

Frecuencia de microorganismos bacterianos aislados de pacientes caninos con diarrea que acuden al Hospital Veterinario “Prof. Dr. José Vicente Núñez” de la Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Asunción en el año 2018

Frequency of bacterial microorganisms isolated from canine patients with diarrhea that came to the “Prof. Dr. José Vicente Núñez” Veterinary Hospital at the School of Veterinary Sciences – National University of Asunción in 2018

Fernández Riquelme L¹, Ayala V², Torres C³, Tomassi M⁴, Bresanovich R⁴, Giménez G⁵

¹Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias – Cátedra de Farmacología y Toxicología – San Lorenzo – Paraguay

²Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias – Dirección Académico – San Lorenzo – Paraguay

³Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias – Departamento de Microbiología e Inmunología, Cátedras de Microbiología e Inmunología y de Enfermedades Infecciosas y Contagiosas – San Lorenzo – Paraguay

⁴Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias – Departamento de Patología y Clínica – San Lorenzo – Paraguay

⁵Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias – Departamento de Patología y Clínica – División de Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de los Animales Domésticos

RESUMEN. En el Hospital Veterinario “Prof. Dr. José Vicente Núñez” de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, ubicado en la Ciudad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay, fue llevado a cabo el trabajo de investigación con el objetivo de determinar la frecuencia de microorganismos bacterianos aislados de pacientes caninos con diarrea que acuden a dicho Hospital Veterinario en el año 2018. Para el estudio fueron incluidos 26 animales de la especie canina con sintomatología clínica de diarrea. Los resultados revelaron que del total de 26 caninos muestreados (100%), 23 (88%) de las muestras, resultaron positivas al cultivo bacteriano. De estas 23 muestras se obtuvo 28 aislamientos, 18 fueron cultivos puros y 5 cultivos mixtos. De los 28 aislamientos, 23 (82%) fue *Escherichia coli*, en 3 (11%) se identificó *Campylobacter* spp., y en los últimos 2 (7%) se identificó *Salmonella* spp.

Palabras Claves: Caninos, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., Diarrea, Enterobacterias.

ABSTRACT. In the “Prof. Dr. José Vicente Núñez” Veterinary Hospital at the School of Veterinary Sciences of the National University of Asunción, located in the City of San Lorenzo, Central Department, Republic of Paraguay, the research work was carried out in order to determine the frequency of bacterial microorganisms isolated from canine patients with diarrhea that came to the Veterinary Hospital in 2018. The study included 26 animals of the canine species with clinical symptoms of diarrhea. The results revealed that out of all 26 dogs sampled (100%), 23 (88%) of the samples were positive for the bacterial culture. Of these 23 samples, 28 isolations were obtained, 18 were pure cultures and 5 were mixed cultures. Of the 28 isolations, 23 (82%) were *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp. was identified in 3 (11%), and in the last 2 (7%) *Salmonella* spp.

Keywords: Canines, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., Diarrhea, Enterobacteriaceae.

doi: 10.18004/compend.cienc.vet.2020.10.01.07

Dirección para correspondencia: Dra. Lourdes Fernández Riquelme - Cátedra de Farmacología y Toxicología – Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Asunción - Casilla de Correo N° 1061 - Ruta Mcal. Estigarribia Km 10,5 - Campus Universitario - San Lorenzo - Paraguay

E-mail: lfernandez@vet.una.py

Recibido: 28 de mayo de 2020 / **Aceptado:** 21 de junio de 2020

INTRODUCCIÓN

La diarrea, definida como la emisión de heces blandas o líquidas en mayor frecuencia, es uno de los motivos de consulta más frecuentes en la medicina veterinaria. No existen datos fiables en el Paraguay sobre la incidencia total de diarrea en el perro, pero en un estudio retrospectivo en Chile, se demostró que la patología gastrointestinal ocupaba el segundo lugar en motivo de consulta (1,2).

