

Protocolo de manejo

Extracción de médula para el diagnóstico de *Leishmania infantum* en gatos ferales con método CES

Es habitual controlar las colonias felinas callejeras mediante captura, esterilización y suelta (CES). Entre las pruebas sanitarias realizadas a estos animales se recomienda incluir la detección de Leishmania, un parásito latente que puede brotar si la colonia sufre una enfermedad que comprometa el estado inmunitario de los animales.

**Sandra M.^a López Fernández¹,
Eugenia Carrillo Gallego²,
Encarnación Clavijo Frutos³,
Eduardo Martínez Manzanares³**

¹ Grupo de zoonosis, Unidad de Microbiología del Centro de Investigaciones Médico-Sanitarias (CIMES), Universidad de Málaga
² Unidad de *Leishmania* y Chagas, Instituto de Salud Carlos III
³ Microbiología, Universidad de Málaga

Es conocido que los gatos son más resistentes que los perros ante la infección por *Leishmania infantum*, y es raro que lleguen a desarrollar síntomas de enfermedad visceral. No obstante, estudios recientes han demostrado que el parásito puede quedar alejado en el organismo del animal y dar lugar a la aparición de síntomas tiempo después, sobre todo si el gato sufre procesos inmunodepresores como enfermedades retrovirales (Fel/FIV).

Los gestores municipales se han dado cuenta de que eliminar los gatos ferales no soluciona los problemas sanitarios ni de convivencia vecinal, ya que los animales eliminados son rápidamente sustituidos por otros nuevos, por lo que cada día es más habitual que los ayuntamientos y asociaciones protectoras de animales colaboren en establecer protocolos CES

Cada día es más habitual que los ayuntamientos y asociaciones protectoras de animales colaboren en establecer protocolos CES (captura-esterilización-suelta) mediante los que se esterilizan los miembros de una colonia y se aprovecha la captura para realizar pruebas sanitarias.

(captura-esterilización-suelta) mediante los que se esterilizan los miembros de una colonia y se aprovecha la captura para realizar pruebas sanitarias. En este sentido, es muy recomendable que dentro del *screening* realizado a estos gatos se incluya *Leishmania*, ya que se trata de un parásito latente que puede dar la cara si la colonia es afectada por alguna otra enfermedad que comprometa el estado inmunitario de los animales.

En el marco de un estudio epidemiológico llevado a cabo por la Universidad de Málaga en colaboración con el Instituto de Salud Carlos III se obtuvieron varias muestras para detectar la presencia de *Leishmania* en gatos ferales. El objetivo del estudio, llevado a cabo en 41 municipios de la provincia de Málaga desde 2015 y que se prolongará hasta 2020, es establecer el papel epidemiológico del gato en la leishmaniosis, así como llevar a cabo la caracterización

de la infección y la enfermedad en esta especie, un proyecto en el que está colaborando activamente Uranovet Laboratorios.

Seguridad en el manejo

La mejor forma de comprobar si los animales son portadores del parásito es realizar una prueba genética o PCR a partir de los órganos diana (médula, ganglio, bazo, piel). En un diagnóstico normal interesa saber dónde está el microorganismo pero, lamentablemente, los recursos para los programas CES son escasos y hay que priorizar. La muestra más fácil, fiable y segura en estos casos es la médula ósea.

La toma de muestras en los gatos silvestres procedentes de colonias urbanas y periurbanas no es sencilla, dado que los pacientes no suelen colaborar en el proceso. La contención física ha de hacerse con cuidado y, en caso de ser necesario, es preferible realizar una sumisión química desde el principio para manejar al animal, promover la seguridad de las personas actuantes en el proceso y evitar que los animales se autolesionen en el proceso.

Debido a la especial idiosincrasia de los sujetos de estudio, el proceso debe ser rápido, con poca o nula manipulación posterior al procedimiento, que debe ser aséptico y generar el menor estrés posible a los animales. Lo ideal es tener el proto-

colo estandarizado previamente, y personal adiestrado en su aplicación.

Antes de leer el protocolo, hay que tener en cuenta que está diseñado para realizarlo dentro de un sistema de control de colonias que se ha estado desarrollando a lo largo de tres años. No se trata de gatos domésticos con propietario, sino de felinos ferales de programas CES. En caso de felinos domésticos o mascotas se recomiendan otros procedimientos.

