

José María Cifuentes Tolón

Estudio de los sacos anales del perro y sus secreciones almacenadas

Director/es

Pérez Rontome, Marta María
Molín Molina, Jéssica

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

**ESTUDIO DE LOS SACOS ANALES DEL PERRO Y
SUS SECRECIONES ALMACENADAS**

Autor

José María Cifuentes Tolón

Director/es

Pérez Rontome, Marta María
Molín Molina, Jéssica

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Medicina y Sanidad Animal

2020

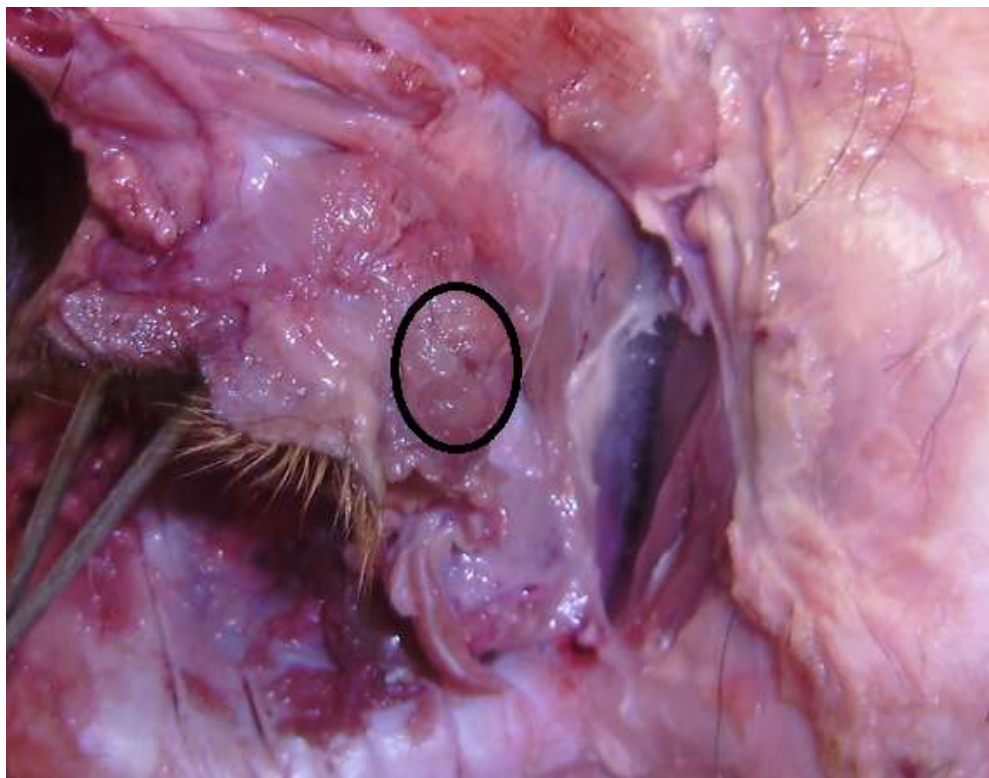


**Universidad
Zaragoza**

Departamento de Patología Animal

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LOS SACOS ANALES DEL PERRO Y SUS
SECRECIONES ALMACENADAS**



Autor José M^a Cifuentes Tolón

Directoras: Marta M^a Pérez Rontomé y Jéssica Molín Molina

Zaragoza, septiembre de 2020



**Universidad
Zaragoza**

Departamento de Patología Animal

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LOS SACOS ANALES DEL PERRO Y SUS
SECRECIONES ALMACENADAS**

Memoria presentada por el Licenciado en
Veterinaria José M^a Cifuentes Tolón para
optar al grado de Doctor por la Universidad
de Zaragoza.

Zaragoza, septiembre de 2020

Dra. MARTA MARÍA PÉREZ RONTOMÉ, Profesora Contratado Doctor del Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal de la Universidad de Zaragoza y la Dra. JÉSSICA MOLÍN MOLINA, Profesora lectora Serra Húnter del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad de Lleida,

Hacen constar:

Que la presente memoria de Tesis titulada “**Estudio de los sacos anales del perro y sus secreciones almacenadas**” elaborada por JOSE M^a CIFUENTES TOLÓN, ha sido realizada bajo nuestra dirección y cumple con los requisitos exigidos para optar al título de Doctor en Veterinaria por la Universidad de Zaragoza.

Zaragoza, 16 de septiembre de 2020

Fdo. Marta M^a Pérez Rontomé

Fdo. Jéssica Molín Molina

AGRADECIMIENTOS

Cuesta escribir estas líneas cuando realmente se está agradecido a muchas personas y en general a la vida y a la naturaleza, pero por algo habrá que empezar...

En primer lugar, y por encima de todo, agradezco a mis directoras de tesis, las Doctoras Marta M^a Pérez Rontomé y Jéssica Molin Molina, el enorme y complicado trabajo realizado en sintetizar toda la información e indicarme posteriormente cómo reportarla de un modo eficaz, sencillo y directo. También agradezco el haberme instruido en la investigación, siguiendo el método científico. Sin estas personas este trabajo no habría visto la luz.

A todas las personas que colaboraron directa o indirectamente o compartieron experiencia académica con un servidor, en especial el Doctor Lluís Lujan, profesor del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza y coordinador del programa de Doctorado.

Y siguiendo con el Departamento de Anatomía Patológica, no quiero olvidarme de Javier Asín, Ricardo de Miguel, Pedro Pinczowski, Marina Gimeno y Raúl Resendiz, compañeros de seminarios y colegas en general.

A la técnico del laboratorio de histopatología, Rosario Puyo, por su buen hacer e impecable trabajo en el procesado de las muestras histológicas.

Al Departamento de Anatomía de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, en especial a los doctores Salvador Climent, Julio Gil y María Climent, así como al técnico de la sala de disección, Ángel Hernando, por su ayuda en la preparación de los cadáveres de los perros del estudio anatómico.

Al doctor Luis Manuel Cerecedo del Departamento de Ciencia y Tecnología de Materiales y Fluidos, Área de Mecánica de Fluidos, Escuela de Ingeniería y Arquitectura Universidad de Zaragoza por su ayuda en la fluidodinámica.

Al Doctor Jose Rodriguez, por su optimismo y soporte ofrecidos en momentos especiales.

Al Doctor Ignacio de Blas, por su ayuda en el diseño e interpretación del análisis estadístico.

Al Departamento de Microbiología de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, en especial a los doctores Rosa Bolea y Mariano Morales. A la técnico del laboratorio de microbiología María José León, por su ayuda en la preparación de los medios de cultivo y la logística de laboratorio.

A la Universidad de Lleida, Departament de Ciència Animal, por su ayuda en el estudio e interpretación y de las muestras histológicas.

Al hospital Arnau de Vilanova de Lleida, Unidad de Histopatología, por su ayuda en el procesado y escaneado digital de las preparaciones histológicas.

Y cómo no, a mi familia, refugio de las frustraciones y alegrías, por su eterno apoyo en los buenos y malos momentos.

Indice

Resumen.....	1
Summary.....	5
Indice I	
1. Introducción.....	9
1.1. Los sacos anales.....	9
1.2. La enfermedad del saco anal.....	12
1.2.1. Etiología.....	14
1.2.2. Diagnóstico.....	15
1.3. La impactación.....	16
1.4. La saculitis.....	17
1.5. Causas de la impactación y/o saculitis.....	17
1.6. Síntomas de la impactación y/o saculitis.....	18
1.7. Tratamiento.....	19
1.7.1. Impactación.....	19
1.7.2. Saculitis.....	20
1.7.3. Abscesos.....	20
2. Justificación y Objetivos.....	21
CAPITULO 1.....	25
1. Introducción.....	26
2. Objetivos.....	28
3. Material y métodos.....	29
3.2. Características anatómicas mediante disección regional.....	32
3.3. Modelización de los sacos anales.....	32
3.4. Fisiología de los sacos anales y drenaje del fluido según la bibliografía.....	35
3.5. Estudio anatómico y fisiológico en perros con diferentes estados y patologías que implican a los sacos anales.....	36
3.5.1. Perros con afectación neurológica.....	36
3.5.2. Perros bajo sedación profunda o anestesia general.....	37
3.5.3.1. Perros con estado de miedo o reflejo de huida.....	38
3.5.3.2. Estudio de la eliminación de fluido en el marcaje activo.....	39
4. Resultados.....	40
4.1. Posición y características anatómicas de los sacos anales: bibliografía vs observación clínica.....	40
4.2. Estudio anatómico. Disección Regional.....	42
4.3. Localización, posición y modelización de los sacos.....	44
4.4. Fisiología del fluido y las formas de eliminar.....	46
4.5. Estudio en la secreción de fluido independiente a la defecación.....	51

4.5.2.	Animales con afectación neurológica.....	51
4.5.3.	Eliminación de fluido en perros bajo sedación profunda o anestesia	54
4.5.4.1.	Reflejo de huida o amenaza	56
4.5.4.2.	Eliminación de fluido del saco en el marcaje.....	57
5.	Discusión	58
CAPITULO 2		
1.	Introducción.....	67
1.1.	Estructura histológica del saco anal	67
1.1.1.	Lumen.....	68
1.1.2.	Epitelio	69
1.1.3.	Capa subepitelial	69
1.1.4.	Capa glandular.....	70
1.1.5.	Capa subglandular	71
1.1.6.	Capa muscular.....	71
1.1.7.	Ducto excretor.....	72
1.2.	Morfometría del saco anal.....	72
2.	Objetivos.....	73
3.	Material y métodos	74
3.1.	Estudio Histológico	74
3.1.1.	Tallado, procesado y obtención de cortes histológicos.....	74
3.1.2.	Valoración microscópica de las muestras	75
3.2.	Estudio micromorfológico.....	76
3.2.1.	Muestras	76
3.2.3.	Análisis estadístico.....	78
4.	Resultados	79
4.1.	Descripción histológica	79
4.1.1.	Lumen.....	80
4.1.2.	Epitelio de revestimiento	81
4.1.3.	Capa subepitelial	81
4.1.4.	Capa glandular.....	83
4.1.5.	Capa de tejido conjuntivo subglandular	85
4.1.6.	Capa muscular.....	85
4.1.7.	Ducto excretor.....	87
4.2.	Estudio micromorfológico.....	90
4.2.1.	Análisis estadístico.....	91
5.	Discusión	93
CAPÍTULO 3.....		
1.	Introducción.....	100
2.	Objetivos.....	105
3.	Material y métodos	105

3.1.	Animales del estudio.....	105
3.2.	Obtención de muestras y manipulación de los sacos.....	106
3.3.	Características organolépticas de la muestra	108
3.3.1.	Color.....	108
3.3.2.	Consistencia	109
3.3.3.	pH.....	109
3.4.	Cultivo microbiológico.....	110
3.4.1.	Diluciones y siembra	110
3.4.2.	Medios de cultivo empleados	111
3.4.3.	Otros sistemas de identificación bacteriana.....	113
3.5.	Otras variables estudiadas.....	114
3.6.	Análisis estadístico	115
4.	Resultados.....	117
4.1.	Características de las muestras obtenidas.....	117
4.1.1.	Color.....	117
4.5.5.	Consistencia	118
4.5.6.	Relación “color” y “consistencia” conjuntamente	121
4.6.	Crecimiento microbiológico.....	122
4.2.1.	Crecimiento bacteriano en el lote control.....	123
4.2.2.	Crecimiento bacteriano en el lote ESA	126
4.2.3.	Identificación bacteriana a nivel de especie (Sistema Vitek) 2®.....	138
4.3.	Relación del crecimiento bacteriano con algunas variables organolépticas	139
4.2.4.	Relación entre el Color del fluido y el tipo de bacteria identificada	139
4.2.5.	Relación entre la Consistencia del fluido y el tipo de bacteria identificada.....	141
4.2.6.	Relación entre el pH del fluido y el tipo de bacteria identificada	143
5.	Discusión.....	146
	Conclusiones	157
	Abreviaturas.....	161
	Bibliografía.....	165
	Anexos	175

Resumen

Los sacos anales del perro son dos estructuras anatómicas localizadas de forma ventrolateral a ambos lados de la abertura anal. Almacenan un fluido que es drenado al exterior durante la defecación, lubricando en cierta medida el bolo fecal.

Son unas estructuras algo olvidadas e infravaloradas a nivel clínico, pero con una repercusión en la salud y en el bienestar del animal que a menudo pasan desapercibidas a no ser que se instaure una patología, la denominada enfermedad del saco anal (ESA). Esta enfermedad comprende varios estadios en el perro, desde la saculitis y formación de abscesos hasta la impactación. Es una patología frecuentemente recidivante, ya que un perro está predispuesto a padecerla a lo largo de su vida, siendo más prevalente en los perros de tamaño pequeño.

Ante la complejidad de abordar la patología instaurada de estas estructuras vesiculares de origen ectodérmico, en el que participan bacterias presentes en el fluido y se producen cambios histopatológicos, se comprende que esta tesis doctoral sea necesaria y que haya sido vertebrada en tres estudios: anatómico, histológico y microbiológico.

Para el estudio anatómico se procedió a la disección regional de la región anal de algunos perros para verificar la ubicación de los sacos anales. Con otros animales se obtuvieron medidas de la profundidad del saco y de la angulación de desembocadura del conducto excretor para poder simular su localización virtual en la región anal. Con la sospecha de que una determinada conformación anatomómica favorecía la enfermedad del saco anal, se estudiaron perros con diferentes conformaciones del periné, junto con el estudio de otras particularidades, como la forma e implantación de la región coccígea, obteniéndose dos perfiles de periné distintos, uno más propenso a la enfermedad que el otro. Profundizando en el control nervioso y en la liberación al exterior del fluido almacenado, se obtuvieron datos importantes que modifican lo que hasta

ahora estaba confirmado; los sacos anales pueden liberar su contenido durante la defecación, en el reflejo de huida o amenaza y de forma iatrogénica durante la sedación/anestesia general; además determinados perros en el acto de marcaje pueden liberar parte del contenido almacenado al aumentar la presión abdominal en el animal, sobre todo cuando el fluido era de consistencia líquida. Se ha visto que la fluidodinámica y la reología son claves, junto con la neurología, para comprender la liberación del fluido al exterior. Un fluido más viscoso hasta llegar a una consistencia casi sólida no puede expulsarse al exterior, por ninguna de los mecanismos anteriormente citados y se considera clínicamente impactado. Un fluido de este tipo ya no cambia su consistencia, por lo que el drenaje veterinario es imprescindible para expulsar el fluido al exterior y evitar daños mayores o infecciones.

El estudio histológico, se estructuró en dos subapartados, uno de valoración de la histología de los sacos anales, de perros libres de la enfermedad del saco anal y otro donde se realizó un estudio micromorfométrico del saco anal, donde se midieron las capas que componen la pared del saco y además, los valores del área y perímetro del mismo. La histología confirmó el patrón de capas propuesto por otros autores, donde la pared del saco anal está constituida por cinco bien diferenciadas, que desde el lumen a la pared del saco son: epitelial, subepitelial, glandular, subglandular y muscular. Se observó distinto grado de dilatación del saco anal, así como distinto grado de distribución no uniforme de las glándulas apocrinas a lo largo de la pared del saco. Además, como hallazgos histopatológicos interesantes, se observó presencia de inflamación de leve a moderada, crónica y normalmente de distribución multifocal, posiblemente asociadas a procesos de saculitis subclínicas acontecidas a lo largo de la vida del animal y fundamentalmente localizados en la capa subepitelial. En este capítulo también se estableció una relación con la micromorfometría, que de forma general verificó la relación entre el valor del área y el grosor de la pared del saco. Según este resultado, el grosor de la pared del saco es inversamente proporcional al área, que determina el grado de dilatación del saco anal; además se observó una correlación lineal significativa entre el grosor de la pared del saco anal y las capas subepitelial, y subglandular.

En relación al estudio microbiológico, se profundizó primero en caracterizar organolépticamente el fluido, sobre determinadas características como el color y la consistencia y relacionarlos con las bacterias presentes en el fluido que fueron debidamente identificadas. Los aspectos abordados en este estudio se llevaron a cabo tanto en animales libres de la enfermedad del saco anal (grupo Control) como en animales con la enfermedad del saco anal instaurada (grupo ESA), donde además se compararon el tipo de bacterias encontradas y el número de UFC/ml en un intervalo de tiempo concreto, en dos drenajes del fluido separados 21 días. Se llegó a la identificación bacteriana, por géneros bacterianos, gracias al cultivo en medios enriquecidos y la utilización posteriormente de un medio cromogénico, logrando el aislamiento e identificación de bacterias Gram+ y Gram-. Como resultados más relevantes se observó que en el grupo Control el número de bacterias presentes en el fluido en general fue menor que en el grupo con la enfermedad y que los géneros más frecuentemente identificados en ambos grupos estudiados fueron *Enterococcus*, *E.coli* y *Proteus*, a menudo de forma conjunta en el mismo animal. En cuanto al grupo de enfermos (grupo ESA), se observó bastante heterogeneidad en los aislamientos bacterianos, aunque la bacteria más comúnmente encontrada, tanto en crecimiento único como en asociación con otras bacterias fue el género *Enterococcus*, incluso tras el segundo drenaje a día 21; este hallazgo fue importante ya que es una bacteria considerada como beneficiosa, lo que respalda el hecho de que en algunos tratamientos sea administrada como probiótico. También se obtuvieron resultados interesantes dentro del grupo ESA, como la relación de las variables color y consistencia con el crecimiento bacteriano; siendo la consistencia una variable con significación estadística en el grupo ESA el día 1, reforzando la idea de que esta característica organoléptica no se debe ignorar en los individuos enfermos.

En algunas de las muestras también se realizó una identificación bacteriana de forma automatizada para llegar a nivel de especie, dando como resultado la identificación de determinadas bacterias potencialmente zoonóticas, como fue *Enterococcus faecalis*, dato a tener en cuenta en la profilaxis higiénico-sanitaria de los sacos anales.

Summary

The anal sacs of the dog are two anatomical structures ventrolaterally found on both sides of the anal opening. They contain a fluid that is released out during a defecation, lubricating to some extent the fecal bolus.

They are structures that are somewhat forgotten and underestimated at a clinical level, but with repercussion on the animal's health and well-being, that often going unnoticed if a pathology is not established, known as, Anal Sac Disease (ASD). This disease comprises various stages in the dog, from Sacculitis and abscess formation reaching impactation. It's a pathology and is frequently recurrent given that dogs tend to suffer this problem throughout its life, being prevalent in dogs of a smaller size.

Facing the complexity of approaching the established pathology of these vesicular structures of ectodermal origin where bacterias in the fluid are present and histopathological changes take place, thus being understood that this doctoral thesis is necessary and has been divided into three studies: anatomical, histological and microbiological.

For the anatomic study a regional it is proceeded in a dissection of the anal area from some dogs to verify the position of the anal sacs. Measurements of the depth and angulation of the excretory duct opening were obtained to simulate its virtual location in the anal area.

Suspecting that a certain anatomical conformation contributed to the anal sac disease, several conformations of the perine were studied along with other particularities such as the shape and implantation of the coccygeal region, obtaining two different perine profiles, one more prone to the disease than the other.

Examining in depth the nerve control and the liberation of stored fluid to the exterior, important information was obtained that modified what was confirmed up to now; the anal sacs can liberate its content during defecation, during escape or in answer to a threat, or in an iatrogenic form while undergoing general anesthesia/sedation; furthermore certain dogs can liberate part of the

stored content by increasing abdominal pressure as an act of territorial markers, specially when fluid found was of a liquid consistency. Fluid dynamics and specifically rheology are key, along with Neurology, in understanding the liberation of fluid to the exterior. A more viscous fluid reaching a solid state cannot be emptied by any of the mechanisms mentioned before and is to be considered clinically impacted. A fluid of this consistency is unable to be altered, so that veterinarian drainage is essential to empty the fluid.

The Histological study was structured into subsections, one on assessment of the histology of the anal sacs, of dogs free of anal sac disease and a second one where a micromorphometric study of the anal sac was conducted which measured the layers of the sac wall as well as the values of the area and perimeter of the same. The histology confirmed the pattern of layers already proposed by other authors, was confirmed where the wall of the anal sac is formed five well differentiated layers, from the lumen to the sac wall: epithelial, sub-epithelial, glandular, sub-glandular and muscular. A different degree of dilation of the anal sac was observed, as well as a different degree of non-uniform distribution of the apocrine gland layers along the sac's wall. Furthermore, as interesting hispathological findings fundamentally, the presence of minor to moderate inflammation, chronic and normally of multifocal distribution was observed, possibly associated to a subclinical sacculitis course happening throughout the animals life. In this chapter, a connection to mocromorphometry was established, which in a general manner verified the relation between the value of the area and the thickness of the wall's sac. According to this result, the thickness of the sac's wall was inversely proportional to the area, which determines the degree of dilation of the anal sac; Also, a significative a linear correlation was observed between the wall thickness of the anal sac and the sub-epithelial and sub-glandular layers.

Regarding the microbiological study, examining in depth in organoleptically distinguishing the fluid, among determinate characteristics such as color and consistency and relating them with the bacterias present in the fluid; a bacterial identification was conducted. The aspects approached in this study were conducted on both animals free from anal sac disease (Control group) as well as on animals affected with anal sac disease (group ASD), where the type

of bacterias found and the number of CFU per ml in a specific interval of time, in two fluid drainages separated in 21 days, were also compared. Bacterial identification was reached, by bacterial genera thanks to a rich-environment culture and the posterior use of a chromogenic environment, achieving the isolation and identification of bacterias Gram+ and Gram-. The most relevant results obtained in this study were observing that in the Control Group the number of bacterias present in the fluid was in general lower than in the group with the disease and that the most frequent generas identified in both groups studied were Enterococcus, E. Coli y Proteus, often all together in the same animal. In what refers to the group of diseased, quite heterogeneity in the bacterial isolation was observed, even though the most common bacteria found, both in unique growth as in association to other bacterias was of the genera Enterococcus, even after the second drainage on day 21, that was important given that it is considered to be beneficial, which supports the fact that in some treatments it is administered as a probiotic.

Interesting results in the ASD group were obtained, such as the relationship of color and consistency variables to bacterial growth; in point of fact, the consistency was a variable of statistical significance in the ASD group on day 1, reinforcing the idea that the consistency in ill individuals is an organoleptic characteristic that should no be ignored.

Some of the samples, a bacterial identification was conducted in an automated way to reach species level, giving as in result the identification of certain potentially zoo-tonic bacterias, such as Enterococcus faecalis, datum to take into account in the sanitary-hygienic prophylaxis.

1. Introducción

1.1. Los sacos anales

Los sacos anales, también denominados senos paraanales (Waibl *et al.*, 2012), son dos recesos glandulares ciegos en el perro, localizables caudal y lateralmente al recto, entre el esfínter muscular interno y el esfínter muscular externo del ano (Dyce *et al.*, 2012). Sin embargo, según la Nomenclatura Anatómica Veterinaria Ilustrada (NAVI), el saco anal es una bolsa cutánea lateral entre el canal anal y el músculo esfínter externo del ano (Waibl *et al.*, 2012).

Los sacos anales se estructuran como anejos cutáneos modificados (Fossum *et al.*, 2009), donde cada uno de los sacos posee un conducto que drena al exterior un fluido propio con un olor desagradable para el hombre, un color variable (de claro a oscuro) y una consistencia media (Baker 1962; Sisson *et al.*, 1998). Los conductos se abren al exterior por sendos poros, visibles dorsal y lateralmente a la rima anal, en la zona mucocutánea del epitelio del canal anal y su posición hacia el periné varía según el estado fisiológico del ano (Dyce *et al.*, 2012). El mal olor de sus secreciones es debido a varias sustancias volátiles presentes en ellas, como son ácidos de cadena corta y trimetilamina (Preti *et al.*, 1976). Los sacos anales aparecen en todos los carnívoros fisípedos excepto en los osos.