La enteritis en perros es causada por una variedad de virus, bacterias y protozoos. Las principales bacterias causantes de diarrea son *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. (especialmente *C. jejuni*), *Clostridium* spp. y varias cepas de *Escherichia coli* enteropatógenas incluidas las cepas enterotoxigénicas ETEC que son los agentes causantes de la "diarrea del viajero". Se concluye que la enteritis en perros es causada principalmente por *E. coli* y *Salmonella* spp (3,4).

Las bacterias enteropatógenas se clasifican como invasoras, productoras de diarrea por invasión y daño del epitelio intestinal, o enterotoxigénicas, inductoras de diarrea y elaboración de enterotoxinas diarreogénicas (5).

Las bacterias invasoras (*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Shigella* spp., y cepas invasoras de *E. coli*) invaden primariamente la mucosa del colon e intestino delgado distal. La disrupción de la barrera mucosa conduce a inflamación, exudación secreción de moco y sangrado. Los microbios invasores originan enterocolitis aguda caracterizada por diarrea mucoide sanguinolenta, leucocito-positiva que está acompañada, con frecuencia, por dolor abdominal, tenesmo y fiebre. Asimismo, algunos organismos invasores pueden invadir la submucosa e ingresar en los vasos linfáticos y corriente sanguínea, generando infección sistémica (bacteriemia) e intestinal (5,6).

Algunos organismos considerados primariamente invasores, como *Salmonella* spp., también pueden estimular la hipersecreción concomitante mediante la liberación de enterotoxina e incremento de la síntesis local de prostaglandina en el foco inflamatorio. Algunas especies de estafilococos elaboran enterotoxinas mientras proliferan en alimentos contaminados y, cuando esta toxina preformada es ingerida, se desarrolla la diarrea secretoria debida a envenenamiento alimentario estafilococócico (6).

Si bien la importancia clínica de las diferentes bacterias enteropatógenas todavía no fue definida por completo en la diarrea canina y felina, los perros y gatos albergan muchos enteropatógenos potenciales incluidos *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Shigella* spp., *E. coli* enteropatógena, *Clostridium* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* enteropatógeno y *Bacillus piliformis*. Como algunos también son patógenos en humanos (en particular *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., y *Yersinia* spp.), las mascotas pueden ser un reservorio importante para la infección en personas (7,8).

Las enfermedades gastrointestinales infecciosas afectan al hombre y a los animales en todo el mundo. Ciertos agentes etiológicos (por ejemplo, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Yersinia* enterocolitica, *Cryptosporidia*, *Strongyloides stercoralis*, *Echinococcus granulosus*) son los que más potencial tienen para ser transmitidos desde los animales de compañías a los seres humanos, causando una enfermedad grave en este último.

La diarrea es la causa más común de muertes en los países en desarrollo. Cada año se notifican 12 millones de muertes infantiles y 5 millones de casos relacionados con enfermedades diarreicas según los documentos de la organización mundial de la salud. La diarrea infecciosa puede ser causada por muchos patógenos, pero *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia* enterocolitica son los agentes bacterianos más importantes (9).

Se ha estimado que la población de perros y gatos solamente, supera los 127 millones en los países de la Unión Europea.

Las zoonosis bacterianas asociadas a las mascotas representan un área relativamente descuidada en comparación con las zoonosis transmitidas por los alimentos (10).

Sin embargo, el contacto cercano entre las mascotas domésticas y las personas ofrece condiciones favorables para la transmisión por contacto directo (por ejemplo, caricias, lamidas o lesiones físicas) o indirectamente a través de la contaminación de alimentos y el medio ambiente que comparten. De hecho, se ha demostrado el intercambio frecuente de microbiota de la piel entre las personas y sus perros, enfatizando el rol del contacto (11).

Las zoonosis son una preocupación mayor

para los niños, personas mayores, mujeres embarazadas o las personas inmunodeprimidas, y por lo tanto particularmente susceptibles a infecciones (11).

