



Estudio Leishmaniosis

Victor Romano, DVM
Departamento R&D Affinity Petcare S.A.

1. ANTECEDENTES

La Leishmaniosis canina es una enfermedad causada por un parásito intracelular, endémica de la zona mediterránea. A finales de los años 90 se publicaron 2 estudios retrospectivos, cada uno de los cuales incluían al menos 150 animales infectados de forma natural por *Leishmania infantum*, donde se analizaban los principales síntomas y alteraciones analíticas de perros con Leishmaniosis. Los resultados de ambos estudios fueron bastante similares y mostraban que las principales afecciones eran linfadenopatía, mucosas pálidas, dermatitis, pérdida de peso y anorexia .

2.OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Teniendo en cuenta los dos estudios anteriormente citados, se diseñó un estudio cuyos objetivos eran determinar la evolución clínica y analítica (con especial énfasis en la distribución de linfocitos) de perros con Leishmaniosis clínica evidente, que fueron tratados farmacológica-mente y alimentados con un alimento especialmente diseñado para este tipo de pacientes.

En dicho estudio se incluyeron perros de 1-9 años de edad, diagnosticados por el veterinario clínico por alguno de los métodos aceptados (frotis de aspirado de médula ósea o de aspirado de ganglio linfático, IFI, ...) y que presentaban sintomatología clínica clara de Leishmaniosis canina.

En todos los casos, el diagnóstico efectuado por el clínico fue confirmado en el laboratorio por dos métodos serológicos: ELISA y PCR. Ningún animal podía haber sido tratado frente a la enfermedad con anterioridad al inicio del estudio.

En cuanto a las alteraciones analíticas, las más frecuentes fueron anemia, alteraciones de las proteínas plasmáticas y trombocitopenia.

Fueron excluidos aquellos animales que presentaban alguna enfermedad sistémica, a parte de la Leishmaniosis, excepto aquellos animales positivos frente a Ehrlichia, que fueron tratados frente a dicha enfermedad (siguiendo el protocolo descrito en el párrafo siguiente).

Por motivos dietéticos, no se incluyeron perros que presentaban azotemia, puesto que la dieta

utilizada no estaba indicada en animales con alteraciones renales.

Asimismo fueron eliminados durante el estudio aquellos animales que por cualquier motivo discontinuaron el tratamiento farmacológico y/o dietético.

El tratamiento farmacológico consistió en:
Antimoniato de meglumine: 80 mg/kg/día durante 45 días
Allopurinol: 10 mg/kg/12h durante 90 días (duración del estudio)

En aquellos animales que fueron positivos frente a Ehrlichia, el tratamiento fue:
Doxiciclina: 5mg/kg/12h oral durante 20 días
Imidocarb: 5 mg/kg IM inyección única

El tratamiento dietético consistió en Advance Veterinary Diets Leishmaniasis Management, cuyas características principales son:
- elevado contenido de antioxidantes, como estimulante inmunitario
- niveles de proteína adecuados para animales adultos, de elevado valor biológico,

Síntomas / Hallazgos	Vet Rec 1997 n=150	JAAHA 1999 n=158
Linfadenopatía	90	65
Mucosas pálidas	60	75
Dermatitis	60	50
Pérdida de peso	35	25
Anorexia	20	17
Hiperproteinemia	60	73
Hipoalbuminemia	63	72
Hipergammaglobulinemia	68	
Trombocitopenia	71	
	29	

Figura 1

para ayudar a la recuperación de masa muscular, minimizando los efectos negativos a nivel renal - alta digestibilidad y palatabilidad, para ayudar a la recuperación de peso - reducido contenido en bases púricas, para prevenir la formación de cálculos de xantina, como efecto secundario del tratamiento con allopurinol

3. Diseño del estudio

El estudio fue multicéntrico e involucró a 6 clínicas veterinarias del área Mediterránea (zona endémica).

