

Microbiota intestinal en perros con gastroenteritis hemorrágica aguda

Gut microbiota in dogs with acute haemorrhagic gastroenteritis

- ¹ Christian Andrés Gárate Machuca  <https://orcid.org/0000-0002-4953-7955>
Maestría en Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.
christian.garate.74@est.ucacue.edu.ec
- ² Juan Carlos Armas Ariza  <https://orcid.org/0000-0002-2381-8222>
Maestría en Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.
juanc.armasa@ucacue.edu.ec



Artículo de Investigación Científica y Tecnológica

Enviado: 30/08/2022

Revisado: 03/09/2022

Aceptado: 11/10/2022

Publicado: 01/11/2022

DOI: <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v5i4.2.2380>

Cítese:

Gárate Machuca, C. A., & Armas Ariza, J. C. (2022). Microbiota intestinal en perros con gastroenteritis hemorrágica aguda. *ConcienciaDigital*, 5(4.2), 45-56.
<https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v5i4.2.2380>



CONCIENCIA DIGITAL, es una Revista Multidisciplinar, **Trimestral**, que se publicará en soporte electrónico tiene como **misión** contribuir a la formación de profesionales competentes con visión humanística y crítica que sean capaces de exponer sus resultados investigativos y científicos en la misma medida que se promueva mediante su intervención cambios positivos en la sociedad. <https://concienciadigital.org>

La revista es editada por la Editorial Ciencia Digital (Editorial de prestigio registrada en la Cámara Ecuatoriana de Libro con No de Afiliación 663) www.celibro.org.ec



Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons Attribution Non Commercial No Derivatives 4.0 International. Copia de la licencia: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

Palabras**claves:**

Microbiota
fecal;
coprocultivo;
disbiosis;
coproparasitario

Keywords:

Fecal
Microbiota;
coprocultivo;
dysbiosis;
coproparasitic.

Resumen

Introducción. La microbiota intestinal (MI) está compuesta por un conjunto de bacterias, que producen metabolitos que influyen en la salud del hospedador. Las alteraciones en su diversidad y composición se conocen como disbiosis. **Objetivo.** Identificar la microbiota intestinal en caninos con cuadros de gastroenteritis hemorrágica aguda. **Metodología.** Se analizaron las heces de 10 caninos, mediante cultivos bacteriológicos estándar y su valoración cualitativa mediante coproparasitarios directos. **Resultados.** El 69,4% de bacterias aisladas forman parte de la microbiota intestinal normal, en su mayoría bacterias de la familia Enterobacteriaceae, y en el 30,6% se aislaron bacterias consideradas patógenas (*Shigella* 23% y *Aeromona hydrophila* 7,6%). En el 100% de las muestras en la evaluación directa se reportó un incremento en la microbiota intestinal. **Conclusiones.** Los cultivos bacteriológicos no permitieron identificar todas las bacterias presentes en las heces, mientras que la evaluación directa si permitió identificar alteraciones en la cantidad de bacterias, determinando estados de disbiosis en menor tiempo. El diagnóstico molecular permitiría la identificación de todas las bacterias presentes, tanto en pacientes sanos como en pacientes con enfermedades gastroentéricas.

Abstract

Introduction. The intestinal microbiota (IM) is composed of a set of bacteria, which produce metabolites that influence the health of the host. Alterations in diversity and composition are known as dysbiosis. **Objective.** To identify the intestinal microbiota in canines with acute hemorrhagic gastroenteritis. **Methodology.** The feces of 10 canines were analyzed using standard bacteriological cultures and their qualitative assessment by direct coproparasitic. **Results.** 69.4% of the isolated bacteria are part of the normal intestinal microbiota, mostly bacteria of the Enterobacteriaceae family, and in 30.6% bacteria considered pathogenic were isolated (*Shigella* 23% and *Aeromona hydrophila* 7.6%). In 100% of the samples in the direct evaluation an increase in the intestinal microbiota was reported. **Conclusion.** Bacteriological cultures did not allow to identify all the bacteria present in the feces, while direct evaluation did allow to identify alterations in the amount of bacteria, determining dysbiosis states in less time. Molecular

diagnosis would allow the identification of all bacteria present in both healthy patients and patients with gastroenteric diseases.

Introducción

La Microbiota intestinal (MI) es el conjunto de bacterias presentes en el sistema digestivo, la misma se caracteriza por que está en constante cambio, debido a factores externos, como la dieta, uso de antibióticos y /o enfermedades gastroentéricas (Abd, 2019; Benvenuti et al. 2020). La MI está formada por una gran cantidad de especies de bacterias, su alteración en la diversidad y características metabólicas determinan los estados de disbiosis, entendido este término como la alteración en la composición de la MI (Abd, 2019; Blake et al. 2019; Chandler et al. 2017).

