

LEISHMANIASIS VISCERAL EN UN CANINO

Visceral Leishmaniasis in a Dog

Eduardo E. Zabala^{*,1}, Oneyda J. Ramírez^{**} y Víctor Bermúdez^{**}

* *Cátedra de Medicina Aplicada.* ** *Cátedra de Anatomía Patológica.*
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela.
Apartado 4563, Maracay 2101A. Estado Aragua, Venezuela

Recibido: 05/04/06 - Aprobado: 18/09/06

RESUMEN

La leishmaniasis visceral es una enfermedad infecciosa y zoonótica distribuida mundialmente, que afecta al hombre, animales domésticos y silvestres. Su agente etiológico es un protozooario difásico del género *Leishmania*, cuyas especies difieren geográficamente en el Viejo y Nuevo Mundo, siendo transmitidos por vectores artrópodos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* en dichas áreas geográficas, respectivamente. En América Central y del Sur la *Leishmania chagasi* del complejo *donovani*, es causante de la leishmaniasis visceral, estando demostrada la positividad en el estado Aragua por estudios de seroprevalencia en la población canina autóctona. Un paciente canino macho, de raza Bóxer, de cuatro meses de edad se presentó con historia clínica de dificultad respiratoria e intolerancia al ejercicio de inicio agudo. Al examen físico se evidenció hipertermia y linfadenomegalia generalizada; el ritmo y frecuencia cardíaca se encontraron alterados por disrritmias y taquicardia marcada; los sonidos cardíacos se apreciaron disminuidos de intensidad con matidez a la percusión torácica. La evolución fue desfavorable a pesar del tratamiento farmacológico, conllevando a la muerte del paciente en 48 horas de hospitalización con monitoreo continuo. La necropsia reveló alteraciones macroscópicas de congestión pasiva crónica representados por hepato-esplenomegalia asociados a

insuficiencia cardiaca congestiva bilateral (efusión pleuro-peritoneal y edema pulmonar). Histopatológicamente, se observó la presencia de amastigotes de *Leishmania* spp., en miocardio, bazo y nódulos linfáticos, soportando el diagnóstico etiológico de leishmaniasis visceral conjuntamente con la naturaleza infecciosa del cuadro clínico.

(Palabras clave: Leishmaniasis, *Leishmania donovani*, perro, infecciones por protozoos, zoonosis, Aragua)

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis is a worldwide distributed infectious and zoonotic disease affecting people, domestic, and wildlife animals. It is caused by a diphasic protozoan of the genus *Leishmania*, involving distinct species that differs geographically between the Old and New World, and its arthropod vectors being from genres *Phlebotomus* and *Lutzomyia*, responsible for transmission in those areas, respectively. *Leishmania chagasi* from the *donovani* complex, has been demonstrated as a cause for visceral leishmaniasis in Central and South America and its sero prevalence, among Aragua state canine population, has been shown by a field study. A four months old, male canine boxer was presented with concern for acute onset of respiratory distress and exercise intolerance. Physical examination revealed hyperthermia, generalized lymphadenomegaly, severe dysrhythmia and tachycardia altering rhythm and heart rate. A muffled heart sound and thoracic dullness were remarkable at auscultation and percussion, respectively. Despite of aggressive medical treatment, the patient died after 48 hours of continued monitoring at hospital facility. At necropsy most prominent findings were represented by hepatic-splenomegaly due to chronic passive congestion, related to bilateral congestive heart failure (pleural and peritoneal effusion and pulmonary edema). The presence of *Leishmania* spp., amastigotes in myocardial, spleen and lymph nodes tissues was revealed histologically, supporting visceral leishmaniasis and infectious nature of this case report.

