

Aplicación de las técnicas inmunohistoquímicas al estudio de la leishmaniosis canina

Barberan, M y Castillo, J.A

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza C/ Miguel Servet 177. 50013. Zaragoza

La leishmaniosis canina es una enfermedad crónica producida por *Leishmania infantum*, un protozoo que se multiplica en macrófagos de los vertebrados y que se transmite por medio de vectores: mosquitos del género *Phlebotomus*. En Zaragoza esta enfermedad es endémica en perros, con una prevalencia del 10-40%, debido a las condiciones bioclimáticas existentes que facilitan la multiplicación y supervivencia de los vectores.

En el perro existen 2 formas de presentación clínica, visceral y cutánea, aunque habitualmente ambas se superponen. Clínicamente los animales presentan adelgazamiento rápido y progresivo con atrofia muscular, hipertrofia de ganglios linfáticos, dermatitis, úlceras cutáneas, perionixis y signos de fallo renal, (Greene, 1990). Se considera que el adelgazamiento es consecuencia de la acción de inmunomediadores. En hámsters infectados experimentalmente se ha observado liberación de TNF/caquectina e IL-1 (Pearson et al., 1992) con actividad lipolítica y proteolítica, factores que también podrían ser responsables del adelgazamiento en perros, junto con las lesiones renales que permiten la eliminación de proteínas con la orina

Las lesiones típicas incluyen hiperplasia reticular en bazo, ganglios linfáticos y medula ósea, así como dermatitis. Otros órganos que suelen verse afectados son hígado y riñón. En todos los órganos citados es frecuente observar amastigotes en el interior de células fagocíticas.

En esta comunicación se describen 3 casos de leishmaniosis generalizada, en la que se observaron amastigotes de *Leishmania* en localizaciones atípicas, detectadas mediante técnica inmunohistoquímica.

Material y métodos:

Se utilizaron 3 perros adultos serológicamente positivos a *Leishmania* con inmunofluorescencia indirecta (IFI) y aglutinación directaAD, que presentaban una grave insuficiencia renal acompañada de dermatitis y caquexia. Los animales fueron sacrificados en fase terminal y tras la necropsia se obtuvieron muestras de médula ósea, bazo, ganglios linfáticos, hígado, lengua, estómago, intestino (varios tramos), piel y testículo para estudio histopatológico, así como bazo y medula ósea para aislamiento e identificación.

Las muestras para histopatología fueron fijadas en formol tamponado al 10%, incluidas en parafina y tenidas con H.E. y Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABPC) utilizando un suero

policlonal frente a antígenos hidrosolubles de *L. infantum* cepa autóctona zimodema Mon-1 obtenido en conejo y un Kit ABC R (Vectastain ABC Kit. Vector Laboratories).

El aislamiento se realizó en medio 199 + 10% de suero fetal bovino (SFB) a partir de siembras de bazo y médula ósea y la identificación mediante análisis electroforético en gel de almidón frente a un panel de 5 enzimas. Las tres cepas aisladas correspondían al zimodema MON-1

Resultados y discusión

1. Resultados anatomopatológicos

En todos los animales se observó tumefacción de ganglios linfáticos, hepatitis y esplenitis granulomatosa, nefritis intersticial, tubulonefrosis, glomerulonefritis, gastritis urémica, enteritis crónica y áreas de dermatitis granulomatosa con úlceras y costras. Además de estas lesiones un perro tenía orquitis y otras pequeñas úlceras linguales.

El diagnóstico clínico y serológico fue confirmado en los 3 perros mediante la identificación de amastigotes de *Leishmania* en células fagocíticas de hígado, bazo, médula ósea, riñón y piel, órganos habitualmente parasitados. Utilizando la técnica de ABPC detectamos además macrófagos parasitados en la lamina propia del intestino de los 3 perros, especialmente abundantes en ileon, y menos frecuentes en yeyuno, colon y ciego, el testículo de un perro y la lengua y el estómago de otro.

A pesar de que no es frecuente la detección de *Leishmania* en estos órganos, Ferrer et al. (1988) encontraron 2 animales con afección intestinal de un total de 20 estudiados y 1 con parasitación testicular de 8 estudiados. La detección de amastigotes *Leishmania* en el intestino de todos los perros que hemos examinado puede ser la consecuencia del estudio sistemático de todos los tramos intestinales. Desconocemos las repercusiones de la parasitación intestinal, pero en casos graves su presencia podría interferir la absorción intestinal y agravar la caquexia. En el testículo la mayoría de los macrófagos parasitados se encontraban en tejido intersticial, aunque había algunos dentro de los túbulos seminíferos, lo que podría explicar el aislamiento en cultivo de *Leishmania* a partir de semen observada por Riera y Valladares (1996) en perros infectados experimentalmente. La eliminación de *Leishmania* con el semen podría ser otra forma de transmisión del parásito, aunque de escasa importancia epidemiológica.

No tenemos referencias de identificación del parásito en estómago y lengua de perros, no obstante si se ha descrito la parasitación del estómago en el chacal (Hervas et al., 1996) y cavidad nasofaríngea de la especie humana en nuestro país (Alvar et al, 1990).

Bibliografía

Alvar, J.; Ballesteros, J. A.; Soler, R.; Benito, A.; Eys, G. J. J. M. van.; Schoone, G. J.; Cabrer, B. (1990). Mucocutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) infantum*:

biochemical characterization. American Journal of Tropical Medicine & Hygiene. 43(6): 614-618.

Ferre, L.; Rabanal, R.M.; Domingo, M.; Ramos, J.A.; Fondevila, D. (1988). Identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tissues by immunoperoxidase staining. Research in Veterinary Science. 44(2): 194-196.

Greene, C.E. (1990). Infectious diseases of the dog and cat. W.B. De by Saunders Company. pp:769.

Hervas, J.; Mendez, A.; Carrasco, L.; Bautista, M., Gomez-Villamandos, J.C. (1996). Leishmaniasis visceral en el chacal: estudio histopatologico. VIII Reunion de la SEAPV. Cordoba, 1996, 60.

Pearson, D.P.; Cox, G.; Jeronimo, S.M.B.; Castracane, J.; Drew, J.S.; Evans, T., & De Alencar J.E. (1992). Visceral leishmaniasis: a model for infection-induced cachexia. American Journal of Tropical Medicine & Hygiene. 47(1): 8.

Riera, C. & Valladares, J.E., 1996. Viable *Leishmania infantum* in urine and semen in experimentally infected dogs. Parasitology Today., 12(10): 412.

M. Barberan.

Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet 177. 50013-Zaragoza. Spain