Como ya se ha comentado, los animales con síntomas de Leishmaniosis y posibles candidatos a entrar en el estudio por cumplir todos los criterios de inclusión, fueron diagnosticados por el clínico. Si el diagnóstico era positivo se les convocaba a la primera de las 3 visitas programadas durante los 90 días de duración del estudio:

Día 0: día de la primera visita. El veterinario debía rellenar una hoja de recogida de datos, que incluía los signos clínicos, la exploración clínica, con particular atención a las lesiones cutáneas. En esta primera visita, se extraía la muestra de sangre y la de orina. Este era, además, el día de inicio del tratamiento farmacológico y dietético.

La ración diaria para cada animal se ajustaba de acuerdo a las recomendaciones nutricionales de Advance Veterinary Diets Leishmaniasis Management.

Día 30: Se realizaba una visita/revisión del estado del animal y se procedía a la extracción de sangre y orina. Asimismo se rellenaba la hoja de recogida de datos correspondiente a esta visita intermedia.

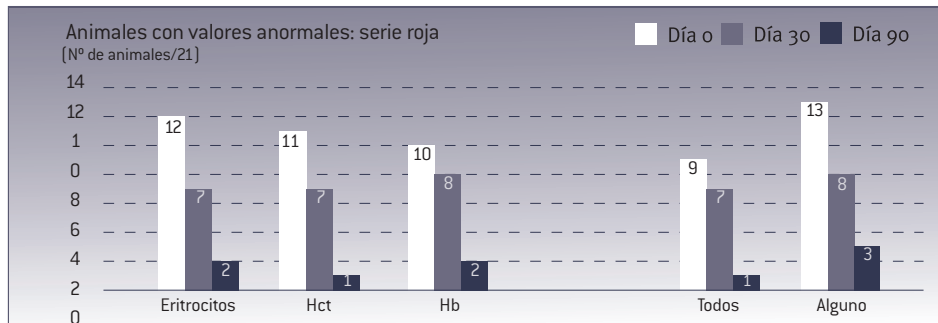


Figura 2

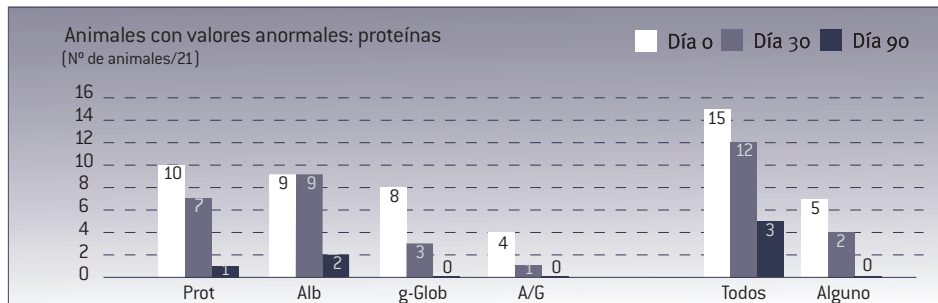


Figura 3

Día 90: se realizaba la visita de fin del estudio, que incluía la hoja de recogida de datos (idéntica a la del día 0). Igualmente se extraía sangre y orina y se valoraba el estado del animal.

Durante los 90 días de duración del estudio, los perros siguieron su propio estilo de vida, puesto que en ningún momento se requería ingreso en clínica ni ninguna otra actividad que implicara modificación de su modus vivendi.

alteraciones en los 3 parámetros analizados [recuento de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina] y 13/21 animales presentaban al menos uno de los tres valores anormales. A los 30 días y más claramente a los 90 días se podía comprobar una clara mejoría, como demuestra que al finalizar el estudio (día 90), únicamente 3/21 animales presentaban aún alguna alteración y solamente 1/21 presentaba alteración en los tres parámetros. (Figura 2)

4. Resultados del estudio

El estudio, que tuvo lugar de junio a noviembre de 2004, incluyó 21 animales, sin predisposición de raza, con una media de edad de 4.5 años y un peso medio de 24.8 Kg.

La distribución por pesos demostró una mayor presencia de animales de raza grande, resultados que parecen lógicos si se tiene en cuenta que esta enfermedad se transmite por la picadura de mosquitos, que suelen tener más actividad al anochecer/amanecer y que por tanto picarán con más facilidad a aquellos animales que duerman en el exterior de las casas.