Se desconoce en qué momento evolutivo se especializaron estos recesos cutáneos y adquirieron la función de almacenar fluido. La principal función atribuida a los sacos anales es la de marcaje, como vesículas encargadas de almacenar un fluido singular, de fuerte olor y color castaño (Sisson *et al.*, 1998). El acto de marcaje en la especie canina está bien documentado, pero es de interés conocer el papel individual del fluido de los sacos anales en dicho acto, ya que existen otros fluidos como la orina que participan en el acto de marcaje (Peters y Mech 1975; Cafazzo *et al.*, 2012)

Debido a un desconocimiento de la estructura y anatomía de los sacos anales, existe la confusión de denominarlos como “glándulas anales”; para evitar dicha confusión, explicaremos que existen tres tipos de glándulas perianales (Gibson 2013):

- Glándulas anales.
- Glándulas circumanales.
- Glándulas de los senos paraanales.

Las glándulas anales y circumanales son susceptibles de sufrir procesos tumorales, aproximadamente según un estudio reciente, pueden albergar el 18% de los tumores de piel (McCourt *et al.*, 2018), normalmente son adenomas de glándulas hepatoideas, sin embargo, el tumor más frecuente en los sacos anales es el adenocarcinoma de las glándulas apocrinas (Jones *et al.*, 1997; Polton *et al.*, 2007)

Lo correcto es denominar a los sacos anales como senos paraanales, no como glándulas, aunque, en su pared y submucosa (tejido conectivo difuso del saco anal) existen multitud de glándulas, algunas sebáceas y numerosas de tipo apocrino, cuya función es la producción del fluido almacenado en los senos y que se explicarán en detalle en el capítulo 2 de la tesis. A pesar de que la denominación correcta sería precisamente la de senos paraanales, durante el resto de esta tesis doctoral nos referiremos a ellos como sacos anales, ya que es la nomenclatura más usada y fácil de reconocer.

Independientemente de la nomenclatura que se utilice, los sacos anales, siguen siendo unas estructuras que no se valoran en su totalidad, de forma ordinaria en la exploración clínica y en el manejo general del perro, ya que, generalmente, sólo se tienen en cuenta cuando hay sintomatología y aparece una patología o enfermedad del saco anal. Sólo se ha encontrado una publicación donde recomiendan palpar externamente los sacos anales en la exploración clínica general (Hutchinson y Robinson 1996).

Nuestra línea de investigación se centra en la idea de que es la ausencia de exploración y de vaciado periódico de los sacos anales, lo que

conlleva a la aparición de la enfermedad del saco anal (en adelante ESA), redundando en un detrimento del bienestar del perro, debido a la aparición de determinados síntomas característicos, bastante desagradables y potencialmente dañinos para el animal. Según una publicación relativamente reciente sobre prevalencias en determinadas razas caninas de motivo de visita a consulta en Reino Unido, una de las causas de visita clasificada como frecuente es precisamente la enfermedad del saco anal, sobre todo en la raza Cavalier King Charles Spaniel (Summers *et al.*, 2019).

A veces es difícil valorar la repercusión de una patología hasta que no se agrupan varios síntomas o determinadas conductas que reflejan un malestar de localización perineal, como ocurre en el caso de la enfermedad del saco anal; hasta que no aparecen síntomas muy evidentes, como hemorragia, fistulización o disquecia y cambios en su comportamiento, no se valoran clínicamente estas estructuras. El motivo parece radicar en que se ubican en una zona de exploración molesta y sensible para el perro y puede ser difícil su exploración clínica.

En la bibliografía de la medicina clínica del perro, de forma general, sólo se reportan casos de enfermedad de los sacos anales, pero no se incide sobre la prevención, más en concreto sobre la valoración que se puede realizar en cada perro en condiciones normales, es decir, en perros sin ESA. Lake, afirma que existen algunos artículos científicos sobre la enfermedad del saco anal del perro, pero ninguno hace hincapié en el aspecto de la secreción en un perro sano (Lake *et al.*, 2004). Por ello, a lo largo de esta memoria, dividida en 3 capítulos o estudios, se quiere destacar la importancia de conocer la morfología, histología, microbiología y el estado general de los sacos anales y del fluido almacenado, con el fin de prevenir la aparición de ESA y la impactación de los mismos.

Tan importante como la exploración y el conocimiento de los sacos anales, es observar y conocer la disposición e identificación en el perro de las aberturas o conductos donde drenan los sacos a ambos lados del ano, en la zona cutánea (Gibson 2013). El fluido almacenado en los sacos no es el producto del proceso de la digestión, aunque los perros liberan su contenido de forma pasiva, por compresión durante el proceso de

defecación del animal, sobre todo al final de dicho acto (Gázquez y Blanco 2004). Por similitud con otros carnívoros, también se acepta que el fluido liberado sirva para marcar el territorio, en este caso entonces, el vaciado no ocurriría sólo durante la defecación, sino también en ausencia de ella, debido a que también se contraerían la mayoría de los músculos implicados en dicho acto (Dyce *et al.*, 2012). Pese a ser unas estructuras que deberían de ser identificadas y valoradas “casi de manera obligada” en un protocolo de exploración clínica general, siguen sin ser evaluadas en la práctica clínica y sólo se tienen en cuenta en el momento que se desarrolla la patología (Canfield 2017).

Precisamente dicha enfermedad, es la patología más común que se puede instaurar en estas estructuras, estando relacionada, principalmente, con los cambios en la capacidad de vaciado del fluido almacenado en los sacos con normalidad (Morgan *et al.*, 2003). Actualmente, no se dispone todavía de datos concretos sobre las modificaciones que aparecen en el fluido almacenado para que se desarrolle esta enfermedad, pero según algunos autores, se establecen unas características generales macroscópicas y citológicas de un fluido normal que pueden usarse como referencia (Lake *et al.*, 2004). Según esta publicación, el color y la consistencia del fluido no son variables suficientes para diagnosticar la enfermedad del saco anal, de ahí la importancia de profundizar más en otros aspectos, como el estudio microbiológico que se lleva a cabo en uno de los capítulos de esta tesis. Según un autor, van Duijkeren (1995), las posibles diferencias observadas en cuanto al color y consistencia del fluido almacenado se deben a la actividad glandular que predomine, o apocrina o sebácea. Según la bibliografía, en las secreciones consideradas normales aparecen levaduras y bacterias como cocos y bacilos, pero no se puede determinar, como algo concluyente, que un gran número de bacterias por campo determine la enfermedad (Robson *et al.*, 2003).

1.2. La enfermedad del saco anal

Podríamos definirla como el conjunto de patologías más comunes que se desarrollan en los sacos anales, agrupando tres situaciones

posibles: retención prolongada del fluido dentro del saco, impactación y saculitis anal.

Algunos autores indican una evolución gradual, progresiva en la sintomatología, comenzando en la impactación, seguido de saculitis y formación de abscesos (Paterson 2016; Canfield 2017). La prevalencia de la enfermedad del saco anal es más elevada en el perro que en el gato y más prevalente también en perros de tamaño pequeño.

Una idea es que la retención del fluido comienza cuando su eliminación o drenaje no se produce de forma regular o bien la eliminación no se equipara a la producción; en la saculitis se aumenta la producción de fluido y pueden aparecer fístulas con infección (Fossum *et al.*, 2009). No existen estudios sobre el tiempo estimado de retención del fluido a partir del cual se produce la patología, ni tampoco que relacionen el incremento del tiempo de retención con cambios en las características organolépticas del fluido almacenado. La única investigación que relacionó el intervalo de drenaje iatrogénico en el perro y el aumento en la consistencia del fluido fue un estudio de los años 70 (Doty y Dumbar 1974).

La impactación supone ya una situación que requiere intervención veterinaria, ya que el fluido no puede drenarse, ocasionando una serie de síntomas en el perro que serán explicados posteriormente. Si dicha impactación progresa puede derivar en el último estatus o estadio de la ESA, que es la saculitis anal y/o formación de abscesos; actualmente está establecido que la prevalencia de la enfermedad del saco anal, la impactación, afecta a más del 12% de los perros (Ettinger y Feldman 2010). Halnan en 1976 realizó un experimento invasivo, donde, impidió el drenaje natural del fluido, cerrando de forma invasiva el por consiguiendo que el fluido cambiase sus propiedades, y se produjera la enfermedad del saco anal (Halnan 1976 c).

Según aparece en el libro *Small Animal Dermatology*, (Canfield 2017), el fluido almacenado en los sacos anales considerado como normal, tiene un color amarillento o marrón claro y es líquido. El fluido de un saco impactado es más oscuro y pastoso. En la saculitis anal, el material es

verdoso o verde amarillento y en el absceso del saco anal el contenido es rojizo y purulento, debido a los restos de sangre y derivados de la inflamación/actividad bacteriana. Evidentemente, la extracción y análisis del fluido no parece un buen método de diagnóstico por sí solo, pero sí que parece ayudar para identificar el estatus en el que el perro se encuentra. La impactación unilateral o bilateral del saco anal, asociada a procesos tumorales, especialmente adenocarcinomas, es una patología importante asociada a estos recesos cutáneos (Goldschmidt *et al.*, 1981; Williams *et al.*, 2003; Polton *et al.*, 2007). De forma singular, cabe comentar que existe mucha más investigación sobre los procesos tumorales asociados a los sacos que sobre la enfermedad de los sacos anales propiamente dicha.

1.2.1. Etiología

La enfermedad del saco anal se instaura cuando se dan heces de consistencia blanda, diarrea reciente, hipersecreción glandular e hipotonía muscular en perros de raza pequeña u obesos (Halnan 1976 b; Fawcett 2013). Dichas situaciones siempre cursan con un mal funcionamiento del esfínter anal, provocando una contracción muscular débil de dicho esfínter (Fossum *et al.*, 2009).

En el estatus de enfermedad del saco anal, no se compromete de forma grave la salud del perro, pero sí se deteriora el bienestar animal.

Como hemos comentado, se sospecha que la impactación es más frecuente en razas pequeñas (Nelson y Couto 2010) pero queda sin explicar el incremento en la tendencia en la impactación de los individuos de un tamaño pequeño respecto a otros tamaños superiores; una hipótesis puede estar basada en el tamaño y volumen del ducto excretor, del saco anal y del poro de salida.

La impactación del fluido de los sacos anales puede derivar en saculitis, que es la inflamación e infección posterior de los sacos, siendo esta patología de relativa incidencia en la clínica diaria. En la saculitis anal, la secreción de fluido aumenta, por lo que puede derivar en fistulizaciones y rotura del saco (Fossum *et al.*, 2009). El proceso inflamatorio se origina

en el mismo saco anal, por obstrucción del conducto excretor, infección bacteriana o ambos procesos a la vez (Ettinger y Feldman 2010). Dicha saculitis tiene una prevalencia mayor en perros de edad madura (Bonagura *et al.*, 2014). Los poros de salida del fluido son muy pequeños, por lo que cualquier irritación o inflamación del tejido anexo va a provocar su oclusión, almacenando así al fluido, que, cuanto más tiempo esté retenido, más tenderá a impactarse. Pueden coexistir la impactación y la saculitis, junto con una posible formación de absceso, al evolucionar en el tiempo a una infección o sobrepoblación bacteriana.

1.2.2. Diagnóstico

Cuando se instaura la enfermedad del saco anal, se observan signos de malestar en el perro, concretamente signos de lamido y automutilación del periné, signo del trineo (arrastre del periné con fricción del ano contra el suelo), tenesmo, disquecia y dermatitis piotraumática del periné. Si existen abscesos, también puede observarse eritema perineal, fistulización, inflamación y fiebre. Se debe incluir las fístulas anales en el diagnóstico diferencial de la saculitis ya que pueden producir una sintomatología regional de malestar y prurito muy similar (Stanley y Hauptman 2009).

Como diagnóstico inicial, se palpan ambos sacos, valorando la distensión y/o la intolerancia a la palpación. Seguidamente, se drena el contenido, encontrando según la bibliografía consultada una clasificación del fluido que suele aproximarse a la siguiente:

- Saco anal normal: contenido líquido, color pálido o amarillo dorado.
- Saco anal impactado: contenido grueso, viscoso, color oscuro.
- Saculitis anal: contenido cremoso, color amarillo o verde claro.
- Abscesos: contenido purulento, color marrón rojizo.

1.2.2.1. Diagnóstico diferencial.

Las principales patologías a descartar con la enfermedad del saco anal son: la neoplasia de los sacos anales, las fístulas perineales, la dermatitis atópica y determinadas parasitosis intestinales (teniasis), al

provocar todas ellas prurito y molestias locales en la región anal y perianal. La disquecia y el tenesmo también son síntomas comunes a los procesos de hernia perineal, forunculosis anal y tumores anales (Hall *et al.*, 2009).

Como hemos comentado, aunque la enfermedad del saco anal aglutina a la impactación y a la saculitis, se va a desarrollar y explicar de forma breve cada una de ellas.

1.3. La impactación

Cuando el fluido almacenado no es drenado de forma regular, de forma pasiva al defecar, (o de forma activa en el marcaje según una línea de nuestra investigación) se acumula, modificando sus características organolépticas y físicas, sobre todo la viscosidad, que aumenta, pudiendo causar de forma secundaria obstrucción del poro de salida y del ducto excretor, por acúmulo de detritus. Es un proceso con una prevalencia frecuente, según un estudio del año 2014 en perros atendidos en clínicas veterinarias del Reino Unido (O, Neill *et al.*, 2014). Como veremos en el apartado tratamiento, este estatus o estadio requiere ya el drenaje terapéutico (van Duijkeren 1995), aunque también se indica como terapia preventiva, de manejo, el aumento de fibra en la dieta, para provocar un aumento de volumen del bolo fecal que drene el fluido de forma pasiva (Beynen 2019).

Síntomas asociados:

Los signos de molestia que muestran los perros con signos de impactación de los sacos anales, y en general con presencia de ESA, se ven reflejados en determinadas reacciones del animal como la agresividad, que la manifiestan en forma de ladridos o incluso querer morder, nerviosismo o signos de dolor al explorar el periné y la región lumbosacra.

Estos perros, son difíciles de manipular en la exploración de la región afectada, siendo imprescindible la acción simultánea de dos veterinarios o el propietario y un veterinario; una sola persona no es capaz y requeriría la

sedación del animal. Al drenar manualmente los sacos haciendo presión con los dedos y salir el fluido al exterior, los síntomas asociados a la impactación se atenúan casi inmediatamente de manera que el tras el drenaje, estos perros ya toleran realizar una presión digital sobre el esfínter anal externo y sobre la zona sacrolumbar, ya que el dolor y los síntomas nerviosos asociados a esta presión disminuyen.

En la mayoría de los casos de impactación de los sacos anales, el perro muestra reticencias a la hora de defecar, debido al dolor o malestar perianal que padece, lo que secundariamente puede derivar en una mayor impactación al no drenar los sacos de forma pasiva con la defecación.

Una vez instaurada la impactación, el perro por sí solo no podrá solventar la impactación o revertir las características del fluido. La presión ejercida contra el suelo cuando el animal manifiesta síntomas (signo del trineo), y prurito local, no es suficiente para hacer drenar el fluido, siendo imprescindible el drenaje iatrogénico de los sacos.

1.4. La saculitis

Ocurre cuando existe una progresión en la impactación, apareciendo inflamación e infecciones secundarias, que pueden derivar en abscesos. El fluido almacenado cambia sus características, presentando a menudo restos de exudados purulentos y sangre, incrementando también el olor que pasa a ser fétido.

1.5. Causas de la impactación y/o saculitis

La etiología de la saculitis e impactación es multifactorial (Morgan *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2005; Ettinger y Feldman 2010). Junto a la causa anteriormente citada, se encuentran:

- Falta de ejercicio.
- Alteraciones funcionales del esfínter anal.
- Estenosis del conducto excretor.

- Secreción más espesa, con posible aumento en la viscosidad.
- Tono anal anormal.
- Estro reciente, en el caso de la hembra (Ettinger y Feldman 2010).
- Fístulas perianales.
- Dieta inapropiada, normalmente rica en grasa, factor desencadenante de heces blandas, etc. (Morgan *et al.*, 2003; Halnan 1976a).

La saculitis provoca una sintomatología característica en el animal afectado, existiendo siempre signos de malestar, a menudo con dolor e irritación en el área perineal (Baker 1962; Morgan *et al.*, 2003; Paterson 2016).

En este estudio profundizamos también en las causas de esta patología, a las que añadimos la más que probable causa anatómica, la estructura anatómica individual de cada perro, al tener:

-Conductos excretores estrechos en perros de tamaño pequeño, proporcionales a dicho tamaño pero que oponen una elevada resistencia al movimiento del fluido almacenado.

-Posición incorrecta de los poros en el ano (poros invaginados en el propio epitelio de revestimiento), asociada generalmente a un fenotipo racial determinado, que explicaremos posteriormente a lo largo de esta tesis tesis doctoral.

1.6. Síntomas de la impactación y/o saculitis

La sintomatología acontece como un cuadro progresivo desde que ésta se instaura, pudiendo aparecer:

- Dolor perianal.
- Intolerancia ante una presión en la región sacrolumbar.
- Lamido y/o mutilación del periné. Pueden verse a veces lesiones por lamido en la parte posterior del miembro pelviano, a nivel del glúteo, en ambos miembros pelvianos, ya que el perro no llega más caudal

con su boca, aunque quiera mutilarse el periné. Este síntoma es común a otras dermatosis peineales con presencia prurito, como es la dermatitis atópica, por lo que habrá que tenerlas en cuenta en el diagnóstico diferencial (Maina *et al.*, 2014).

- Fricción perineal, a menudo se observa el “signo del trineo” que consiste en que el perro arrastra por el suelo la región perineal, extendiendo los miembros pelvianos hacia delante, acción con un nombre propio en la literatura anglosajona, denominada scooting.
- Si existe saculitis o abscesos puede haber fiebre.
- Tenesmo.
- Disquecia. Incluso presencia de fluido sanguinolento en las heces.
- Puede aparecer secreción perianal, así como celulitis, incluso fistulización, en los casos de grave saculitis.
- Apatía, pudiendo derivar en anorexia.
- A todos estos síntomas, según observaciones del autor, podemos añadir que también es frecuente el observar la región coccígea de forma deprimida ventralmente. Los perros afectados de saculitis, de forma general, no levantan ni mueven normalmente dicha región.

En el caso de impactación de los sacos anales, se asocia una inflamación intensa alrededor de los sacos e incluso una posible fistulización (Ettinger y Feldman 2010).

1.7. Tratamiento

1.7.1. Impactación

Drenaje de los sacos: de aquí en adelante, a lo largo de esta tesis doctoral, lo denominaremos drenaje iatrogénico, ya que lo realiza el veterinario y no deja de ser una acción o injuria sobre el organismo que modificando el estado de una estructura vesicular. Si la secreción es muy espesa, es bueno instilar previamente una solución salina o aceite mineral

(Morgan *et al.*, 2003). También está indicado el irrigar los sacos, una vez canulados, con suero salino o soluciones de clorhexidina al 0.5% (Ettinger y Feldman 2010). Una vez drenados los sacos no es imprescindible el uso de antibioterapia (van Duijkeren 1995), aunque algunos clínicos implementan su uso.

1.7.2. Saculitis

Si es posible, drenaje del saco o sacos afectados (Halnan 1976d; Nelson y Couto 2010); en los sacos más severamente inflamados, puede que no sea posible drenar el fluido del saco afectado.

Administrar localmente soluciones de antibióticos y esteroides intrasaculares, si es necesario se administrarán de forma sistémica.

Colocar compresas calientes sobre el periné.

Saculectomía en caso de recidivas frecuentes (Downs *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 2003; Fossum *et al.*, 2009).

1.7.3. Abscesos

Drenaje del absceso, y además lo adecuado es efectuar toma de muestra del contenido para el posterior cultivo y antibiograma (Morgan *et al.*, 2003; Schaer 2006). De esa forma se elegirá la antibioterapia adecuada, sobre todo para luchar de forma efectiva frente a la bacteria implicada y evitar un uso inadecuado de los antibióticos.

También es conveniente irrigar el saco con soluciones antisépticas y aplicar compresas calientes sobre el ano para abrir el absceso.

Saculectomía si hay recidivas.

2. Justificación y Objetivos

La enfermedad del saco anal tiene una prevalencia media en la especie canina; pese a su frecuencia en la clínica diaria (O, Neill *et al.*, 2014), hay escasa bibliografía sobre los problemas subclínicos generados en el perro por el deficiente drenaje de los sacos anales (Bonagura *et al.*, 2010). Según dicha bibliografía, son necesarios criterios físicos, bioquímicos y anatómicos de los sacos anales y sus secreciones para comprender la enfermedad del saco anal (van Duijkeren 1995).

Posiblemente sea una patología cuya prevención y diagnóstico antes de un agravamiento en los síntomas que produce, esté siendo subestimada en la clínica de pequeños animales. De manera habitual, dentro del concepto de enfermedad del saco anal, se diagnostica de forma indiferente la retención de fluido, la impactación y sobre todo la saculitis anal; de forma general no es del todo equivocado, ya que los síntomas que refleja el perro a menudo son comunes, aunque como ya hemos explicado anteriormente, son situaciones o estadios clínicos distintos. La diferencia, con el diagnóstico, terapéutica y pronóstico, radica en el tipo de fluido almacenado en los sacos anales, con sus características intrínsecas, organolépticas y microbiológicas, ya que, como veremos a lo largo de esta tesis doctoral, dicho fluido puede ser un indicador objetivo del estadio de la enfermedad.

Un motivo por el cuál en la clínica no se conocen bien ni se reseñan en la anamnesis del paciente las características del fluido almacenado, es porque, de forma general, sólo se efectúan drenajes del fluido cuando está ya instaurada la patología, debido a que no está indicado el drenaje de los sacos anales en el protocolo habitual de exploración clínica del perro si no hay sospecha de enfermedad (Canfield 2017). Ahí parece radicar el error, ya que en ese momento el drenaje de los sacos será más complicado, puesto que el perro, de forma general, manifiesta una gran sensibilidad regional, lo que normalmente requiere sedación y/o anestesia para el drenaje adecuado. Por el contrario, se propone la idea de que efectuar un drenaje control en los perros con la enfermedad del saco anal no instaurada, puede dar mucha información sobre el tipo de extracción

realizada y sobre las características intrínsecas del fluido recolectado, clasificando el fluido según unos parámetros que se explicarán posteriormente. Esto permite conocer qué fluido es el considerado normal o no patológico en cada paciente, así como otros datos intrínsecos al perro, como son el tipo de conformación anatómica del periné que posee, la dificultad en la extracción y si lo consideramos en un futuro como un paciente propenso ante la enfermedad del saco anal, que requerirá controles o drenajes de los sacos de forma periódica. Por ejemplo, el hecho de poder relacionar variables como el tamaño del perro o el tipo de fluido almacenado con la enfermedad del saco anal, puede ser de gran ayuda clínica para poder anticiparnos a la enfermedad del saco anal.

De forma generalizada, a la hora de tratar la enfermedad del saco anal, se abusa de un protocolo clínico y terapéutico, que, por lo general, trata de forma indiferente la enfermedad, de manera global, es decir, de forma habitual, se trata de igual modo la impactación y la saculitis; sólo suele aplicarse antibioterapia parenteral cuando se agrava el cuadro clínico, es decir, en caso de saculitis más severas o fistulización con abscesos.

Por medio de la investigación realizada, muchos casos clínicos de impactación, algunos de ellos manifestando síntomas severos no requirieron el uso de antibióticos, ni tópicos ni parenterales, motivo a tener en cuenta sobre todo para racionalizar el uso de antibióticos.

Con la finalidad de comprender mejor las causas que intervienen en la instauración de la enfermedad del saco anal, se marcaron los siguientes objetivos en esta tesis doctoral:

- Hacer un estudio morfofuncional y anatómico con la finalidad de comprender mejor las causas que intervienen en los problemas derivados de un drenaje de fluido deficiente y poder predecir el comportamiento del fluido y su tendencia a acumularse, comprendiendo la génesis de la impactación desde la fluidodinámica.

- Hacer un estudio histológico de los sacos anales del perro, centrándonos en la distribución de las diferentes capas que aparecen, sobre todo a nivel glandular.