(Key words: Leishmaniasis, *Leishmania donovani*, dogs, protozoal infections, zoonoses, Aragua)

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis visceral ha sido reportada en caninos en varias entidades federales de Venezuela (Negrón *et al.*, 2001). La leishmaniasis visceral canina en América Central y del Sur es producida por la especie *Leishmania chagasi* del complejo *donovani* (Slappendel y Ferrer, 1998), datos que coinciden con los de Negrón *et al.* (2001), quienes a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), demostraron ADN proveniente de cepas de *Leishmania* del complejo *donovani* en los animales muestreados en nuestro país. En el humano existen tres (3) síndromes clínicos bien definidos (visceral, cutáneo y muco-cutáneo) causados por grupos de especies de *Leishmania* diferentes; mientras que, en el perro predomina el síndrome visceral que afecta varios tejidos (hígado, bazo, nódulos linfáticos, ojo, medula ósea, principalmente) y en etapas crónicas la piel, siendo ocasionales las alteraciones dermatológicas en ausencia de otros trastornos (Ferrer *et al.*, 1988a; Slappendel y Greene, 1990; Ciaramella y Corona, 2003).

El vector transmisor en América pertenece al género *Lutzomyia* (mosca arenera); posee hábitos de alimentación vespertinos y un rango de desplazamiento limitado a 500 metros. Las hembras son hematófagas y responsables de la transmisión. Su vida media es de 30 días durante los cuales persiste su capacidad infectante (Molina, 2005; Zorio, 2005). Dentro del vector se desarrolla la forma flagelada o promastigota, que es inoculado por la picadura a un nuevo hospedador sano. Una vez en éste, se transforma en el estadio no flagelado o amastigota, que sobrevive dentro de los macrófagos (Pinelli *et al.*, 1994), a los cuales utiliza como medio de protección del sistema inmune y de transporte para invadir múltiples órganos, principalmente los del sistema hematopoyético. Finalmente, el parásito produce disfunción y destrucción de las células mononucleares (Pinelli *et al.*, 1994; Ciaramella y Corona, 2003; Zorio, 2005). La inmunidad celular juega un papel importante en la resistencia a la infección, de allí que, la proliferación de la subpoblación TCD4⁺ Th1, encargada de activar los macrófagos (que posteriormente destruyen al parásito intracelular), ha sido estudiada natural y experimentalmente en ratas y perros (Pinelli *et al.*, 1994); mientras que en los animales que prolifera la respuesta de la subpoblación TCD4⁺ Th2, favoreciendo la producción exagerada de anticuerpos tipo IgG (no protectores), falla la eliminación del parásito, con la formación de inmunocomplejos circulantes. Este

hecho inmunológico predispone a una gran susceptibilidad a desarrollar la enfermedad clínicamente (Sacks *et al.*, 1987).

Los animales susceptibles que desarrollan la enfermedad clínica se caracterizan por presentar linfadenomegalia, pérdida de peso marcada, decaimiento progresivo, hepato-esplenomegalia, epistaxis, artropatías, ascitis, diarrea; hay lesiones cutáneas como nódulos no ulcerados ó úlceras, alopecia, dermatitis exfoliativa seca; así mismo, las alteraciones oftalmológicas tipo uveítis, blefaroconjuntivitis, queratoconjuntivitis y panoftalmitis son frecuentes y progresa el depósito de inmunocomplejos a nivel renal conllevando a glomerulonefropatías con pérdida de proteínas, polidipsia, poliuria y vómitos (Cardoso y Cabral, 1998; Ciaramella y Corona, 2003). Se ha reportado efusión pericárdica y pericarditis con falla cardíaca congestiva derecha asociada a leishmaniasis visceral (Font *et al.*, 1993).

El caso que se reporta a continuación reviste una gran importancia debido a las implicaciones epidemiológicas de esta enfermedad zoonótica en la comunidad aragüeña. El objetivo es alertar a los clínicos de la presencia de esta enfermedad emergente en nuestro país y conocer ciertos aspectos clínicos poco estudiados y escasamente descritos en la literatura veterinaria.

Descripción del caso clínico

Se presentó al servicio de consulta externa del Hospital Veterinario Dr. Daniel Cabello M. de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela, un canino macho, de raza Bóxer, de cuatro meses de edad, con un peso de 16 kg, con motivo de consulta dificultad respiratoria e intolerancia al ejercicio de curso agudo. Se reportó depresión e inapetencia de dos días de evolución y postración. Al examen clínico el pulso (FP), frecuencia cardíaca (FC) y respiratoria (FR) fueron anormales (FP > 220/min; FC > 220/min; FR 60/min, respectivamente); la temperatura corporal estaba elevada (40,5° C) y la perfusión capilar normal (< 2s), con palidez de membranas mucosas. El paciente se encontró en decúbito lateral (postrado), deprimido y con dificultad respiratoria, evidenciada por un patrón restrictivo con sonido mate a la percusión en áreas ventrales de ambos hemi-tórax; adicionalmente, se auscultaron sonidos adventicios crepitantes al inicio de la inspiración y espiración en el área dorsocaudal de los campos pulmonares. Los sonidos cardíacos se auscultaron disminuidos en intensidad y disrrítmicos, con incremento exagerado de la frecuencia en asociación de un pulso débil, rápido, alternante y asincrónico con respecto a la tasa cardíaca.