Disponemos de dos tipos de métodos: físicos y químicos.

Métodos físicos

Consisten en la utilización de jaulas de contención, guantes de contención, guantes antimordida, trasportines, bolsas de tela.

Métodos químicos

Los métodos químicos se basan en la administración de protocolos de sedación/anestesia. A lo largo de la mencionada investigación se realizaron varias combinaciones de fármacos: el cóctel de xilacina+ketamina+metadona es la mezcla idónea por la calidad de la anestesia, el precio, la duración y la recuperación.

Si la protectora tiene medios, se recomienda sustituir la xilacina por medetomidina, pero esto no siempre es posible ya que en estos casos los costes están calculados al céntimo.

Xilacina

La xilacina (1,1 a 2,2 mg/kg IM) actúa como estimulante de los receptores α -adrenérgicos del tejido neuronal; concretamente, logra deprimir el SNC estimulando presinápticamente los receptores α -adrenérgicos, tanto centrales como periféricos, lo que hace disminuir la norepinefrina,

así como el SN simpático, las catecolaminas y otros moduladores del estrés.

El efecto es una sedación, analgesia y relajación muscular dependiente de la dosis hasta un límite a partir del cual ya no aumentan los efectos, sino la duración. No es un anestésico para usar solo, ya que un estímulo suficientemente alto despertaría al animal: hay que combinarlo con otros fármacos.

Como efectos secundarios nos encontramos con que es hiperglucémico, eleva la tensión arterial y es emético (provoca náuseas y salivación en la mayoría de los gatos). Si la dosis es demasiado alta puede provocar bradipnea.

El traslado se debe realizar en trasportines cerrados y con poca luz para propiciar una relajación adecuada. La jaula de contención se abre directamente en la sala de quirófano.

Metadona

La xilacina se combina muy bien con metadona en dosis de 0,2 a 0,4 mg/kg/IM. Se trata de un agonista opioide reversible, de precio asequible y con demostrados efectos analgésicos. Como efectos adversos encontramos: bradicardia y bradipnea, emesis, hipertermia e hipovolemia.

Ketamina

La ketamina (5-10 mg/kg/IM) es un anestésico general no barbitúrico, que actúa rápido y tiene propiedades hipnó-



► ticas, catalépticas, sedantes y analgésicas características de la anestesia disociativa, resultado de la disociación entre los sistemas límbico y tálamo-mesocortical. Los ojos se quedan abiertos, hay reflejo tusígeno, corneal y deglutor.

En las hembras, una vez anestesiadas, se puede colocar un catéter y añadir una benzodiacepina (diazepam 0,1 a 0,2 mg/kg/IV), pero en la mayoría de los casos no es necesario.

Fases del protocolo

Captura

En el caso de animales ferales, la captura es realizada por personal cualificado y entrenado. Si el animal presenta un corte en la oreja, señal de que ya ha sido controlado previamente, se suelta de inmediato.

El cóctel de xylacina + ketamina + metadona es la mezcla idónea en relación a calidad de anestesia, precio, duración y recuperación.

Traslado

El traslado se debe realizar en trasportines cerrados y con poca luz para propiciar una relajación adecuada. La jaula de contención se abre directamente en la sala de quirófono. Se realiza una primera inspección visual y, si es favorable, se procede a la intervención.

A continuación se inyecta la combinación de fármacos reseñada. Una vez dormido el animal, se procede al rasurado del campo quirúrgico y de las zonas de extracción y, a continuación, a la limpieza y desinfección.

Esterilización

El paciente se traslada al quirófono y se procede a la esterilización.

En este estudio (que aún continúa), las esterilizaciones de machos se han realizado en decúbito esternal, con orquiectomía abierta escrotal, anudando

el cordón sobre sí mismo de forma que se realiza la hemostasia sin necesidad de usar suturas.

En el caso de las hembras, la mayoría se realizaron en decúbito supino por incisión periumbilical, ligadura de tejido preovario, cuello del útero y cierre en tres capas. Al final del estudio se comenzó a realizar la ovariectomía por el lateral izquierdo, con la misma técnica, sin que encontraran diferencias significativas entre ambas técnicas.

