

## DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSIS VISCERAL CANINA EN LA CIUDAD DE MERCEDES, CORRIENTES

Med. Vet. Daniel F. Benítez

[dbenitez\(&correo.inta.gov.ar](mailto:dbenitez@correo.inta.gov.ar)

Investigador en Hemoparásitos y Responsable Técnico del Laboratorio de Serología y Bacteriología del Laboratorio de Sanidad Animal. EEA INTA Mercedes, Corrientes. Argentina.

En la ciudad de Mercedes, provincia de Corrientes el municipio, preocupado por la presencia de animales vagabundos en la vía pública, elaboró ordenanzas municipales promoviendo la tenencia responsable de mascotas. Se creó un registro municipal de perros potencialmente peligrosos. Luego en el 2008, aprobó otra ordenanza por la cual se determina la esterilización quirúrgica de caninos y felinos, en forma masiva y gratuita, priorizando la castración a mascotas que carecen de propietarios y deambulan por la vía pública, o aquellos cuyos propietarios carezcan de recursos económicos para hacerlo en forma particular. De esta forma se comenzó a controlar la presencia de perros y gatos vagabundos.

En enero de 2010 se diagnosticó el primer caso de Leishmaniosis visceral canina en la ciudad de Mercedes en un canino con síntomas clínicos. A partir de ese momento se comenzaron a diseñar estrategias de prevención y búsqueda activa de la enfermedad. Para ello, el municipio se declaró en emergencia sanitaria ante la presencia del parásito. Se firmó un convenio INTA-Municipio con el objetivo de trabajar en conjunto para detectar y controlar la aparición de casos de leishmaniosis canina en la ciudad de Mercedes; de esta forma evitar la propagación de la misma y de prevenir la aparición de casos en humanos. El trabajo se realizó en colaboración entre el servicio de diagnóstico del Laboratorio de Sanidad Animal de la EEA INTA Mercedes, la Dirección de Bromatología de la Municipalidad de Mercedes, Veterinarios de la actividad privada y un servicio de laboratorio de diagnóstico veterinario privado de la ciudad de Corrientes.

En principio se realizó la búsqueda activa de la enfermedad en caninos, realizando el muestro de animales de barrios completos. Para el diagnóstico parasitológico se procedió a la punción y aspirado con aguja fina de médula ósea a la altura de la articulación condrocostal. Se prepararon frotis delgados del aspirado de cada animal. Los frotis se secaron a temperatura ambiente y se fijaron en alcohol metílico al 96%. Estas muestras fueron rotuladas, acondicionadas y remitidas al laboratorio con su respectivo protocolo. En el laboratorio se utilizó la técnica de coloración según Giemsa al 10% y observación con microscopio óptico con objetivo de inmersión de 100x. En el 2010 se procesaron 453 muestras de animales y se realizaron 7 diagnósticos de *Leishmania spp.* En el 2011, en 485 muestras de animales, se diagnosticaron 36 casos positivos a *Leishmania spp.* En 2012, el muestreo se limitó sólo a animales con síntomas clínicos compatibles con *Leishmania spp.*, llegando hasta el momento a 62 muestras de caninos con 23 animales positivos.

El diagnóstico parasitológico por observación de *Leishmania spp* en frotis es una prueba altamente específica pero poco sensible. Todos los caninos positivos fueron sacrificados bajo normas de eutanasia como lo dictamina la ordenanza municipal N° 847/10, previo consentimiento por parte de los propietarios. Por otro lado, se realizó la denuncia a las autoridades de salud pública de la provincia de cada caso positivo. Cabe destacar que la mayoría los animales que dieron positivos a la presencia del parásito, convivían en patios con gallineros caseros, esto es muy común hoy en día en ciudades del interior de la provincia. Éste es un factor de riesgo, además de la cercanía que tenga con el perro y los humanos. Hay que destacar que hasta el momento no se han presentado casos clínicos de Leishmaniosis en humanos en esta ciudad.

Desde el punto de vista del agente es de suma importancia que los laboratorios amplíen las posibilidades de realizar otras pruebas de diagnóstico porque las que estamos utilizando actualmente (parasitológicas) son menos sensibles que las serológicas.

## DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS VISCERAL CANINA

M.V. José Sinagra

[aisinagra@yahoo.com.ar](mailto:aisinagra@yahoo.com.ar)

Jefe de Servicio Patología. Depto. Clínica Patología y Tratamiento. Instituto Nacional de Parasitología " Dr. Mario Fatała Chabén". A.N.L.I.S " Carlos G. Malbran".

El diagnóstico clínico de la Leishmaniasis Visceral canina (LVC) es un desafío. La enfermedad presenta signos y síntomas clínicos difíciles de diferenciar de otras enfermedades o afecciones de presentación frecuente entre los caninos que habitan la zona endémica. Los signos y síntomas son útiles, junto al nexo epidemiológico para definir al paciente como sospechoso, pero insuficientes para establecer un diagnóstico definitivo. Por ello es imprescindible utilizar métodos de laboratorio precisos.

Además debemos tener presente la presentación de un alto porcentaje de animales infectados asintomáticos que juegan un rol esencial en la transmisión y mantenimiento de la oferta parasitaria en el ciclo doméstico, constituyendo un factor de riesgo para la infección de las personas que cohabitan la vivienda.

El **diagnóstico parasitológico** es el método de certeza ("gold estándar") y se basa en la demostración de los parásitos en distintas muestras de material biológico; el PNL emplea métodos parasitológicos como el examen directo, (impronta-extendidos) obtenidos por punción aspiración o biopsia de diferentes tejidos, en búsqueda de las formas amastigotas. Asimismo efectúa el aislamiento en medio de cultivo (in Vitro) o en animales susceptibles (in vivo). Además se utiliza el método de PCR tanto para el diagnóstico como para la genotipificación en áreas sin diagnóstico previo de la enfermedad, donde la presencia de *L. chagasi* debe ser confirmada. La detección de ADN del parásito en aspirados de médula ósea es más sensible que el examen microscópico. Las muestras a procesar pueden ser biopsias de lesiones, aspirados de ganglios linfáticos, punciones de médula ósea (PAMO), extendidos tisulares teñidos con Giemsa, cultivos de parásitos u órganos de animales infectados. Si bien la especificidad de estos métodos es del 100% su sensibilidad varía mucho según se trate de animales asintomáticos o con sintomatología clínica.

El frotis es un método adecuado, simple de implementar para el diagnóstico de rutina y posee una alta especificidad, pero la sensibilidad de detección varía según la capacidad del microscopista y del material a analizar (bazo, médula ósea, ganglio linfático, piel) y del estadio clínico del canino. La principal limitante del diagnóstico parasitológico radica en el tiempo que insume el mismo, el requerimiento de capacitación y entrenamiento de personal y la limitada sensibilidad en caninos asintomático. Esto hace que salvo para estudios de investigación puntuales su implementación masiva en los programas de salud pública es restringida.

El **diagnóstico serológico** de la LVC es uno de las herramientas fundamentales para cumplir con uno de los objetivos enunciados en el PNL de la República Argentina que es " Disminuir el riesgo de transmisión mediante el control de reservorios y vectores ". Para esto la disposición de herramientas sensibles y específicas para el abordaje del diagnóstico serológico de la LVC es imperativo. Las reacciones serológicas que utilizan como antígenos blancos parásitos enteros o homogenatos totales presentan un alta tasa de reactividad cruzada con otros agentes etiológicos (*T. cruzi*, *Leishmania sp.* entre otros).

Atento a esto el programa recomienda la utilización de antígenos recombinantes para inmunocromatografía. Al respecto la utilización del antígeno rk39 en tiras de inmunocromatografía ha demostrado en nuestra experiencia tener una sensibilidad del 90 % y una especificidad cercana al 99% sin reacciones cruzadas con enfermedad de Chagas. Sin embargo su costo no ha permitido su utilización para la evaluación en monitoreos censales. Su utilización se restringe a estudios de focos y a monitoreos muestrales estratificados en municipios receptivos. Por consiguiente la búsqueda de nuevos antígenos recombinantes que mejoren la performance de la rk39, y a un menor costo que facilite su disponibilidad, es un objetivo del PNL.

