



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Veterinarias

Corrientes – Argentina

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN
-MÓDULO DE INTENSIFICACIÓN PRÁCTICA-

OPCIÓN: TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS Y SALUD PUBLICA

TEMA: Diagnóstico de Leishmaniasis Visceral Canina en pacientes de tres barrios de la ciudad de Formosa Capital. Búsqueda de interacción vector- reservorio.

TUTOR EXTERNO: M.V. Cardozo, Silvana Elisa M.P. 341

TUTOR INTERNO: M.V. Benítez, Andrea Susana M.P. 1096

RESIDENTE: Mouchard, Eduardo Ariel

e-mail: mvarielmouchard@gmail.com

ÍNDICE

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Consideraciones para el reconocimiento del vector.....	6
Características generales.....	6
Otras características.....	7
Objetivos.....	8
Objetivos principales.....	8
Objetivos particulares.....	8
Materiales y métodos.....	8
Resultados.....	12
Discusión.....	14
Conclusión.....	15
Bibliografía.....	16

RESUMEN

La leishmaniasis visceral urbana es una zoonosis emergente en Argentina, de este modo el perro es considerado como reservorio principal y los insectos flebótomos como vectores. La detección temprana, estrategias de control, contribuirían a disminuir la morbimortalidad asociada a la leishmaniasis visceral. El control de su transmisión y dispersión requiere de un manejo ambiental integral y la tenencia responsable de perros. El objetivo de este trabajo es detectar la presencia de leishmaniosis visceral canina en Formosa capital, como base para futuros estudios epidemiológicos. Así como la búsqueda correspondiente de la presencia del flebótomo, vector de la enfermedad, con escenario de posible predilección en la ciudad de Formosa a través del uso de las trampas. Realizar tareas de visualización de la problemática e información acerca de la misma, para dejar registro del trabajo realizado. Finalmente, el presente trabajo puede colaborar a la visualización del rol de los caninos en la distribución y perpetuación de esta problemática que afecta a la salud pública.

INTRODUCCION

El parásito llamado *Leishmania* debe su nombre a William Leishman. En 1903 este investigador inglés, describe los parásitos encontrados en un frotis de tejido de bazo, que pertenecía a un soldado inglés fallecido con disentería y hepatoesplenomegalia, dos enfermedades que habría contraído en la India. (1)

Dentro de los endoparásitos podemos encontrar a los protozoarios, que son organismos unicelulares. Es decir, formados por una sola célula estructural. Son capaces de cumplir todas las funciones vitales necesarias para reproducirse, nutrirse y sobrevivir en el cuerpo de otro ser vivo.

Leishmania chagasi, es el agente etiológico de la leishmaniosis visceral canina, enfermedad zoonótica de importancia con una patogénesis compleja. La transmisión parasitaria se produce por la hembra del flebótomo del género *Lutzomia* que inocular promastigotes al alimentarse del huésped. (9)

La leishmaniosis visceral se produce cuando existe interacción entre el perro, vector y seres humanos (Imagen 1), la incidencia de esta enfermedad en los perros es siempre superior a las personas y usualmente el brote canino precede al brote humano. (9)

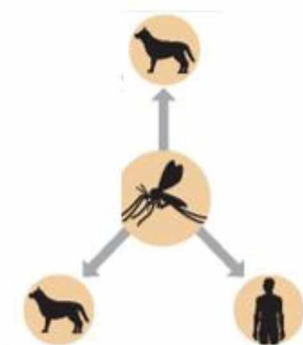


Imagen1. Perro, vector, seres humanos. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Leishmaniasis visceral. Guía para el equipo de Salud Nro. 5 Ed. Dirección de Epidemiología. Buenos Aires. 5.