4.1 Análítica sanguínea

4.1.1 Eritrocitos y parámetros asociados

A día 0 los resultados obtenidos demostraban la presencia bastante generalizada de alteraciones en los eritrocitos y parámetros asociados: 9/21 animales presentaban

4.1.2 Trombocitos

Al igual que con los parámetros relacionados con los eritrocitos, al inicio del estudio 7/21 animales presentaban trombocitopenia, que mejoraba tras 30 días de tratamiento (3/21) y que únicamente afectaba a 1/21 animales al finalizar el estudio, tras 3 meses de tratamiento.

4.1.3 Proteínas plasmáticas

Las principales alteraciones detectadas al iniciar el estudio fue una hiperproteinemia (presente en 10/21 animales), una hipoproteinemia (9/21) y una hipergammaglobulinemia (8/21). En cuanto a la afección por animal, 15/21 presentaban alguna alteración en las proteínas plasmáticas, situación que mejoró claramente a los 90 días del estudio, cuando únicamente 3/21 animales presentaban aún algún parámetro anormal. (Figura 3)

4.1.4 Creatinina

A pesar de que los animales con azotemia no fueron incluidos en el estudio, se controlaron los niveles de creatinina en todos los animales,



para comprobar el estado renal en los animales del estudio, que estaban siendo tratados con allopurinol y antimonio de meglumina y alimentados con una dieta con niveles moderados de proteína.

Todas las muestras analizadas en los 21 animales durante el estudio (3 muestras por animal) presentaron niveles dentro de la normalidad, demostrando el buen estado renal de los perros.

4.2 Sintomatología clínica

4.2.1 Peso y Composición Corporal

Durante los tres meses de duración del estudio hubo un incremento de peso corporal del 8% en promedio.

Puesto que la valoración del peso no tiene en cuenta el estado del animal (bajo peso/sobre-peso), se estudió el Índice de Condición Corporal (BCS, del inglés "Body Condition Score"), utilizando una tabla de 9 puntos.

Este método evalúa al animal en función de unos parámetros objetivos (palpación de las costillas, observación de la cintura, etc.) y clasifica los animales según la valoración en una escala del 1-9, donde 1 es un animal demacrado, 5 es el peso ideal y 9 un animal extremadamente obeso.

Utilizando la valoración BCS en los animales que al inicio del estudio estaban por debajo del peso ideal (BCS menor o igual a 4), es decir, aquellos animales que necesitan realmente aumentar de peso, durante los 90 días de tratamiento hubo un aumento del 24%.

Asimismo se apreció la existencia de una relación entre el BCS y ciertos parámetros de salud: los animales que presentaban un BCS menor de 4 al inicio del estudio (peso inferior

al ideal) presentaban peor estado en ciertos parámetros (recuento de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito; proteínas totales, albúmina y globulinas; proteína C reactiva), indicando que no solo su condición corporal si no también su estado general era peor que el de los animales con condición corporal buena (mayor de 4).

4.2.2 Linfadenopatía

La linfadenopatía presente en la mayoría de animales con Leishmaniosis es debida a estimulación de los folículos linfoides y a la proliferación de los macrófagos, básicamente por una deficiente respuesta inmunitaria. Por lo tanto, la mejoría en la linfadenopatía es una señal de mejora del estado inmunitario del animal.

Al inicio del estudio, 12/21 animales presentaban linfadenopatía importante (valorada por el veterinario clínico como de grado 3 ó 4 en una escala del 1-4). Esta situación se revirtió durante el tratamiento: al finalizar el estudio únicamente 2/21 animales presentaban aún dicha inflamación de ganglios linfáticos.

4.2.3 Alteraciones dermatológicas

Para evaluar las alteraciones de la piel, se pidió a los clínicos que evaluaran su estado en una escala del 0-3, donde 0 era ausencia de afectación y 3 piel muy afectada.