La palpación abdominal denotó distensión abdominal por agrandamiento marcado del hígado y bazo, aunado a la presencia de fluido peritoneal libre (signo de balonaje positivo). Finalmente, se evidenció linfadenomegalia generalizada. El diagnóstico clínico presuntivo fue el de falla cardíaca congestiva bilateral de naturaleza infecciosa, en función de la hipertermia, linfadenomegalia y curso agudo.

Una vez hospitalizado, se inició la terapia con oxígeno y cateterismo endovenoso para administrar fluidoterapia con cloruro de sodio al 0,9% de mantenimiento (40 ml/kg/d). Se tomaron muestras de sangre para hematología completa, despistaje de hemoparásitos y química sanguínea (creatinina, transaminasas y proteínas); se tomó muestra de orina para urianálisis. Ambos hemi-tórax se prepararon asépticamente para toracocentesis y análisis del fluido pleural. Se le tomaron radiografías de tórax y electrocardiograma. Basado en la sospecha de infección, se instauró antibioterapia de amplio espectro con oxacilina (20 mg/kg/IV/TID) y gentamicina (3 mg/kg/IV/TID).

La hematología reflejó leucocitosis por neutrofilia con desviación a la izquierda leve, anemia leve no regenerativa y trombocitopenia en ausencia de hemoparásitos. La química sérica reflejó elevación notable de la ALT (325UI/L), albúmina en su límite inferior normal (2,5 g/dL) con relación albúmina:globulina anormal (0,5:1). El urianálisis reflejó hematuria y proteinuria. El fluido pleural resultó ser un transudado modificado con 90% de células mononucleares. Radiográficamente, se evidenció fluido pleural libre y cardiomegalia. Al electrocardiograma se evidenció taquiarritmia ventricular con respuesta parcial a lidocaína, mostrando complejos ventriculares prematuros.

Se inició una terapia antiarrítmica con lidocaína en bolos endovenosos de 5 mg/kg., obteniéndose una respuesta pobre; se adicionaron diltiazem (1,5 mg/kg PO) y quinidina (20 mg/kg PO) al protocolo con el objetivo de disminuir la frecuencia cardíaca. La respuesta fue desfavorable y el deterioro rápidamente progresivo conllevando a la muerte del paciente en 48 horas de hospitalización a pesar del monitoreo y terapia antiarrítmica agresiva.

Se practicó un estudio anatomopatológico. Macroscópicamente se observó hepatomegalia, esplenomegalia, nefromegalia; pulmones húmedos, pesados y brillantes; hemotórax, hemoperitoneo, dilatación cardíaca derecha e hipertrofia ventricular izquierda. Histopatológicamente, en el miocardio se evidenció pérdida de las estriaciones transversales, rotura y necrosis de coagulación

miofibrilar y presencia de numerosas formas amastigotas del género *Leishmania* spp. en el sarcoplasma, acompañadas de un severo infiltrado linfoplasmocitario interfibrilar (Figura 1); de igual forma, se encontraron amastigotes de *Leishmania* spp. en macrófagos del bazo y nódulos linfáticos. Estos hallazgos soportan el diagnóstico parasitológico de leishmaniasis visceral y confirman la naturaleza infecciosa del cuadro clínico.

