

## Prototecosis sistémica en un canino. Descripción patológica de un caso

A. BERROCAL<sup>1</sup>, D.V.M., Dipl. N.C.V.P.; J. RODRIGUEZ<sup>2</sup>, M. Sc.; A. VALVERDE<sup>3</sup>, D.V.M., D.V.S.C.

<sup>1</sup>Departamento de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. <sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica. <sup>3</sup>Hospital Veterinario La Uruca, San José, Costa Rica.

### SUMMARY

#### Systemic protothecosis in a dog: pathological description of a case

A case of systemic protothecosis in a dog is reported. The diagnosis was based on the morphological aspects as well as the ultrastructural features of the microorganism under a light microscope. The patient was a 9 year-old, female Poodle, which initially presented torticollis and a presumptive diagnosis of left external otitis. The dog was referred to the University Hospital, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. On physical examination the animal presented horizontal nistagmos, left side torticollis, proprioceptive deficit of the front right limb and blindness. The dog died two days after admission. On macroscopic examination, the heart, kidneys and liver presented white yellow areas up to 1.0 cm in diameter with clear borders. Microscopically, the areas consisted of necrosis with moderate inflammatory reaction, predominantly with histiocytes and plasma-cells. Pleomorphic microorganisms (which stained positively with P.A.S. and Grocott) were observed in the necrotic areas and were identified as *Prototheca* sp. The diagnosis was corroborated by electron microscopy.

*Palabras claves:* canino, prototecosis, sistémico.

*Key words:* canine, protothecosis, systemic.

### INTRODUCCION

La prototecosis es una enfermedad poco frecuente, causada por algas aclóricas, las que, morfológicamente, son microorganismos unicelulares parecidos a las algas verdes del género *Chlorella* sp. (Tyler y col., 1980; Migaki y col., 1982; Cook y col., 1984; Green, 1990; Taniyama y col., 1994; Blogg y col., 1995). De hecho, son consideradas como mutantes de las clorelas. Viven en el medio ambiente y son aisladas de muchos lugares, particularmente de abrevaderos y aguas de poca circulación (Thomas y col., 1990). Se reproducen por endosporulación, como consecuencia de una división nuclear y la posterior división citoplasmática que dan como resultado de 2 a 20

o más endosporas (Greene, 1990; Blogg y col., 1995).

El género *Prototheca* incluye tres especies: *P. zopfii* y *P. wickerhamii*, conocidas como patógenas, y la *P. stagnora*, usualmente no asociada con patologías (Migaki y col., 1982; Greene, 1990). De éstas, la *P. wickerhamii* se ha observado principalmente en humanos, mientras que la *P. zopfii* es relevante en medicina veterinaria (Huerre y col., 1993). Tradicionalmente, la diferenciación entre las especies se ha realizado por medio de cultivos o por la técnica de anticuerpos fluorescentes (Green, 1990). También, la microscopía electrónica se ha utilizado en la identificación de estos microorganismos (Tyler y col., 1980; Chevillie y col., 1984). Recientemente, Taniyama y col. (1994) introdujeron la técnica de inmunohistoquímica, con tejidos fijados en parafina para la diferenciación específica de las diferentes especies.

La prototecosis ha sido reportada en humanos principalmente como lesiones cutáneas (Huerre y col., 1993). En la actualidad se han encontrado casos de prototecosis en pacientes portadores del virus de inmunodeficiencia (HIV) (Laeng y col., 1994; Woolrich y col., 1994). También ha sido reportada en animales; en especies menores, la forma más frecuente es la sistémica (Cook y col., 1984; Taniyama y col., 1994), mientras que en las especies domésticas, como perros, gatos, bovinos, y en animales salvajes, se han descrito tanto la forma cutánea como la sistémica, de las cuales la última ha sido la mayormente reportada (Tyler y col., 1980; Migaki y col., 1982; Cook y col., 1984; Green, 1990; Taniyama y col., 1994).

El primer reporte de prototecosis canina fue en 1969 (Povey y col., citado por Blogg y col., 1995); posteriormente, la enfermedad se ha reportado en Africa, Australia, Gran Bretaña y los Estados Unidos de Norteamérica (Tyler y col., 1980; Cook y col., 1984), donde la forma sistémica ha sido la presentación más frecuente, que ha afectado, principalmente, el hígado, el corazón, los riñones, los ojos, los linfonodos y el cerebro (Tyler y col., 1980; Migaki y col., 1982; Merideth y col., 1984; Cook y col., 1984; Thomas y col., 1990). Además, se han reportado colitis hemorrágicas crónicas (Thomas y col., 1990; Blogg y col., 1995) provocadas por estos microorganismos.