Además, los niños pequeños pueden estar más expuestos a bacterias provenientes de mascotas domésticas debido a estándares de higiene más bajos y un contacto físico más cercano con estos animales y el entorno doméstico (por ejemplo, pisos y alfombras) (11).

El propósito del presente trabajo fue identificar los agentes bacterianos que se aíslan con más frecuencia de la materia fecal de caninos que cursan con alguna enfermedad intestinal y cuyo signo clínico más relevante es la diarrea. La importancia de realizar los aislamientos correspondientes, se basa en que los animales son reservorios de potenciales agentes patógenos para el ser humano, y hoy en día los animales de compañía sobre todo los perros van ganando mayor aceptación en las familias convirtiéndose en un miembro más de ella.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en el año 2018 durante el mes de junio y julio en el Hospital Veterinario "Prof. Dr. José Vicente Núñez" y en el laboratorio del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, ambos situados en el Campus Universitario de la Ciudad de San Lorenzo, Km 10,5 Ruta Mariscal Estigarribia, Departamento Central, Región Oriental de la República del Paraguay.

Fueron muestreados un total de veintiséis (26) pacientes caninos sin distinción de raza, sexo ni edad, que acudieron a dicho hospital con hallazgo clínico de diarrea cuyos propietarios permitieron que sus mascotas participen del estudio y que no fueron tratados con antibióticos previamente.

Primeramente, se realizó la exploración del animal, consistente en: reseña, anamnesis, historia clínica y examen físico. A continuación, se procedió a la toma de muestra, teniendo en cuenta todas las medidas de bioseguridad. Con el animal de pie en lo posible y con buena iluminación, se tomó la muestra mediante la técnica de hisopado rectal, el cual consistió en la introducción del hisopo estéril en el recto, sobrepasando el esfínter anal, se giró

suavemente buscando que el material esté en contacto con la mucosa anal, luego se retiró y se depositó en el medio de transporte Stuart, cuidando de que el material quede 2 cm por debajo de la superficie y sin perforar el fondo del medio de transporte. Luego se identificó apropiadamente el tubo y se almacenó en conservadores con hielo hasta su posterior envío al laboratorio para su cultivo inmediato.

Una vez recepcionadas las muestras en el laboratorio se inició el trabajo, para el cual todas las muestras fueron procesadas por el método de cultivo bacteriano en medios sólidos, respetando ciertos protocolos de aislamientos según los géneros bacterianos que se pretendía identificar.

Para el aislamiento de las enterobacterias, los coliformes y *Escherichia coli*, las muestras se cultivaron en Agar Mac Conkey y fueron incubadas a 37° C durante 18 - 24 horas, a las colonias resultantes se les realizó las pruebas bioquímicas confirmatorias (TSI, SIM, Citrato, LIA, Urea). Mientras que para el cultivo y aislamiento de *Campylobacter* spp., las muestras fueron sembradas en agar selectivo Skirrow modificado e incubadas en microaerofilia a 42°C por 48 horas. La identificación se realizó de acuerdo a las características microscópicas, pruebas bioquímicas y confirmación molecular según el Manual de Procedimiento de WHO Global Salm Surv (12) de Farace y cols. Para el cultivo y aislamiento de *Salmonella* spp., se realizó un pre-enriquecimiento a la muestra, se le agregó agua peptonada bufferada (10%) y se dejó incubar durante 18 - 24hs., del paso anterior se depositó 0,5 mL del caldo en 9 mL de caldo tetratonato y se volvió a incubar durante 18 - 24 hs., de éste último se utilizó 10 µL y se realizó el cultivo en el medio específico que fue Agar Salmonella-Shigella y se incubó durante 18 - 24 hs. A las colonias sospechosas se les realizó las pruebas bioquímicas TSI y LIA y luego de 18 - 24 hs. Se realizó la lectura. Cabe destacar que los aislamientos de *Campylobacter* spp. fueron confirmados por PCR convencional. (12)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las veintiséis (26) muestras de materia fecal de caninos con sintomatología clínica de diarrea, se observó, que el 88% (23/26) de las muestras resultaron ser positivas al crecimiento bacteriano, mientras que el 12% (3/26) fueron negativas. (Gráfico 1)