El perro doméstico es considerado el reservorio principal de la enfermedad en su ciclo urbano, presentando una sintomatología clínica muy variada y en algunos casos asintomáticos. No tiene predilección por la condición socioeconómica de los propietarios. En algunos casos aparecen conflictos generados por la leishmaniosis visceral en el marco de la relación humano-perro. (9)

El término leishmaniasis se utiliza para denominar a un conjunto de manifestaciones clínicas producidas por diferentes agentes etiológicos, parásitos tripanosomatídeos del género *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). El vector es un insecto flebótomo (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). El humano puede contraer la

enfermedad cuando es picado por una hembra del vector (Imagen2), que previamente ha picado a un mamífero infectado. Las dos formas clínicas presentes en el país son la leishmaniasis tegumentaria (cutánea y mucosa) y la leishmaniasis visceral, producidas por parásitos distintos, y con diferentes vectores, reservorios, escenarios eco-epidemiológicos e impactos en la salud pública. La especie que puede producir Leishmaniasis Visceral es la *Leishmania infantum* (chagasi).



Imagen 2. Hembra del mosquito *Phlebotomus*, vector de la leishmaniasis. Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de Leishmaniasis. Plan Nacional de Salud Pública. Ministerio de la Protección Social de la República de Colombia – Instituto Nacional de Salud – Organización Panamericana de la Salud.

En el momento en que el flebótomo pica a las personas, les inyecta los parásitos en su piel o mucosas. La transmisión del parásito es de tipo inoculativa, porque el flebótomo inyecta las leishmanias mientras ingiere la sangre del huésped. (1)

Si el sistema inmune que protege nuestro organismo (células macrófagas) fracasa en su capacidad de destruir el parásito (leishmanias), éste fácilmente invade las células. La célula invadida se convierte en el abrigo y la protección del parásito. En ese lugar se produce la transformación del promastigote en amastigote. En el interior de la célula parasitada los amastigotes se multiplican (Imagen 3) Cuando hay una gran cantidad de parásitos dentro de la célula, ésta se acaba rompiendo. Al romperse libera las formas amastigotes. De este modo, nuevas células son parasitadas y se repite el proceso muchas veces extendiendo la infección. (1)

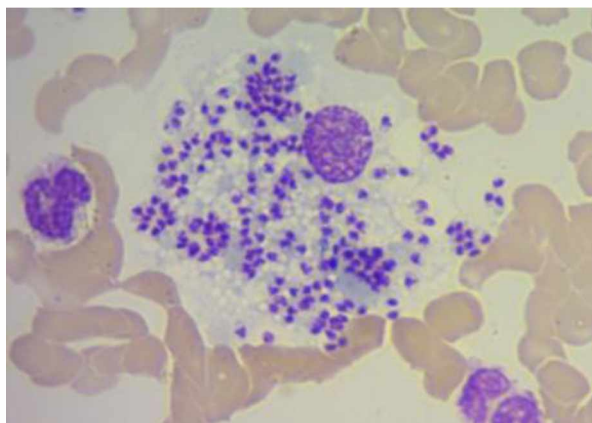


Imagen 3. Amastigotes dentro del macrófago. Imagen propia.

Consideraciones para el reconocimiento del vector (7)

Características externas; los flebótomos presentan:

- Un cuerpo de color gris amarillento, amarillo claro.
- Cuerpo y patas recubiertas de numerosos pelos largos.
- Alas largas y en forma de una lanza, recubiertas de pelos.
- Cabeza que forma un ángulo de 90° con el eje del tórax. Parece que tuviera una joroba.
- Sus alas son abiertas, formando una V, y se mantienen erectas aún cuando el insecto está posado.
- Miden entre 2 y 4 mm.
- Los sexos diferenciados (Hembra y Macho). Imagen 4
- El macho es fácilmente diferenciado por presentar una genitalia externa, visible.

