hepatitis crónicas más frecuentes en perros tales como hepatitis crónica idiopática o hepatitis por acúmulo de hierro, o con ciertos tumores hepáticos, especialmente linfomas.

La inmunohistoquímica permitió confirmar la presencia del parásito en las lesiones. La escasa presencia de este es compatible con la intensidad de la reacción granulomatosa, la cual suele asociarse con una mayor capacidad de eliminación del parásito⁵.

Leishmania se ha detectado en células tumorales de ciertas neoplasias, tanto en el perro como en la especie humana sugiriéndose que en zonas endémicas debería ser un diagnóstico diferencial^{6,7}. En ambos casos descritos en este estudio, las lesiones observadas macroscópicamente podrían haber sugerido un tumor.

En conclusión, aunque en perros infectados con *Leishmania*, tanto de forma natural como experimental, se han descrito formas lesionales atípicas en diferentes órganos, hasta donde nosotros conocemos nunca se han descrito lesiones macroscópicas en hígado y peritoneo, que podrían ser confundidas con patologías más frecuentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Koutinas, A.F., Koutinas, C.K., (2014). Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine *Leishmaniasis* due to *Leishmania infantum*/chagasi. *Vet. Pathol.* 51,527–38.
2. Blavier, A. *et al.* (2001). Atypical forms of canine leishmaniosis. *Vet J.* 162,108-20.
3. Tangalidi, MK. *et al.* (2016). Nodular granulomatous glossitis as the sole clinical sign in canine leishmaniosis. *Vet Clin Pathol.* 45,710-714.
4. Adamama-Moraitou, KK. *et al.* (2014). Sclerosing encapsulating peritonitis in a dog with *Leishmaniasis*. *J Small Anim Pract.* 45(2):117-21.
5. Jubb, Kennedy y Palmer's. (2015). En: *Pathology of Domestic Animal*. Vol 1. 6ª edición. (ed: Elsevier).
6. Ferro, S. *et al.* (2013). *Leishmania* amastigotes in neoplastic cells of 3 nonhistiocytic canine tumors. *Vet Pathol.* 50,749-52.
7. Schwing, A. *et al.* (2018). *Leishmania* infection: Misdiagnosis as cancer and tumor-promoting potential. *Acta Trop.* pii: S0001-706X(18)31322-6.

ID: 01661

Tipo: Casos clínicos

Área temática: Patología

Formato Presentación: ORAL

POSIBLE ASOCIACIÓN ENTRE LEISHMANIOSIS CANINA Y ASCITIS.

*Cristina Pérez Sala*¹, *Sergio Villanueva-Saz*², *Víctor Martín Santander*¹, *Antonio Fernández Casanovas*², *María Borobia Frías*¹, *Laura Gaztelu Alcaire*¹, *Aina Pons Preto*¹, *Maite Verde Arribas*¹

1) Hospital Veterinario Universidad de Zaragoza 2) Laboratorio de Inmunopatología Clínica. Universidad de Zaragoza

INTRODUCCIÓN

Leishmania spp. es un protozoo flagelado, cuyo agente etiológico *Leishmania infantum* es el único descrito en nuestro país¹, tratándose de un parásito endémico de la cuenca Mediterránea.

Las manifestaciones clínicas de la leishmaniosis canina son muy amplias e inespecíficas, jugando un papel muy importante la respuesta inmunitaria¹. La enfermedad puede afectar a numerosos órganos y sistemas, por lo que los signos clínicos que puede presentar un perro enfermo serán múltiples, caracterizándose por ser una enfermedad con diversas presentaciones clínicas.

En este trabajo se describe el caso de un perro con sospecha clínica de una presentación poco frecuente de leishmaniosis. El hallazgo más significativo fue la presencia de ascitis como posible consecuencia de enfermedad hepática asociada con *L. infantum*.

DESCRIPCIÓN DEL CASO/S CLINICO/S

El paciente es un Bulldog francés, 3 años de edad, macho sin esterilizar, correctamente vacunado y desparasitado. Acudió a nuestro Hospital Veterinario con la siguiente anamnesis: apatía, debilidad, anorexia, náuseas y distensión abdominal progresiva de 3 días de evolución.