Si el proceso discurre sin problemas, una vez cerrado el animal se procede a la extracción de las muestras.

Toma de muestras para la detección de *L. infantum* Sangre venosa

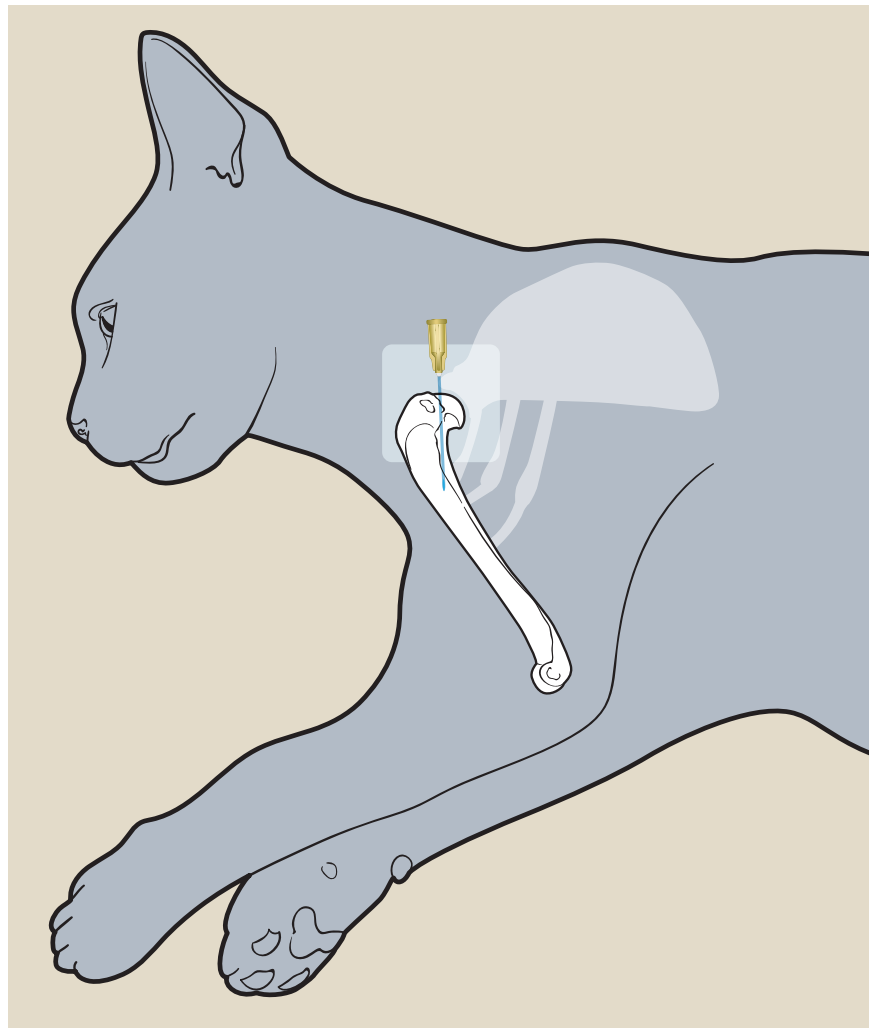
La sangre se extrae de la vena cefálica o de la yugular. La elección de la aguja se hará en función del tamaño del animal, y teniendo en cuenta que las agujas con un calibre menor de 22G (0,9 mm) provocan hemólisis y pueden afectar a algunas pruebas por lo que, si las venas de los miembros son demasiado pequeñas para usar una de 20G o superior, es preferible realizar la extracción en la yugular.

Médula ósea

Se coloca al gato en decúbito lateral (ver figura) y se esteriliza la zona previamente rasurada, se dispone un campo estéril y se manipula la zona para localizar el punto de extracción. Según el tamaño del animal, las zonas de extracción son el ángulo costocondral (a partir de 4 kg) de las costillas o la cabeza del húmero.

Se debe introducir una aguja de 20G a 17G. Las agujas de punción ósea Jamshidi son bastante caras, pero las normales tienden a doblarse en la punta o a obstruirse con el tejido óseo denso de la corteza del hueso. La punción de costilla debe realizarse desde el ángulo costocondral en dirección ascendente, entrando por el tejido cartilaginoso hacia la sustancia esponjosa.