La leishmaniasis visceral se caracteriza por un curso crónico con periodos de incubación desde tres (3) meses hasta siete (7) años; las formas amastigotas pueden encontrarse en médula ósea, hígado, bazo, nódulos linfáticos, pericardio y miocardio; a pesar de que se ha reportado miocarditis en perros con leishmaniasis, usualmente no conlleva a falla cardiaca. El caso reportado por Font *et al.* (1993), refleja un cuadro de falla congestiva derecha, pero asociada a pericarditis y efusión pericárdica, más no a daño severo del miocardio. En el presente caso, las lesiones miocárdicas severas conllevaron a la falla cardiaca bilateral y soportan los hallazgos clínicos encontrados en los diferentes órganos y cavidades, en adición a la falla en respuesta al tratamiento. A pesar del infiltrado inflamatorio linfoplasmocítico de naturaleza crónica, la ausencia de lesiones cutáneas presentes en el 90% de los casos de leishmaniasis visceral, indica un curso más agudo (Ferrer, 1988a). Probablemente la edad del paciente y el pobre desarrollo del sistema inmune (respuesta celular) condicionaron la severidad y ubicación atípica de las lesiones, en adición a una parasitosis masiva. Es importante considerar la tripanosomiasis por *Trypanosoma cruzi*, ya que cursa con un cuadro agudo de miocarditis en animales menores de un año y el parásito utiliza a los monocitos circulantes para su migración a través de tejidos como hígado, bazo y nódulos linfáticos (Meurs *et al.*, 1997). Siendo esta parasitosis el diagnóstico diferencial de rigor y no excluyente en la ausencia de estudios de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y/o PCR del presente caso, la morfología del quinetooplasto en los amastigotas observados, el viscerotropismo y daño a órganos del sistema mononuclear fagocítico, soporta el diagnóstico de leishmaniasis visceral.

El diagnóstico de infección leishmánica puede ser clasificado en parasitológico, donde se identifica directamente el parásito a través de citologías o biopsias de tejido (nódulos linfáticos, médula ósea, hígado y bazo), o indirectamente a través de cultivo y aislamiento, teniendo en ambos casos una especificidad del 100%, pero baja sensibilidad (82-84%), debido a que la fase de la enfermedad, carga parasitaria y toma de la muestra, pueden limitar la identificación

parasitaria (Ciaramella y Corona, 2003; Zorio, 2005). La inmunohistoquímica puede mejorar la sensibilidad mostrando resultados bastante satisfactorios (Ferrer *et al.*, 1988b). El diagnóstico por métodos serológicos o indirectos incluyen la inmunofluorescencia indirecta (IFI), considerada el método de referencia por su elevada sensibilidad (98,7%) y especificidad (Ciaramella y Corona, 2003). La técnica inmunoenzimática (ELISA), aglutinación directa (DAT) e inmuno difusión en agar gel; se emplean cuando el diagnóstico parasitológico es negativo, para establecer seroprevalencias y en determinaciones de focos enzoóticos. Ellos se basan en la detección de IgG (sub-clase IgG₁) específica anti-*Leishmania*; sin embargo, los animales en periodo de seroconversión (entre 1,5-3 meses post-infección) y aquellos resistentes, que no desarrollan inmunidad humoral, tendrán resultados negativos. La detección de un numero extremadamente pequeño de microorganismos mediante fragmentos de su material genético (ADN) a través de PCR, ayuda a identificar animales infectados por el parásito, que no han seroconvertido o generado respuesta de anticuerpos (Ashford *et al.*, 1993). Este método permite evaluar tejidos como médula ósea, bazo, nódulos linfáticos y sangre con alta sensibilidad y especificidad (Cañavate *et al.*, 2005).

La leishmaniasis en el perro es más resistente al tratamiento que en el humano y raramente los organismos son completamente eliminados. Las drogas de elección por su alta eficacia (90%), mayor duración en remisión clínica y tolerancia aceptable en caninos, son los Antimoniales Pentavalentes (Glucantima y Pentostam), que influyen en el metabolismo energético, bloqueando la formación de ATP y GTP y comportándose como leishmanicidas. El Allopurinol, segunda elección terapéutica, se incorpora al ARN e inhibe la multiplicación del parásito; sin embargo, a diferencia de los primeros se comporta como un leishmaniostático, lo que disminuye su eficacia. Esta opción terapéutica podría mejorarse si se combina sinérgicamente con otras drogas (Nieto *et al.*, 2005). Eibl y Unger (1998) demostraron tasas del 100% de curación clínica en humanos con el fosfolípido sintético, Miltefosina; mientras que en caninos, Miró *et al.* (citados por Nieto *et al.*, 2005) reportaron en un estudio terapéutico comparativo entre la Miltefosina y Glucantima, una eficacia similar. En el presente caso, la falla en la respuesta al tratamiento se debió a que no se administraron leishmanicidas y las lesiones miocárdicas fueron muy severas e irreversibles para el momento de iniciado el manejo terapéutico.