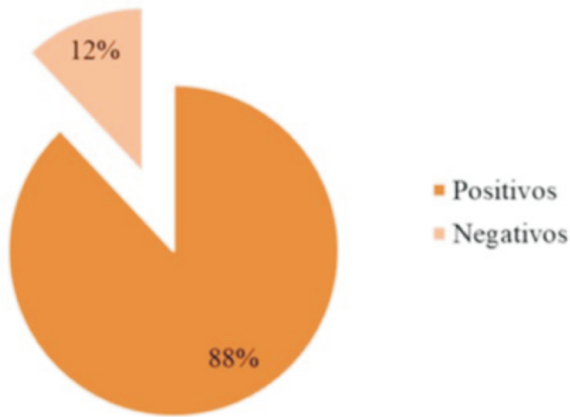


Gráfico 1. Muestras positivas y negativas en el cultivo y aislamiento en materia fecal de caninos hallados en el Hospital Veterinario “Prof. Dr. José Vicente Núñez” en el año 2018.

De las veintitrés (23) muestras positivas a crecimiento bacteriano, se obtuvo un total de veintiocho (28) aislamientos, de los cuales 78% (18/23), fueron cultivos puros (presentaron un solo aislamiento bacteriano) y 22% (5/23) fueron cultivos mixtos (presentaron 2 aislamientos bacterianos) (Gráfico 2).

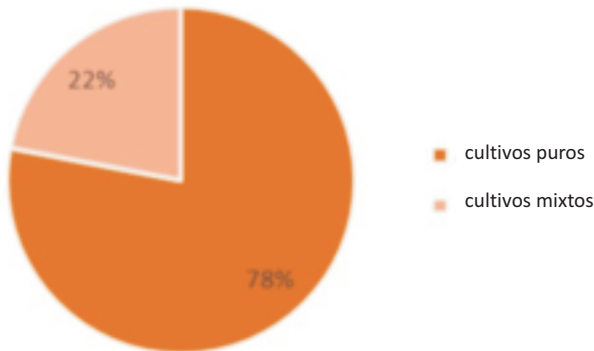


Gráfico 2. Tipos de Cultivos procesados en laboratorio del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, en el año 2018.

Resultados similares se encontraron en un estudio realizado por Barreda (2017), donde de 25 muestras de hisopados rectales procesadas en el medio selectivo MacConkey, se encontró un 52% de cultivos puros (n=13), un 8% de cultivos mixtos (n=2) y un 40% de cultivos sin crecimiento (13).

De las 23 muestras que presentaron crecimiento en la totalidad de ellas se aisló *E. coli*, y concomitante se aisló en 3 de las mismas *Campylobacter spp.*, y en otras 2 *Salmonella spp.* Siendo así que, de los 28 aislamientos, 82 % (23/28) resultaron *Escherichia coli*; 11%(3/28) aislamientos correspondieron a *Campylobacter spp.*, y 7% (2/28) aislamientos correspondió a *Salmonella spp* (Gráfico 3).

Aislamientos bacterianos.