Si se usa aguja sin fiador, esta puede atascarse con cartilago o hueso: se extrae y se cambia por una nueva, entrando por el orificio ya hecho por la aguja anterior.



Según el tamaño del animal, las zonas de extracción son el ángulo costocondral (a partir de 4 kg) de las costillas o la cabeza del húmero.

Se usa una jeringuilla de 10 cc, ya que la presión negativa facilita la salida de la médula, que es más lenta que la sangre venosa. Un par de gotas es más que suficiente para realizar una PCR pero, por seguridad, es aconsejable tomar al menos 200 microlitros de médula.

Resultados

Los resultados obtenidos en este estudio hasta la fecha fueron dados a conocer en el Congreso Internacional de *Leishmania* de Caparica en octubre de 2018 y han mostrado una seroprevalencia del 24 % por inmunocromatografía indirecta, del 50 % por técnica ELISA y del 15,8 % mediante IFI, lo que indica que hay que seguir realizando ensayos para depurar las técnicas diagnósticas.

En cuanto a la PCR, se detectó ADN de *L. infantum* en al menos un órgano en el 35 % de los animales testados (120 hasta la fecha), y la médula dio positivo en el 15 % de los casos. La calidad de las muestras de médula obtenidas con esta técnica fue muy buena y se consiguió suficiente tejido como para crear un biobanco disponible para futuros estudios que se lleven a cabo tanto en la Universidad de Málaga como en El ISCIII.

De los dos casos en que la serología, la PCR y la clínica confirmaban la infección y la enfermedad, solo uno fue positivo en infección retroviral. No obstante, sí se detectó que el 3 % de los gatos con ADN de *L. infantum* en médula eran positivos a FIV y dos de ellos a FeLeu, mientras que los que presentaban parásitos en bazo en raras ocasiones estaban infectados por retrovirus.

Como conclusión, cabe destacar que, de ser posible, hay que confirmar la presencia de *L. infantum* en los gatos ferales. No obstante, extrapolando los resultados obtenidos, es muy aconsejable, en gatos con infecciones retrovirales, comprobar la presencia del parásito para poder actuar a tiempo en caso de desarrollarse la enfermedad. Dado que las técnicas inmunológicas aún no están bien desarrolladas, es aconsejable realizar una PCR

Protocolo de sedación/anestesia

Para llevar a cabo la sedación/anestesia se deben combinar los siguientes fármacos:

- Xilacina de 1,1 a 2,2 mg/kg/IM o, si es posible, medetomidina (si hay presupuesto, es mejor opción) de 0,002 a 0,01 mg/kg/IM.
- Metadona: 0,2 a 0,4 mg/kg/IM.
- Ketamina: gatos 5-10 mg/kg/IM (50 % animales dóciles).
- En hembras se puede añadir diazepam 0,1 a 0,2 mg/kg/IV.

de médula mediante la técnica indicada en este artículo.

Tras analizar las muestras de suero por técnicas de IFI, ELISA e inmunocromatografía indirecta, hemos llegado a la conclusión de que la seroconversión en gatos se produce cuando la enfermedad está ya muy avanzada. Esto dificulta mucho el tratamiento, por lo que sería mejor si la enfermedad se detecta en etapas más tempranas. Por ello, nuestra recomendación es realizar el diagnóstico en función de la PCR de médula, junto a hemograma, bioquímica, proteinograma y la clínica, es decir, los síntomas y la demostración de la presencia del parásito. Con este conjunto de pruebas podemos acertar en el diagnóstico mucho antes de que las técnicas inmunológicas sean fiables, y aplicar el tratamiento cuando la enfermedad está en sus primeros estadios.

En concreto, nuestra recomendación es realizar la analítica primero, según los síntomas y si hay sospecha, entonces realizar la punción, que con esta técnica es sencilla, barata y de bajo riesgo para el animal.

Es también muy importante no paramos en el diagnóstico de FeL/FIV, puesto que a lo largo de esta investigación hemos descubierto que muchos síntomas de ambas enfermedades coinciden con la leishmaniosis visceral activa en felinos, por lo que todo gato con estas enfermedades retrovirales serían candidatos a realizar control genético de leishmaniosis. □