Recomendamos a partir de estos hallazgos incluir en la lista de los diagnósticos diferenciales de miocarditis y falla cardiaca de origen infeccioso a la leishmaniasis visceral, sobre todo en áreas enzoóticas, realizar pruebas serológicas o de PCR y considerar la epidemiología y potencial zoonótico de la enfermedad, por ende la denuncia obligatoria a los organismos competentes.

REFERENCIAS

- Ashford, D.; Badaró, R.; Freire, M.; Miranda, C.; Salís, M.; David, J. 1993. Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test-enzyme-linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48:1-8.
- Cañavate, C.; Cruz, I.; Flores, M.; Alvar, J. 2005. Leishmaniosis canina. Diagnóstico. *Información Veterinaria*, 26:28-32.
- Cardoso, L.; Cabral, M. 1998. Leishmania e leishmaniose canina. *Rev. Port. Cs. Vet.*, 93:121-141.
- Ciaramella, P.; Corona, M. 2003. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 25:358-369.
- Eibl, H.; Unger, C. 1998. Cure for fatal tropical disease-Oral treatment of leishmaniasis. [en línea]. Dirección URL: <http://www.mpibpc.qwdg.de/abteilungen/145> > [consulta: 03/08/2002].
- Ferrer, L.; Rabanal, R.; Fondevila, D.; Ramos, J.; Domingo, M, 1988a. Skin lesions in canine leishmaniasis. *J. Small Anim. Pract.*, 29:381-388.
- Ferrer, L.; Barabara, R.; Domingo, M.; Ramos, J; Fondevila, D. 1988b. identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tisúes by immunoperoxidase staining. *Res. Vet. Sci.*, 44:194-196.
- Font, A.; Durall, N.; Domingo, M.; Closa, J.; Moscott, J.; Ferrer, L. 1993. Cardiac tamponade in a dog with visceral leishmaniasis. *JAAHA.*, 29:95-100.
- Meurs, K.; Miller, M.; Helman, R. 1997. Miocarditis canina de chagas. En: *Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII* (R. Kira.; J. Bonagura., eds.). McGraw-Hill Interamericana, Méjico. pp. 915-920.
- Molina, R. 2005. Leishmaniosis canina. Los flebotomos: importancia sanitaria. *Información Veterinaria*, 26:20-24.
- Negrón, E.; Zerpa, O.; Ulrico, M.; Díaz, N.; Centeno, M.; Rodríguez, V.; Tapia, F.; Sánchez, M. 2001. Estudio de leishmaniasis visceral canina en focos endémicos de Venezuela. En: Ponencia del IV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias.

- Nieto, J.; Saugar, J.; Miret, J; González, F. 2005. Leishmaniosis canina. Terapéutica. *Información Veterinaria*, 26:34-40.
- Pinelli, E.; Killick-Kendrick, R.; Wagenaar, J.; Bernadina, N.; del Real, G; Ruitenberg, J. 1994. Celular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Inf. and Immunity.*, 62:229-235.
- Sacks, D.; Lai, S.; Shrivastava, S.; Blackwell, J.; Neva, F. 1987. An analysis of T-cell responsiveness in Indian Kala-Azar. *Journal of Immunology*, 138:909-918.
- Slappendel, M.; Ferrer, L. 1998. Leishmaniasis. En: *Infectious diseases of the dog and cat* (C. Greene, eds.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, pp. 450-458.
- Slappendel, M.; Greene, C. 1990. Leishmaniasis. En: *Infectious diseases of the dog and cat* (C. Greene, eds.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, pp. 769-777.
- Zorio, M. 2005. Leishmaniosis canina. Panorámica general de la enfermedad. *Información Veterinaria*, 26:14-18.



Figura 1. Miocarditis protozoal por *Leishmania* spp. Sección histológica de tejido miocárdico con múltiples formas amastigotas de *Leishmania* spp. (flecha discontinua) e infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario severo (flecha continua). 400X