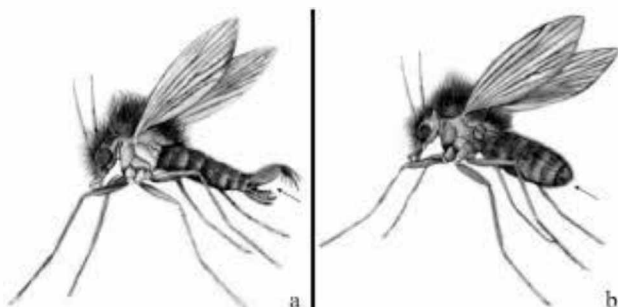


Imagen 4. Macho, se observa genitalia externa (izquierda). Hembra (derecha). Salomon OD, Andrade Filho JD, Fernandez MS, Rosa JR, Szlag EA y Santini MS. 2010. Nuevos registros de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent

Otras características

Todo flebótomo presenta cuatro etapas de crecimiento: huevo, larva, pupa y adulto alados (Imagen 5). Las tres primeras se desarrollan en terrenos húmedos, sombreados y ricos en materia orgánica (humus). (7)

- El ciclo completo de huevo a adulto transcurre aproximadamente en 11 semanas. Cabe señalar que los tiempos pueden variar según el ambiente.
- El flebótomo adulto vive aproximadamente 2 meses.
- Las hembras pueden poner un promedio de 28 huevos cada vez que se alimentan. Los huevos no resisten la desecación, ni estar sumergidos en forma prolongada por más de 48 horas.
- Los huevos y larvas son muy difíciles de hallar y de distinguir, por eso no se realizan actividades de vigilancia ni control sobre estas etapas del ciclo de vida. Son más frecuentes en áreas con vegetación alta, densa y con alto tenor de humedad, pero algunas especies pueden invadir el domicilio y peridomicilio.
- Son insectos de hábitos preferentemente vespertinos. La mayor actividad de vuelo de machos y hembras se produce a partir de las 6 ó 7 de la tarde.
- Si bien el vuelo se realiza al atardecer, también pueden volar y picar en otros horarios.
- En general el vuelo de los insectos es corto, no direccional (como si fueran saltos) y se posa con frecuencia.
- Algunas especies de flebótomos prefieren la sangre del hombre por sobre otros animales.
- Generalmente, estos flebótomos son susceptibles a la mayor parte de los insecticidas y repelentes comerciales.

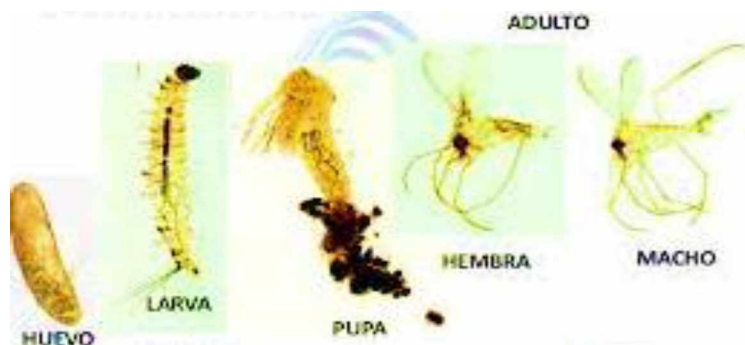


Imagen 5. Ciclo biológico. Salomon OD, Andrade Filho JD, Fernandez MS, Rosa JR, Szlag EA y Santini MS. 2010. Nuevos registros de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent

El principal reservorio urbano de la Leishmaniasis Visceral es el perro. La dispersión de la infección ha ocurrido principalmente asociada al tránsito de mascotas, su tráfico

comercial y el nivel de compromiso en la tenencia y reproducción responsable de perros en cada comunidad. (7) Pero también existen otros factores que favorecen la propagación de la enfermedad:

- dispersión del insecto vector
- migración de personas, en ocasiones con sus mascotas
- urbanización rápida y desorganizada
- las deficiencias en el saneamiento ambiental y las viviendas precarias.

OBJETIVOS

Para la realización del trabajo final de graduación se pretenden

-Objetivos principales:

- Detectar la presencia de leishmaniosis visceral canina en Formosa capital, como base para futuros estudios epidemiológicos;
- Detectar la presencia del flebótomo, vector de la enfermedad.