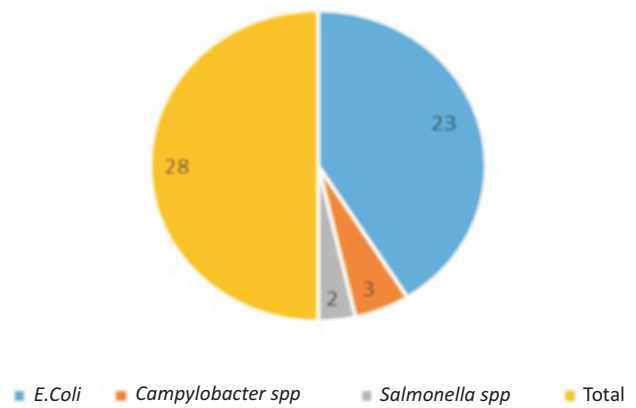


Gráfico 3. Aislamientos de los microorganismos bacterianos hallados.

Los resultados hallados sobre el aislamiento de *E. coli* no se asemejan a los obtenidos en otros estudios realizados; Hammermueller et al. (1994), identificó *E. coli* en 20 de 45 muestras de caninos con diarrea, que equivale a 44.4%; y Morcatti et al. (2018), identificó *E. coli* en 21 de 92 muestras de caninos con diarrea (23%). Estas discrepancias se podrían deber a que, en estos estudios, no solo se buscaron aislar el microorganismo, si no también identificar los genes para enterotoxinas y verotoxinas, a través de diagnósticos moleculares, que son muy diferentes a los realizados en este estudio, puesto que la *E. coli* forma parte de la microflora normal del perro, y es difícil determinar si es patógena o no con solo aislarla (14,15,16).

En cuanto al aislamiento de *Campylobacter spp.*, el resultado encontrado no es igual al encontrado por Manzanillas (2012), quién analizó 43 muestras de pacientes caninos con diarrea, sospechosos de parecer infectados por *Campylobacter spp.*, en donde 26 muestras correspondientes al 65.12 % dieron positivas al cultivo de *Campylobacter spp.* Esta desigualdad se puede decir que se debe a que el tamaño muestral y la prolongación del trabajo fue mayor para este último (17).

En cuanto a la edad de los animales se categorizó en 3 categorías: cachorros (<10 meses), adulto (11 meses – 7 años) y geronte (> 7 años) se obtuvo de esta manera crecimiento de *E. coli* en las 3 categorías, mientras que para el crecimiento de *Campylobacter spp.*, y *Salmonella spp.*, se observó en la categoría de cachorros

Los hallazgos de *Salmonella* spp., y *Campylobacter* spp., se podrían deber a: al hábito de los cachorros de morder y explorar las cosas con su boca, la condición del sistema inmunológico que lo hace más predispuesto a enfermedades infectocontagiosas y los alimentos a su alcance en posible estado de descomposición. Teniendo en cuenta que las muestras que dieron positivas al crecimiento de *Salmonella* spp., y *Campylobacter* spp., provienen de animales que se encuentran dentro de un rango etario menor o igual a 6 meses de edad (18,19).

CONCLUSIÓN

De las 23 muestras que presentaron crecimiento en la totalidad de ellas se aisló *E. coli*, y simultáneamente se aisló en 3 de las mismas *Campylobacter* spp., y en otras 2 *Salmonella* spp. Siendo así que, de los 28 aislamientos, 82 % (23/28) resultaron *Escherichia coli*; concomitantemente 11%(3/28) de los aislamientos correspondieron a *Campylobacter* spp., y 7% (2/28) de los aislamientos correspondió a *Salmonella* spp.

En cuanto a los pacientes caninos que resultaron positivos a cultivo bacteriano, se puede mencionar que en lo que respecta a los aislamientos de *Escherichia coli*, es necesario complementarlos con otras técnicas como las de biología molecular para demostrar la presencia de cepas patógenas y así poder relacionar con la clínica.

