

# Diagnóstico laboratorial de *Leishmania infantum*



***La leishmaniosis es una enfermedad infecciosa frecuente en perros en la zona mediterránea, está asociada con una alta morbilidad y, a pesar de un tratamiento adecuado, puede tener un desenlace fatal.***

**L**a *Leishmania infantum* es un protozoo que completa su ciclo de vida en dos huéspedes; las hembras del mosquito flebótomo albergan los promastigotes extracelulares flagelados y un mamífero (principalmente el perro) donde se desarrollan las formas del parásito amastigote intracelular.

La complejidad de esta infección zoonótica y la amplia gama de sus manifestaciones clínicas, desde una infección inaparente hasta una enfermedad grave, hacen que el manejo de la leishmaniosis canina sea un desafío.

Por ello, vamos a detallar las diferentes opciones laboratoriales que nos pueden ayudar en el diagnóstico. En base a los resultados de las pruebas diagnósticas y la clínica del

paciente, deberemos diferenciar entre animales infectados y animales enfermos.

## **Hematología y bioquímica**

La anemia de leve a moderada normocítica, normocrómica es el cambio hematológico más frecuente en la leishmaniosis canina. También puede observarse neutrofilia particularmente prominente en aquellos casos con lesiones ulcerativas y con infecciones bacterianas secundarias. Puede observarse de leve a moderada trombocitopenia; sin embargo, en aquellos casos en los que la trombocitopenia es marcada, es conveniente investigar la posibilidad de coinfecciones con otros parásitos.

El depósito de inmunocomplejos a nivel glomerular induce cambios inflamatorios que en consecuencia desarrollan una nefropatía proteinúrica. El resultado es una insuficiencia renal crónica (IRC).

Las recomendaciones de la *International Renal Interest Society* (IRIS) para animales con IRC crónica secundaria a leishmaniosis es la misma que para cualquier tipo de IRC. Esta aproximación laboratorial se basa principalmente en la cuantificación de proteínas urinarias y de marcadores de la función renal como la densidad de orina y la concentración sérica de creatinina. Recientemente se ha propuesto el SDMA como un biomarcador para el diagnóstico temprano de IRC. Sin embargo, no hay estudios que confirmen el poder diagnóstico del SDMA en IRC temprana en perros con leishmaniosis que tienen proteinuria, con presencia de concentraciones normales de creatinina.

### Urianálisis

La densidad de orina medida mediante refractómetro nos puede dar mucha información ya que tiende a disminuir en aquellos perros que tengan daño tubulointersticial. Para ello, se recomienda centrifugar previamente la orina y realizar esta medición del sobrenadante. Este sobrenadante debe también utilizarse para realizar una tira de orina, siendo de especial interés el pH y la concentración de proteínas.

El sedimento es otro componente importante, ya que un sedimento activo (presencia de un número elevado de leucocitos, eritrocitos y/o bacterias) puede indicar una infección secundaria por leishmaniosis del tracto urinario inferior. Y puede dar como resultado una sobrestimación de la proteinuria. La presencia de cilindros granulares o celulares puede ser indicativo de daño tubular.

Evaluación de proteinuria. Este paso es fundamental, ya que la proteinuria es un factor de riesgo en la progresión de la nefropatía. De acuerdo con las guías del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria (ACVIM), la proteinuria debe evaluarse en cualquier animal que sufra leishmaniosis. Para evitar la contaminación procedente del tracto urinario inferior se recomienda realizar la extracción de orina mediante cistocente-

## Actualmente se puede hacer una correlación aproximada entre la carga parasitaria y el estado clínico del animal

sis. El primer paso sería realizar una tira de orina y de acuerdo con la clasificación IRIS en los casos en los que es necesario clasificar el grado de proteinuria presente en el animal se debe realizar un ratio proteína/creatinina en orina (UPC).

### Proteinograma y serología

El análisis de las proteínas séricas puede revelar anomalías tempranas durante el transcurso de la enfermedad. Por ejemplo, las proteínas totales (PT) y las globulinas totales habitualmente están aumentadas en perros con leishmaniosis. La única excepción es la albúmina, la cual puede estar disminuida.

En aquellos casos en los que la albúmina está disminuida, debido al fallo renal; el resultado del ratio albúmina globulina (A/G) también se ve disminuido. El descenso de esta ratio es muy frecuente y está considerado por algunos autores el test más sensible para la leishmaniosis canina.

El proteinograma típico se presenta con hipoalbuminemia, con un moderado incremento de  $\alpha_2$ -globulinas y un marcado incremento de  $\gamma$ -globulinas. La gammapatía es típicamente policlonal pero en ocasiones puede presentarse como biclonal, o definitivamente monoclonal, especialmente si se realiza mediante electroforesis capilar.

El diagnóstico puede realizarse mediante la detección de anticuerpos séricos específicos (IgG) utilizando preferiblemente técnicas serológicas cuantitativas, como la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA).