La evolución fue muy positiva: al iniciar el estudio 14/21 animales presentaban alteraciones consideradas graves (valores de 2 y 3 en la escala del 0-3), mientras que a día 90 ningún animal presentó un valor de 2 ni de 3 (todos presentaban lesiones leves o ausencia de lesiones). (Figura 4)

decir, una proteína que aumenta en respuesta a inflamación/infección, de una manera rápida. De la misma forma, si no existe nueva infección y la inflamación va disminuyendo, los niveles de esta proteína también van disminuyendo. Su estudio permite conocer el estado inflamatorio del animal.

Los niveles de CRP al inicio del estudio fueron de 53.1 ng/ml, presentando una rápida disminución a los 30 días (24.5 ng/ml) y una más lenta disminución hasta los 90 días (15.3 ng/ml). (Figura 5)

4.3.2 Vitamina E

Al inicio del estudio, los niveles de vitamina E eran de 7.1 µg/ml, mientras que a 30 días los niveles aumentaron hasta 22.9 µg/ml y hasta 38.6 µg/ml al finalizar el estudio.

Este aumento de niveles de vitamina E es de gran importancia para animales con Leishmaniosis, puesto que la vitamina E es un estimulante del sistema inmunitario: aumenta la actividad de macrófagos y neutrófilos, estimula la producción de linfocitos CD4+ (T helper), incrementa las interleucinas esenciales para la respuesta celular tipo Th1 (IL-2) y disminuye los mediadores de la respuesta humoral Th2 (IL-6, PGE2). De esta forma se potencia la inmunidad celular, esencial para una buena respuesta inmunitaria y se disminuye la inmunidad humoral, responsable en parte de los síntomas de la enfermedad.

4.3.3 Poblaciones de linfocitos

Los animales con Leishmaniosis presentan generalmente un desequilibrio en las poblaciones de linfocitos. En particular, los linfocitos CD8+ (T citotóxicos) se hallan elevados y los CD4+ (T helper) disminuidos.

El tratamiento combinado farmacológico/nutricional debe intentar revertir esta situación,

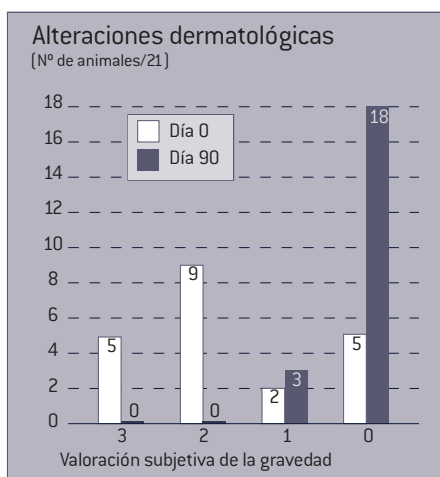


Figura 4

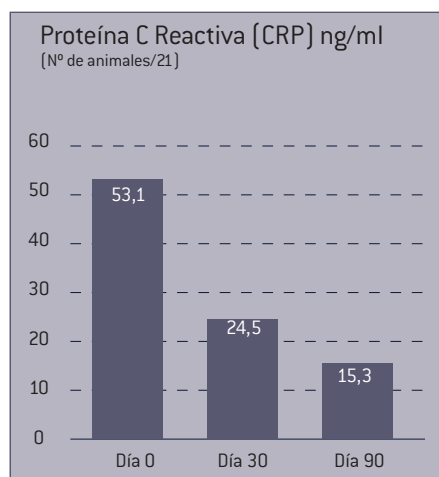


Figura 5

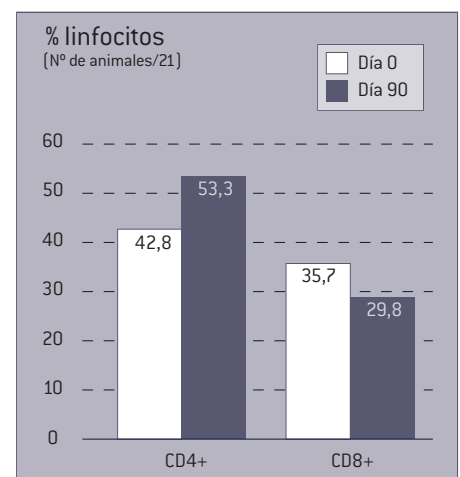


Figura 6

ayudando al animal a tener una respuesta inmune más efectiva, para luchar contra la infección.