En las muestras en donde se aisló tanto *Campylobacter* spp., como *Salmonella* spp., se constató que corresponde al rango etario perteneciente a la de cachorros (<10 meses), el cual está relacionado con la baja inmunidad orgánica, siendo muy susceptibles a contraer enfermedades infecciosas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Burrows C. Consideraciones diagnósticas sobre la diarrea crónica en el perro y en el gato. AVEPA. 1988; 8 (2): 61 – 69.
2. Agüero A. Estudio epidemiológico retrospectivo de las principales patologías en caninos y felinos y de variables administrativas: hospital clínico veterinario. [monografía en Internet] *. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2006. [acceso 15 de marzo 2018]. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130981>
3. Kang G, Hart C, Shears P. Manson's tropical diseases. 23a ed. Bacterial enteropathogens. China: Elsevier; 2014.
4. Rabbani M, Ahmad M, Ali M, Nawaz M, Kamram M, Khan H. Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in dogs suffering from enteritis. J. Anim. Plant Sci. 2016; 26(1): 13 – 16.
5. Anderson N, Sherding R, Merritt A, Whitlock R. Gastroenterología veterinaria. 2ª ed. Buenos Aires: Inter-Médica. 1999.
6. Ettinger S, Feldman E. Tratado de medicina interna veterinaria: enfermedades del perro y el gato. 6a ed. Madrid: Elsevier. 2007.
7. González J. Relación de las patologías caninas más frecuentes que se presentan en la clínica de pequeños animales en la zona noroeste de la Comunidad de Madrid, con las variables edad, raza, sexo y tamaño. [monografía en Internet] *. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2015 [acceso 25 de marzo 2018]. Disponible en <https://eprints.ucm.es/33266/>
8. Greene C. Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 3a ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 2008.
9. Hashemi S, Mahzounieh M, Ghorbani M. Detection of *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. in apparently healthy cats and dogs in Tehran, Iran. BJM. 2016; 4(16): 49 – 54.
10. Marks S, Rankin S, Byrne B, Weese J. 2011. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. ACVIM. 2011; 25(6): 1195 – 1208.
11. Damborg P, Broens E, Chomel B, Guenther S, Pasmans F, Wagenaar J, Weese J, Wieler L, Windahk U, Guardabassi L. Bacterial zoonoses transmitted by household pets: state-of-the-art and future perspectives for targeted research and policy actions. Comp Clin Path. 2016; 155(1): 27 – 29.
12. Barreda, B. Clostridium difficile y otros patógenos zoonóticos en animales de compañía. [monografía en Internet] *. Barcelona: Universidad Autónomas de Barcelona [acceso 20 de marzo 2018]. Disponible en https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2017/hdl_2072_304789/TFM_bbarredaprades.pdf
13. Hammermueller J, Kruth S, Prescott J, Gyles C. Detection of toxin genes in *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. CVMA. 1994; 59(4): 265-270.
14. Morcatti F, Diniz A, Oliveira C, Pereira A, Faria F, Heinemann M, Silveira R. 2018. Detection of virulence genes and the phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from dogs in Brazil. Cienc. Rural. 2018; 48 (2) 1 - 6
15. Duijvestijn M, Mughini-Gras L, Schuurman N, Schijf W, Wagenaar J, Egberink H. Enteropathogen infections in canine puppies: (co) occurrence, clinical, relevance and risk factors. Vet. Microbio. 2016; 195(1): 115 - 122.

16. Wolff A, Henderson N, McCallum G. Salmonella from dogs and the possible relationship to salmonellosis in man. Am J Public Health (Barcelona). 1948; 38(3): 403-408.

17. Manzanilla L. Determinación de la presencia de *Campylobacter* sp. en perros con sintomatología clínica de diarrea en las clínicas veterinarias de la ciudad de Loja y el hospital docente veterinario de la UNL. [monografía en Internet] *. Loja: Universidad Nacional de Loja; 2012 [acceso 08 de agosto 2018]. Disponible en <http://dspace.unl.edu.ec:9001/jspui/bitstream/123456789/5397/1/Tesis%20Campylobacter.pdf>

18. Nelson R, Couto C. Medicina interna en pequeños animales. 2ª ed. Buenos Aires: Inter-médica; 2010