Esta MI se estima que está formada por un trillón (10^{12} - 10^{14}) de células microbianas, lo que representa alrededor de 10 veces más, en el número de todas las células del hospedador. Esta es una de las razones para entender la relación entre la MI y la regulación de la salud Benvenuti et al. (2020).

Estudios en humanos y en algunas especies animales han asociado la disbiosis con varias enfermedades gastroentéricas, como enfermedad inflamatoria intestinal, colitis granulomatosa, y se demostró que la disbiosis puede ser un factor de riesgo que exacerba la inflamación intestinal en animales susceptibles (Abd, 2019; Chandler et al. 2017).

Las bacterias intestinales desempeñan un rol en la regulación de la salud del animal, ya que estimula el sistema inmune, actúan como barrera de defensa para enteropatógenos, ayudan en la digestión de fibras complejas, producen varios ácidos grasos de cadena corta y otros metabolitos que proveen nutrientes al enterocito (Abd, 2019; Blake, 2019; Handl, 2013; Thomson et al. 2022).

La identificación de las bacterias presentes puede ser beneficioso, incluso en pacientes sanos, y orienta en los adecuados tratamientos con antibióticos en ciertas enfermedades gastroentéricas, por lo que, todo tratamiento gastroentérico, debe además estar enfocado en reestablecer la MI normal (Abd, 2019; Handl et al. 2022).

Dentro de los principales cuadros de disbiosis en perros (*Canis lupus familiaris*), se cita la gastroenteritis hemorrágica aguda (GHA), la cual es una enfermedad con causa desconocida, que afecta en mayor parte a caninos jóvenes y de razas pequeñas (Blake et al. 2019; Handl et al. 2013; Unterer et al. 2021). Los signos clínicos son vómito, decaimiento, diarrea con sangre explosiva, anorexia y marcada deshidratación (Blake et al. 2019; Unterer et al. 2021). Su etiología aún es desconocida, pero se sugiere que podría ser una respuesta inmune inadecuada a las bacterias, principalmente hipersensibilidad a

Clostridium perfringens, endotoxinas bacterianas o ciertos componentes de la dieta. *C. perfringens* se ha aislado de cultivos intestinales de perros con GHE, pero su rol en el desarrollo de la enfermedad se desconoce (Unterer et al. 2021; Honaker et al. 2020; Honneffer et al. 2019). Su diagnóstico se basa en el desarrollo agudo de los signos clínicos acompañados de hemoconcentración (hematocrito mayor a 60%) (Unterer et al. 2021).

En los últimos años, el estudio de la MI ha aumentado debido a su potencial rol etiopatológico en la salud y enfermedad del hospedador (10). En caninos se han identificado otros enteropatógenos, tales como el *Campylobacter*, *Clostridium*, *Salmonella*, *Shigella*, los cuales también se los ha encontrado en animales sanos. Por lo que su rol en el desarrollo de enfermedades no es claro (Blake et al. 2019).

La MI normal identificada por método tradicional de cultivos se ha reportado que tiene un rango de 10^2 a 10^5 unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo (g) (Huang et al. 2019). Está formada por 3 principales filos: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y Fusobacterias, los cuales constituyen aproximadamente el 99% de la MI total (Kieler et al. 2017). Dentro del filo *Firmicutes* se encuentran las clases *Clostridia*, *Bacilli* y *Erysipelotrichi*; en el filo *Bacteroidetes* se encuentran los géneros *Megamonas*, *Prevotella*, *Bacteroides*; *Fusobacterium* es el género más representativo dentro del filo *Fusobacteria* (Kim et al. 2017; Suchodolski, 2021).

La MI del intestino delgado comprende una mezcla de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas, mientras que en el intestino grueso es casi exclusivo para anaerobias (Chandler et al. 2017). *Helicobacter* spp. predomina en el estómago de caninos, pero *Streptococcus* y *Actinobacillus* se pueden aislar también (Abd, 2019). En intestino delgado predomina *Clostridium*, *Lactobacillales* y *Proteobacteria*, y en intestino grueso es común aislar Clostridiales, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. y *Fusobacteria* (Kim et al. 2017; Li et al. 2021).

No hay una prueba específica para identificar la MI y disbiosis. Debido a la complejidad de la MI, el mejor método de diagnóstico debe ser una combinación de cultivos y técnicas de diagnóstico molecular (Li et al. 2021; Ramadhani et al. 2021; Werner et al. 2020).