-Objetivos particulares:

- Realizar tres métodos diagnósticos convencionales: a) Clínico (de apoyo); b) Directo (parasitológico) en muestras de médula ósea; c) serológico: test RK 39 *Kalazar detect canine*.
- Elaborar trampas tipo CDC para capturar insectos voladores y detectar la presencia del vector en barrios con escenario de posible predilección para del flebótomo de la ciudad de Formosa a través del uso de trampas.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en Formosa capital, fueron 3 barrios vecinos a la clínica veterinaria: “Veterinaria Formosa”. Barrio La Floresta 10 pacientes, El Resguardo 10 pacientes y Emilio Tomas 10 pacientes conformando un total de 30 muestras. Se procedió a la revisión del paciente, se confeccionó una ficha clínica individual para registrar los datos del propietario, reseña, anamnesis, descripción clínica de síntomas y signos de la enfermedad.

A los 30 pacientes se les extrajo muestras por PAAF (punción aspiración aguja fina) de médula ósea del tercio distal de las ultimas costillas (2), para ello se sujetó en decúbito lateral, previa antisepsia de la región y seguidamente a la técnica con una aguja 25/8 atravesando piel, tejido subcutáneo, luego superficie cortical, hasta llegar a la

medula ósea, posteriormente, acoplar una jeringa de 10 cc , para realizar aspiración sostenida.

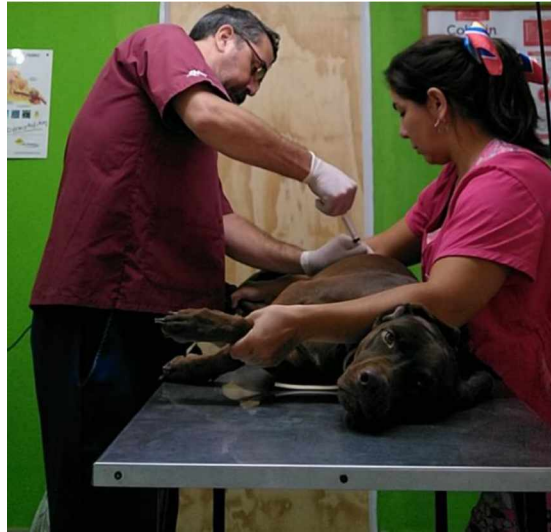


Imagen 6. Punción aspiración aguja fina a paciente. Imagen propia.

Para el diagnóstico parasitológico se procedió de la siguiente manera: Se depositó 1 gota de la muestra de medula ósea en el extremo del portaobjeto, al efectuar el extendido o frotis, se fijó con alcohol de 96° por aspersion durante 20 segundos, se realizó coloración con Giemsa. Todos estos procedimientos realizados para la posterior observación en el laboratorio del consultorio veterinario. Donde se llevó a cabo el diagnóstico directo o parasitológico el cual se basa en la visualización e identificación microscópica del parásito en su estadio amastigote, con una sensibilidad del 60-80%.



Imagen 7. Observación al microscopio óptico. Imagen Propia

Para el análisis serológico, también se trabajó en el laboratorio del consultorio veterinario, el procedimiento fue el siguiente; una vez extraída la sangre se colocó en tubo de ensayo, con el siguiente paso a la centrifuga. Se extrajo con micropipeta 20 ul de suero, se colocó en un tubo de ensayo con 2 gotas de reactivo que viene en el kit *Kalazar*, en el cual se introdujo la tira reactiva RK 39 *kalazar detect canine*, de la cual se realizó la lectura de la reacción expresada.