Al inicio del estudio, los valores de CD4+ y CD8+ estaban alterados (42.8% y 35.7% respectivamente). Esta situación se vio modificada tras 90 días de tratamiento, donde los valores tendían a normalizarse (CD4+ 53.3% y CD8+ 29.8%). (Figura 6)

Del mismo modo, el ratio CD4+/CD8+ pasó de 1.2 el día de inicio del estudio a 1.8 al finalizar el mismo

Una observación interesante fue la relación existente entre los niveles de linfocitos CD4+ y la linfadenopatía.

Se observó que los animales con niveles elevados de CD4+ tras 90 días de tratamiento farmacológico/nutricional (animales con buena respuesta inmunitaria) presentaban una reducción más evidente en la linfadenopatía, comparado con

aquellos animales con niveles de CD4+ menos elevados al finalizar el estudio.

Así pues, la linfadenopatía podría ser un buen indicador de respuesta inmunitaria efectiva en los animales con Leishmaniasis. (Figura 7)

5. Conclusiones

Tras 90 días de adecuado tratamiento combinado farmacológico/nutricional, los animales alcanzaron una recuperación casi total.

- Se mejoró la respuesta inmunitaria, como se puede comprobar por el aumento de vit E, por la normalización de las poblaciones de linfocitos (aumento de CD4+/ disminución de CD8+) y por la normalización de los niveles de proteínas plasmáticas (disminución de proteínas totales y de gammaglobulinas y aumento de albúmina).

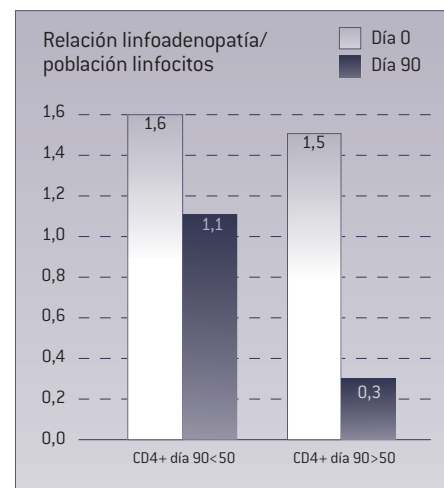


Figura 7

- Se mejoraron los parámetros hematológicos, desapareciendo casi por completo la anemia y trombocitopenia. Al final del estudio solamente 3/21 animales presentaban algún indicador de anemia, mientras que únicamente 1/21 animales presentaba trombocitopenia.

- Se mejoraron los síntomas clínicos de la mayoría de animales (linfadenopatía grave solamente en 2/21 animales; síntomas cutáneos graves ausentes en todos los animales; mejora del Índice de condición corporal (BCS), sobre todo en los animales con peso inferior al normal)

RECUPERACIÓN	Animales con valores anormales	% Normalización	
		30 Días	90 Días
Proteínas Totales	10	30 %	90 %
g-Glob	8	63 %	100 %
Albúmina	9	0 %	78 %
<hr/>			
RBC	12	42 %	83 %
Hct	11	36 %	90 %
Hb	10	20 %	80 %
Plaquetas	7	57 %	86 %
<hr/>			
Linfadenopatía	12	-	83 %
Dermatología	14	-	100 %
CRP	17	6 %	75 %
		32%	87 %

LECTURAS RECOMENDADAS

Ciamarella P, et al: A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by Leishmania infantum. Veterinary Record 1997; 22:539-543

Koutinas A, et al: Clinical Considerations on Canine Visceral Leishmaniasis in Greece: A retrospective Study of 158 Cases (1989-1996). J Am Anim Hosp Assoc 1999; 35:376-383