Los cultivos bacterianos son útiles en la detección de enteropatógenos específicos, y permite la determinación de una infección activa, prueba de sensibilidad a antibióticos y la genotipificación de las bacterias aisladas (Li et al. 2021; Pilla et al. 2021).

De acuerdo a esta importancia en la salud de los animales, se desarrolló este estudio que consistió en analizar muestras fecales de caninos que acudieron a 2 centros veterinarios de la ciudad de Quito, con signos de GHA y evaluado mediante dos técnicas de identificación de MI: cultivo bacteriológico y coproparasitario directo.

Metodología

Se realizó un estudio cuasi experimental, descriptivo, transversal, con el fin de identificar la microbiota intestinal y sus alteraciones en caninos con cuadro de gastroenteritis hemorrágica aguda.

Selección de la unidad experimental

La investigación fue realizada con la muestra de heces de 10 caninos, el criterio de inclusión fue que presenten un cuadro de diarrea con presencia de sangre, y un hematocrito mayor a 60%; que acudieron a dos centros veterinarios de la ciudad de Quito. Las muestras fueron recogidas dentro de cada centro, en envases plásticos desechables para ese fin y procesadas en el momento.

Se realizaron exámenes coproparasitarios directos, para identificar cualitativamente la MI fecal, seguido de coprocultivo para la identificación de las familias bacterianas presentes.

Coproparasitario directo

Es un método rápido y simple para identificar principalmente helmintos, se puede también valorar de forma rápida y cualitativamente la MI. Para su realización, una pequeña muestra de heces se colocó sobre un portaobjetos limpio, se mezcló con unas gotas de solución fisiológica, se colocó en una placa cubreobjetos y se observó al microscopio. Este método no se lo utiliza para una determinación cuantitativa. Se utilizó un microscopio marca Zeiss modelo Primo Star, de fabricación alemana. Se observó con lente 40x para valorar motilidad de los microorganismos y presencia de bacterias (Honneffer et al. 2019).

Coprocultivo

Las muestras se sembraron de forma directa en cuatro medios de cultivo: en agar verde brillante que permite el crecimiento de enterobacterias patógenas; en agar sangre que proporciona el crecimiento de bacterias y hongos; en agar chocolate que favorece el desarrollo de ciertas bacterias exigentes; y agar SS que favorece el crecimiento de Salmonella y Shigella. Los medios fueron incubados a 37 grados centígrados (°C). Se evaluó el crecimiento bacteriano a las 24; 48 y 72 horas.

Resultados y discusión

La tabla 1, muestra los datos de los 10 pacientes reportados en el lapso del estudio y a los cuales se les analizaron sus muestras fecales. Se analizaron 13 muestras, se excluyeron 3 resultados, ya que no se presentaron crecimiento bacteriano a las 72 horas.

Tabla 1.

Descripción etnográfica de las muestras

Muestra	Identificación	Raza	Edad	Sexo
1	Luna	Shih tzu	1 año	Hembra
2	Tomás	Mestizo	1 año	Macho
3	Maradonio	Mestizo	1 año	Macho
4	Yoshi	Mestizo	10 años	Macho
5	Niurka	Rottweiler	8 años	Hembra
6	Laura	Mestizo	1 año	Hembra
7	Pugsi	Mestizo	1 año	Macho
8	Tommy	Yorshire terrier	1 año	Macho
9	Igor	Labrador	1 año	Macho
10	Lucas	Yorkshire terrier	4 años	Macho

En la tabla 2 se muestran los hallazgos en los cultivos bacteriológicos obtenidos en medios estándares para cultivos de heces. Los resultados de la evaluación directa determinaron cualitativamente la MI, la cual se reporta en número de cruces en base a la cantidad de bacterias observadas, además de observar formas parasitarias en la muestra. En todas las muestras analizadas se reportó alteración en la MI, lo cual en ciertos casos puede ayudar de forma más rápida para la determinación de un estado de disbiosis (Suchodolski et al., 2016), ya que se evalúan de forma directa y es relativamente rápido, frente a un cultivo bacteriológico que tarda al menos 72 h, y como se vio en el estudio, no todos tienen resultado positivo o aislaron bacterias patógenas. De todas las muestras procesadas, solo una reportó formas parasitarias (*Ancylostoma* spp.).

En el 100% de las muestras analizadas presentaban una alteración cualitativa de la MI, estableciendo así un cuadro aparente de disbiosis intestinal (Huang et al. 2019; Suchodolski et al. 2016).

Tabla 2.