Durante la exploración física se observaron mucosas pálidas e ictericas, 5% de deshidratación, linfadenomegalia periférica, taquipnea, distensión abdominal y dolor a la palpación del abdomen. El resto de las constantes eran normales.

En base a la historia clínica y a los signos clínicos detectados, se estableció un diagnóstico diferencial que incluyó: torsión y/o dilatación de estómago, ascitis, hepatopatía crónica, hepatomegalia, esplenomegalia, e hipertensión portal (HTP).

Se planteó el siguiente protocolo de pruebas: examen radiológico, ecografía abdominal y pruebas básicas de laboratorio (hemograma, perfil bioquímico y urianálisis).

En la radiografía de abdomen se observó pérdida de detalle abdominal compatible con presencia de líquido libre. Los resultados de la ecografía: líquido libre abdominal, esplenomegalia con alteración de la ecotextura y presencia de nódulos de diferentes ecogenicidades, engrosamiento de la pared de la vesícula biliar y zonas irregulares en la cápsula hepática. No se observaron anomalías en el flujo portal, ni otros signos ecográficos que hiciesen sospechar de HTP. Resultado de la valoración ecográfica, se

estableció que el paciente podía padecer: ascitis, neoplasia esplénica/esplenitis/hiperplasia nodular esplénica, hepatopatía, edema de pared de la vesícula biliar/colecistitis. En este momento no se planteó la punción esplénica ecoguiada debido a la trombocitopenia. Pero si se realizó una toma ecoguiada de muestra del líquido abdominal para su análisis laboratorial.

Macroscópicamente el líquido presentaba un aspecto de color amarillo pajizo transparente sin fibrina. El valor de las proteínas totales medida por el método rojo-pirogalol fue de 0.4g/dl. Tanto en el examen microscópico como en el recuento celular por citometría de flujo no se observó celularidad. Su análisis permitió clasificar el líquido ascítico como trasudado puro.

Las alteraciones en el perfil hematológico fueron la presencia de anemia no regenerativa (hematocrito 15.1%, [37.3 – 61.7%]), normocrómica, normocítica, con leucopenia (4.15K/ μ L, [5.05 – 16.76K/ μ L]), además de trombocitopenia (77K/ μ L, [148 – 484K/ μ L]).

Los parámetros alterados en el perfil bioquímico fueron hipoalbuminemia (1.6g/dl, [2.3 – 4.0g/dl]), hiperglobulinemia (4.7g/dl, [2.5 – 4.5g/dl]), elevación de los enzimas alanina-aminotransferasa (ALT 342U/L, [10 – 125U/L]), fosfatasa alcalina (ALKP 1707U/L, [23 – 212U/L]) y bilirrubina total (2.0mg/dl, [0.0 – 0.9mg/dl]). El hallazgo más significativo en el urianálisis fue la presencia de bilirrubinuria.

Los datos laboratoriales observados (hiperglobulinemia, hipoalbuminemia y pancitopenia) dirigieron el diagnóstico hacia las enfermedades de transmisión vectorial más prevalentes en nuestro territorio: *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, *Dirofilaria immitis* *Anaplasma platys*. Se realizó un cribado inicial mediante una prueba rápida de inmunocromatografía, siendo únicamente positiva para *L. infantum*. Se enviaron muestras de sangre para diagnóstico molecular (*E. canis*, *A. platys*) y suero para la realización de pruebas serológicas cuantitativas (*L. infantum*, *E. canis*, *A. platys* *D. immitis*) y proteinograma del suero.

Los resultados de las pruebas moleculares fueron negativos a los patógenos evaluados, mientras que las pruebas serológicas cuantitativas solamente detectaron elevados niveles de anticuerpos anti-*Leishmania infantum*. El proteinograma se correspondía con una gammapatía de tipo policlonal.

En cuanto al líquido ascítico la PCR fue negativa a *L. infantum*, pero la serología cuantitativa detectó niveles elevados de anticuerpos anti-*Leishmania infantum*, con una electroforesis de proteínas similar a la del suero.

El diagnóstico de leishmaniosis se realizó en base a la presencia de signos clínicos, alteraciones de laboratorio y prueba de confirmación serológica cuantitativa positiva (niveles altos), correspondiéndose a una clasificación clínica 2a².