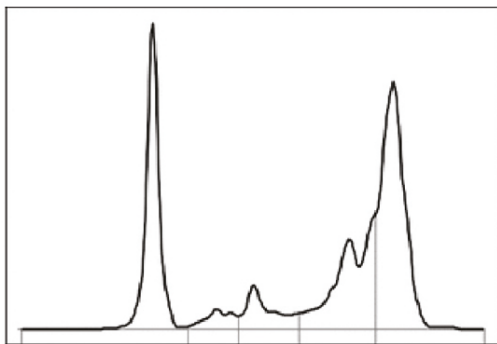
Un alto nivel de anticuerpos confirma el diagnóstico en un perro con signos clínicos y/o anomalías clínico-patológicas compatibles con leishmaniosis. Sin embargo, la presencia de un nivel bajo de anticuerpos no es necesariamente indicativo de la enfermedad y es necesario realizar más pruebas para confirmar o excluir la leishmaniosis clínica.

### Citología

La citología mediante punción con o sin aspiración con aguja fina es útil en el diagnóstico de leishmaniosis, sobre todo en perros que presentan signos clínicos y clínico patológicos compatibles con leishmaniosis, incluyendo lesiones cutáneas nodulares o pápulas y linfadenopatía. En lesiones cutáneas ulcerativas, se puede obtener una muestra para estudio citológico mediante raspado o impronta. En aquellos casos en los que existe una alta sospecha clínica de leishmaniosis, pero no se observan lesiones compatibles, se recomienda investigar la presencia de amastigotes en tejidos como médula ósea, bazo y linfonodos.

El patrón citológico característico de leishmaniosis, en lesiones nodulares de piel u órganos, es una inflamación macrofágica o, neutrofílica y macrofágica, con componente linfoplasmocítico. En linfonodos, la citología muestra una hiperplasia linfoide re-

FIGURA X1



activa, caracterizada por un aumento en el número de células plasmáticas y macrófagos, a menudo asociado con numerosos neutrófilos. El diagnóstico de leishmaniasis se confirma cuando los amastigotes de *Leishmania spp.* se detectan en el citoplasma de macrófagos o en el fondo de la preparación (figura X2). Sin embargo, cuando el patrón citológico es compatible pero no se observan amastigotes, no se debe descartar leishmaniasis ya que la sensibilidad diagnóstica de la citología es baja. En estos casos, se recomienda realizar pruebas complementarias que presenten mayor sensibilidad diagnóstica, como la PCR.

### Histología

La histología puede confirmar la presencia de *Leishmania spp.*, mediante inmunohistoquímica o PCR de tejidos en parafina o fijados en formol. Por otro lado, la histología proporciona información adicional de la composición y estructura de las lesiones.

### Biología molecular

La PCR es una técnica con una elevada sensibilidad. Si bien es cierto que ésta puede variar en base a la matriz utilizada para nuestro diagnóstico (linfonodo, médula ósea, bazo, sangre, líquidos biológicos...) Algunos estudios también empiezan a reflejar que un hisopado conjuntival puede ser una opción no invasiva para el diagnóstico. La muestra más recomendada para esta determinación es punción de médula ósea y/o linfonodo. Las dos principales opciones son: la PCR convencional o cualitativa, que nos indica la presencia/ausencia del parásito; y la PCR cuantitativa o a tiempo real, que puede detectar cargas parasitarias muy bajas. La PCR a tiempo real es más conveniente para realizar una monitorización del animal durante el tratamiento, partiendo del conocimiento de la carga inicial y evaluando la disminución de la misma.

Actualmente se puede hacer una correlación aproximada entre la carga parasitaria y el estado clínico del animal. Resultados de PCR con una carga parasitaria baja suelen estar relacionados con animales asintomáticos y probablemente seronegativos o con una seroconversión negativa/baja. Al ir aumentando la carga parasitaria aumenta el porcentaje de animales clínicamente enfermos y que presentan seroconversión positiva. 🐾

Autoras:

**Verónica Mato Martín,**

L.V. Analista Adjunta Unidad Veterinaria Laboratorio Echevarne  
**Laura Martínez Sogues,** L.V. Residente en Patología Clínica Veterinaria por el *European College of Veterinary Clinical Pathology*, en la UAB.

**Inma Durán Durán,** L.V. Directora Unidad Veterinaria Laboratorio Echevarne

#### Fuentes:

- Di Muccio T, Veronesi F, Antognoni MT, Onofri A, Piergili Fioretti D, Gramiccia M. Diagnostic value of conjunctival swab sampling associated with nested PCR for different categories of dogs naturally exposed to *Leishmania infantum* infection. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2651–2659.
- Paltrinieri, Saverio & Gradoni, Luigi & Roura, Xavier & Zatelli, Andrea & Zini, Eric. (2016). Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary clinical pathology.* 45. 10.1111/vcp.12413.
- Solano-Gallego, Laia & Saz, Sergio & Carbonell, Marta & Trotta, Michele & Furlanello, Tommaso & Natale, Alda. (2014). Serological diagnosis of canine leishmaniasis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan(R), ID Screen(R) and Leishmania 96(R)), a rapid test (Speed Leish K(R)) and an in-house IFAT. *Parasites & vectors.* 7. 111. 10.1186/1756-3305-7-111.

FIGURA X2