Cultivos bacteriológicos y valores obtenidos de la evaluación directa

Paciente	Resultado cultivo bacteriológico	Resultado de evaluación directa
Paciente 1	<i>Aeromona hydrophila</i>	Microbiota aumentada ++
Paciente 2	Proteus spp.	Microbiota aumentada ++
Paciente 3	Proteus spp.	Microbiota aumentada ++
Paciente 4	Fusobacteria	Microbiota aumentada +++
Paciente 5	Actinobacteria, Fusobacteria	Microbiota aumentada ++
Paciente 6	<i>E. coli</i> , Shigella	Microbiota aumentada ++
Paciente 7	Shigella	Microbiota aumentada +++
Paciente 8	Actinobacteria, Spirochaetes	Microbiota aumentada ++
Paciente 9	Proteus spp.	Microbiota aumentada +++
Paciente 10	Shigella	Microbiota aumentada +++

La tabla 3 indica la frecuencia de las bacterias aisladas. En el 23% de las muestras se aisló *Proteus* spp. y *Shigella*, siendo las bacterias con mayor porcentaje de crecimiento. *Shigella* es una bacteria de mayor presentación en humanos, la cual produce signos leves a moderados de diarrea, su aislamiento en heces caninas sugiere ingesta de heces humanas por parte del animal (Kim et al. 2017). *Proteus* spp. pertenece a la familia Enterobacteriaceae, y se puede encontrar ocasionalmente en las heces de caninos, varios estudios reportan que las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, constituyen el 99% de la MI en caninos (Handl et al. 2013). *Aeromona hydrophila* se aisló en una de las muestras, esta bacteria se le encuentra en hábitats acuáticos, en caninos una vez ingerida puede afectar la mucosa intestinal, produciendo cuadros gastroentéricos de diarrea (Kim,

et al. 2017). En una de las muestras se aisló *Escherichia coli*, de la familia Enterobacteriaceae, en su mayoría forma parte de la MI normal en caninos, pero algunas pueden ser patógenas y provocar diarrea (Honaker, et al. 2020; Kim et al. 2017). En el 10% de las muestras se aislaron Fusobacteria y Actinobacteria, bacterias que también forman parte de la MI normal en caninos, y no están relacionadas con cuadros de gastroenteritis (Li et al. 2021; Pilla et al. 2021).

Tabla 3.

Frecuencia de bacterias aisladas en las muestras analizadas

Agente aislado	Frecuencia	Porcentaje (%)
<i>Aeromona hydrophila</i>	1	7,6
Proteus spp.	3	23
Fusobacteria	2	10
Actinobacteria	2	10
Spirochaetas	1	7,6
Shigella	3	23
<i>Escherichia coli</i>	1	7,6

Fuente: Elaboración propia

Conclusiones

- En solo el 30,6% de las muestras hubo crecimiento de bacterias patógenas (*Shigella* y *Aeromona hydrophila*), en el 69,4%, se aislaron bacterias presentes en la MI normal. Los cultivos tienen una desventaja, ya que no se puede realizar una caracterización profunda de las bacterias presentes, subestima el total de bacterias y no permite la identificación de la mayor parte de bacterias del tracto intestinal. Una de las causas de la incapacidad para identificar el total de bacterias en cultivos, es porque las bacterias necesitan requerimientos óptimos para su desarrollo, y en su mayoría predominan bacterias anaerobias, que son frágiles y predisuestas a daños durante el manejo, y se estima que menos del 20% de las bacterias intestinales son cultivables.
- Por lo tanto, los medios de cultivos estándar no son eficaces en la determinación de la microbiota intestinal ni de estados de disbiosis. La valoración directa nos da características rápidas y cualitativas de la microbiota, indicando estados de aparente disbiosis, sin embargo, no caracteriza las bacterias presentes. La identificación de la MI puede tener varias ventajas, y ayudar en los diagnósticos y tratamientos adecuados, así como en determinar estados o factores que la alteren

y predispongan a cuadros gastroentéricos, sin embargo, es necesario implementar técnicas de diagnóstico más específicas como métodos moleculares, ya que los cultivos bacteriológicos estándar identifican muy pocas bacterias presentes en las heces, lo que dificulta tener una caracterización de MI normal y de las bacterias patógenas.