Los signos clínicos mayormente mencionados en caninos son: diarrea sanguinolenta, pérdida de peso, debilidad general, lesiones oculares múltiples, incluso con ceguera (Tyler y col., 1980; Cook y col., 1984; Greene, 1990). Esta sintomatología varía de acuerdo con los órganos afectados y la severidad de la lesión provocada.

En este artículo se presenta y discute un caso de prototecosis sistémica en un canino, con compromiso renal, cardíaco, pulmonar y nervioso. En una revisión de la literatura (Medline) de los últimos seis años no se halló ningún reporte de prototecosis publicado en español.

## RESULTADOS Y DISCUSION

**HISTORIA Y HALLAZGOS CLINICOS.** Se trata de un canino hembra, raza Poodle, de nueve años de edad, operado de cataratas del ojo derecho en fecha no determinada. Tiempo después de esta intervención quirúrgica, el animal manifestó otitis

del oído izquierdo y, posteriormente, tortícolis. Con este historial clínico, el animal es remitido a la Clínica de Especies Menores de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Al ingreso, la paciente presentaba una temperatura de 38.7°, un pulso de 160, una frecuencia cardíaca de 160 y se notaba deprimida. Al examen físico, mostraba nistagmos horizontal, tortícolis del lado izquierdo, déficit propioceptivo del miembro anterior derecho; se rehusaba a la posturación del lado derecho y, además, mostraba ceguera. El estudio de los pares nerviosos dio el siguiente resultado: oculomotor +, óptico +, trigémino +++, vestibulococlear +, fascial +++, hipogloso +++, vago +++, glossofaríngeo +++. El día posterior a su internamiento, se le realizó un hemograma con el siguiente resultado: hematocrito 55%, hemoglobina 19.1 g/dl, C.H.C.M. 35 g/dl, leucocitos 18.350 ul; la fórmula diferencial presentó en banda 4%, segmentados 90% y linfocitos 6%. Ese día fue tratada con Ampicilina<sup>1</sup> 100 mg I.M., Trimetropin-sulfa<sup>2</sup> 60 mg I.M y Dexametasona<sup>3</sup> 1 mg I.V. El siguiente día se extrajo 1.5 cc de líquido cefalorraquídeo y se remitió 1.0 cc para el análisis químico, con el siguiente resultado: aspecto: turbio y xantocrómico; ph: 8; proteínas totales: 27 mg/dl; glucosa: 100 mg/dl; eritrocitos: 30/mm<sup>3</sup>. El restante 0.5 cc se envió para cultivo bacteriológico, el cual resultó negativo por bacterias. El animal murió ese mismo día.

### DATOS DE LA NECROPSIA

**Hallazgos macroscópicos.** Se realizó una necropsia completa. Todas las lesiones fueron sistemáticamente anotadas en el protocolo; las principales fueron las siguientes: la grasa abdominal mostró una zona de necrosis; el hígado presentó un área de 5.0 a 6.0 cm de diámetro cerca de la vesícula biliar, de un color amarillento; el estómago, sin contenido alimenticio; la mucosa de la región fúndica mostró enrojecimiento; el contenido del intestino, especialmente el delgado, era de color amarillento y poseía tenias

<sup>1</sup> Ampicilina®, Phenix, Pharmaceutical, Belgium.

<sup>2</sup> Trimetropim-sulfa®, Phenix, Pharmaceutical, Belgium.

<sup>3</sup> Dexametasona®, Alcames Laboratorios Químicos de C.A.S.A., Costa Rica.



**Foto 1.** Ambos riñones muestran zonas bien delimitadas de color blanco, con una distribución multifocal, las cuales microscópicamente correspondían a necrosis provocada por protothecas.

Both kidneys present well delimited areas of white color, with a multifocal aspect, which microscopically was necrosis due to protothecas.