- Hacer un estudio microbiológico sobre las secreciones almacenadas en los sacos anales, para lograr una identificación bacteriana y su relación con algunas de sus características organolépticas.

CAPITULO 1

ANATOMIA DE LOS SACOS ANALES

1 Introducción

Los sacos anales del perro son unas estructuras anatómicas bien descritas y bien ubicadas como apunta la bibliografía y los manuales de Anatomía (Gibson *et al.*, 2013; Dyce *et al.*, 2012), pero en la exploración práctica del animal en la clínica, su localización es más dificultosa, debido a la proximidad del ano y al tono del esfínter anal próximo a los sacos.

La exploración clínico-anatómica por tanto, está siendo infravalorada en el protocolo clínico habitual, y prácticamente casi nunca se realiza. La explicación a esta ausencia de exploración puede ser la propia localización de los sacos, ya que abarca una zona sensible para el perro y que requiere de mucha paciencia y de un tiempo de exploración considerable. Además, la maniobra de drenaje siempre debe de ser llevada a cabo de una manera delicada y precisa o se podría dañar e irritar el tejido interno del saco, como apuntan algunos autores, que sólo recomiendan drenar cuando dan sintomatología de enfermedad del saco anal (Canfield *et al.*, 2017).

Pero sólo con localizar su ubicación no es suficiente para realizar un diagnóstico completo de la enfermedad del saco anal, como se ha comentado en la introducción general. Para solventar dicho problema, una vez localizados los sacos anales y sus orificios de salida, se debe de realizar un drenaje y vaciado manual completo del fluido almacenado; este paso es fundamental, para asegurarnos que podemos tener una muestra suficiente del contenido para analizarlo y además para mejorar el estado del animal.

En cualquier caso, el conocimiento anatómico exacto es un requerimiento previo a cualquier actuación sobre los sacos anales. Afortunadamente en la actualidad existen pruebas diagnósticas por imagen, como la radiografía de contraste, que ubican de forma más precisa los sacos anales como apunta la bibliografía (Jung *et al.*, 2016) donde se puede apreciar que los sacos anales son bastante simétricos en cada individuo y están situados en una ubicación ventrolateral al ano.

Cada saco anal es un reservorio que se prolonga con un conducto excretor hasta el poro de salida, estando toda su superficie interna recubierta de epitelio escamoso estratificado queratinizado como se describirá en detalle en el capítulo 2 de esta tesis. Como no existe una nomenclatura anatómica específica para dichos poros, de aquí en adelante, los denominaremos como poros de salida, ya que desembocan en una región anocutánea que se continúa con la piel, sin existir ningún tipo de esfínter. La posición exacta de los poros en el musculo esfínter externo del ano parece ser influyente para el drenaje del fluido almacenado y puede estar determinada por el estado fisiológico del ano (Dyce *et al.*, 2012).

En la práctica clínica nos encontramos con exploraciones diarias de animales de múltiples razas caninas con características anatómicas muy distintas y tamaños muy variables, lo que no facilita encontrar de manera correcta la posición de estos sacos y de su poro de salida.

Según Slatter, existen ciertas razas caninas, como el Pastor alemán (perro de tamaño grande), en las que se aprecia una variación anatómica particular como una mayor profundidad del saco anal que casi reposa sobre la pared del recto y que puede predisponer a la enfermedad del saco anal o exacerbar dicha enfermedad si ya se ha instaurado (Slatter 2003).

En cambio, en otras razas de perros de tamaño más pequeño, el problema que puede aparecer de forma más frecuente es la impactación de los sacos anales (Fossum *et al.*, 2009).

Para arrojar más luz sobre aspectos anatómicos y localizaciones precisas del saco anal y su forma de drenar en diferentes tamaños de perros y en determinadas situaciones fisiológicas o patológicas, se han marcado los siguientes objetivos.

2. Objetivos

Los principales objetivos planteados en este capítulo son:

- Describir de una manera detallada la anatomía y la fisiología de los sacos anales de manera acorde con la bibliografía existente y apoyándonos en la disección regional de algunos perros.
- Desarrollar una modelización de los sacos anales a partir de cadáveres en perros de diferentes tamaños para detallar aspectos como su localización, sus dimensiones o la posición de los poros mediante mediciones.
- Analizar si determinadas patologías, estados del animal o conformación anatómica afectan al modo de drenaje del contenido del saco y repercuten en una alteración de su fisiología.

3. Material y métodos

3.1. Características anatómicas de los sacos anales: bibliografía vs observación clínica

Los manuales más importantes de Anatomía ilustran de una manera bastante breve las características anatómicas de los sacos anales (Habel 1988; Dyce *et al.*, 2012; Gibson *et al.*, 2013; Jung *et al.*, 2016). No obstante, gracias a esta información podemos describir sus principales características anatómicas y sus relaciones, algunas de las cuales se muestran en las figuras 1 y 2.

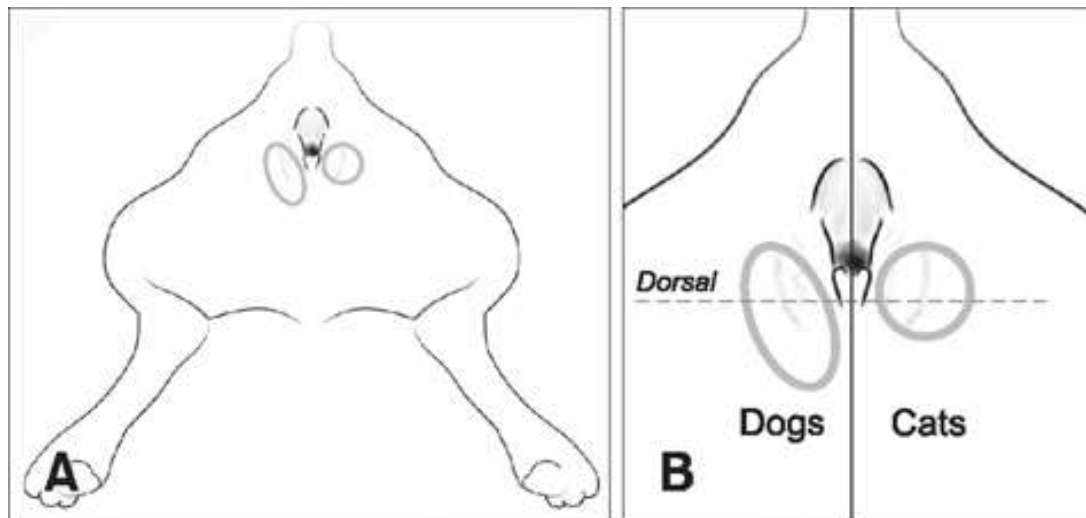


Figura 1. Localización de los sacos anales en carnívoros, modificado de Jung *et al.*, 2016.

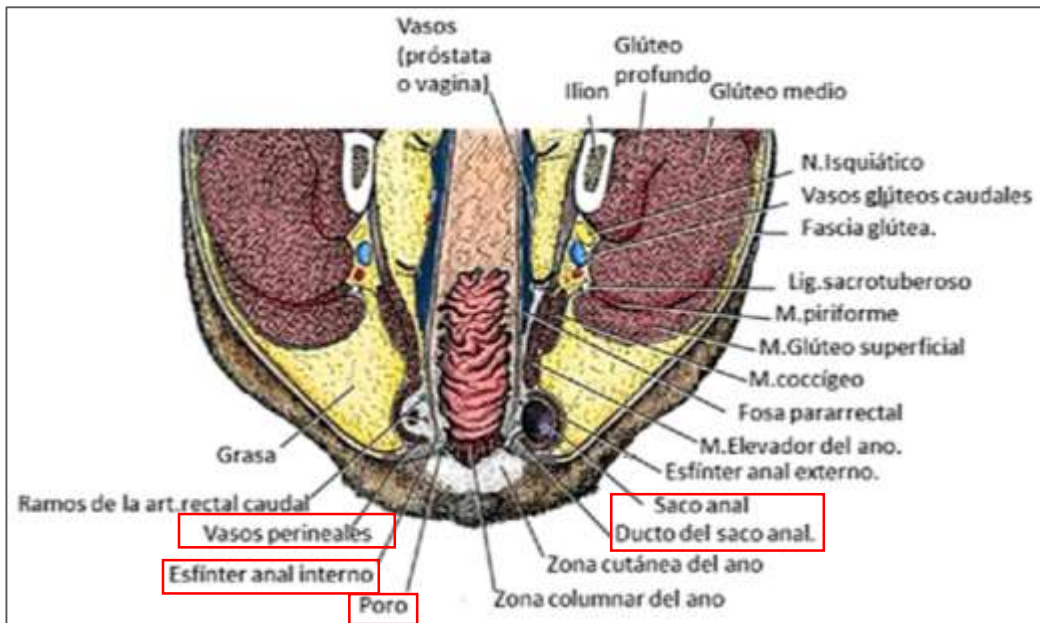


Figura 2. Localización de los sacos anales y sus relaciones anatómicas en el perro. Modificado de Miller's Anatomy of the dog (Gibson *et al.*, 2013).

La bibliografía describe los sacos anales como dos vesículas pares de un tamaño variable que terminan en un ducto de unos 5 mm de longitud y 2 mm de diámetro, localizados entre el esfínter anal interno y externo. Contienen en su interior un fluido que es producido por las glándulas presentes en la pared y que en algunas ocasiones puede acumularse de manera patológica con una importancia clínica considerable. Entre sus funciones destaca la de marcaje territorial (Gibson *et al.*, 2013). Su vascularización e innervación corre a cargo del paquete vasculonervioso pudiendo interno; el nervio, cerca del ano, se ramifica en el nervio rectal caudal, (inerva al músculo esfínter externo del ano), el nervio perineal superficial (inerva la piel de la región del periné), y el nervio perineal profundo (se dirige a los músculos perineales).

Algunos autores han utilizado también herramientas diagnósticas por imagen, para localizar y detallar las características anatómicas y la correcta localización de los sacos anales, como podemos observar en la figura 3, donde se aprecian imágenes radiológicas con y sin contraste de un mismo perro, observando unas estructuras de forma oval o esférica y con una aparente simetría.

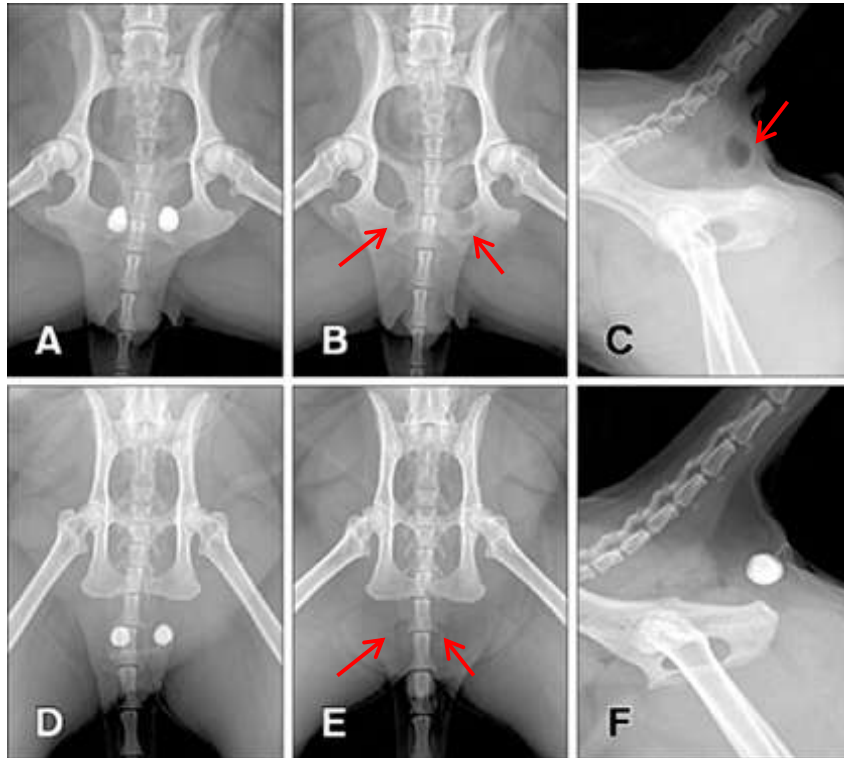


Figura 3. Radiografía para la localización de los sacos anales del perro sin contraste (B, C y E; flecha roja indica posición) y tras la inyección de un medio de contraste local (A, D y F). Modificado de Jung *et al.*, 2016.

Sin embargo, poca información se ha encontrado en la bibliografía sobre la localización de los sacos anales y su forma de drenar al exterior en algunas razas “más atípicas” donde la posición de estructuras cercanas a la región anal, como la cola del animal pueden alterar la posición del saco y la función de drenaje del fluido.

Para analizar esta posible relación, se analizaron en detalle mediante exploración clínica y fotografía de la zona del saco anal diferentes animales de razas con una conformación anatómica que se considera propensa a la enfermedad del saco anal según la Federación Cinológica Internacional (FCI). A continuación se enumeran algunas de estas razas y el número de animales analizados:

- Bulldog: engloba al American bulldog, Australian bulldog, French bulldog y Olde english bulldogge (n=6).
- Pit bull terrier: hipertrofia muscular del tercio posterior (n=4).
- Staffordshire bull y terrier: estructura molosoide (n=5).

3.2. Características anatómicas mediante disección regional

Para este estudio, se han utilizado 3 cadáveres de perros de tamaño medio (15 a 25 kilos), con el fin de comprobar las relaciones de los sacos anales con sus estructuras anexas e investigar si vascularización e inervación estaba compartida con la del periné o era diferente. Los cadáveres empleados fueron algunos de los usados en prácticas en la asignatura de Anatomía en la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, antes de ser fijados con formol y por tanto, no fueron sacrificados explícitamente para llevar a cabo este trabajo,

Antes de comenzar con la disección de los sacos anales, éstos se canularon y sondaron para valorar la situación, profundidad y dirección de ambos sacos y sus conductos entre los dos esfínteres, y para facilitar la disección regional. El uso de una guía metálica de bordes romos facilitó la entrada a los mismos y su disección sin dañarlos. Durante la canulación fue habitual, que el fluido de consistencia líquida fluyera al exterior por falta de tono en el animal. Tras identificar e individualizar la región anal, se procedió a disecar la zona desde el poro de salida del saco hasta llegar al lumen y al fondo del saco anal siguiendo las referencias anatómicas encontradas en la bibliografía.

3.3. Modelización de los sacos anales

La posibilidad de modelizar una estructura anatómica siempre es interesante, aunque en el caso de los sacos anales puede resultar algo complicado debido a la variación individual. El objetivo marcado en este apartado fue elaborar medias aritméticas, de las dimensiones del saco tomadas desde el poro excretor hasta el fondo del saco en animales de diferentes tamaños y obtener también medidas del ángulo de inclinación de salida del conducto excretor respecto a la posición del esfínter anal externo.

Para este propósito se utilizaron 12 cadáveres de perros de distinto sexo y tamaño obtenidos del mismo modo que en el epígrafe 3.2.

La distribución de los 12 perros por tamaño y sexo se resume en la Tabla 1. El tamaño de los animales se calculó por el peso y comprendió unos valores entre 10 y 40 kg. En cada animal se midió su longitud (desde la cabeza al periné) y su altura (hasta a la cruz).

También se valoró el estado del ano, la integridad del esfínter anal y la posición de salida de los poros tras ser localizados y sondados con una guía semirrígida (Fig. 5). Asimismo, se tomaron medidas desde el orificio de salida hasta el fondo del saco.

Tabla 1. Distribución de los perros del estudio de modelización en grupos según su tamaño y sexo

Tamaño	Machos	Hembras
Mediano Hasta 15 kilos	0	1
Grande De 16 a 25 kilos	3	5
Muy grande Más de 25 kilos	1	2

Para valorar el ángulo de salida del conducto excretor al exterior, se intentó una aproximación a un modelo anatómico que sirviera de referencia para ubicar los sacos anales y el drenaje de los mismos. Para realizar la medida del ángulo de salida del conducto excretor, se simuló la analogía entre el ano y una circunferencia dividida en grados sexagesimales, basada en un reloj analógico, con sus divisiones horarias (Fig.4), donde 180° corresponden a la manecilla pequeña de dicho reloj a las 9:00 horas, 270° a las 6:00 horas, 90° a las 12:00 horas y finalmente 0° o 360° a las 3:00 horas. De este modo, pequeñas variaciones obtenidas en la dirección de los sacos han podido ser representadas de forma gráfica.

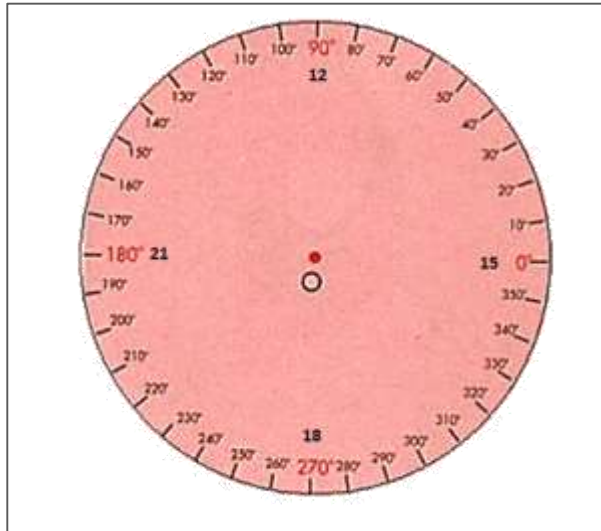


Figura 4. Circunferencia en grados, basada en la imagen de un reloj analógico para establecer la comparación con el esfínter anal y medir el ángulo de entrada de la sonda

Antes de introducir la sonda el escaso líquido remanente fue eliminado y a continuación, y de forma independiente para cada conducto se introdujo la guía/sonda hasta llegar al fondo del saco. Tras sacarla, se procedió a medir la longitud (línea azul; Fig. 6).



Figura 5. Saco anal izquierdo canulado con sonda para medición de la profundidad del saco

3.4. Fisiología de los sacos anales y drenaje del fluido según la bibliografía

Como se ha comentado en el apartado de las características anatómicas, la salida del conducto del saco anal carece de esfínteres propios por lo que va a depender de las contracciones que se produzcan en el ano. Cuando las heces pasan hacia el recto, concretamente a nivel de la ampolla rectal, se produce la relajación del esfínter anal interno (Shafik *et al.*, 2003; Matsufuji y Yokoyama 2003), acompañándose de contracciones peristálticas del recto en sentido craneocaudal y a continuación una estimulación o contracción voluntaria del esfínter anal externo; todo ello determina una acción fisiológica y coordinada que manda una necesidad de defecar, produciendo de forma posterior la relajación del esfínter anal externo, lo que permite expulsar dichas heces al exterior. La relajación del esfínter anal interno y las contracciones peristálticas constituyen un acto involuntario que se denomina reflejo rectoesfintérico. Estas contracciones peristálticas están controladas por el sistema nervioso autónomo, a través de los nervios pélvicos, ubicados en la pelvis y el periné, estimulando las contracciones peristálticas y relajando el esfínter anal interno primero (sistema nervioso parasimpático; SNP) para acto seguido contraer voluntariamente el esfínter anal externo, (inervación somática procedente del nervio pudendo), originando en el perro la necesidad de defecar y finalmente cuando éste se relaja, provoca la expulsión al exterior del bolo fecal. La contracción del ano también es controlada por el sistema nervioso simpático, ubicado a nivel lumbar, a través de los nervios hipogástricos, cuyo estímulo es el responsable de mantener el tono anal (Mizutani *et al.*, 1992; Cunningham y Klein 2014). Vemos por tanto que el proceso de defecación tiene tanto un control involuntario como una pequeña parte de control voluntario y consciente (Duke *et al.*, 1993). Resumiendo, se observa que el esfínter anal lo componen dos músculos sometidos a distinto control nervioso:

- Esfínter anal interno, sometido al control del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático). El simpático estimula su contracción, favoreciendo la continencia y el parasimpático estimula su relajación, provocando la defecación.

- Esfínter anal externo, sometido a control por parte del sistema nervioso somático, dando al individuo un control voluntario del ano, pudiendo gracias a ello ser detenida la defecación en perros adiestrados (Cunningham y Klein, 2014).

En relación a la continencia fecal, dentro del papel de los esfínteres anales, es el esfínter anal interno el que más contribuye (Ohama *et al.*, 1990; Mizutani *et al.*, 1992; Cunningham y Klein 2014).

Sin embargo, pese a todo lo documentado sobre el control neurológico de la defecación, no se encuentran referencias en la bibliografía que detallen qué ocurre en concreto con el fluido almacenado en los sacos anales cuando se produce la defecación. Sí que está documentado que los perros liberan el contenido almacenado en los sacos en el acto de defecar, lubricando parcialmente las heces (Monet 1933), pero carecemos de una explicación acorde a la fisiología y sobre todo en relación a la fluidodinámica que aclare dicha carencia.

3.5. Estudio anatómico y fisiológico en perros con diferentes estados y patologías que implican a los sacos anales

3.5.1. Perros con afectación neurológica

Para comprobar si anomalías neurológicas a nivel medular podían afectar a anomalías anatómicas y fisiológicas en la zona del saco anal, se procedieron a estudiar 3 casos de la clínica veterinaria Cifuentes (Fuentes de Ebro, Zaragoza). De los tres animales, dos tenían síntomas neurológicos agudos debido a un trauma por impacto de un vehículo y el otro presentó síntomas crónicos por una anomalía neurológica crónica, desarrollada en el periodo fetal.

Los datos de los animales, así como la clínica que presentaban en el momento de llegar a la clínica, se resumen y detallan en la tabla 2.

Para evaluar y clasificar el trauma, medular agudo, se tomaron imágenes de la región anal y una radiografía de proyección latero - lateral. En los 3 animales se realizó un examen neurológico completo detallado en el Anexo II de esta Tesis.

Todas las maniobras se realizaron siempre con el consentimiento del propietario y sin aplicar sedación.

Tabla 2. Reseña y anamnesis de los tres casos estudiados con daño neurológico

	Raza y edad	Síntomas	Examen general
Caso 1	Perra mestiza 10 meses	Parálisis no ambulatoria por atropello	Letargia, parálisis tercio posterior Taquicardia/taquipnea
Caso 2	Perro mestizo 10 meses	Parálisis no ambulatoria por atropello	Agitación y confusión Taquicardia/taquipnea Schiff-Sherrington miembros torácicos
Caso 3	Perro mestizo 8 meses	Disuria crónica Plejía tercio posterior	Animal consciente, actitud normal

Algunos autores plantean que, de forma inmediata tras un daño medular, pueden aparecer otros signos neurológicos que lleven a un diagnóstico erróneo del daño neurológico real (Jeffery 2010), como es la pérdida del reflejo anal. Por eso la importancia de realizar una radiografía y un seguimiento clínico de los pacientes en el tiempo con una o varias repeticiones de la exploración neurológica, en función de la evolución del paciente.

3.5.2. Perros bajo sedación profunda o anestesia general

Se realizó también un estudio para evaluar el tono anal y la posición de los poros de salida de los sacos anales en 3 perros con diferentes grados de sedación, para ver también cómo afectaba este estado al estado del saco mediante imágenes fotográficas tomadas en la región anal durante la cirugía.

Las características de los animales estudiados y del tipo de anestesia se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Características de los perros del estudio sobre el efecto de la anestesia en los sacos anales

Raza	Sexo	Edad (años)	Tipo de cirugía	Tipo de sedación
Turco andaluz	H	6	Histerectomía	Sedación profunda
Pastor alemán	H	10	Prolapso de vulva	Anestesia general inhalatoria
Mestizo	M	4	Rotura de lig. cruzado	Anestesia general inhalatoria

Tanto las cirugías como este estudio se realizaron en la clínica nombrada anteriormente, con el consentimiento informado de los propietarios y las imágenes fotográficas de la región anal fueron realizadas en el quirófono en el primer caso y ya en el quirófono en los dos últimos casos descritos.