Referencias bibliográficas

- Abd Alfatah, M. (2019). Review on Bacterial and Fungal Diseases in Dogs. *JSM Vet. Medicine and Research*. 2(7), 1-7. <https://www.jsmcentral.org/VeterinaryMedicine/jsmvmr693416.pdf>
- Benvenuti, E., Bottero, E., Pierini, A., Gori, E. y Marchetti, V. (2020). The swab-sampled dry fecal cytology in healthy dogs and in dogs with acute and chronic diarrhea: a pilot study. *Japanese J. Vet. Res.* 68(3):51-158. <https://doi.org/10.14943/jjvr.68.3.151>
- Blake, A., Guard, B., Honneffer, J., Lidbury, J., Steiner, J. y Suchodolski, J. (2019). Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. *Plos One*. 14(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224454>
- Chandler, S., Cunningham, M., Lund, M.; Khanna, C., Naramore; Patel, A. y Day, M. (2017). Obesity and Associated Comorbidities in People and Companion Animals: A One Health Perspective. *Journal of Comparative Pathology*. 156(4):296-309. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021997517301226>
- Handl, S., German, A., Holden, S., Dowd, S., Steiner, J. y Heilmann, R. (2013). Faecal microbiota in lean and obese dogs. *Microbiology Ecology*. 84(2):332-43. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12067>
- Thomson, P., Santibáñez, R., Rodríguez-Salas, C., Flores-Yañez, C. y Garrido, D. (2022). Differences in the composition and predicted functions of the intestinal microbiome of obese and normal weight adult dogs. *Peer J*. 10. <https://doi.org/10.7717/peerj.12695>
- Unterer, S., Busch, K. (2021). Acute Hemorrhagic Diarrhea Syndrome in Dogs. *Vet. Clinic. North Ame.: Small Anim. Pract.* 51(1):79-92. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.09.007>
- Honaker, R., Shmalberg, J., Tanprasertsuk, J., Perry, L., Massey, D. y JHA, A. (2020). Characterization of gut microbiomes of household pets in the United States using

- a direct-to-consumer approach. *Plos One*. 15(2).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227289>.
- Honneffer, J., Steiner, J., Lidbury, J. Y Suchodolski, J. (2019). Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics*. 13(26):1-20. <https://doi.org/10.1007/s11306-11017-11165-11303>.
- Honneffer, J. y Minamoto, Y. (2014). Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal. *World J. Gastroent.* 20(44):16489-97. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i44.16489>.
- Huang, Z., Pan, Z., Yang, R., Bi, Y. y Xiong, R. (2019). The canine gastrointestinal microbiota: early studies and research frontiers. *Gut Microbes*. 11(4):635-654. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1704142>.
- Kieler, I., Shamzir- Kamal, S., Vitger, A., Nielsen, D., Lauridsen, C. y Bjornvad, C. (2017). Gut microbiota composition may relate to weight loss rate in obese pet dogs. *Vet. Med. Sci.* 3(4):252-262. <https://doi.org/10.1002/vms3.80>.
- Kim, J., An, J., Kim, W., Lee, S. y Cho, S. (2017). Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathog.* 9(68). <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0218-5>.
- Suchodolski, J. (2021). Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet. Clin. Pathol.* 50(1):6-17. <https://doi.org/10.1111/vcp.13031>.
- Li, Q., Larouche - Lebel, E., Loughran, K.; Huh, T. y Suchodolski, J. (2021). Gut dysbiosis and its associations with gut microbiota-derived metabolites in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Msystems*. 6(2). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00111-21>.
- Ramadhani, M., Indarjulianto, S., Nururrozi, A. y Raharjo, S. (2021). Case Report: Diagnosis and Treatment of Enteritis Caused by Bacterial in a Dog. *BIO Web of Conferences*. 33(6). <https://doi.org/10.1051/bioconf/20213306003>.
- Werner, E., Suchodolski, J.S., Lidbury, J.A., Steiner, J.M. y Hartmann, K. (2020). Unterer, S. Diagnostic value of fecal cultures in dogs with chronic diarrhea. *J. Vet. Intern. Med.* 35(1):199-208. <https://doi.org/10.1111/jvim.15982>.
- Pilla, R. y Suchodolski, J. (2021). The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. *Vet. Clinic. North Ame.: Small Anim. Pract.* 51(3):605-621. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>.

Suchodolski, J. (2016). Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet. J.* 2(15):30-37. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.04.011>.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no existir conflicto de intereses que comprometan los resultados del presente trabajo ni de su publicación.

Declaración de contribución de los autores

CAGM y JCAA concibieron el tema de investigación, delimitaron la población de estudio y la metodología a aplicar.

CAGM y JCAA diseñaron el primer borrador con los resultados obtenidos, JCAA corrigió el manuscrito final.

CAGM y JCAA aprobaron el manuscrito final.

El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Conciencia Digital**.



El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Conciencia Digital**.



Indexaciones