(*Diphilidum* sp.). Ambos riñones presentaron, en forma multifocal, áreas de hasta 1.0 cm de diámetro, bien delimitadas, de color blanco-amarillento (foto 1); estas áreas fueron observadas tanto en la zona cortical como en la medular; en el bazo, en la región apical, se evidenció una zona de 3.0 cm de diámetro, de color oscuro, parecida a un infarto hemorrágico. El páncreas no mostró alteraciones. El corazón, especialmente el miocardio del lado izquierdo, presentó una distribución y coloración de áreas parecida a la renal (foto 2); el pulmón era edematoso. El oído izquierdo externo e, incluso, el interno tenían un contenido untuoso. El encéfalo no evidenció alteraciones.

Muestras de hígado, corazón, cerebro y riñón, así como un isopado del oído izquierdo, fueron remitidos al Laboratorio de Bacteriología. También, muestras de pulmón, corazón, bazo, hígado, intestino, páncreas, cerebro (completo), riñones y oído izquierdo fueron fijados en formalina bufferada al 10% para el posterior estudio histopatológico.

Los tejidos fijados en formalina fueron tallados y procesados de acuerdo con las técnicas histopatológicas rutinarias, y fueron teñidas con hematoxilina y eosina (H. y E.). Además, se em-

plearon dos técnicas de tinción especiales, ácido periódico de Schiff (P.A.S.) y gomori metacromático de Plata (Grocott).

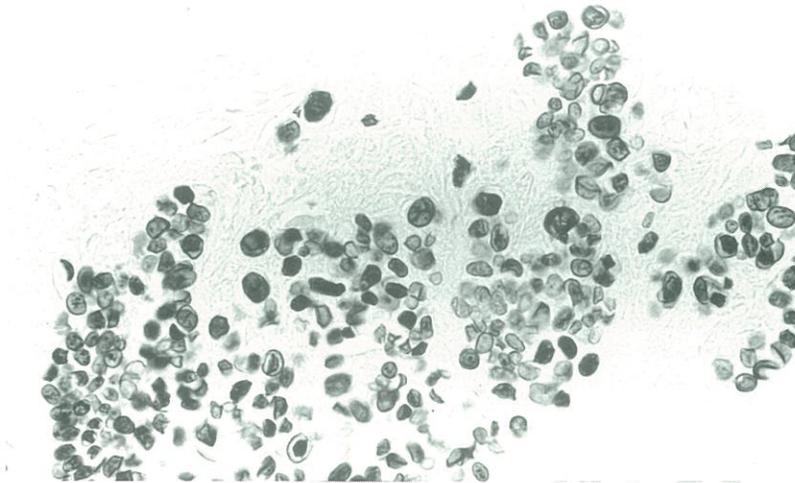
*Hallazgos microscópicos.* El oído externo mostró una inflamación crónica, con dilatación de las glándulas ceruminosas e hiperqueratosis. El riñón, el pulmón, el cerebro y especialmente el miocardio presentaron múltiples zonas de necrosis, con moderada respuesta inflamatoria caracterizada por células mononucleares, predominantemente histiocitos, y células plasmáticas, distribuidas en la periferia de cada zona necrótica. Dentro de esas zonas necróticas se observó gran cantidad de estructuras hialinas, en su mayoría redondas, de diámetro variable, a veces con una pared bien definida. En el interior de algunas de estas estructuras parasitarias se observó una división celular; con tinciones especiales (P.A.S. y Grocott) se visualizaron mejor las características morfológicas de estos agentes, las que fueron compatibles con las descritas en el género *Prototheca* sp. (foto 3).

Otras alteraciones encontradas fueron: una vasculitis focal con consecuente infarto hemorrágico en el bazo; degeneración hepática con formación de vacuolas de gran tamaño, característi-



**Foto 2.** Corazón, múltiples zonas blancas se observan en el epicardio-miocardio, especialmente en el ventrículo izquierdo.

Heart, multiple white areas are observed in the epi-myocardium mainly in left ventricle.



**Foto 3.** Características histológicas de las prototecas. La pared celular se tiñe muy bien con el Grocott, no así el contenido citoplasmático. Algunas prototecas tienen varios núcleos y en otras hay división celular. Tinción de Grocott. Aumento x 400.

Histological features of prototheca. The cell wall stains well with the Grocott technique but the cytoplasm is not discernible. Some protothecae have several nuclei and in others there is cell division. Grocott stain. 400 x.

cas de las descritas en las hepatopatías inducidas por esteroides. Además, hubo una leve colangiohepatitis de tipo crónica.