3.5.3. Otros mecanismos de drenaje del fluido del saco

Con el fin de describir otras situaciones que en el perro pudieran cursar con una liberación involuntaria del fluido almacenado en los sacos, se plantearon dos escenarios distintos, uno, en el curso de una exploración del perro en la clínica, donde pudiera desencadenarse el reflejo de amenaza o situación amenazante para el animal y, otro en el exterior, para confirmar la sospecha de que durante el marcaje canino pudiera evacuarse también un determinado volumen de líquido contenido en el saco anal. Este “estudio” fue un ejercicio de observación en un pequeño número de animales, eligiendo por una parte la visita a la clínica como factor que produce un cierto estrés o miedo en determinados perros y por otra parte durante el paseo en el exterior para comprobar la posible evacuación del fluido durante el marcaje.

Se describen a continuación los escenarios comentados.

3.5.3.1. Perros con estado de miedo o reflejo de huida

El manejo de un animal cuando llega a la consulta veterinaria puede producir un estado de estrés y miedo debido a diferentes factores novedosos para el animal (altura de la mesa de exploración, superficie de acero de la mesa fría y deslizante, la manipulación del veterinario o todo en conjunto) que puede hacer que aparezca el reflejo de huida o amenaza debido al miedo (Duke *et al.*, 1993). Este estado a veces se ve reflejado en la relajación de algunos esfínteres y tal vez esto pueda afectar también al vaciado de los sacos anales.

Con el fin de ver estos procesos con más detalle, se han estudiado 2 perros, machos sin castrar, uno mestizo de tamaño medio y 6 años de edad y el otro de raza Pastor belga, tamaño grande y 8 años de edad. Dichos perros acudieron a la clínica para ser explorados. En ellos se realizaron siempre el mismo tipo de maniobra de manejo que consistió en subirlos manualmente a la mesa de exploración, siempre por el mismo veterinario y en las mismas condiciones de iluminación, ruido etc. y observar si se producía este reflejo de huida y a qué partes anatómicas relacionadas con los sacos anales afectaba.

3.5.3.2. Estudio de la eliminación de fluido en el marcaje activo

En este estudio se planteó cómo podía influir el hábito del marcaje activo y frecuente mediante micción con poco volumen de orina (independiente de una necesidad fisiológica), en la eliminación, de forma indirecta, del fluido de los sacos anales debido a la presión abdominal y perineal ejercida.

Este tipo de estudio no es fácil de realizar ya que requiere de mucha paciencia y colaboración por parte del animal por eso tan sólo se ha podido llevar a cabo en 2 hembras de raza Perro lobo cántabro y Bodeguero andaluz respectivamente, ambas de seis años de edad.

4 Resultados

4.1. Posición y características anatómicas de los sacos anales: bibliografía vs observación clínica

La ubicación de los sacos anales, a ambos lados del ano, está bien descrita en la bibliografía, aunque según hemos podido observar a lo largo de este estudio, la posición anatómica de los sacos anales no es totalmente simétrica. Conocer este dato tiene un interés clínico a la hora de detectar cualquier patología en ellos o simplemente valorar clínicamente su estado. Para establecer dicha localización, sirve como referencia el ubicar a un lado del ano uno de los sacos y poder palpar el contralateral.

Tampoco se hacen eco los libros y las referencias consultadas sobre las posibles diferencias que pueden encontrarse entre los sacos y su relación con otras estructuras adyacentes en las múltiples razas y conformaciones de perro que existen. Por ejemplo, la disposición anatómica del ano sobre el periné puede ser un parámetro determinante a la hora de imposibilitar un correcto drenaje del contenido del saco al exterior aumentando la posibilidad de-impactación de los sacos anales.

En nuestro pequeño estudio, tras la valoración de 15 animales pertenecientes a razas calificadas como propensas (apartado material y métodos de este capítulo), se observó en todos ellos (100%), una disposición particular del ano, algo invaginado en el periné, provocando que los poros de salida de los conductos de los sacos anales estuviesen también invaginados y dirigidos al canal anal en lugar de al exterior.

En concreto, en la conformación anatómica, del grupo Bulldog, la región coccígea a menudo oprime el ano (rabo tirabuzón; Fig. 6), favoreciendo la aparición y desarrollo de enfermedad de saco anal (ESA), debido al elevado grado de dificultad para drenar de un modo iatrogénico los sacos, ya que un drenaje pasivo, es muy improbable.

En adelante denominaremos de manera general a dicho fenotipo racial como “fenotipo propenso”.

En otros grupos lo que se observa es que el ano está más introducido o invaginado de lo habitual en el periné, como consecuencia los poros de salida, en los que desembocan los ductos excretores de los sacos anales, quedan ocultos, invaginados hacia el interior, haciendo que el drenaje del fluido de los sacos sea más dificultoso (Figs.6 y 7).

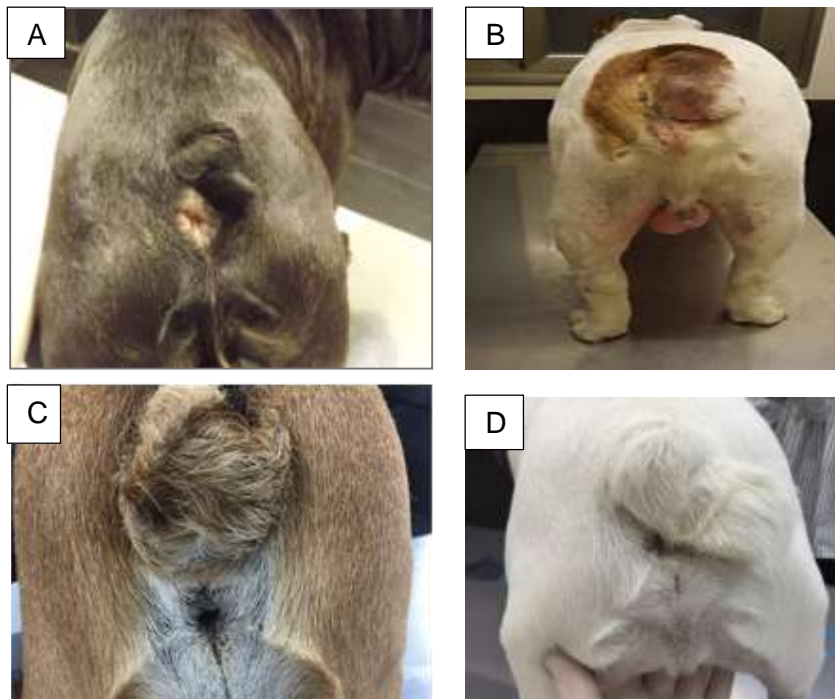


Figura 6. A-B “Rabo en tirabuzón” en dos machos Bulldog francés. Nótese la ausencia de ventilación anal. C y D- Rabo en tirabuzón en dos machos de la raza Bulldog inglés. Nótese la invaginación del ano, con los poros de salida de los sacos anales ocultos.

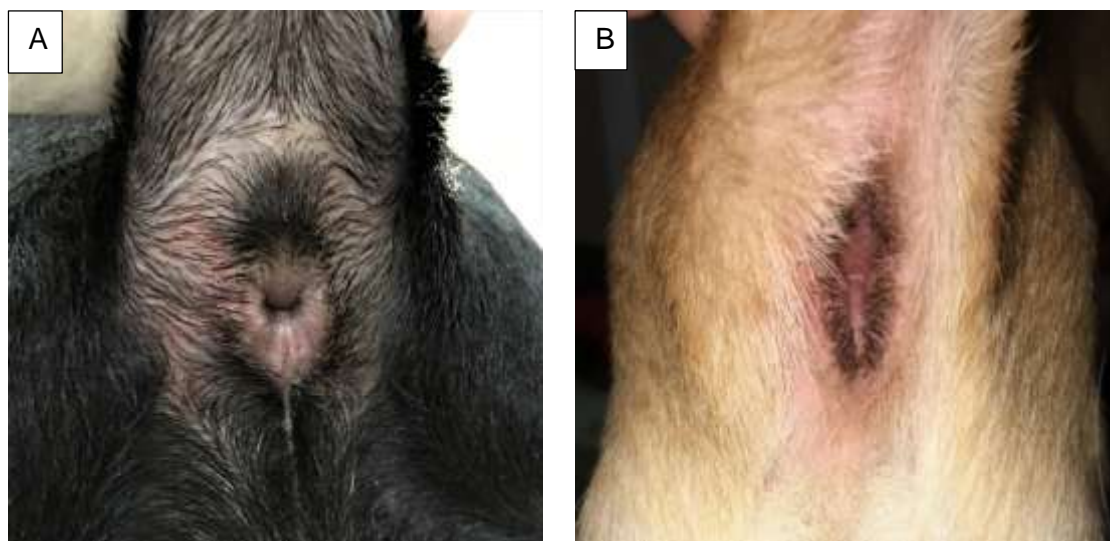


Figura 7. A- Perro de raza Staffordshire bull and terrier. B- Perro de raza Chihuahua, ambos muestran el ano invaginado hacia el interior

En estos perros, además de la probable invaginación de los poros, la presión realizada por la región coccígea sobre la región anal conduce a una sintomatología clínica específica, que se observa al realizar la exploración general como una intolerancia y malestar en el perro ante una presión en el periné por parte del veterinario, aunque sea una presión mínima lo que dificulta el drenaje iatrogénico.

Otro hallazgo encontrado en algunos de estos animales es una dermatitis crónica perianal y prurito local en el periné que, por extensión, también afecta al esfínter externo del ano, pudiendo inflamarse hasta llegar a la estenosis y oclusión total de los poros de salida, lo que de forma conjunta redundaría en un drenaje complicado.

A modo de resumen, en los perros con estas particularidades anatómicas observadas, la tendencia a la impactación y posterior avance en la enfermedad del saco anal puede ser mayor y sería interesante ver reflejado esta información en los manuales clínicos.

4.2. Estudio anatómico. Disección Regional

Siguiendo los planos y estructuras anatómicas publicadas por varios autores (Habel 1988; Gibson *et al.*, 2013; Jung *et al.*, 2016) se consiguió una correcta disección de los sacos anales. A través de las figuras 8-11, se muestran imágenes de las diferentes estructuras localizadas y disecadas.

Como resultados más destacados de la inervación de los sacos es que se observaron fibras nerviosas del primero y segundo nervios espinales coccígeos y del nervio pudendo, aunque no se dispone de una imagen de calidad. Destaca por tanto la relación del control nervioso de los sacos anales con el control neurológico sobre el ano, ya que, como hemos comentado, la inervación que llega a los sacos anales es la misma que la de la región anal, teniendo por una parte una inervación autónoma y por otra una inervación somática.

Esto implica que cualquier lesión que afecte a estos nervios redundará en el tono anal y por consiguiente en la fisiología de los sacos anales.

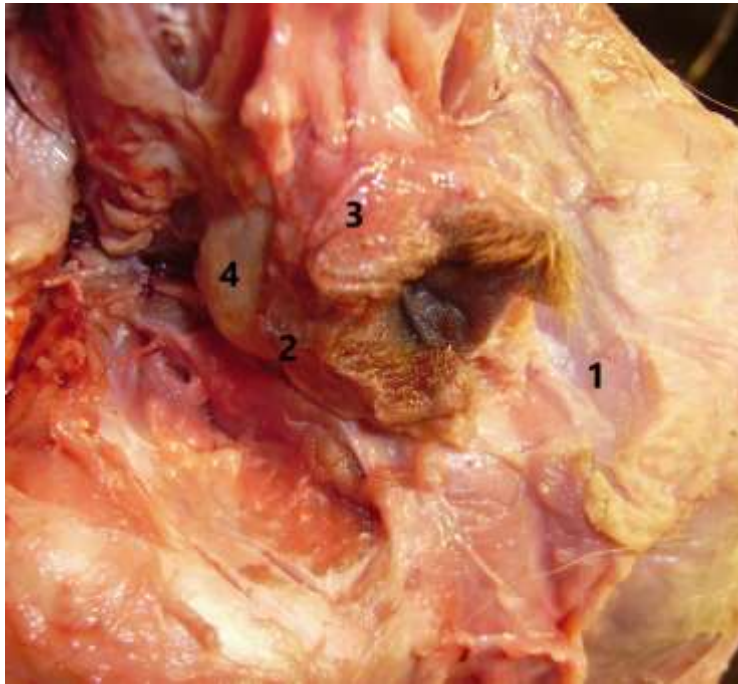


Figura 8. Estructuras que se aprecian tras levantar la piel del periné y región anal: 1-Subcutáneo infiltrado en tejido adiposo 2-Esfínter anal externo 3- Ano 4-Saco anal izquierdo.

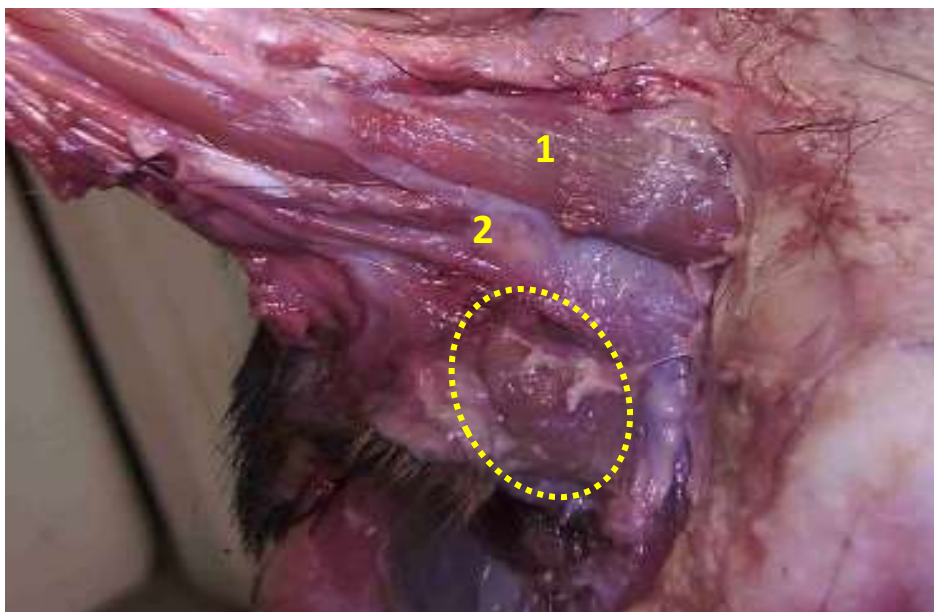


Figura 9. Relieve del saco anal derecho en el esfínter anal externo y disección regional mostrando la musculatura anexa al saco anal. 1. Músculo coccígeo; 2. Músculo elevador del ano

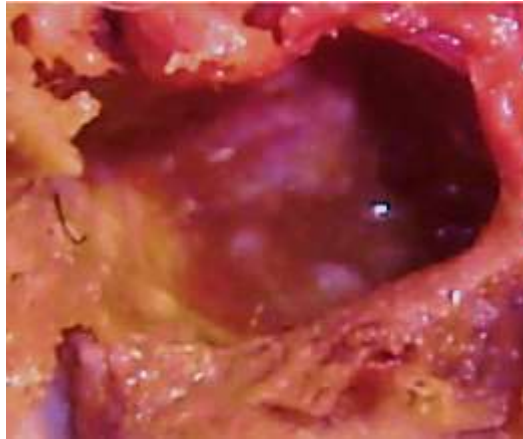


Figura 10. Sección transversal de un saco anal, con fluido almacenado de baja viscosidad (consistencia líquida)



Figura 11. Paquete vasculonervioso pudendo interno. La flecha azul señala el esfínter anal

4.3. Localización, posición y modelización de los sacos

En la tabla 5 se resumen las medidas obtenidas y la orientación de los sacos en los perros estudiados en este estudio.

Tabla 5. Medidas morfométricas del perro y de sus sacos anales

Perro	L (cm)	h (cm)	Sexo	Saco izdo. h/º	Saco dcho. h/º	Fondo izdo. (mm)	Fondo dcho. (mm)
1	84	55	H	21:00 h – 180º	16:00 h - 330º	18,5	19
2	82	53	H	20:55 h – 185º	16:00 h - 330º	17	20
3	85	59	H	20:55 h – 185º	16:00 h – 330º	15	12
4	89	62	H	20:30 h – 190º	16:00 h – 330º	22	25
5	84	55	H	20:15 h – 200º	15:30 h 340 º	16	17
6	90	59	H	20:55 h – 185º	15:15 h – 350º	16	19
7	98	64	H	20:55 h – 185º	15:15 h – 350º	20	28
8	75	52	H	20:55 h – 185º	15:15 h – 350º	15	14
9	85	64	M	20:30 h – 190º	16:00 h – 330º	24	22
10	89	64	M	20:55 h – 185º	15:15 h – 350º	22,5	21,5
11	81	54	M	20:30 h – 190º	15:30 h – 320º	17	17
12	90	64	M	20:55 h – 185º	15:15 h – 350º	26	21,5

Las longitudes de los animales estudiados fueron muy parecidas lo que da idea de la homogeneidad de los animales elegidos, ya que osciló entre 75 y 98 cm pero el 75 % de los animales estuvo en el ratio 89-90 cm. La altura de los animales también fue bastante homogénea entre 52 y 64 cm. La media de la medida de la profundidad del saco izquierdo fue de 19,1 mm (oscilaron entre 15 y 26 mm) y la del derecho de 19,7 (oscilaron entre 12 y 28 mm). En cuanto a la posición de la dirección del conducto excretor según los grados/horas, la media de los valores encontrados ubicó el saco anal izquierdo en una media de 187,5º y al derecho a los 338,3º, correspondientes a las posiciones horarias (8:43 y 4:55 respectivamente; Fig. 12).

Con las medias obtenidas de las medidas de profundidad y orientación de los sacos, no sólo se ha simulado de forma aproximada su localización, sino que una vez más se ha visto a ausencia de simetría, algo que no apuntan los manuales de Anatomía.

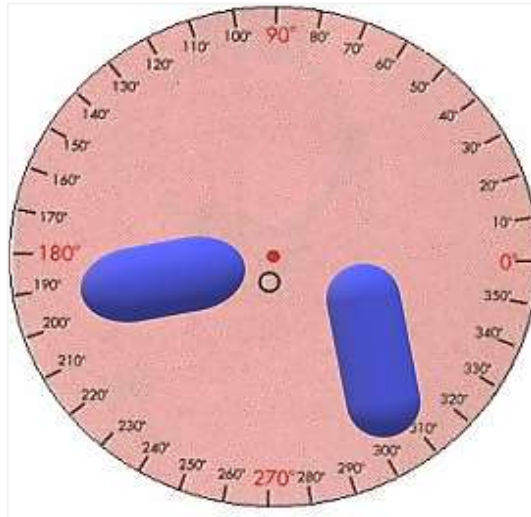


Figura 12. Posiciones y medidas más repetidas para la localización de los conductos excretores de los sacos anales según la posición horaria de la manecilla pequeña de las 8:43 (izdo) y 4:55 (dcho), respectivamente.

4.4. Fisiología del fluido y las formas de eliminar

La consistencia del fluido almacenado en el saco anal influye de manera determinante en la evacuación del fluido al exterior a través del poro de salida. Cuando el fluido almacenado no es drenado de forma regular, de forma pasiva al defecar y de manera ocasional en el reflejo de huida o amenaza, éste se acumula, modificando sus características organolépticas y físicas, sobre todo el aumento en la viscosidad (Fig.13), pudiendo causar de forma secundaria obstrucción del poro de salida y del ducto excretor, por acúmulo de detritus. El fluido almacenado en algunos casos de impactación se asemeja al contenido de un quiste folicular, y el drenaje se realiza mediante una maniobra de presión manual de fuerza continua, de dentro hacia afuera (Anexo III), hasta que se logra ir drenando el contenido. Esta presión por sí sola no la puede realizar la compresión del bolo fecal, debido a que la fuerza de arrastre no alcanza el valor suficiente, incluso aunque sean heces desecadas con alto porcentaje de fibra, deshidratación y consistencia. Una vez se produce la impactación ya es una situación irreversible, ya que el fluido no se rehidrata ni se renueva, no volviendo a ser menos viscoso, lo que hace inevitable el drenaje iatrogénico del fluido (Figs. 16 y 17).



Figura 13. Fluido drenado de modo iatrogénico, con consistencia pastosa. Nótese que el fluido no fluye acorde a la ley de la gravedad desde el vaso de precipitados.



Figura 14. Fluido drenado de modo iatrogénico, con consistencia pastosa. Estadío de impactación dentro de ESA.

Fluidodinámica y reología del fluido almacenado en los sacos anales

Entendemos por fluidodinámica la rama de la mecánica de fluidos que estudia el movimiento de líquidos y gases. Específicamente, la reología, como parte de la fluidodinámica, aporta los conocimientos sobre la relación entre las fuerzas que se ejercen sobre un material fluido y las deformaciones (lineales o angulares) que éste experimenta durante su movimiento.

Para producir la contracción del esfínter anal interno (EAI) que moviliza el fluido al exterior, parecen contribuir las fibras elásticas presentes en el ducto excretor del saco anal, (la porción caudomedial del saco es la que queda contigua al esfínter; Salazar *et al.*, 1996, Stefanov *et al.*, 2008, capítulo 2 de esta tesis y Fig. 16). Para poder movilizar dicho fluido, a priori la fuerza producida por dicho esfínter ha de ser elevada, secundaria e inducida por la presión producida por el bolo fecal en su tránsito en sentido cráneo caudal a través del canal anal.

Fluidos con consistencia líquida o menor viscosidad, sí pueden ser eliminados al exterior de forma pasiva e involuntaria, en la defecación y en el reflejo de huida o amenaza, pero fluidos con consistencia tipificada como pastosa y sólida (Figs.13 y 14), lo tienen extremadamente difícil, debido a las leyes físicas que rigen la fluidodinámica (Krokida *et al.*, 2001; Pozrikidis 2001), y tendrán que drenarse de forma iatrogénica, mediante la maniobra habitual o la maniobra de drenaje para fluidos impactados (Figs. 16 y 17).

Y es que si disminuye la intensidad de las fuerzas que actúan, sobre los sacos anales y sobre estructuras anexas se puede llegar a la impactación. Esta situación se produce en situaciones donde aparecen heces de consistencia blanda, diarrea reciente, hipersecreción glandular e hipotonía muscular en perros de raza pequeña u obesos (Halnan 1976 a; Carlotti y López 1993; Fawcet 2013).

Resumiendo, en situaciones fisiológicas, al llegar las heces a la ampolla rectal y canal anal, las presiones ejercidas sobre la pared muscular del recto contraen las paredes de los sacos y por consiguiente hacen movilizar el fluido hacia el poro de salida de los sacos, ubicados en la piel del ano (Fig. 15).

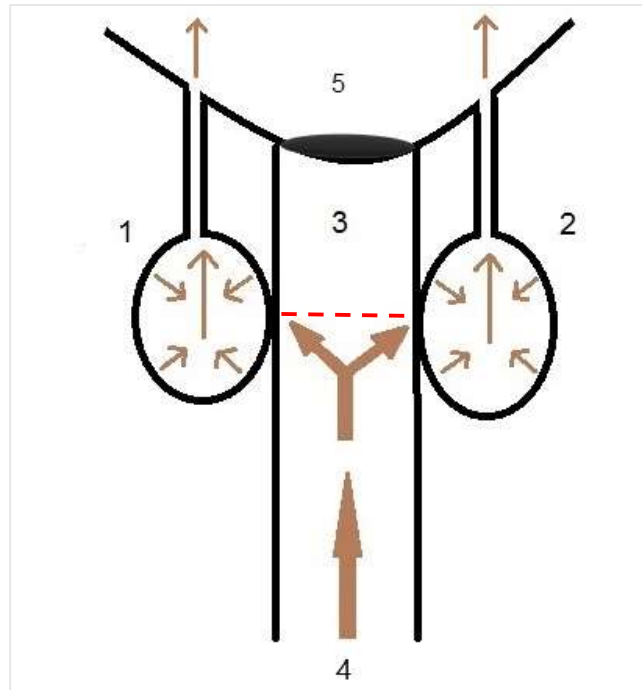


Figura 15. Simulación gráfica representando la eliminación pasiva de fluido del saco anal.
 1)- Saco anal derecho 2)- Saco anal izquierdo
 3)- Recto, canal anal 4)- Heces 5)- Ano y lumen.
 La línea roja discontinua simula el EAI

En perros con problemas de impactación de los sacos, debido a la mayor viscosidad del fluido, el drenaje pasivo nunca se realiza y deberá de realizarse de manera manual (Figs.16 y 17).