## ESTUDIO DE LA LEISHMANIOSIS VISCERAL CANINA EN LA CIUDAD DE MERCEDES, CORRIENTES

Sarmiento N.<sup>1,4</sup>, Gould I<sup>2,4</sup>, Centurión<sup>3</sup>, Benitez D<sup>1</sup>, Zimmer P<sup>1</sup>

1. Estación Experimental INTA Mercedes, Corrientes 2. Centro Nacional de Diagnostico e Investigaciones en Endemo-epidemias
3. Dirección de bromatología, Municipalidad de Mercedes 4-Red Nacional de Investigación de leishmaniasis en Argentina. [nsarmiento@correo.inta.gov.ar](mailto:nsarmiento@correo.inta.gov.ar)

### Introducción

Con la denominación de leishmaniosis se comprende a un conjunto de manifestaciones clínicas, producidas por diferentes especies de parásitos del género *Leishmania*. Según el mapa de riesgo de leishmaniosis visceral (LV) en Argentina, la ciudad de Mercedes estaba en una zona considerada como vulnerable con presencia de vector, sin transmisión de la enfermedad.

El trabajo interinstitucional entre el INTA, el Municipio de Mercedes, Centro Nacional de Diagnostico e Investigaciones en Endemo-epidemias (CENDIE) y la Red Nacional de Investigación de Leishmaniasis en Argentina (REDILA), tiene como objetivo el estudio de esta grave zoonosis tanto desde el punto de vista del parásito como de su vector.

### Materiales y métodos

Durante el periodo comprendido entre febrero de 2010 y julio de 2012, se analizaron muestras de 1400 caninos de diferentes edades y sexo en conjunto con la campaña de esterilización quirúrgica del municipio registrándose los datos del animal y de su propietario.

Las muestras se obtuvieron por punción de médula ósea y se colorearon con giemsa. Para confirmar la especie de leishmania, a los animales positivos se les realizó la prueba serológica Kalazar detect canines (Inbios USA).

Para comprobar la presencia de *Lutzomyia longipalpis*, mes de noviembre de 2011 se selecciono 10 sitios dentro el ejido urbano utilizando el criterio de "peor escenario" caracterizados por presentar una o más de las siguientes condiciones: presencia de sombra vegetal, tierra húmeda, detritos orgánicos, proximidad a parches de vegetación densa, densidad, calidad y accesibilidad de oferta de fuentes de ingesta sanguínea, no interferencia de luces externas<sup>1</sup>. Siete de ellos contaban con antecedente de Leishmaniosis visceral canina. Fueron monitoreados durante 2 noches consecutivas, utilizando trampas de luz tipo CDC<sup>2</sup>, las cuales funcionaron entre las 19 y las 8 hs, los insectos fueron determinados utilizando lactofeno (1:1) bajo la clave de Galati *et. al*<sup>3</sup>.

### Resultados:

Se observaron 79 caninos con presencia de amastigotes de *Leishmania sp*, obteniéndose una incidencia del 5,6% en los animales muestreados.

*Lu. longipalpis* fue la única especie de Phlebotominae encontrada, totalizando 64 individuos pertenecientes a 5

sitios diferentes, todos ellos con presencia de gallinas y 4 con antecedentes de LVc.

La distribución de las abundancias muestra 3 sitios de baja abundancia (1 a 10), 1 de moderada (11 a 30) y uno de alta abundancia (> 31).

### **Discusión y Conclusión**

La presencia de *Lu. longipalpis* coincide con la dispersión del vector por la provincia de Corrientes<sup>4</sup> y, consecuentemente, la aparición de casos de Leishmaniosis visceral canina.

El evaluación del micro hábitat en los peridomicilios es de suma importancia para controlar la abundancia del vector y disminuir el riesgo de contagio. La atención de los focos se realizó a través de la Dirección de Bromatología del municipio, mediante fumigación y campañas de concientización a la población.

### **Bibliografía**

- 1- Correa Antonialli SA, Torres TG, Paranhos Filho AC, Tolezano JE. (2007) Spatial analysis of American visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *J Infect*; 54:509-14.
- 2-Sudia, W.D., Chamberlain, R.W. (1962) Battery operated light trap, an improved model. *Mosquito News.*; 22, 126–9.
- 3- Galati, E.A.B. (2003) Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América. En: *EF Rangel, R Lainson, Flebotómíneos do Brasil. Fiocruz, Rio de Janeiro*, p 53-175.
- 4- Salomón OD, Fernández MS, Santini MS, et al.. (2011) Distribución de *Lutzomia longipalpis*, en la mesopotamia argentina 2010. *Medicina (B Aires)*; 71:22-6