**Estudio ultraestructural.** Del tejido incluido en parafina se procesaron muestras de acuerdo con el método descrito por Rossi y col. (1970). Se estudiaron cortes de tejido ultrafinos al microscopio electrónico Philips CM10.

Ultraestructuralmente se observó un organismo esporulado, el cual mostró una cápsula externa con endosporas. La cápsula externa y la pared de las endosporas variaron en espesor. Las endosporas contenían cuerpos de baja electrodensidad (foto 4).

Además, se observaron gránulos electrodensos y mitocondrias.



**Foto 4.** Característica ultraestructural de una *Prototheca* spp, mostrando engrosamiento variable de la capa externa, cápsula de la endospora y gránulos electro brillantes. 3100x.

Endospore of *Prototheca* spp. showing varying thickness of outer and endospore capsule and electron lucent granules. 3100x.

**Hallazgos bacteriológicos.** De las muestras de riñón, cerebro, hígado y corazón se aislaron cocos gram positivos, identificados como *Staphylococcus aureus*, mientras que del isopado del oído se reportó *Staphylococcus haemolyticus*.

La patogénesis de la prototecosis es todavía desconocida. Se ha sugerido que las grandes producciones de IgG de alguna manera bloquean la inmunidad celular (Cook y col., 1984; Greene, 1990) y que este efecto inhibitor se aprecia en los casos de prototecosis sistémicas donde hay poca respuesta celular inflamatoria. En esta paciente se observó una moderada reacción inflamatoria en la periferia de la necrosis, con predominio de histiocitos y células plasmáticas. En relación con la puerta de entrada del microorganismo, se han considerado dos: la cutánea y la digestiva (Merideth y col., 1984); de ellas, la más frecuente es la digestiva, y el colon es la principal región afectada con colitis hemorrágicas (Greene, 1990; Thomas, 1990). En el caso aquí presentado no se observó ninguna manifestación clínica de diarrea ni tampoco se evidenció, histológicamente, colitis; tampoco se observaron prototecas en el oído izquierdo. Desafortunadamente no se realizó histopatología de ninguno de los dos globos oculares de esta paciente, por lo que no se puede afirmar o descartar el ojo como puerta de entrada; es bien conocido que muchos pacientes presentan formas oculares de prototecosis (Merideth y col., 1984; Greene, 1990; Blogg y col., 1995). En humanos, con el advenimiento del virus del HIV, se ha comenzado a encontrar casos de prototecosis en pacientes seropositivos por el virus (Laeng y col., 1994; Woolrich y col., 1994). También se ha observado que muchos de los pacientes prototecósicos han tenido alguna forma de compromiso inmunitario, como Diabetes mellitus, administración prolongada de esteroides, trasplante de órganos y cateterizaciones prolongadas (Laeng y col., 1994).

De la literatura revisada en medicina veterinaria, sólo Tyler y col. (1980) mencionan una hepatopatía inducida por esteroide en un paciente con prototecosis diseminada. La paciente aquí presentada también mostró una hepatopatía similar; desafortunadamente, no se pudo establecer con precisión el tratamiento con esteroides previo al ingreso en el Hospital Veterinario.

Dada la ausencia de cultivos en una paciente, en la cual no se consideró esta patología, el diagnóstico final de prototecosis fue basado en el as-

pecto morfológico con microscopía de luz y electrónica. La morfología histológica encontrada en este caso consistió en estructuras hialinas, en su mayoría redondas, de diámetros variables entre 5 a 10 micras, con una pared celular bien definida; además, la división celular encontrada en algunas de ellas. Estos son los rasgos microscópicos descritos en esta enfermedad (Migaki y col., 1982; Thomas y col., 1990; Blogg y col., 1995). También el aspecto ultraestructural observado en esta paciente, caracterizado por organismos esporulados, cuyas esporas contenían cuerpos de baja electrodensidad (luminosos) con estructuras parecidas a crestas que, según Greene (1990) son gránulos con almidón, sustentan el diagnóstico final de prototecosis.