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Nos encontramos ante un caso de presentación clínica atípica de leishmaniosis. El paciente presentaba pancitopenia, que, aunque es una alteración hematológica grave poco frecuente, ha sido descrita en otros casos^{3,4}. Las analíticas además de orientarnos hacia una posible enfermedad vectorial, también nos hicieron sospechar de: posible enfermedad hepatobiliar, hepatopatía y neoplasia.

En nuestro paciente, sospechamos de la posible asociación entre leishmaniosis canina y hepatopatía con signos clínicos de ascitis e ictericia, manifestaciones clínicas que no son frecuentes en perros con leishmaniosis^{5,6}. El fallo hepatobiliar por *L. infantum* se ha

documentado experimentalmente y en perros naturalmente infectados, observándose alteraciones laboratoriales asociadas a lesión hepática y cambios histopatológicos en el hígado^{5,6}.

La efusión peritoneal es un hallazgo clínico muy poco habitual en leishmaniosis canina⁷. Solo hemos encontrado descritos 6 casos, de los cuales solo en 3 se detectó el parásito en el fluido mediante citología^{7,8,9}. En 2 de los 6 casos, el líquido abdominal fue clasificado como trasudado puro debido a un fallo hepático crónico¹⁰. La patogenia de las ascitis como consecuencia de la leishmaniosis no está claramente descrita⁷. Nuestra principal sospecha en este caso es que la ascitis fue consecuencia de la afección hepática que presentaba el paciente. Por otra parte, el perro respondió favorablemente al tratamiento instaurado (antimoniato de meglumina 50 mg/kg cada 12 horas durante 30 días y alopurinol 15 mg/kg cada 12 horas durante 6-12 meses), desapareciendo por completo la ascitis a los 15 días de iniciarlo.

A pesar del resultado negativo para *L. infantum* en la PCR del líquido ascítico, la detección de niveles elevados de anticuerpos en la prueba serológica cuantitativa adaptada a dicho líquido nos permitió establecer una relación entre la ascitis y la leishmaniosis, que junto a la gammapatía policlonal compatible en el proteinograma, nos ayudó en nuestra sospecha diagnóstica. Confirmamos que la muestra ascítica no sufrió ni contaminación ni difusión en la extracción.

En casos atípicos, la combinación de la serología junto a la PCR, puede ser de interés para el veterinario, que deberá valorar qué muestras son las adecuadas para el diagnóstico de la infección.

BIBLIOGRAFÍA

1. Solano Gallego, L., *et al.* (2013), *Leishmaniosis. Una revisión actualizada*, Zaragoza, España, Editorial Servet.
2. Solano Gallego L, Miró G, Koutinas A, *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors*. 2011 May 20;4:86.
3. Meléndez-Lazo A, Ordeix L, Planellas M, Pastor J, Solano-Gallego L. Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. *Research in Veterinary Science*, 2018;117:18 – 27.
4. Slappendel RJ. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 1988;10:1 – 16.
5. Valladares JE, Riera C, Pastor J, *et al.* Hepatobiliar and renal failure in a dog experimentally infected with *Leishmania infantum*. *Vet Rec*. 1997 Nov 29;141(22):574-5.
6. Rallis T, Day MJ, Saridomichelakis MN, *et al.* Chronic Hepatitis Associated with Canine Leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a Clinicopathological Study of 26 Cases. *J. Comp. Path.* 2005;132:145 – 152.
7. Dell'Orco M, Bertazzolo W, Paccioretti F: What is your diagnosis? Peritoneal effusion from a dog. *Vet Clin Pathol*. 2009;38/3:367 – 369.
8. Dantas-Torres F. Presence of *Leishmania* amastigotes in peritoneal fluid of a dog with leishmaniasis from Alagoas, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2006;48:219-221.
9. Ruiz de Gopegui R, Espada Y. Peripheral blood and abdominal fluid from a dog with abdominal distensión. *Vet Clin Pathol*. 1998;27:64-67.
10. Koutinas FA, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, *et al.* Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J Am Anim Hosp Assoc*. 1999;35:376-383.