Figura 16. Simulación del saco anal en un perro mostrando la analogía con un depósito de líquido que se quiere vaciar aumentando la presión en sus paredes. SA-Saco anal. ΔP (Incremento de presión) = $P1-P2$. DE-Ducto excretor.

En la figura 16 se representa la maniobra de drenaje manual, simulando la diferencia de presiones entre P1 y P2 (ΔP), que consiguen movilizar el fluido hacia el exterior. Dicha maniobra ha sido la más utilizada en este estudio, reservando una segunda maniobra representada en la figura 17 para sacos anales impactados o saculitis y fistulizaciones.

Las heces de consistencia sólida o muy deshidratadas y voluminosas, promueven de forma más eficiente el vaciado de los sacos anales, al comprimir primero la pared muscular del recto y por extensión la zona medial del esfínter anal interno, próxima a la pared rectal. De ahí la idea de que una dieta rica en fibra sea beneficiosa para la eliminación pasiva del fluido, al producir una consistencia de las heces más sólida (Beynen 2019).

En cambio, un perro con diarrea profusa puede tener impactación de los sacos anales, como se describe en la bibliografía, (Halnan 1976a, Morgan *et al.*, 2003) y se fundamenta en que la diarrea, por definición, implica una disminución de la consistencia de las heces unida a un aumento en la frecuencia de defecación (Anderson *et al.*, 1992).

El volumen de fluido eliminado al realizar el tránsito fecal es muy pequeño, con lo que se puede sospechar que tiene más relación con el marcaje territorial (una pequeña cantidad de fluido emana una gran cantidad de olor) que con la lubricación fecal, en contraposición de los postulados de Monet (Monet 1933).

En casos de impactación muy avanzada o mantenida durante mucho tiempo, la maniobra de drenaje consiste en introducir un dedo en el recto (normalmente el dedo índice) a modo de barrera contra el dedo pulgar de la misma mano para aumentar la presión dentro del saco anal (Morgan *et al.*, 2003; Fig. 17).



Figura 17. Maniobra de drenaje para movilizar fluidos impactados, con saculitis o fistulizaciones

4.5. Estudio en la secreción de fluido independiente a la defecación

4.5.2. Animales con afectación neurológica

Un resumen de la exploración neurológica y de las lesiones más relevantes encontradas en los 3 animales con afectación nerviosa se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Síntomas y lesiones observados en los 3 casos de afectación neurológica

Signos exploración	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Tiempo aparición	Sobreaguda	Sobreaguda	Crónica
Grado de la lesión*	V	V	II
Esfínteres anales	Sin tono	Sin tono	Hipotonía
Reflejo Perineal	Ausente	Ausente	Atenuado
Poros de salida	Dilatados	Dilatados	Dilatados
Miembros pelvianos	Areflexia	Areflexia	Hiporeflexia
Micción	Involuntaria	Involuntaria	Involuntaria continua
Retención orina	Ausente	Normal	Ausente
Control voluntario micción	Ausente	Ausente	Ausente
Defecación	Ileo paralítico	Involuntaria	Involuntaria
Síndrome Motoneurona	MNI	MNI	MNI
Imagen radiológica	Fractura vertebral L4-L5	Luxación vertebral T13-L1	Estenosis lumbosacra

* Según Clasificación de Scott, 1997

A su vez, los diferentes orígenes de las lesiones de cada caso se pueden observar con más detalle en las radiografías realizadas (Fig.18) donde se observa que dos animales presentaron fracturas o luxaciones vertebrales en diferentes tramos de la columna vertebral (casos 1 y 2) y el tercero una agenesia del sacro (caso 3).

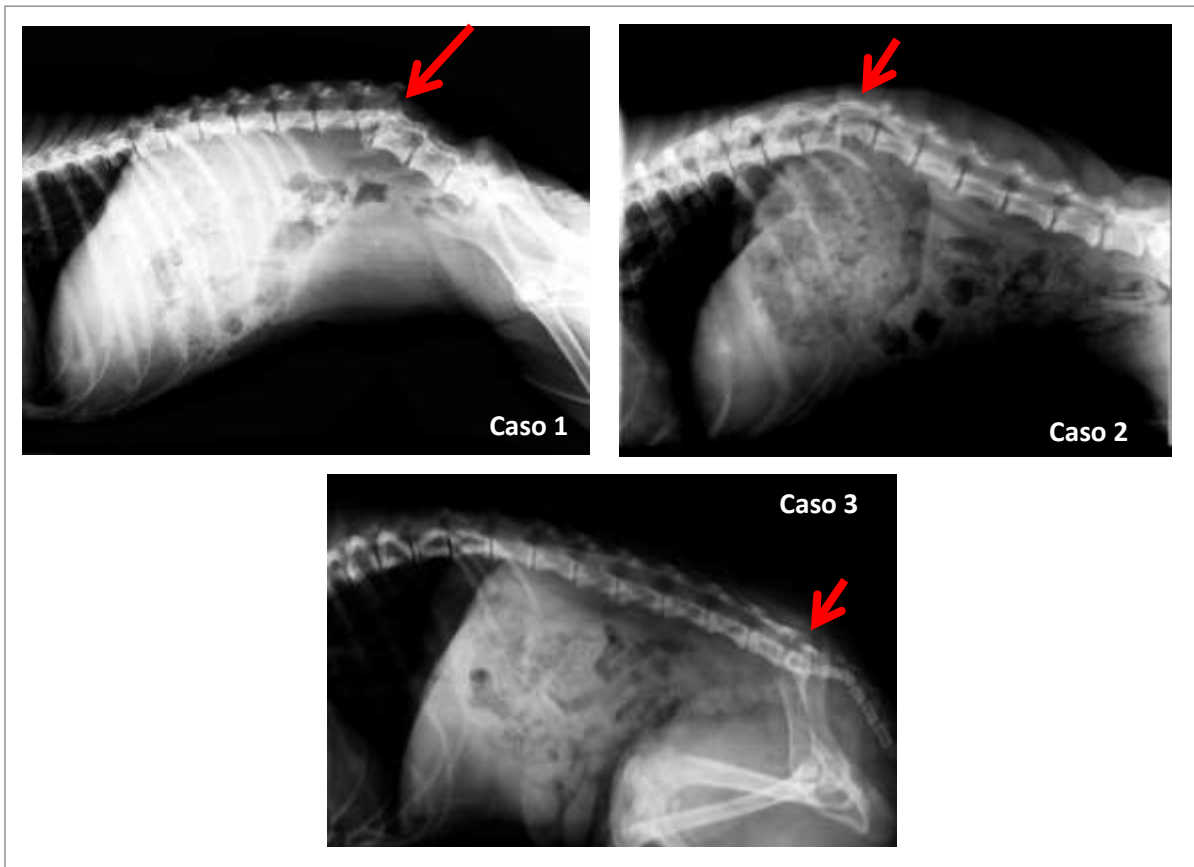


Figura 18. Radiografía en proyección LL, en los tres casos estudiados.

Los tres casos presentaron síntomas neurológicos variados de mayor o menor gravedad, aunque en todos ellos, se observó una característica común y es que los poros de secreción o salida correspondientes a cada uno de los sacos anales se encontraban en un grado máximo de dilatación, y que ambos esfínteres anales estaban relajados, lo que provocó que de forma indirecta dichos poros quedaran expuestos frontalmente al exterior (Fig. 19). La relajación de las fibras musculares de ambos esfínteres, además de producir en la mayoría de los casos defecación involuntaria, produjo indirectamente un aumento del diámetro de los poros. El ducto excretor se dilató debido a la pérdida del tono muscular del esfínter anal interno. Esto permitió la secreción continua del fluido, ya que pocas fuerzas se oponen a su evacuación. En este estado neurológico, la liberación pasiva de líquido no requirió de la compresión simultánea del bolo fecal, ya que

en los 3 animales la consistencia del fluido fue líquida, y en ninguno de los 3 se instauró la impactación.

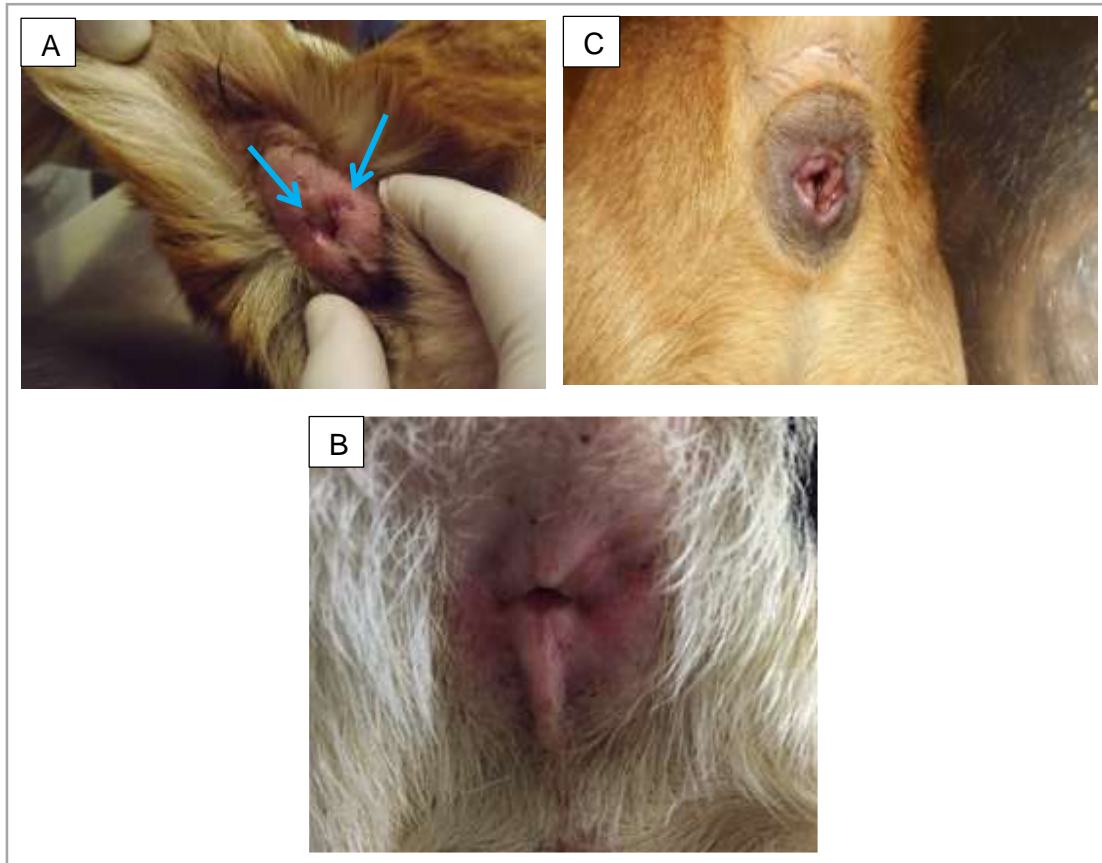


Figura 19. A- Poros dilatados (máxima apertura) y en posición frontal con liberación involuntaria de fluido. **B-** Ano sin tono con eliminación involuntaria de fluido líquido. **C-** Poros dilatados (máxima apertura) y en posición frontal al exterior. Nótese la pérdida parcial de tono anal.

4.5.3. Eliminación de fluido en perros bajo sedación profunda o anestesia

Como resultado más relevante en los tres casos estudiados se observó la pérdida del tono anal, secundaria a la sedación o anestesia, lo que produjo que los poros de salida de los sacos se dilataran al máximo y se posicionaran de forma central en relación a la abertura anal, presentando unos síntomas respecto a la pérdida de tono anal, eliminación involuntaria del fluido y dilatación/posición de los poros de salida similares a los explicados en el apartado anterior (Fig. 19). En el caso de la sedación, el ano mantiene algo de tono (Fig. 20 A), a diferencia de los casos estudiados que se encontraban bajo anestesia general, donde el

tono anal se perdió por completo (Fig. 20 B-C), incluso existió defecación espontánea en uno de los animales (Fig. 20 C).

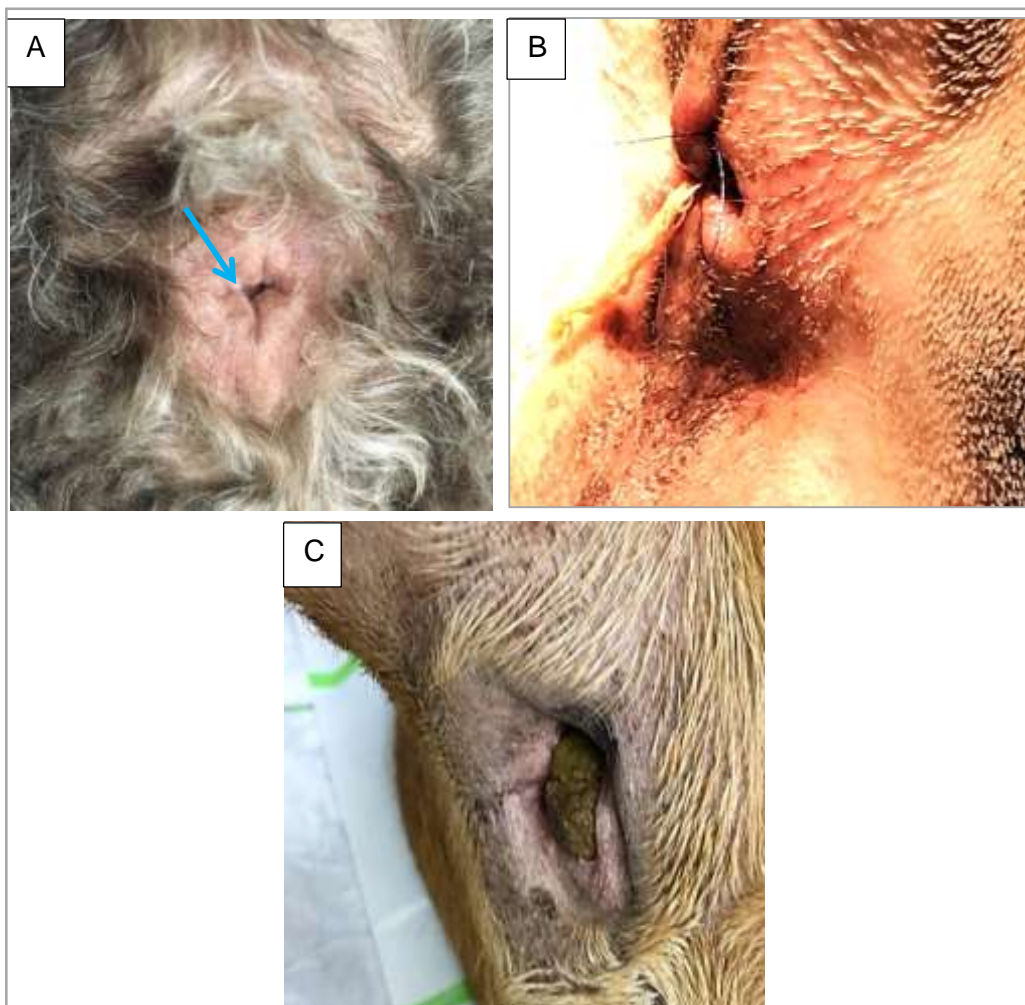


Figura 20. A: Ano con hipotonía en un perro bajo sedación profunda. B y C: ano sin tono en un perro bajo anestesia general, con los poros expuestos al exterior. Nótese la defecación espontánea en la imagen C.

4.5.4. Otros mecanismos involuntarios de drenaje del fluido del saco

A continuación, se describen algunos episodios observados en perros durante la consulta clínica relacionados con la eliminación involuntaria del fluido almacenado, como ocurre en los siguientes apartados descritos a continuación.

4.5.4.1. Reflejo de huida o amenaza

Se observó que cuando el fluido es de una consistencia ligera, el animal sí que responde a un estímulo nervioso involuntario, mandado por el sistema simpático, que estimula la contracción brusca del esfínter anal interno durante el reflejo de huida o amenaza, pudiendo colaborar en el drenaje al exterior del contenido del saco anal de un modo involuntario. Esta situación se ha observado en perros con cierto grado de miedo y nerviosismo ante la manipulación y el manejo en la clínica, como en los 2 animales comentados en material y métodos (Fig. 21), así como también fue habitual observar una micción involuntaria y parcial de orina en ambos animales.



Figura 21. Eliminación involuntaria del fluido en un episodio de miedo durante el manejo (nótese la consistencia del fluido tipificada como líquida)

En este estado de miedo, se comprobó que el esfínter anal interno realmente permanecía dilatado, lo que provocó que el fluido drenase de forma más eficiente y durante más tiempo al exterior. Acorde a la neurología, se cumple que el fluido es eliminado al exterior no sólo por acción del sistema nervioso simpático (SNS) al contraer el EAI, sino que se refuerza la idea de que, en el estado de miedo, el sistema nervioso parasimpático (SNPS) es estimulado también, provocando una posterior relajación del EAI. Por ello, aunque parecen intervenir ambos sistemas nerviosos autónomos en el reflejo del miedo, cobra mayor relevancia la acción del SNPS sobre la actuación en la liberación del contenido del saco anal.

4.5.4.2. Eliminación de fluido del saco en el marcaje

En los dos individuos estudiados se verificó que depositaron en el suelo un pequeño volumen de fluido, coincidente con el acto de marcaje urinario, al forzar la prensa abdominal. En ambos animales, el fluido resultó tener una consistencia líquida por lo que pudo ser eliminado de forma parcial, y sin asociarse a la defecación.

5. Discusión

Aunque en la bibliografía, se detalla la ubicación de los sacos anales, como dos estructuras simétricas localizadas caudal y lateralmente al final del recto (Sisson 1998; Dyce *et al.*, 2012; Gibson *et al.*, 2003; Waibl *et al.*, 2012 y Jung *et al.*, 2016), según los estudios realizados en este capítulo, se observa que su simetría no es total, apareciendo diferencias en cuanto a la orientación del saco anal entre ambos esfínteres, y sobre todo del ángulo de salida al exterior de los conductos excretores de uno y otro lado; no obstante, las disecciones realizadas han confirmado los principales detalles anatómicos sobre la ubicación de los sacos, explicados en la bibliografía mencionada en la introducción

En el estudio anatómico realizado, no se ha encontrado una inervación diferente a la que llega a ambos esfínteres anales, sin embargo, en el estudio morfométrico sobre el ángulo de drenaje de cada conducto excretor del saco anal, se han visto ligeras diferencias entre la angulación de un lado y otro, por lo que seguramente no podemos hablar de una simetría completa de los sacos anales. Otro dato interesante ha sido el observar en detalle la posición del ano o la posición de la cola sobre el ano, en animales con un determinado morfotipo, y su relación con la fisiología del drenaje de los sacos anales. Así podemos hablar de conformación anatómica tipificada como “fenotipo propenso”, que demuestra que la fuerza necesaria para movilizar el fluido al exterior debe ser mayor en estos estándares raciales, lo que implica que los animales pertenecientes a estas razas pueden tener una tendencia a la impactación de los sacos. La consecuencia clínica más frecuente de un mal drenaje pasivo de los sacos es la impactación del fluido, con toda la sintomatología asociada correspondiente. Si se sospecha de impactación y el perro corresponde al fenotipo racial “propenso”, puede ser necesario el realizar un drenaje iatrogénico, por parte de un veterinario, para drenar el fluido de forma terapéutica pero eficiente.

En relación a la conformación anatómica del periné y el tamaño del perro con la enfermedad del saco anal, se observa que el modelo anatómico más propenso a padecer ESA correspondería a un individuo de pequeño tamaño y con el ano invaginado, más próximo a la base de la cola y con el rabo en tirabuzón. El tamaño del perro es clave en el desarrollo de la ESA ya que en relación a la bibliografía consultada vemos que la prevalencia aumenta en perros de tamaño

pequeño. La explicación, como sucede en la impactación anteriormente descrita, tiene una base reológica, encontrando el fluido almacenado bastante resistencia a su evacuación, al tener un tamaño en general el saco anal y el ducto excretor más pequeño, estando más expuestos a ser obstruidos por los detritus presentes en el fluido, como restos de descamación epitelial (capítulo 2 de esta tesis).

En cambio, en un animal sano y con una conformación anatómica equilibrada, los sacos anales liberan de forma pasiva o involuntaria su contenido cuando son comprimidos a medida que el animal defeca, especialmente al final del proceso, cuando el bolo fecal pasa a través de la ampolla rectal. Dicha eliminación de fluido se produce de forma simultánea y sincronizada por dos vías: la reológica, secundaria a la compresión del bolo fecal sobre el recto, esfínter anal interno y sacos anales y la neurológica, secundaria a la relajación del esfínter anal interno por la presencia de las heces en el recto, que estimulan al SNPS, relajando dicho esfínter. En este sentido, mantener una buena salida de heces al exterior es fundamental; en la mejora de este proceso, a veces se aumenta el consumo de fibra en el animal, aunque hasta el momento existe poca bibliografía actualizada sobre la acción de ingerir comida seca suplementada con fibra (muy promocionada actualmente con fines comerciales), y su relación con la defecación y la enfermedad del saco anal (Burrows *et al.*, 1982; Lewis *et al.*, 1994). En volúmenes muy elevados de heces (ver anexo III de esta tesis), el movimiento sincrónico realizado en la estimulación neuronal por parte del SNPS, produciendo la relajación del esfínter anal interno es menos eficiente, y por tanto, el movimiento de los sacos anales, lo que determina que el volumen y consistencia del bolo fecal óptimos para la evacuación del fluido almacenado queden determinados por la anatomía propia del individuo; una situación intermedia en cuanto a la consistencia y volumen de las heces, producirán un mejor peristaltismo intestinal y de forma secundaria un mejor movimiento de expansión-contracción del saco anal, y una mejora en la liberación del fluido hacia los poros

El caso contrario sí que está documentado en la bibliografía, es decir que una de las causas que desencadenan la enfermedad del saco anal sean los episodios de diarrea en el animal (Halnan 1976a y experiencia personal del doctorando en casos observados en clínica). Como se ha explicado en la introducción, heces de consistencia blanda, diarrea reciente, hipersecreción

glandular e hipotonía muscular en perros de raza pequeña u obesos, son contempladas como posibles causas que ocasionan la impactación (Halnan 1976a; Fawcet 2013), sin embargo, en la bibliografía, no se explica el verdadero motivo físico o reológico que lo acompaña; por algunos resultados obtenidos en este estudio, se propone la siguiente explicación: en la diarrea, las heces tienen una consistencia menor y se producen con mayor frecuencia, y según la fluidodinámica del saco anal, (esquemática en la figura 15), se aprecia que este tipo de heces no podrán movilizar de forma efectiva el fluido al no ejercer la presión suficiente sobre el esfínter anal interno (Levenspiel 1993; Pozrikidis 2001).

La fuerza ejercida por el esfínter anal interno sobre el saco anal es capaz de movilizar con mayor eficacia el contenido de viscosidad baja (consistencia líquida), hacia la abertura del poro, consiguiendo drenar el fluido al exterior, mientras que los fluidos más viscosos serán drenados con dificultad o no serán drenados, debido a las leyes que rigen la fluidodinámica (White 2010). La fuerza producida por la musculatura que circunda los sacos anales no alcanza el valor suficiente para conducir el fluido más viscoso hacia el poro de salida, por ello, se necesita ayuda veterinaria; al realizar el drenaje terapéutico, la presión dentro del saco se incrementa sobremanera, permitiendo que exista una diferencia de presiones entre la luz del saco y el poro de salida, consiguiendo que el fluido más viscoso fluya hacia el exterior.