## RESUMEN

Con base en el aspecto morfológico al microscopio de luz y electrónico, se describe un caso de prototecosis sistémica en un Poodle, hembra, de nueve años de edad, que, inicialmente, manifestó otitis externa del oído izquierdo y posteriormente tortícolis. El animal fue remitido al hospital de la Escuela de Medicina Veterinaria. Al examen físico presentó nistagmos horizontal, tortícolis del lado izquierdo, déficit propioceptivo del miembro anterior derecho, ceguera, y se rehusaba a postrarse del lado derecho. Dos días después de su internamiento, murió. Al examen macroscópico, el corazón, el riñón y el hígado mostraron áreas de hasta un 1.0 cm de diámetro, bien delimitadas y de color blanco-amarillento. Microscópicamente, las áreas correspondían a zonas necróticas, con moderada respuesta inflamatoria caracterizada por células mononucleares con predominio de histiocitos y células plasmáticas; internamente, en la necrosis se observaron unos microorganismos, los cuales, con tinción de P.A.S. y Grocott, fueron identificados como prototecas. Dicho diagnóstico fue corroborado con microscopía electrónica.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Mr. A. Ultee por la asistencia técnica en el estudio de microscopía electrónica. Asimismo al Dr. Ted van den Ingh, por la descripción e interpretación de los hallaz-

gos ultraestructurales; ambos pertenecientes al Departamento de Patología de la Universidad de Utrecht, Países Bajos.

## BIBLIOGRAFIA

- BLOGG, J.R., J.E. SYKES. 1995. Sudden blindness associated with protothecosis in a dog, *Aust. Vet. J.* 72, N° 4, April: 147-149.
- CHEVILLE, N.F., J. MCDONALD, J. RICHARD. 1984. Ultrastructure of prototheca zoppii in bovine granulomatous mastitis, *Vet. Pathol.* 21: 341-348.
- COOK, J.R. Jr., D.E. TYLER, D.B. COOLTER, F.W. CHANDLER. 1984. Disseminated protothecosis causing acute blindness and deafness in a dog, *J. Am. Vet. Med. Ass.* 184, N° 10, May 15: 1266-1272.
- GREENE, C.E. 1990. Infectious diseases of the dog and cat. Section IV, pp. 742-748, W.B. Saunders Company.
- HUERRE, M., P. RAVISSE, H. SALOMON, P. AVE, N. BRIQUELET, S. MAURIN, N. WUSCHER. 1993. Protothecoses humaines et environnement, *Bull. Soc. Path. Ex.* 86: 484-488.
- LAENG, H.R., C. EGGER, T. SCHAFFNER, B. BORISCH, E. PEDRINIS. 1994. Protothecosis in an HIV-positive patient, *Am. J. of Surg. Path.* 18(2): 1261-1264.
- MERIDETH, R.E., R.M. GWIN, D.A. SAMUELSON, S.N. GELATT, C.D. BUERGELT. 1984. Systemic protothecosis with ocular manifestations in a dog, *J. of the Am. Anim. Hosp. Asso.* Jan/Feb. Vol. 20: 153-156.
- MIGAKI, G., R.L. FONT, R.M. SAUER, W. KAPLAN, R.L. MILLER. 1982. Canine protothecosis: review of the literature and report of an additional case, *J. of the Am. Vet. Med. Asso.* 181, N° 8, Oct. 15: 794-797.
- ROSSI, G.L., H. LUGINBÜHL, D. PROBST. 1970. A method for ultrastructural study of lesions found in conventional histologic sections virchows, *Archiv. Abt. A. Path. Anat.* 330: 216-224.
- TANIYAMA, H., F. OKAMOTO, T. KUROSOVA, H. FURUOKA, Y. KAJI, K. MATSUKAWA. 1994. Disseminated protothecosis caused by prototheca zoppii in a cow, *Vet. Pathol.* 31: 123-125.
- THOMAS, J.B., N. PRESTON. 1990. Generalized protothecosis in a Collie dog, *Aust. Vet. J.* 67, N° 1, Jan: 25-27.
- TYLER, D.E., M.D. LORENZ, J.L. BLUE, J.F. MUNNELL, F.W. CHANDLER. 1980. Disseminated protothecosis with central nervous system involvement in a dog, *J. of Am. Vet. Med. Asso.* 176, N° 10, May 15: 987-993.
- WOOLRICH, A., E. KOESTEBLATT, P. DON, W. SZANIAWSKI. 1994. Cutaneous protothecosis and AIDS, *J. Am. Acad. Dermatol.* 31: 920-924.