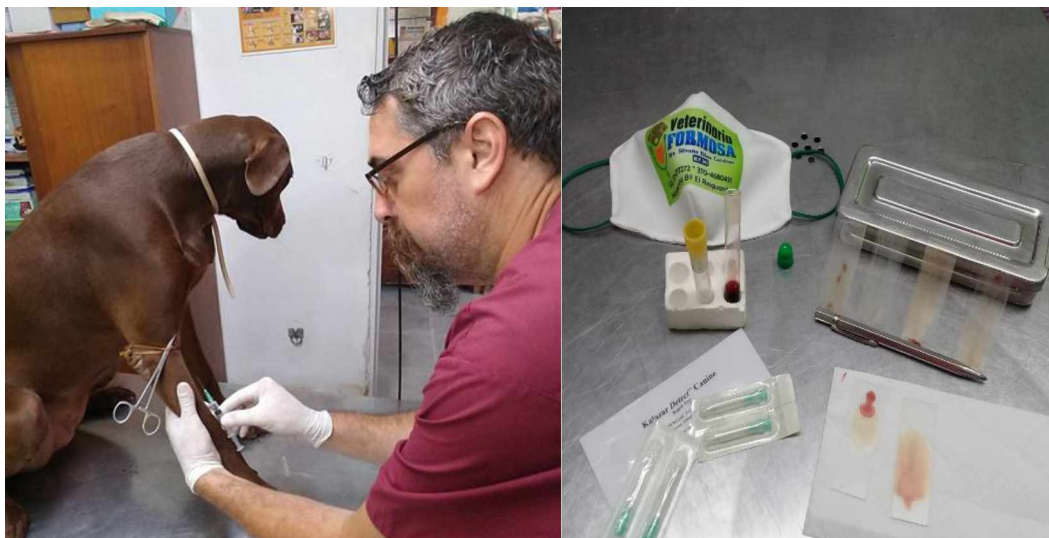
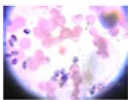


Imagen 8. Extracción de sangre al paciente (izquierda). Reactivos y frotis para análisis (derecha). Imagen propia.

Una vez efectuado el diagnóstico se lleva a cabo el informe, sea resultado positivo o negativo (Imagen 9). En el caso de ser negativo se procede por duplicado para el propietario y para registro de la clínica veterinaria. En caso de constatar un caso positivo se procede a realizar por triplicado: uno para el propietario, uno para la clínica veterinaria y otro para dejar asentado en el Ministerio de Salud, sección Zoonosis.

DIAGNOSTICO DE LEISHMANIA	
Médica Veterinaria: SILVANA ELISA CANDIDOZO	
M.P. 341	
VETERINARIA FORMOSA, Marighesi 856	
3704717272 - 3704650491 - 4422885 mvilvanacardozo@gmail.com.ar	
Protocolo N° Maxo 2020	Fecha: 18/05/2020
DATOS:	
Especie: Canino	Raza: Indefinida Sexo: Hembra Edad: 4 años grosos
Talla: Mediana	Pelaje: Corto, marrón y negro Nombre: MILLI
Propietario: Betty Bourrola	Teléfono: 3718616710
Dirección: Roque Sanz Peña 705. Clorinda	
Profesional remitente: Carmel , Cayula .	
MATERIAL REMITIDO: Sangre entera. Punción (PAAF) medula ósea.	
RESULTADO PRUEBA SEROLÓGICA: Resultado serológico <i>Kalazar detect canine</i> RK 39 Positivo.	
DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO: En los frotis se observan estructuras compatibles con quistosomas de LEISHMANIA. Positivo.	
OBSERVACIONES:	
	

DIAGNOSTICO DE LEISHMANIA	
Médica Veterinaria: SILVANA ELISA CANDIDOZO	
M.P. 341	
VETERINARIA FORMOSA, Marighesi 856	
3704717272 - 3704650491 mvilvanacardozo@gmail.com	
Protocolo N° 11	Fecha: 12/01/2021
DATOS:	
Especie: Canino	Raza: Labrador Sexo: Macho Edad: 1 año, 6 meses
Talla: Grande	Nombre: EROS
Propietario: Elisabet , Alexis	Dirección: 17 de Octubre 1146.
Formosa capital	
Profesional solicitante: M.V. Nicolas Hartelendo .	
MATERIAL REMITIDO: Sangre entera. Punción (PAAF) medula ósea.	
RESULTADO PRUEBA SEROLÓGICA: Resultado serológico <i>Kalazar detect canine</i> RK 39 Negativo.	
DIAGNOSTICO PARASITOLÓGICO: En los frotis no se observan estructuras compatibles con quistosomas de leishmania . Negativo.	
OBSERVACIONES:	

Imagen 9. Informe de caso positivo (izquierda). Informe de caso negativo (derecha). Imagen propia.

