

Confirmación de Leishmaniasis visceral por inmunohistoquímica en un canino.

Autores: Burna, A.N*.; Sanchez Negrette, M**.; Maccio O.A. ***

*Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE.

Secretario del consejo de Médicos Veterinarios de la Provincia de Corrientes.

**Cátedra de Patología General y Sistemática, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. e-mail: patgral@vet.unne.edu.ar

*** Hospital de Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE.

Introducción

Para el diagnóstico de la leishmaniasis, los cuadros clínicos, aunque muy variables y poco específicos, sirven para orientar el diagnóstico, siempre y cuando se apoyen en una anamnesis exhaustiva que ofrezca datos epidemiológicos relevantes como ser: hábitat, tipo de actividad, tiempo de exposición al vector, zona geográfica, procedencia, etc. (5).

En zonas endémicas, un solo síntoma compatible debe hacernos sospechar de leishmaniosis y realizar pruebas diagnósticas específicas. Se considera “sospechoso” todo animal que proceda de una zona endémica o que haya permanecido en la misma durante el periodo de actividad del vector (6).

El diagnóstico parasitológico de la leishmaniasis se basa en la observación del parásito. Esto se logra con el examen directo o frotis, la biopsia histopatológica o el cultivo de material obtenido de bazo, médula ósea o nódulo linfático. La biopsia se usa muchas veces como método para el diagnóstico de las lesiones tegumentarias, sobre todo en sitios donde no hay facilidades para el cultivo del parásito. En algunos casos la histopatología por sí sola permite hacer el diagnóstico, al detectar fácilmente los amastigotes; en otros, aunque las características de la reacción inflamatoria sugieren la presencia del parásito, es difícil su visualización (7). Por tanto, se requieren nuevas alternativas de diagnóstico, en particular en las lesiones de evolución crónica donde el parásito es difícil de visualizar (2, 3,8). Las técnicas que se pueden mencionar como alternativas son: reacción de cadena de polimerasa (PCR), xenodiagnóstico (infección de *Phlebotomus*) e inmunohistoquímica, todas estas son pruebas determinantes (1, 4).

Objetivos

El objetivo del presente trabajo es reportar un caso clínico con síntomas y signos característicos de la enfermedad y su diagnóstico serológico, histopatológico y la confirmación mediante la técnica de inmunohistoquímica como método confirmatorio.

Material y método

Caso clínico: canino de sexo hembra, raza Pit Bull de 8 meses de edad, nacida y criada en la ciudad de Clorinda, provincia de Formosa; trasladada luego a la ciudad de Corrientes, donde vivió los dos últimos meses antes de la consulta. La paciente es llevada por su propietario a la consulta, en un consultorio privado donde se le extrajo sangre para realizar un diagnóstico serológico, mediante el test rK 39 específico para leishmaniosis visceral canina, el mismo fue realizado en un laboratorio privado de la ciudad de Corrientes.

En la Cátedra de Patología General y Sistemática de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE se confirmó el primer diagnóstico, después de realizarse una evaluación anamnéstica, clínica y de laboratorio (punción de médula ósea y nódulo linfático, extracción de sangre para frotis, prueba de formogelesificación y análisis bioquímico del paciente). Por solicitud del dueño se efectúa la eutanasia y posterior necropsia para su estudio anatomohistopatológico y confirmación mediante la técnica de inmunohistoquímica. Muestras de órganos fueron fijadas en formol bufferado al 10 %, procesados por la técnica histológica clásica, incluidos en parafina, cortados a 5 micras y coloreados con hematoxilina y eosina como prueba de rutina. En el laboratorio de la Facultad de Medicina de San Pablo Brasil se realizó la técnica de inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo primario para la detección de leishmania.

Resultados

El examen clínico reveló a la inspección de la piel, dermatitis exfoliativa con descamación de tipo furfurácea de color plateado, hemorragias petequiales, pelo hirsuto, úlceras mucocutáneas y conjuntivitis. A la palpación se observó linfadenopatía de los nódulos linfáticos superficiales.

En la necropsia se observaron úlceras en el labio superior y en el paladar duro, aumento de tamaño de los nódulos linfoides submaxilares, preescapulares, poplíteos e inguinales.

El examen de la cavidad abdominal reveló hepato-esplenomegalia con cicatriz en la cápsula de este último. El examen de la cavidad craneana reveló aumento del líquido cefalorraquídeo.

El examen histopatológico evidenció en el bazo y nódulos linfoides, infiltrado linfoplasmocitario con hiperplasia de los folículos. Los senos medulares de los nódulos linfoides presentaron abundante plasmocitos y macrófagos, no hallándose en estos, estructuras compatibles con amastigotes de leishmania.

En el hígado se observó múltiples focos de infiltrado inflamatorio de tipo linfoplasmocitario, con degeneración hidrópica y grasa de hepatocitos y áreas de necrosis centrolobulillar.

Los riñones presentaron congestión y pequeños focos de infiltrado inflamatorio linfocitario intersticial.