La explicación anterior es la que nos hace comprender lo ocurrido en los tres casos clínicos en perros con síntomas neurológicos. Debido a la estrecha relación del esfínter anal sobre todo en la parte caudo-medial del saco anal (Salazar *et al.*, 1996), se prioriza el efecto de la fase neuronal sobre la fase reológica, aunque las dos actúen de forma sinérgica. Y es que los perros también liberan el fluido almacenado en los sacos en respuesta al estrés o al miedo (como se ha visto en varios animales durante la exploración clínica), ya que es un reflejo autónomo simpático. La misma liberación pasiva se observa después de la relajación de esfínteres secundaria a una sedación profunda o una anestesia como también se observó en los 3 animales estudiados.

Por último, determinados perros también pueden liberar el contenido de forma activa en el marcaje, en una postura similar a la realizada al defecar, pero

sólo drenando un pequeño volumen de fluido, de forma secundaria a la contracción de la mayoría de los músculos implicados en la defecación. Este mecanismo también está estudiado en otros miembros de la familia Canidae, en concreto en los lobos que realizan el marcaje mediante la micción “en cuclillas” y levantando la pierna, sin embargo, no hay muchos estudios que lo verifiquen también en el perro (Rothman y Mech 1979).

En condiciones fisiológicas (es decir, en ausencia de trastornos del saco anal o neuropatías), los músculos esfínter anal interno y externo permanecen contraídos, lo que contribuye a mantener el tono anal, siendo el esfínter anal interno el principal contribuyente a la continencia fecal (Duke *et al.*, 1993). En este estado neuronal, los poros del conducto excretor de cada saco anal están cerrados o ligeramente abiertos al exterior. Estos poros no permanecen directamente expuestos al exterior, sino que se orientan hacia el interior, hacia el canal anal, así el fluido permanece almacenado en los sacos y se drena pasivamente durante la defecación, cuando los esfínteres se relajan y también durante la alarma nerviosa o reflejo de amenaza, debido a una contracción violenta, sobre todo del esfínter anal interno.

En una intensa (pero muy corta en el tiempo) contracción involuntaria del esfínter anal interno, como ocurre durante el miedo o el reflejo de huida, que es controlado por el sistema nervioso simpático (no confundir con la contracción producida por la presión del bolo fecal), la secreción de fluido puede darse si el fluido tiene baja viscosidad, es decir, el tipificado como de consistencia líquida. Esto ocurre de forma inmediata, pero es suficiente para drenar un determinado volumen del fluido almacenado, dependiendo del grado de repleción que tenga el saco anal en ese momento.

En neurología veterinaria se incluye el reflejo perineal en la exploración clínica, que valora el segmento medular S1-S3 y el nervio pudendo. Dicho reflejo se considera el mejor indicador de la correcta funcionalidad de las raíces sacras (Aigé 1998; Chrisman 2003; Giannuzzi *et al.*, 2013). Sin embargo, no existe bibliografía en relación a la observación de los sacos anales íntegros en un perro sano o del estado y ubicación de los poros de salida en un perro con patología medular, ni tampoco hay bibliografía de reflejos que puedan valorar su funcionalidad. En los casos de los traumas medulares estudiados, la relajación de las fibras del esfínter anal, además de producir defecación involuntaria,

indirectamente produjo la dilatación del poro secretor y la exposición de dichos poros en la superficie frontal; también se perdió el tono en el esfínter anal externo. En este estado neuronal, la liberación pasiva del fluido no requiere de la compresión simultánea de la materia fecal, siempre y cuando la consistencia del fluido almacenado sea líquida. Sin embargo, no está documentada la relación entre la relajación de las fibras musculares de los esfínteres del ano y el aumento del tamaño o la posición de los poros en perros con traumas medulares previos. Tampoco se ha documentado anteriormente la relación entre sedación profunda o los efectos de la con la posición y el drenaje de los poros excretores de los sacos anales; si bien es cierto que estas apreciaciones descritas en este capítulo se han observado en detalle sólo en un número pequeño de animales.

CAPITULO 2

HISTOLOGÍA DE LOS SACOS ANALES

1. Introducción

Existen pocas referencias bibliográficas que detallen la histología completa de los sacos anales del perro, aunque sí que encontramos datos de los mismos entre las publicaciones de los siguientes autores: Montagna *et al.*, 1948; Salazar *et al.*, 1996; Bacha y Bacha 2000; Stefanov *et al.*, 2008. Según estos autores, histológicamente el saco anal se describe como un receso cutáneo revestido por un tipo de epitelio plano estratificado queratinizado, rodeado externamente por glándulas apocrinas (Montagna *et al.*, 1948; Bacha *et al.*, 2000; Gázquez *et al.*, 2004) (Fig.1). Dicho epitelio delimita un lumen que comunica con el exterior a través de un conducto (ducto excretor) y que reviste también al conducto en toda su extensión (Montagna *et al.*, 1948). Circundando el fondo del saco, en el estroma del saco anal, aparecen multitud de acinis glandulares apocrinos que liberan su secreción al lumen. En la pared de la porción apical (más próxima a la piel) del saco y en el ducto excretor aparecen además acinis sebáceos, lo que lo diferencia del gato, donde la distribución de dichos acinis es uniforme en toda la pared (Salazar *et al.*, 1996; James *et al.*, 2010).

Los sacos anales se consideran recesos cutáneos, como hemos comentado, aunque, según Schwarz (1987) y acorde a la embriología, el saco anal es una estructura anatómica que tendría más relación con el recto que con el tejido cutáneo.

1.1. Estructura histológica del saco anal

La estructura histológica del saco anal consta de un lumen delimitado por tejido epitelial sustentado en lo que denominamos pared del saco, determinada por cuatro capas bien definidas.. De este modo, desde el lumen del saco anal al exterior se distinguen las siguientes capas: el epitelio, la capa subepitelial, la capa glandular, la capa subglandular y la capa muscular (Montagna *et al.*, 1948; Salazar *et al.*, 1996; Bacha y Bacha 2000; Meyer *et al.*, 2001; Stefanov 2012) (Fig. 1).

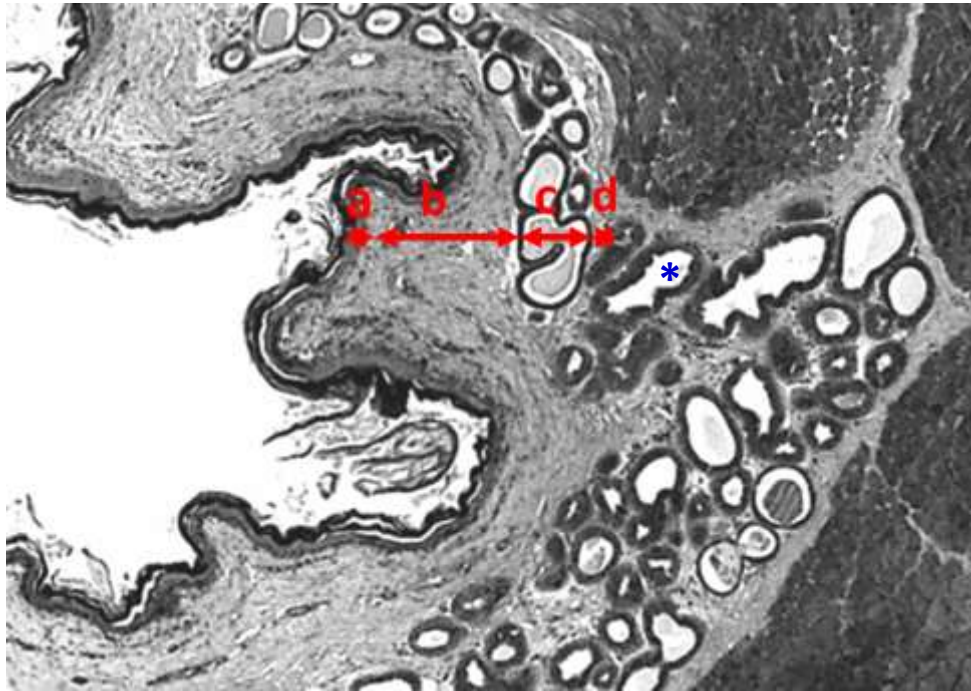


Figura 1. Saco anal. Corte transversal mostrando un patrón típico de capas. Las flechas rojas indican dichas capas: a-epitelial, b-subepitelial, c-glandular, d-subglandular. Modificado de Meyer *et al.*, 2001. En la capa glandular se observa un gran número de glándulas apocrinas (*). HE.

Para un mejor conocimiento de la estructura completa del saco anal, pasaremos a detallar cada una de las partes.

1.1.1. Lumen

El lumen del saco anal es el espacio donde se almacena el fluido. Es un espacio delimitado por el epitelio del saco anal y se continúa con el ducto excretor, que lo comunica con el exterior. Contiene un fluido almacenado, a menudo de una elevada viscosidad, aspecto variable y olor desagradable para el hombre (Sisson 1998; Pappalardo *et al.*, 2002; James *et al.*, 2011).

Montagna y colaboradores (1948), fueron de los primeros en estudiar el fluido almacenado en los sacos anales, demostrando que las proteínas y las sustancias inorgánicas que contiene, junto con trazas del material lipídico del contenido almacenado en el lumen, son producidas por los túbulos apocrinos en la pared del saco, y que, por otro lado, el componente holocrino y sebáceo de dicha secreción, es producido por glándulas ubicadas principalmente en el conducto

del saco. Además, en la secreción almacenada en el lumen, se encuentran también restos de descamación epitelial (James *et al.*, 2010).

1.1.2. Epitelio

El saco anal y su ducto excretor están revestidos por un epitelio plano estratificado queratinizado similar al de la piel perianal, formado por un estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso y estrato córneo (Montagna *et al.*, 1948; Zachary y McGavin 2012).

La queratina, aunque presente en el estrato córneo del epitelio, no es tan abundante como en la epidermis (por ser un epitelio que reviste una mucosa glandular), por lo que el grado de protección frente a microorganismos es menor (Tortora *et al.*, 2017). La explicación se debe precisamente a la presencia en esa mucosa, de numerosas glándulas cuyas secreciones mantienen protegido el saco mediante la humedad (Nara *et al.*, 2001), sin necesidad de producir tanta queratina, aunque ésta también ejerce de barrera impidiendo la entrada de microorganismos y sustancias nocivas a tejidos profundos y al torrente sanguíneo (Pawlina *et al.*, 2019).

1.1.3. Capa subepitelial

Es la capa comprendida entre el estrato basal del epitelio y la capa de glándulas apocrinas. Está constituida fundamentalmente por fibras de colágeno, el grosor de las cuales se incrementa a medida que nos aproximamos hacia el ducto excretor (Fig. 2). Las fibras localizadas en el tejido conectivo de esta capa son significativamente más delgadas que las de la capa subglandular. Entre las fibras de colágeno también aparecen fibras reticulares, que se concentran bajo la capa epitelial, delimitando de forma clara la membrana basal del epitelio. Dichas fibras reticulares están constituidas por colágeno tipo III, actuando como soporte del epitelio (Stefanov *et al.*, 2008).

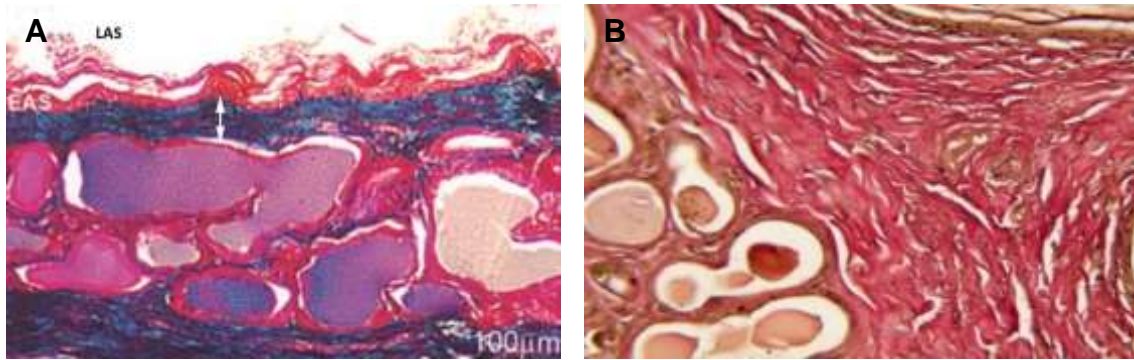


Figura 2. Saco anal. Capa subepitelial. **A-** Capa subepitelial (flecha) rica en fibras de colágeno teñidas de color azul mediante tinción tricrómica de Masson. LAS: Lumen del saco anal. Modificado de Meyer *et al.*, 2001. **B -** Presencia de fibras de colágeno. Tinción de Van Gibson. Modificado de Stefanov *et al.*, 2008.

1.1.4. Capa glandular

La pared glandular del saco anal del perro contiene multitud de glándulas exocrinas, concretamente glándulas apocrinas tubulares (Fig. 2A). Los acinis glandulares están revestidos a su vez por un epitelio simple cúbico rodeado externamente por una capa de células mioepiteliales (Montagna *et al.*, 1948; Castellanos *et al.*, 2005). Algunos autores matizan aún más diciendo que es un epitelio de tipo pseudoestratificado cuboidal o columnar, dependiendo de la intensidad de la secreción glandular (Meyer *et al.*, 2001). Las glándulas apocrinas de la pared del saco anal vierten su secreción a través de ductos secretores que se abren en la porción queratinizada del epitelio, desembocando su secreción en el lumen del saco anal (James *et al.*, 2011)

Una curiosidad de esta capa glandular que diferencia la histología del perro respecto del gato, es que en la pared del saco anal del gato aparecen glándulas sebáceas además de las apocrinas mientras que en el perro no (Salazar *et al.*, 1996), aunque según Montagna, en la pared del ducto excretor del perro sí aparecen algunas glándulas sebáceas (Montagna *et al.*, 1948).

Entre las glándulas apocrinas aparecen fibras elásticas y reticulares. En cuanto a la celularidad presente en la capa glandular, se describe la presencia de mastocitos próximos a las glándulas, entre el estroma del tejido conectivo que las envuelve (Delgado *et al.*, 2012). Este último autor plantea la idea de que los mastocitos aumentan con la edad del individuo, por lo que se asociaría una mayor inflamación y saculitis anal, conforme el animal se hace más longevo. Esta idea es confirmada en otro estudio donde además se muestra a los mastocitos como células productoras de mediadores de la inflamación (Stefanov y

Voderichanov 2014). Otras células que aparecen junto con los mastocitos, alrededor de las glándulas son fibroblastos, fibrocitos y macrófagos, también con un papel destacado en el proceso inflamatorio (Meyer *et al.*, 2001).

No obstante, no hay unanimidad sobre la forma de secretar de estas glándulas apocrinas, ya que Meyer las considera de tipo merocrino o micro apocrino, con la presencia de vesículas exocíticas en la membrana plasmática de las células (Meyer *et al.*, 2001) mientras que Salazar propone que la secreción de las glándulas apocrinas está mediada por la acetilcolina (Salazar *et al.*, 1996).

Otro autor afirma que en la región anal del perro existen tres tipos de glándulas: anales, circumanales y glándulas de los sacos anales; todas ellas colaborarían en la formación de una secreción que contiene, entre otras sustancias, ácidos siálicos y sustancias antimicrobianas. Dichas secreciones tendrían dos funciones, una la de lubricar las heces con una película de mucus y otra relacionada con señales de marcaje territorial, e incluso una tercera consistente en crear una barrera defensiva sobre la mucosa anal (Nara *et al.*, 2011). Meyer en cambio propone la idea de que la secreción de las glándulas apocrinas del saco anal, tiene un componente eminentemente proteico, rico en los aminoácidos tirosina y triptófano, que suponen una fuente de alimento idónea para el desarrollo de bacterias, que posteriormente fermentan estos componentes, produciendo partículas volátiles olorosas, dando el olor fétido característico al fluido liberado (Meyer *et al.*, 2001).

1.1.5. Capa subglandular

Es la capa comprendida entre la capa glandular y la capa de células musculares. Está constituida por fibras de colágeno, reticulares y elásticas. Las fibras de colágeno en esta capa son más gruesas que en el resto de capas de la pared del saco anal y aumentan en cantidad y tamaño conforme nos aproximamos al conducto excretor (Stefanov *et al.*, 2008).

1.1.6. Capa muscular

Constituye la capa más externa del saco anal. Esta capa se encuentra formada por células de músculo esquelético estriado que constituyen el esfínter anal externo, aunque también pueden aparecer fibras musculares lisas en la parte

caudo-medial, pertenecientes al esfínter anal interno (Salazar *et al.*, 1996). Entre las fibras musculares también aparecen fibras reticulares y elásticas. Según Stefanov y colaboradores (2008), las fibras elásticas participarían junto con las fibras musculares en el proceso de la secreción externa del contenido del saco anal.

1.1.7 Ducto excretor

Es la parte del saco anal que comunica el lumen con el exterior. Está revestido por el mismo epitelio que circunda al saco (Montagna *et al.*, 1948). El grosor de las fibras de colágeno del saco anal aumenta según nos acercamos a la capa muscular del ducto excretor, además el número de fibras elásticas es también mayor en el ducto excretor que en el resto de la pared del saco (Stefanov *et al.*, 2008). En la pared del ducto excretor, además de las glándulas apocrinas aparecen acinis sebáceos (Montagna *et al.*, 1948).

1.2. Morfometría del saco anal

Aunque no existen demasiados estudios de análisis de imagen de los sacos anales, destaca el realizado por Jung y colaboradores en 2016, que determinó la posición y el tamaño de los sacos mediante resonancia magnética y ultrasonografía, aunque el primer y único autor que ha realizado un estudio morfométrico del saco anal como tal ha sido Stefanov en 2012. Dicho autor describió de forma detallada la histología del saco y además realizó un estudio micromorfométrico de las distintas capas que componían la pared del mismo. Entre otros valores, observó que el epitelio que rodeaba los sacos anales tenía mayor grosor en el perro que en el gato, al igual que la capa de tejido conectivo subglandular. Además, parece ser que el grosor total de la pared del saco anal variaba, aumentando acorde a la edad del perro, sin embargo, el grosor del epitelio disminuía. También afirmó que el área de las glándulas apocrinas tenía una correlación positiva con el grosor de la capa glandular.

2. Objetivos

Los principales objetivos de este estudio fueron:

- Estudiar la organización histológica de la pared del saco anal y las características de cada una de sus capas en animales control, libres de la enfermedad del saco anal.
- Realizar estudios micromorfométricos del grosor de la pared del saco anal y de cada una de sus capas por separado, así como del área del lumen y su perímetro.

3. Material y métodos

3.1. Estudio Histológico

Para el estudio histológico se tomaron muestras de 19 sacos anales procedentes de perros control de diferentes razas, sexo y tamaño, sin historia previa de enfermedad del saco anal, con una media de edad de aproximadamente 10 años ($\bar{x}=9,7$ años). Todos los animales fueron eutanasiados por motivos ajenos a este estudio y las muestras del estudio se obtuvieron previo consentimiento de los propietarios de los animales. Del total de muestras procesadas, por la calidad obtenida en la preparación histológica, se seleccionaron 14 para realizar la descripción histológica.

3.1.1. Tallado, procesado y obtención de cortes histológicos

Las piezas obtenidas mediante disección se fijaron en solución tamponada de formaldehído al 10%, durante un mínimo de 48 horas. Tras la fijación se procedió al tallado de las piezas. Con el objetivo de poder observar desde el conducto del saco hasta las capas musculares más profundas, se realizaron cortes perpendiculares al ano, de 1 cm de grosor, aproximadamente en la zona de desembocadura de los conductos excretores del saco (Fig. 3). Únicamente se procesó un saco por animal, seleccionando de forma randomizada entre lado derecho o izquierdo.

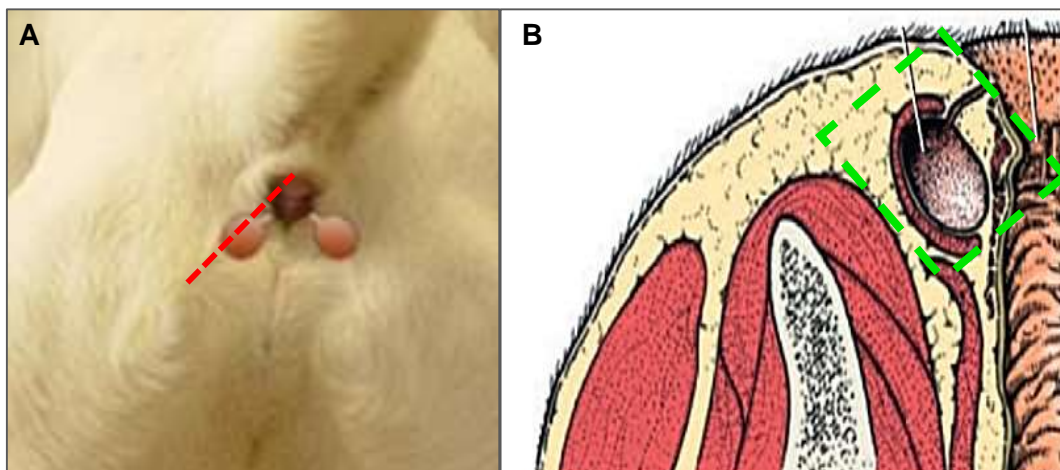


Figura 3. Saco anal. **A-** Orientación de los cortes (línea roja discontinua) en relación a la posición del ano. **B-** Orientación de la preparación histológica (línea verde discontinua). Modificado de Dyce (Dyce *et al.*,2012).

Las preparaciones histológicas se realizaron en el Dpto. de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Todas las muestras fueron procesadas de forma rutinaria y embebidas en parafina. De cada bloque de parafina se obtuvieron cortes histológicos de 4µm de espesor mediante microtomo (Modelo Sandon Finesse 32S®). Todas las muestras fueron teñidas mediante hematoxilina-eosina, siguiendo el protocolo estándar. Adicionalmente, se realizó una tinción tricrómica de Masson sobre algunas muestras, con el objetivo de teñir las fibras de colágeno y resaltar así las capas subepitelial y subglandular de la pared del saco anal.

3.1.2. Valoración microscópica de las muestras

Todas las preparaciones histológicas obtenidas fueron examinadas mediante un microscopio óptico. Se evaluó la organización histológica de la pared del saco anal. Adicionalmente, se examinaron en todas las muestras los siguientes parámetros y variables resumidas en la Tabla 1.

Para cada uno de los parámetros se evaluó la distribución de los cambios observados y se realizó una valoración semicuantitativa de la severidad de los mismos siguiendo la siguiente escala: 0, ausente; 1, leve; 2, moderado; 3, severo.

Tabla 1. Definición de las variables de cada una de las características histopatológicas con los moduladores utilizados en cada caso.

Partes analizadas	Variables estudiadas y moduladores
Lumen	<ul style="list-style-type: none"> a) <u>Grado de dilatación</u> (Di: dilatado; M: medio; R: replegado) b) <u>Contenido del lumen</u>: queratina, bacterias, celularidad, fragmentos de pelo y presencia de pigmento melánico. Se valoró la cantidad de cada elemento presente siguiendo una escala de 0-3 (0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: abundante)
Capa epitelial	<ul style="list-style-type: none"> a) <u>Número de capas celulares</u> b) <u>Cambios epiteliales</u>: vacuolización, hiperpigmentación, hiperqueratosis, erosiones y úlceras. Para cada parámetro se valoró la intensidad siguiendo una escala de 0-3: (0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: abundante) y la distribución (F: focal; MF: multifocal; D: difusa)
Resto de capas: subepitelial, glandular y subglandular	<ul style="list-style-type: none"> a) <u>Inflamación dérmica</u>: se valoró celularidad (tipo), la intensidad (escala 0-3) y la distribución (F, MF, D) b) <u>Incontinencia pigmentaria</u>: se valoró intensidad (0-3) y distribución (F, MF, D) c) <u>Morfología glándulas apocrina</u> (N: normales; Di: dilatadas; C: comprimidas)

3.2. Estudio micromorfométrico

El objetivo de este estudio fue medir el grosor de la pared del saco anal, excluyendo la capa muscular, y de cada una de sus capas por separado, así como el área del lumen y su perímetro. Adicionalmente, se comprobó si existía alguna relación entre el área del lumen y el grosor de la pared del saco.