En caso de determinarse un caso positivo, se llevó a efecto la información y educación del propietario sobre prevención, cuidado de su mascota. Sobre medio ambiente, limpieza, se informó desarrollo del flebótomo, manejo sanitario peridomiciliario.

La trampa que se utilizó para la búsqueda de los mismos: trampa tipo CDC, realizada de manera casera. Con tubo de PVC, luces led color azul violeta, cooler reciclado, red trampa de medias finas recicladas. Alimentación: transformador de 220 volt a 12 volt.



Imagen 10. Trampa tipo CDC. Imagen propia.

Para llevar a cabo la detección del flebótomo se eligieron los barrios periféricos a la clínica veterinaria (barrios La Floresta, El Resguardo, Emilio Tomas), ya que nos encontramos en proximidad a una reserva biosfera. Allí se pueden observar presencia de aves silvestres como también mamíferos silvestres (comadreja, monos aulladores, murciélagos, zorro gris). Se llevo a cabo el trabajo de captura con trampas por veinte días consecutivos en horario nocturno, iniciando 30 minutos después de esconderse el sol y finalizando 30 minutos antes de la salida del sol. Debido a que los flebótomos son insectos fotofóbicos, se buscaron lugares con escasa o nula iluminación artificial. Lugares con materia orgánica en descomposición, óptimo para la reproducción de los mismos. Imagen 11.

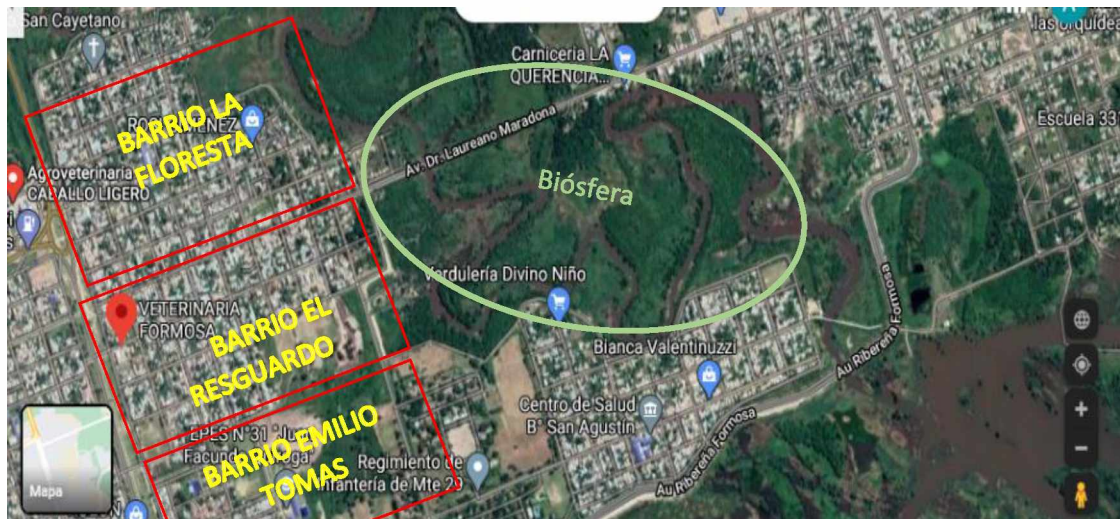


Imagen 11. Barrios periféricos a la clínica veterinaria. Ubicación de la biosfera. Imagen extraída de Google maps.