En piel se observó abundante infiltrado inflamatorio que comprometió tanto a la dermis profunda como superficial de tipo linfoplasmocitario y presencia de macrófagos con escasos amastigotes de leishmania.

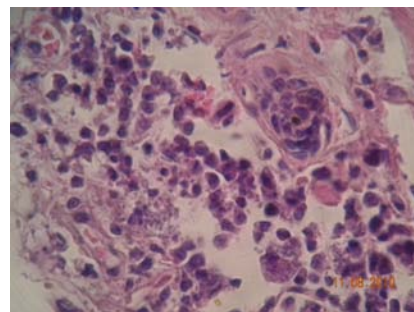
El músculo temporal presentó necrosis de fibras musculares e infiltrado inflamatorio linfocitario. No se detectaron lesiones en otros órganos.

El examen de inmunohistoquímica reveló presencia de amastigotes de leishmania en todos los órganos tanto de la cavidad abdominal y torácica. Cabe destacar la observación de dicho parásito en el ovario del animal.

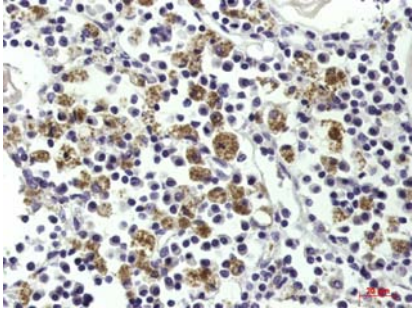
Los resultados de los análisis complementarios fueron positivos a la prueba de formogelificación y a la prueba diagnóstica con tira reactiva rK 39 Kala Asar detectando canina. El examen parasitológico directo en frotis coloreados con giemsa arrojó resultado **negativo**.



Paciente con severa descamación de piel y conjuntivitis.



Piel con Infiltrado inflamatorio y macrófagos con amastigotes (HyE)



Identificación de amastigotes de leishmania en nódulo linfático técnica de inmunohistoquímica.

Conclusiones

El presente trabajo permitió confirmar la presencia de un caso de leishmaniosis visceral canina, en la ciudad de Corrientes, en un canino proveniente de la ciudad de Formosa.

Debe mencionarse que si bien los signos clínicos y las pruebas diagnósticas por tira reactiva rK 39 y formogelificación fueron positivos, no se pudo observar el parásito en los extendidos de médula ósea y de nódulos linfoides. Los hallazgos de la necropsia y del estudio histopatológico e inmunohistoquímico permitieron corroborar y confirmar el diagnóstico clínico, demostrándose la presencia del parásito y lesiones características en varios órganos.

Se destaca la importancia de la técnica de inmunohistoquímica como técnica confirmatoria de dicha enfermedad debido a que la misma es específica y que en la actualidad esta técnica se está estandarizando para ser brindada como un servicio en la Cátedra de Patología General y Sistemática de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE.

Se resalta la importancia de no trasladar animales de zonas endémicas como el presente caso, a zonas consideradas como libres de leishmaniosis. Además, desde el punto de vista del diagnóstico se considera importante realizar como mínimo dos pruebas para poder llegar a un diagnóstico definitivo, siendo en todos los casos la observación de amastigotes intracelulares, el diagnóstico confirmatorio.

Bibliografía

- 1- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., Moreno, J. & Nieto, J. 2002. Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*. 57: 1-88.

- 2-Hendrichs, L & Wright, N 1979.Diagnosis of cutaneous leishmaniasis by in Vitro cultivation of saline aspirates in Schneider`s Drosophila medium. *Am J. Tro. Med. Hyg*, 28:962-964

- 3-Kerdel-Vargas, F & Essensfeld-Yahr, E. 1966. Histopatología de la leishmaniasis americana. *Medicina Cutanea*. 3:267-276

- 4-Killick-Kendrick, R. 1999. The biology and control of phlebotomine sandflies. *Clinical Dermatology*. 17: 279-289.

- 5-Koutinas, A., Polizopoulou, Z.S., Saridomichelakis, M.N., Argyriadis, D., Fytianou, A. & Plevraki, K. 1999. Clinical considerations on Canine Visceral Leishmaniosis in Greece: A retrospective study of 158 cases (1989-1996). *Journal of American Association Hospital Animal*. 35: 376-383.

- 6-Miró, G. & Fraile, C. 1999. Leishmaniosis canina: revisión práctica. *Consulta Difusión Veterinaria*. España. 7: 63-74.

- 7-Thomburgh, DB; Johnson CM; Elton NW. 1952. The histopathology of cutaneous leishmaniasis in Panama. *Trans. R. Soc. Tro. Med. Hyg*, 46: 550-554

- 8-Weigle, KA, Davalos, M; Heredia, P; Molineros, R; Saravia, NG; Dàlessandro, A.1987. Diagnosis of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in Colombia: A Comparisos of seven methods. *Am J. Tro. Med. Hyg*. 36:489-496.