3.2.1. Muestras

Para el estudio micromorfométrico se seleccionaron 8 muestras del estudio histológico. Con el fin de homogeneizar las medidas y disminuir la dispersión de los resultados, las muestras se dividieron en 2 grupos según el grado de distensión de la luz del saco.

Las preparaciones seleccionadas fueron digitalizadas en la unidad de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida. Las

preparaciones fueron escaneadas con el objetivo de 20x mediante un escáner de preparaciones histológicas (Pannoramic 250 Flash II). Una vez digitalizadas, se utilizó el software libre Case Viewer (3DHISTECH Ltd.) para visualizar las preparaciones y realizar las mediciones de los parámetros que se indican a continuación:

- Grosor de la pared del saco: distancia desde la capa más superficial del epitelio del saco anal (estrato córneo) hasta el inicio de la capa de células musculares.
- Grosor del epitelio: distancia comprendida desde el estrato córneo hasta el estrato basal del epitelio.
- Grosor de la capa subepitelial: distancia comprendida entre el estrato basal del epitelio y la capa de glándulas apocrinas.
- Grosor de la capa glandular: distancia que mide el grosor comprendido entre la capa subepitelial y la capa subglandular.
- Grosor de la capa subglandular: distancia comprendida entre la capa glandular y la capa de células musculares.

Para cada uno de los parámetros se realizaron 4 mediciones en distintas zonas de cada una de las muestras examinadas. El valor final para cada uno de los parámetros medidos en cada muestra fue la media aritmética obtenida a partir de las 4 mediciones/parámetro.

3.2.2. Medida del área del lumen y perímetro del saco anal

A diferencia del único estudio existente hasta la fecha, el publicado por Stefanov en 2012, en lugar de medir el diámetro del lumen del saco anal, se ha elegido medir el área, ya que el saco anal no es una esfera perfecta, variando mucho si está o no dilatado. Midiendo el área y no el diámetro se obtiene una medida real y más exacta de la superficie del lumen del saco anal.

Para complementar más el estudio, también se midió el perímetro del saco anal, con la finalidad de comprobar si dichas variables estaban relacionadas.

Las imágenes, previamente obtenidas mediante Caseviewer® fueron procesadas con Microsoft Paint® para eliminar todo el material del lumen. Una vez procesadas, se midió el área y el perímetro del lumen del saco mediante el software Image J® (Fig.4).

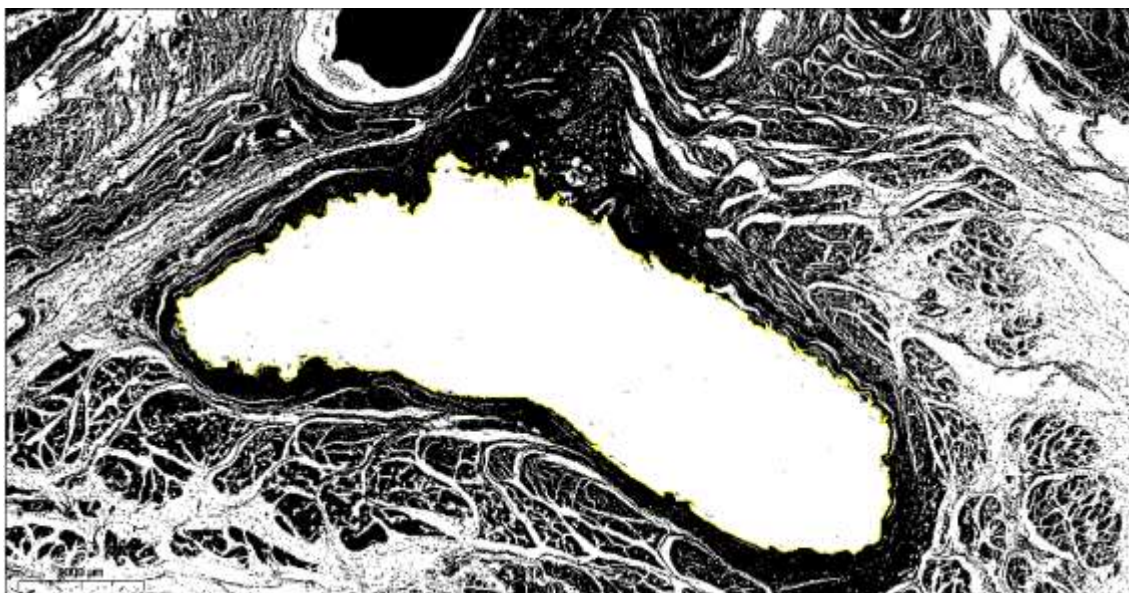


Figura 4. Área del saco anal medida por ImageJ®. Previamente se “vacío” el contenido del lumen de la imagen mediante Paint®

3.2.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizaron los software: R, RStudio y SPSS®, (Statistical Package for the Social Science) versión 25, donde se realizaron medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas.

Se verificaron los supuestos de normalidad de las variables cuantitativas mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov ($n \geq 30$) y Shapiro-Wilk ($n < 30$).

A nivel inferencial se correlacionaron los parámetros evaluados en el estudio micromorfométrico, los cuales presentaron distribución normal, por lo que se utilizó la correlación de Pearson. La significancia estadística se estableció si $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1. Descripción histológica

A continuación, se describen los hallazgos más relevantes observados en las muestras examinadas. Las características histológicas de cada una de las muestras estudiadas se describen en la tabla 2.

Se puede observar que el saco anal se correspondió con una invaginación de la piel del ano con forma de saco ciego, comunicada con el exterior a través de un conducto (ducto excretor), delimitado por la propia invaginación.

La luz del saco se encontraba rodeada por una pared histológicamente organizada en 5 capas (Fig.5), que fueron desde la luz a la periferia: epitelio de revestimiento, capa de tejido conjuntivo subepitelial, capa de glándulas apocrinas, capa de tejido conjuntivo subglandular y capa muscular (esfínter anal externo y en determinadas zonas esfínter anal interno o ambos), como ya apuntaba la bibliografía.

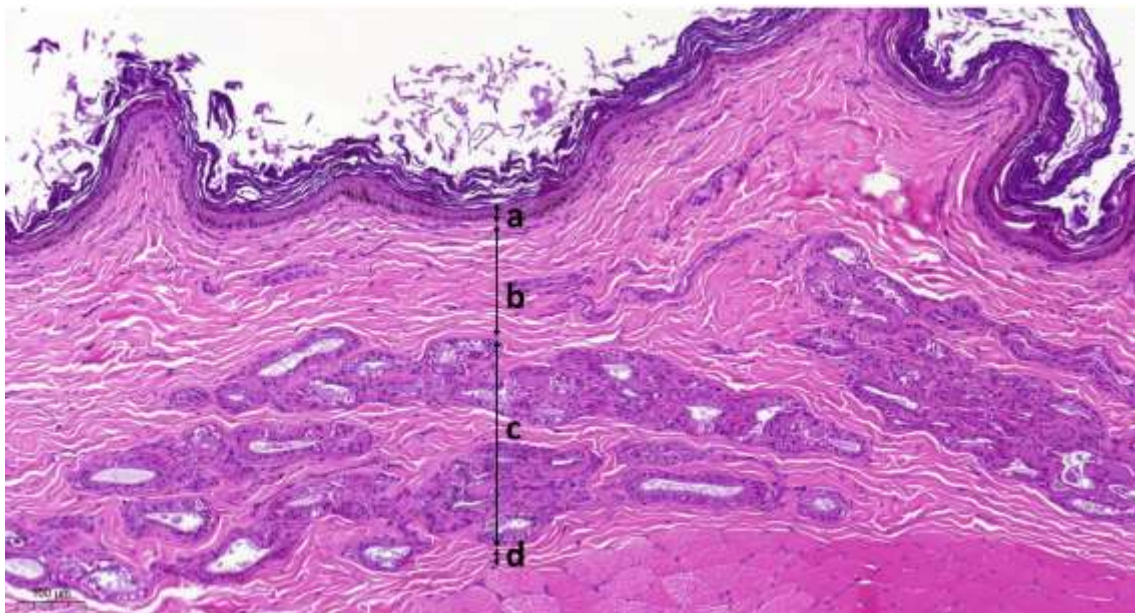


Figura 5. Saco anal. Corte histológico del saco anal mostrando el patrón histológico clásico de capas de la pared del saco. **a-** Capa epitelial; **b-** Capa subepitelial; **c-** Capa glandular; **d-** Capa subglandular. HE.

4.1.1. Lumen

En la mayoría de las muestras, la luz del saco se encontraba totalmente (6 de 14), (Fig. 6A) o parcialmente dilatada (7 de 14) (Fig. 6B); únicamente una de las muestras presentó un estado del saco replegado (Fig. 6C). En el procesado de las muestras fue frecuente el perder parte del material presente en la luz, concretamente en 6 de las 14 muestras procesadas la luz del saco se encontraba prácticamente vacía, observándose únicamente algunos restos de queratina pertenecientes a la capa córnea del epitelio (Tabla 2). En las muestras en las que se conservó el contenido del lumen, éste estaba formado por abundante cantidad de queratina laminada y amorfa y, en menor cantidad, agregados de material proteináceo homogéneo, mezclado ocasionalmente con escasos restos celulares descamados, fragmentos de pelo libre y pigmento melánico libre (Fig. 6D). En las preparaciones histológicas estudiadas no se evidenciaron colonias bacterianas.

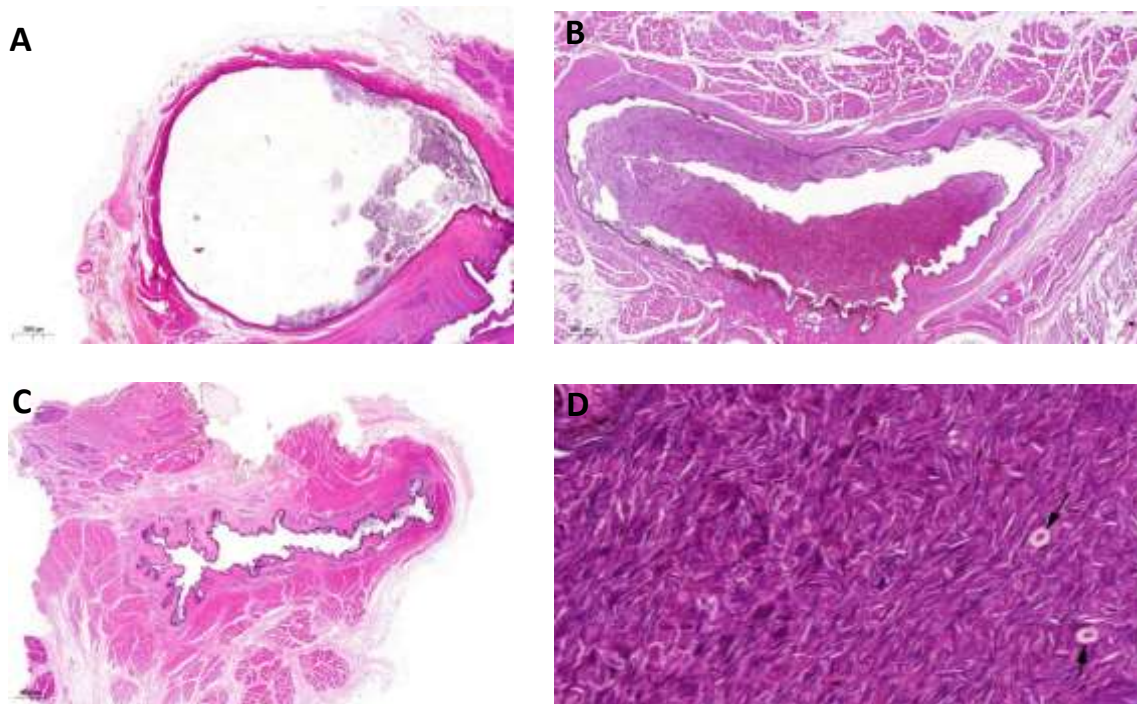


Figura 6. Saco anal. **A-C:** Distintos estadios según el grado de dilatación del saco anal. **A** - Saco anal muy dilatado. **B** - Grado medio de dilatación. **C**- Saco anal replegado o no dilatado. **D**- Imagen ampliada del contenido del lumen mostrando queratina laminar y fragmentos de pelo libre (flechas negras). HE.

4.1.2. Epitelio de revestimiento

La luz del saco se encontraba revestida por un epitelio estratificado escamoso queratinizado, con una moderada hiperqueratosis ortoqueratótica. El número de capas del epitelio varió entre 1-5, de forma independiente al grado de distensión de la luz, siendo frecuente el menor grosor del epitelio en aquellas muestras en las que el saco se encontraba más distendido (Tabla 2) (Fig. 7A). La capa basal del epitelio contenía células epiteliales cúbicas a cilíndricas. El estrato córneo contenía células epiteliales planas, formando una capa de queratina de grosor variable (Fig. 7B). En la mayoría de las muestras estudiadas (11 de 14), se observó hiperpigmentación del estrato basal de intensidad variable (8/11 moderada, 3/11 severa), y de distribución multifocal (7/11) o difusa (4/11) (Fig. 7C). Dentro del epitelio, en la mayoría de las muestras (11 de 14), se observó ligera vacuolización intracelular (perinuclear), generalmente más frecuente en la capa basal (Fig. 7D). Ninguna de las muestras estudiadas presentó signos de erosión o ulceración.

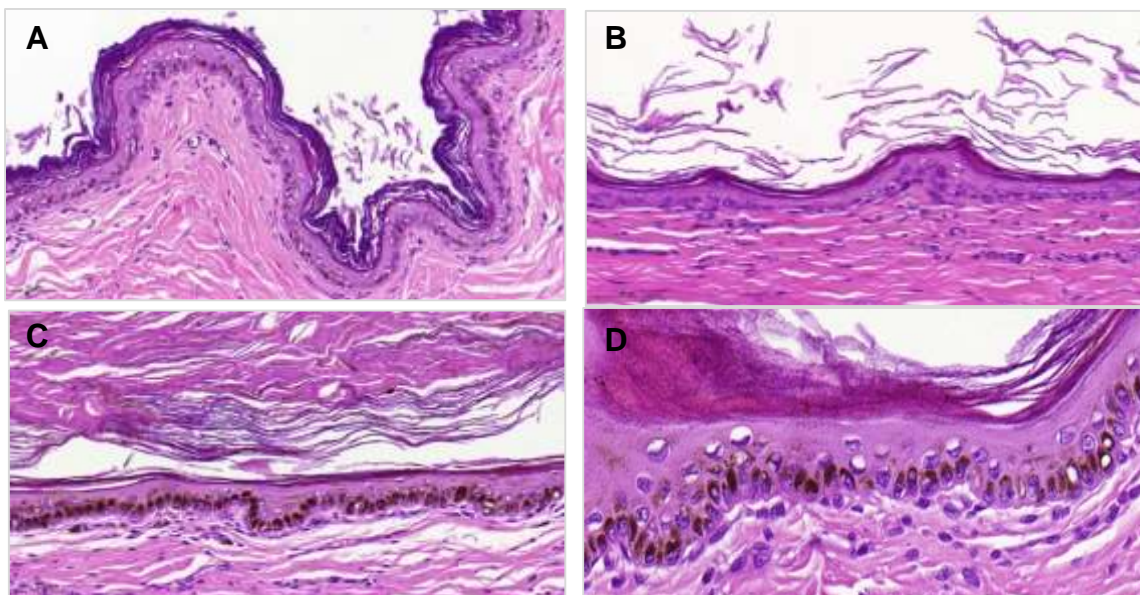


Figura 7. Saco anal, capa epitelial. **A-** Epitelio del saco anal, calificado como grueso y detritus en la luz. **B-** Epitelio del saco anal calificado como estrecho. **C-** Hiperpigmentación del estrato basal del epitelio. **D-** Vacuolización intracelular en células epiteliales. HE.

La capa subepitelial se correspondió con una capa de tejido fibrovascular, con abundante tejido conjuntivo denso compuesto fundamentalmente por fibras de colágeno (Figs. 8A y B). En 11 de 14 muestras se observó un infiltrado inflamatorio de tipo mononuclear, leve o moderadamente intenso, compuesto por linfocitos, células plasmáticas e histiocitos (Figs. 8C y Fig. 9). Dicho infiltrado presentó una distribución focal (3/14) o multifocal (7/14), generalmente perivascular, y, más raramente, difusa (1/14). En 7 de 14 muestras (Tabla 2) se observó también incontinencia pigmentaria focal, multifocal o difusa en forma de pequeños agregados subepiteliales de melanomacrófagos (Figs. 8D y Fig. 9).

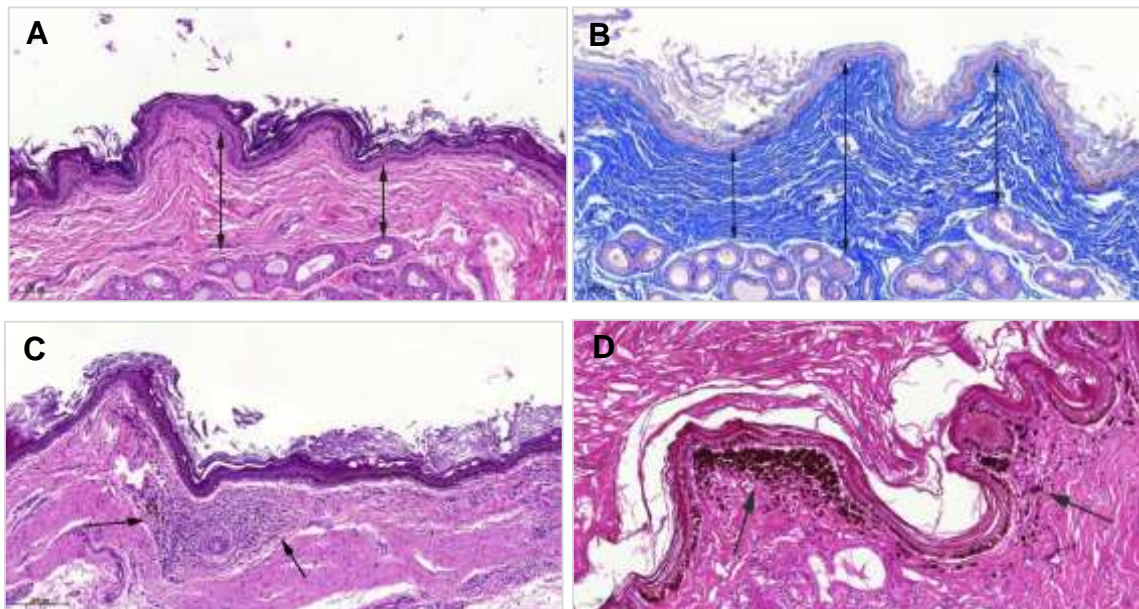


Figura 8. Saco anal, capa subepitelial. **A, B-** Capa subepitelial formada predominantemente por fibras de colágeno compactas y orientadas paralelamente a la superficie, teñidas de color azul (B). Las flechas indican el grosor de la capa subepitelial. HE (A) y tricrómica de Masson (B). **C-** Inflamación focal crónica en la capa subepitelial (flechas). HE **D-** Incontinencia pigmentaria con agregados multifocales de melanomacrófagos en la capa subepitelial (flechas). HE.

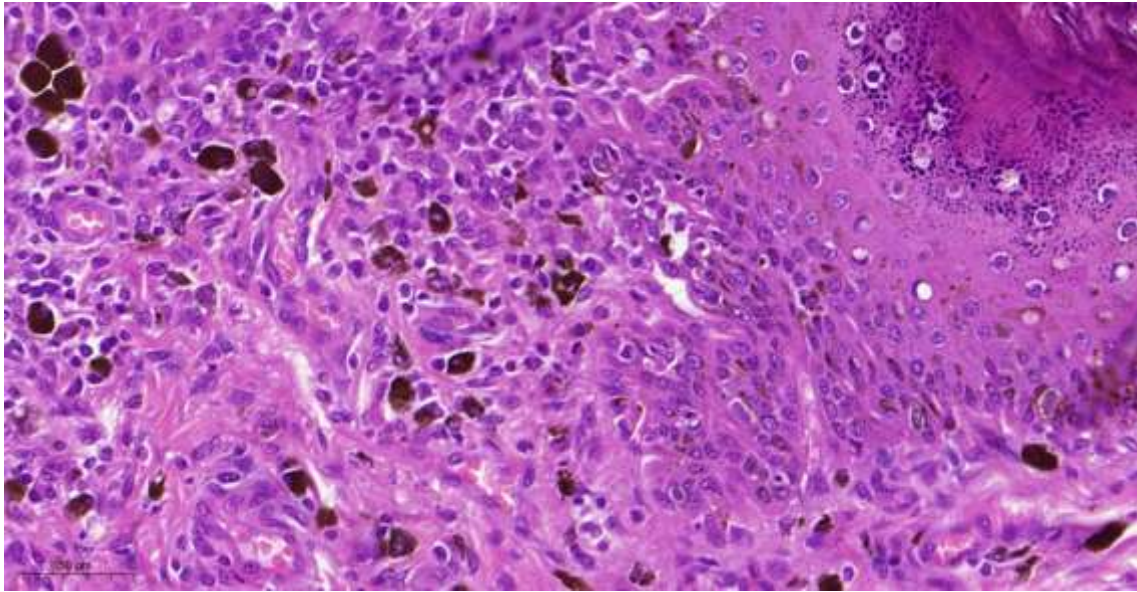


Figura 9. Saco anal, capa subepitelial. Infiltrado inflamatorio subepitelial compuesto por linfocitos, células plasmáticas y abundantes melanomacrófagos. HE.

4.1.4. Capa glandular

La capa glandular, bajo la capa subepitelial, se correspondió con una capa discontinua compuesta por glándulas apocrinas de tipo tubular, de morfología variable (distendidas o comprimidas) en función de la muestra y del área del saco estudiada (Fig.10). Las glándulas apocrinas estaban revestidas de epitelio simple, cuboidal o columnar, ocasionalmente aplanado (Figs. 10 y 11) dependiendo del grado de distensión del lumen glandular. El epitelio glandular se encontraba rodeado por una capa de células fusiformes, compatibles con células mioepiteliales (Fig.11). Los acinis glandulares contenían una cantidad variable de material eosinofílico homogéneo, de tipo proteico (Figs. 10 y 11). Entre las glándulas se observaba tejido fibrovascular de características histológicas similares a las descritas en la capa subepitelial, en ausencia de infiltrados inflamatorios.

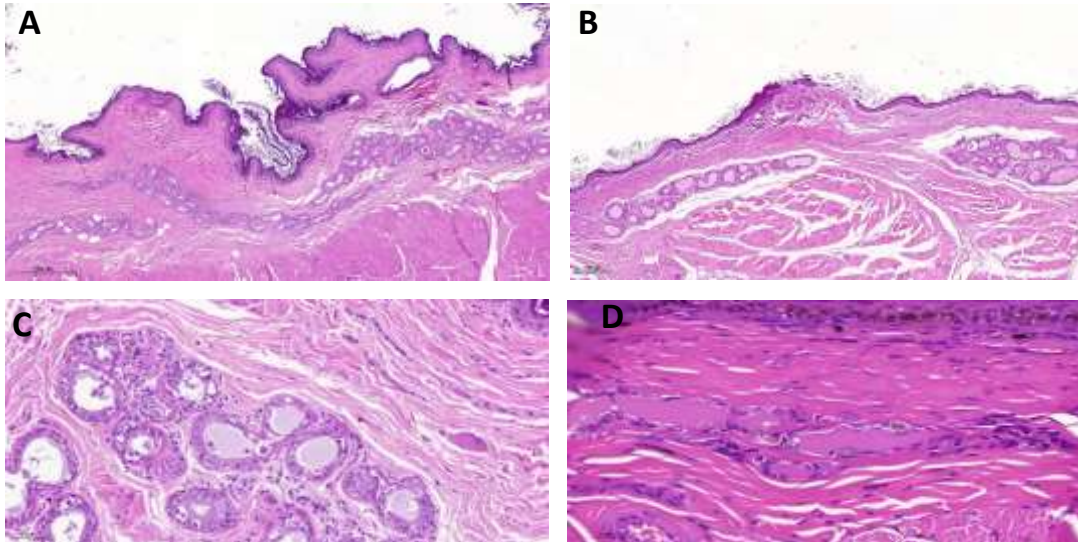


Figura 10. Saco anal. Capa glandular. **A** y **B**: discontinuidad de la capa glandular en la pared del saco. **C**: epitelio cúbico en las glándulas apocrinas. **D**: epitelio aplanado en las glándulas apocrinas. HE.