RESULTADOS

Se tomaron muestras de 30 caninos de diferentes razas, sexos y edad, perteneciendo 20 caninos a razas indefinidas, 8 de raza pit bull y 2 de raza labrador.

La distribución en base a sexo fue 12 machos y 18 hembras; en cuanto al rango de edad del total de caninos se encontraba entre los 2 años y 10 años de edad.

Los pacientes bajo estudio presentaron síntomas clínicos como: estado de decaimiento, estado de nutrición regular a malo, signos cutáneos (como alopecias, descamación seborreica). De los 30 casos que se obtuvieron las muestras, dieron negativo tanto al examen parasitológico como serológico.

Respecto al estudio entomológico de las muestras obtenidas de las capturas con las trampas tipo CDC, no se ha detectado la presencia de flebótomos en el área estudiada al momento de realizado el trabajo.

Cabe destacar que se han detectado pacientes positivos derivados de otras veterinarias, con síntomas varios como: decaimiento, ganglios infartados, anorexia, lesiones en piel, sangrado de mucosas.



Imagen 12. Pacientes positivos derivados a Veterinaria Formosa. Imagen propia.

De acuerdo a la anamnesis el habitat donde se encontraban estos animales es muy variado, viviendas cercanas a gallineros, criadero de cerdos, montes, malezas, algunos próximos a la rivera y materiales orgánicos en descomposición.

Así mismo, la presencia del flebótomo se pudo detectar fuera del área del consultorio veterinario, en un establecimiento agrícola ganadero de un productor local ubicado a 14 kilómetros de la veterinaria, llamado ciclo peridomestico no urbano. Este establecimiento se encuentra próximo al Rio Paraguay. Imagen 13.



Imagen 13. Ubicación de detección del flebotomo. Imagen extraída de google maps (izquierda) imagen propia (derecha)

DISCUSIÓN

En cuanto a los estudios realizados en el presente trabajo final, se pudo dejar constancia un paralelismo a los resultados obtenidos en el periodo de estudio realizado con las bibliografías consultadas.

En coincidencia con lo efectuado por el Manual de Campo para la Vigilancia Entomológica, del Ministerio de Salud (DIGESA, Perú) diversos factores pueden afectar la presencialidad de vector-enfermedad como el clima, vegetación, quedando pendiente posibles estudios en la región para la posteridad. (3)

Respecto a la falta de hallazgo de *Lutzomia spp.* en el lugar de estudio, en las cercanías de la clínica veterinaria, podría deberse a causas climáticas, a la presencia de luces artificiales del alumbrado público. Así como ausencia de factores bióticos y abióticos que favorecen la dispersión; es decir de factores predisponentes para la presencia del vector.

Si bien no se han registrados casos en los barrios periféricos de la clínica veterinaria, es decir en región urbanizada; no se demostró la concurrencia reservorio- vector para determinar la distribución y hallazgo de la enfermedad.

En concordancia con el trabajo realizado por Salomón, O. (2012) el caso registrado es de una zona rural- peridoméstica, alejada de Veterinaria Formosa, paciente derivado de otra clínica veterinaria. En el lugar donde residían los caninos positivos se pudo dejar constancia la presencia del flebótomo, observándose en este sector componentes favorables para el desarrollo de los mismos. (10)

Salomon, O. (2006) menciona que el ciclo peridoméstico, no urbano, en un ambiente disperso podría deberse a: a) la fragmentación del ambiente original y concentración de vectores y/o reservorios en islas residuales, b) una distribución no observada de reservorios sobre una población dispersa de vectores, c) poblaciones locales de una metapoblación ubicadas en el área marginal de una “onda epidémica” expansiva generada. Esta alusión coincide con el sitio de hallazgo de *Lutzomia sp*

De acuerdo a lo analizado en (1) Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de Leishmaniasis, Plan Nacional de Salud Pública (Ministerio de la Protección Social de la República de Colombia), el principal reservorio de la leishmaniosis visceral es el perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) para ello una de las estrategias dentro del control integrado de la enfermedad es controlar los reservorios para interrumpir la circulación y dispersión geográfica de los parásitos. Este objetivo se logra trabajando en equipo con otros consultorios veterinarios y realizando los informes pertinentes para llevar el control de número de casos con la Dirección de Zoonosis de la Provincia de Formosa. Realizar acciones de control vectorial y sobre reservorio canino

CONCLUSION

El análisis general de lo evidenciado en este trabajo, no se ha detectado casos urbanos en el periodo de estudio. Así como la ausencia del vector transmisor de la enfermedad. Debiendo registrar el hallazgo obtenido fuera del tiempo de estudio, fuera del área determinada. Dejando constancia de la presencia del flebótomo, el cual puede realizar avance urbano y dispersión de la enfermedad.

Es necesario el fortalecimiento de la gestión local para la promoción de la tenencia responsable; con estas acciones trabajamos en la prevención mediante el cambio de hábitos en la población. La tenencia responsable, como método de prevención tiene implicancias en diferentes ámbitos de la vida cotidiana, lo que conlleva a trabajar sobre aspectos ligados con los modos de vida de las personas y con las condiciones en las que estas se desarrollan.

Dado la importancia de la enfermedad en la región y ante el gran desconocimiento del tema en la zona, dar a conocer a la población los resultados obtenidos, como así también las medidas de prevención, cuidado de sus mascotas y los riesgos que conlleva para las personas.

Con respecto al trabajo realizado se puede apreciar que la infección canina implica un riesgo para la salud pública, dado que la enfermedad se va propagando cada vez más a zonas donde no se reportaron antecedentes locales.

El estudio de la casuística del presente trabajo indica que la presencia de flebótomos en zonas no urbanizadas, aparentemente aún sin modificación de su dispersión.

Como sugerencia para próximos estudios se recomienda series de tiempo más prolongado para poder definir y validar trabajos futuros.

BIBLIOGRAFIA

1. Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de Leishmaniasis. Plan Nacional de Salud Pública. Ministerio de la Protección Social de la República de Colombia – Instituto Nacional de Salud – Organización Panamericana de la Salud. 47-50 y 53-54.
2. Maidana, H.R.; Llano, E.G.; Baez, A.D.; Cabrera, W.R.; López, J.E. “COMPARACIÓN EN TRES SITIOS ANATÓMICOS DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE MEDULA ÓSEA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSIS CANINA” - REVISTA VETERINARIA - ISSN 1668-4834, Volumen 21, N° 2, 144-147, 2010.
3. Manual de campo para la vigilancia entomológica. 2002. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Perú. 56-57.
4. Manual operativo para la comunidad. Instituto Nacional de Medicina Tropical – Centro Nacional de Diagnostico e investigación en Endemo-epidémica – Red de investigación de la Leishmaniasis en Argentina (REDILA).
5. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Leishmaniasis visceral. Guía para el equipo de Salud. Ed. Dirección de Epidemiología. Buenos Aires, 52 p.
6. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Leishmaniasis visceral. Guía para el equipo de Salud Nro. 5 Ed. Dirección de Epidemiología. Buenos Aires. 5.
7. Salomon OD, Andrade Filho JD, Fernandez MS, Rosa JR, Szlag EA y Santini MS. 2010. Nuevos registros de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) para la Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent. 69: 3-4.
8. <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/leishmaniasis-manual-1.pdf>
- 9-Salomón, Oscar Daniel. Año 2006. Leishmaniosis: Vectores y brotes epidémicos en Argentina. Actualizaciones en artropología sanitaria argentina. (Pág. 185 a 196).
10. Salomón, Oscar Daniel. Año 2012. Leishmaniasis visceral en Argentina. Notificación y situación vectorial. Para la Argentina. Rev. Soc. Entomol. Argent. (pag 104-110).
11. Salomon, Oscar Daniel 2006. Transmisión de la leishmaniasis tegumentaria en la argentina. Rev. Medicina (Buenos Aires) 66: 211-219