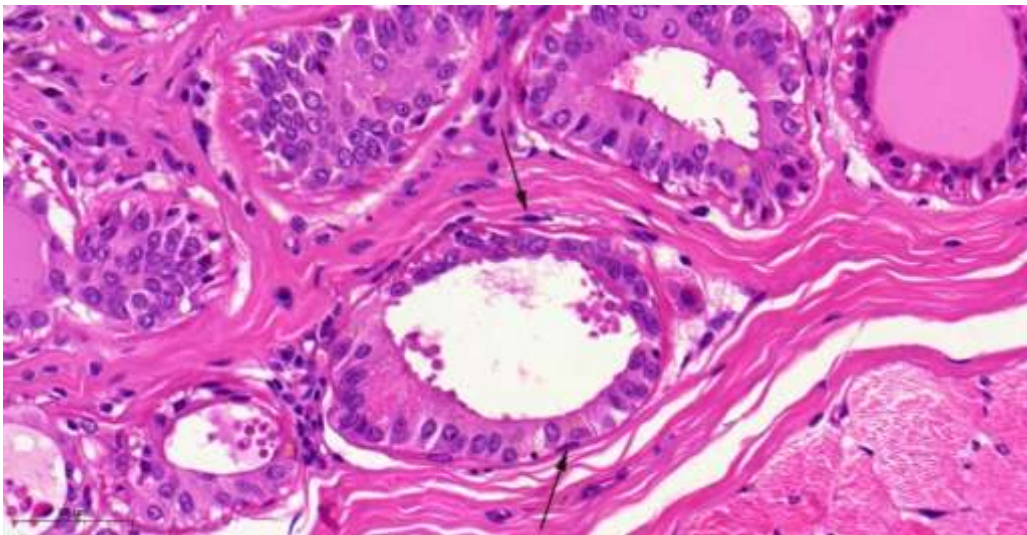


Figura 11. Saco anal. Detalle del epitelio cilíndrico en las glándulas apocrinas y capa de células mioepiteliales rodeando las glándulas (flechas). HE.

4.1.5. Capa de tejido conjuntivo subglandular

Esta capa estaba compuesta por tejido fibrovascular de características histológicas similares a las descritas en la capa subepitelial, en ausencia de infiltrados inflamatorios (Fig.12).

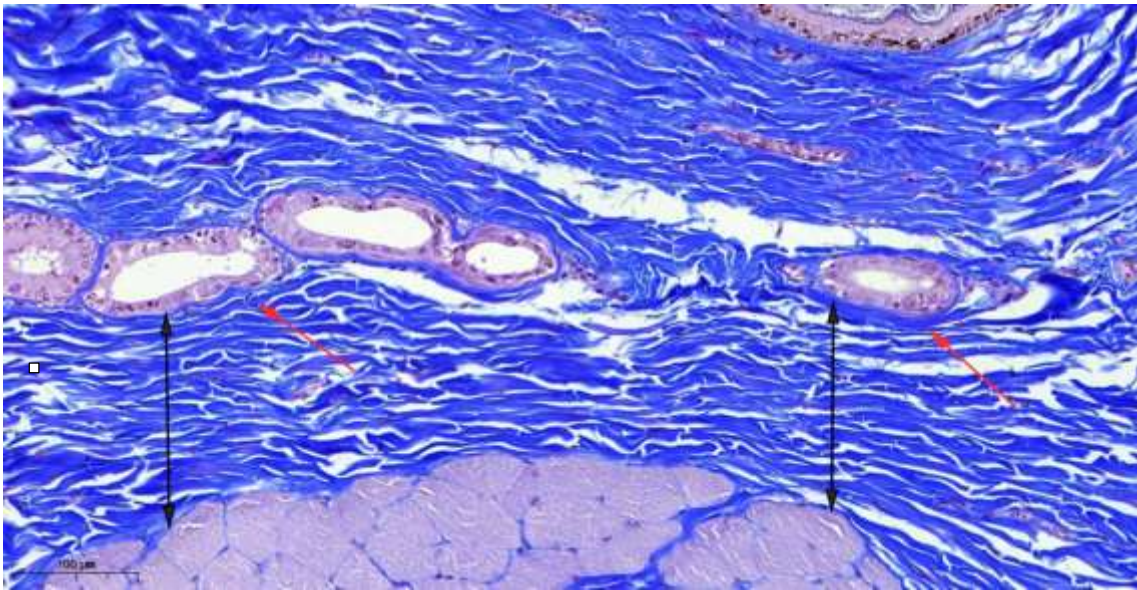


Figura 12. Saco anal. Capa subglandular. Las flechas negras indican el grosor de dicha capa y las flechas rojas detallan la zona de tejido fibrovascular sin infiltrados linfocitarios que rodea el tejido glandular, delimitando la capa subglandular. HE.

4.1.6. Capa muscular

La capa de células musculares, correspondiente a la musculatura del esfínter anal externo e interno, circundaba al saco anal en todo su perímetro de forma discontinua. Los diferentes fascículos musculares se encontraban separados por tejido conjuntivo laxo. En general la capa muscular era bastante gruesa, aunque su grosor era variable en función del área y de la muestra estudiada. Además presentaba cierta discontinuidad (Fig. 13B). Se encontraba compuesta por células musculares estriadas, constituyendo el esfínter anal externo, en torno al saco anal (Fig. 13A). La orientación de los fascículos musculares en la mayoría de las zonas era transversal (Fig. 14A), aunque ocasionalmente en algunas áreas se observó una orientación longitudinal de las fibras (Fig.14B).

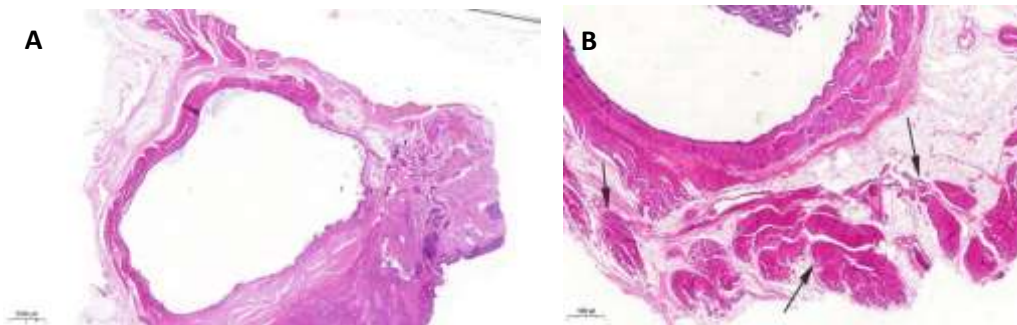


Figura 13. Saco anal. **A-** Células musculares estriadas circundando al saco anal; **B-** Imagen ampliada mostrando la capa muscular algo discontinua en la pared del saco anal (flechas). HE.

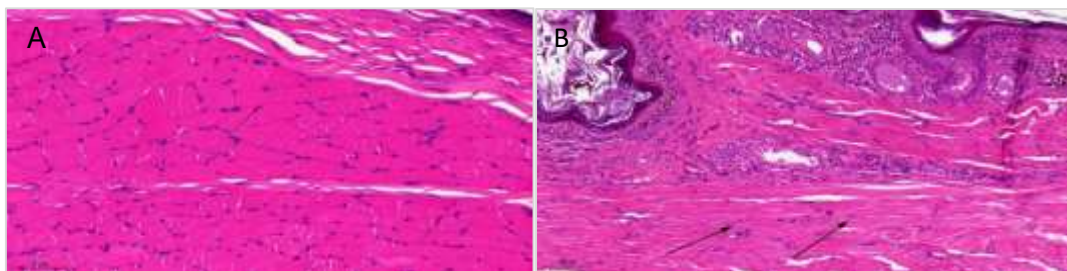


Figura 14. **A-** Saco anal. Capa de células musculares ampliada. Corte transversal. **B-** Corte longitudinal, mostrando el patrón típico de núcleos en la periferia (flechas). HE.

4.1.7. Ducto excretor

Esta estructura, como se ha explicado en el apartado de metodología, fue muy difícil de identificar durante el tallado, pudiéndose observar histológicamente tan solo en dos preparaciones. En ellas se observó que el ducto excretor se comunicaba con la luz del saco y desembocaba en la región anocutánea del ano y se continuaba con la piel, sin existir ningún tipo de esfínter (Figs. 15A y B).

El epitelio que lo delimita presentaba características similares al descrito para la capa epitelial, aunque su grosor era mayor. En la capa epitelial, como de forma generalizada en el resto del saco anal, se observó hiperpigmentación del estrato A diferencia del resto de la pared del saco, en la capa glandular que rodeaba el ducto se observaron glándulas sebáceas y ausencia de glándulas apocrinas (Figs.15B y 16). La capa muscular estaba formada por células musculares estriadas pertenecientes al esfínter anal externo.

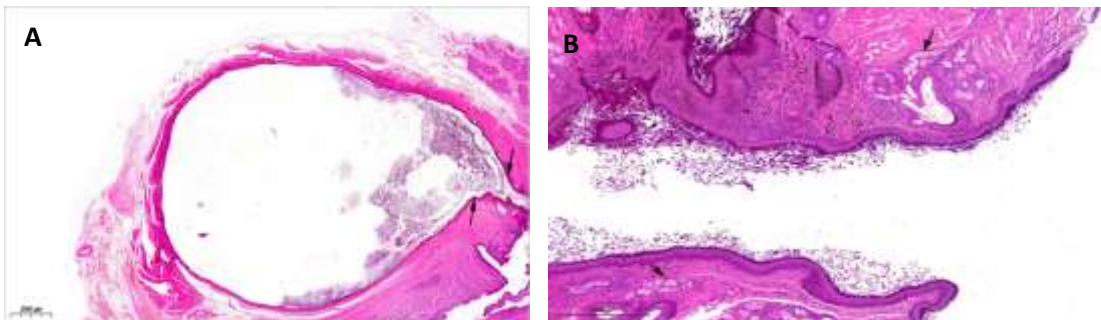


Figura 15. Saco anal. **A-** Saco anal continuando con el ducto excretor. Las flechas indican el punto aproximado donde ambas estructuras se encuentran. **B-** Apertura del ducto en la piel. Se observan restos de queratina amorfa en el lumen. Las flechas señalan los acinis sebáceos en la pared del ducto. HE.

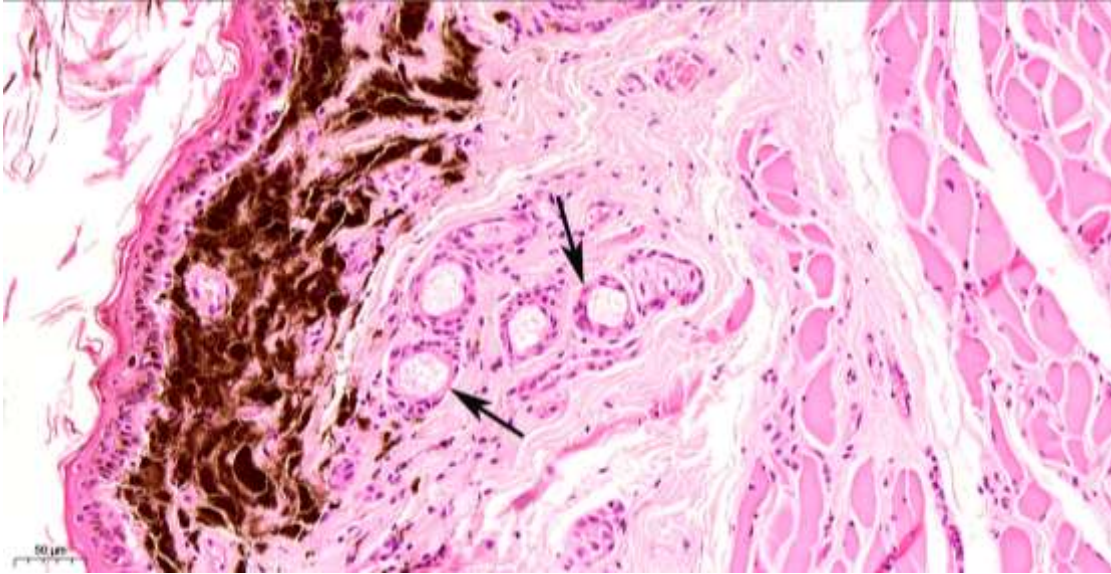


Figura 16. Saco anal, ducto excretor y lumen. Presencia de intensa incontinencia pigmentaria en la capa subepitelial y acinis sebáceos en la capa glandular (flechas). HE.

Tabla 2. Características microscópicas de los sacos anales en las muestras examinadas

MUESTRA	GRADO DILATACION SACO	CONTENIDO LUMEN				CAPA EPITELIAL					CAPA SUBEPITELIAL			GLÁNDULAS APOCRINAS
		QUERATINA LAMINAR/AMORFA	FRAGMENTOS PELO	PIGMENTO LIBRE	DESCAMACION EPITELIAL	Nº CAPAS	HIPERPIGMENTACION ESTRATO BASAL		VACUOLIZACION INTRACELULAR		INFLAMACION SUBEPITELIAL		INCONT. PIGM.	
							Int	Dist	Int	Dist	Int	Dist		
1	Di	3	0	0	1	2-3	3	D	1	MF	1	F	MF	C
2	Di	3	0	0	1	1-2	1	MF	1	MF	1	MF	MF	N
3	Di	3	0	0	1	1	3	D	1	MF	0	-	D	C
4	Di	3	0	0	0	1-2	1	MF	0	-	1	MF	F	N
5	Di	1	0	0	0	1-3	1	MF	1	MF	2	MF	-	N
6	M	0	0	0	0	1-3	0	-	1	MF	0	-	-	N
7	M	3	0	0	1	2-3	1	MF	1	MF	1	F	-	Di
8	Di	1	0	0	0	1-2	0	-	0	-	1	F	-	Di
9	M	1	0	0	0	3-5	3	D	1	MF	1	MF	D	N
10	M	3	1	1	0	2-3	2	D	1	MF	1	D	MF	N
11	R	0	0	0	0	2-3	2	MF	1	MF	1	MF	-	N
12	M	3	0	0	1	2-3	0	-	1	MF	2	MF	-	Di
13	M	1	0	0	0	1-2	1	MF	0	-	1	F	-	C
14	M	3	0	0	0	1-2	2	MF	1	MF	2	MF	F	N

El contenido del lumen y la intensidad de los cambios se valoraron siguiendo una escala de 0-3 (0: ausente; 1: leve; 2: moderado; 3: severo/abundante). Abreviaciones: D: difuso; F: focal; MF: multifocal. El grado de dilatación del saco se ha valorado con los siguientes estados, Di: dilatado; M: medio; R: replegado. Las glándulas apocrinas se han valorado con los siguientes estados, C: comprimidas; Di: dilatadas; N: normales.

4.2. Estudio micromorfométrico

Las medidas obtenidas para cada uno de los parámetros estudiados en las diferentes muestras se detallan en la tabla 3. El grosor del epitelio varió entre 12 y 35,35 μm ; la capa subepitelial abarcó un grosor de 60,73 a 392,65 μm ; la capa glandular de 34,13 a 257,10 μm ; la capa subglandular mostró un grosor de 33,15 μm a 465,98 μm . El área estudiada comprendió un intervalo de medidas de 17,16 mm^2 a 119,28 mm^2 y el perímetro del saco anal de 42,86 mm a 112,97 mm.

Tabla 3. Resultados micromorfométricos del saco anal: grosor total de la pared y capas individuales. \pm desviación estándar

	Pared saco μm	Epitelio μm	Capa subepitelial μm	Capa glandular μm	Capa subglandular μm	Área mm^2	Perímetro mm
1	179,4	19,3	60,7	54,2	43,8	108,1	68,6
	± 40	$\pm 4,6$	$\pm 18,5$	± 33	$\pm 22,5$		
3	167,2	12	86,9	34,13	33,2	119,3	55,5
	$\pm 17,7$	$\pm 3,2$	$\pm 9,4$	± 11	$\pm 20,3$		
6	587,7	25,1	233	91,7	240,1	49,3	70,3
	$\pm 141,3$	$\pm 12,9$	$\pm 148,2$	$\pm 26,8$	$\pm 107,2$		
7	379,6	12,7	90	193,9	83,6	101	43,1
	$\pm 104,7$	$\pm 4,7$	$\pm 10,8$	$\pm 90,9$	$\pm 75,6$		
8	320,3	24,4	101,4	125,3	67	93,9	42,9
	$\pm 116,4$	$\pm 17,1$	$\pm 20,4$	$\pm 58,8$	$\pm 45,9$		
9	925,4	21,8	392,7	88,2	466	17,2	45,3
	$\pm 95,1$	$\pm 16,8$	$\pm 134,6$	$\pm 11,7$	$\pm 199,4$		
10	421	35,4	170,7	145,5	62,3	31	74,5
	$\pm 42,8$	$\pm 8,3$	± 13	$\pm 65,3$	± 49		
11	638,9	22,8	218,1	257,1	140,3	18,4	113
	$\pm 115,5$	$\pm 3,8$	$\pm 59,3$	$\pm 136,1$	$\pm 119,6$		

Las medidas se encuentran expresadas como media \pm desviación estándar

Debido a la variabilidad de las medidas, las muestras se dividieron en dos grupos diferenciados en función del valor del área obtenida, creándose así el grupo 1 y el grupo 2, tomando como referencia para esta división el valor promedio del

área que delimitaba el epitelio del saco anal que fue 67,27 mm², área que varía según el grado de dilatación del saco.

- Grupo 1: áreas de valor $\leq 67,27$ mm². Saco menos dilatado.
Muestras números 6,10,11 y 9.
- Grupo 2: áreas de valor $> 67,27$ mm². Saco más dilatado.
Muestras números 7,3,1 y 8.

Un resumen de las medias de los valores de cada grupo se refleja en la tabla 4.

Tabla 4. Media promedio y desviación típica de las medidas de cada capa y el área del saco anal.

	Área	Pared saco	Epitelio	CSE	CG	CSG
Grupo 1	28,96±7,65	643,23±209,86	26,27±6,22	253,60±96,44	145,63±78,81	227,18±175,04
Grupo 2	105,57±10,83	261,63±104,96	17,11±5,86	84,74±17,17	101,88±72,75	56,86±22,74

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar. Abreviaciones: CSE: capa subepitelial. CG: capa glandular. CSG: capa subglandular.

Adicionalmente, dado que el estudio histológico sugería cierto grado de compresión de la pared en los sacos con un lumen más dilatado, se comprobó si existía alguna relación entre el área del lumen y el grosor de la pared del saco. También se comprobó si aparecía alguna relación entre el área y cada una de las cinco capas que constituyen la pared del saco anal.

4.2.1. Análisis estadístico

Los parámetros evaluados en el estudio micromorfométrico presentaron distribución normal, por lo que se empleó la correlación de Pearson para determinar las relaciones entre los distintos parámetros.

El grosor de la pared presentó correlación lineal significativa de manera directa o positiva con la capa subepitelial (0,966) así como con la capa subglandular (0,916); por otra parte, presentó correlación lineal inversa o negativa con el área (-0,866). La capa subepitelial presentó correlación lineal directa o positiva con la capa subglandular (0,945) mientras que se observó una correlación lineal inversa o negativa con el área (-0,845), (Fig. 17).

Entre el área y el perímetro no se observó una correlación significativa, sin embargo el coeficiente de correlación fue -0,49.

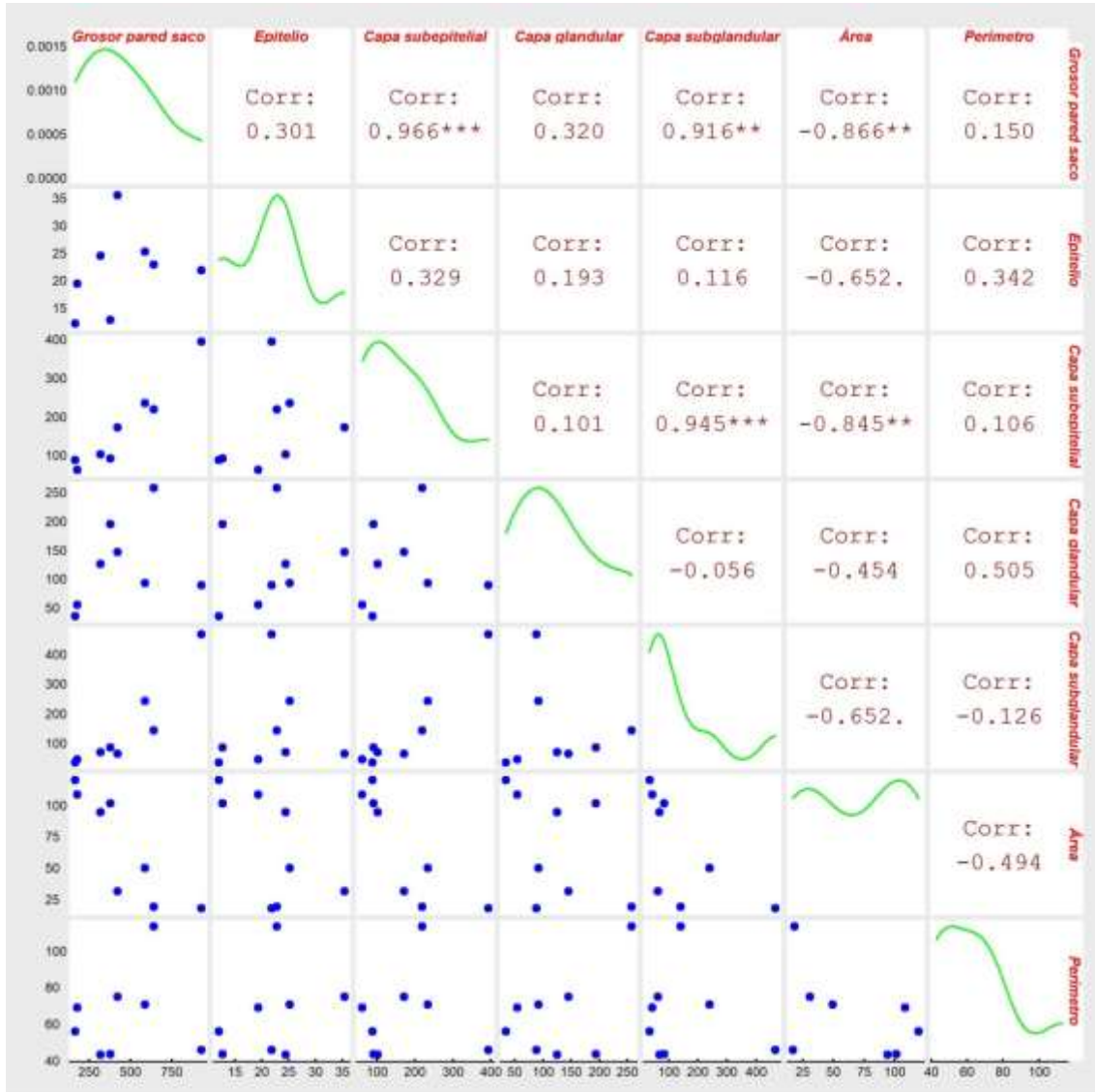


Figura 17. Correlación de los parámetros en el estudio micromorfológico. Correlación de Pearson significancia: p valor < *** 0.001, ** 0.01, * 0.05

5. Discusión

Los hallazgos histológicos en las muestras examinadas confirman las observaciones realizadas por varios autores en cuanto al patrón histológico del saco anal y las diferentes capas que conforman su pared (Montagna *et al.*, 1948, Salazar *et al.*, 1996, Stefanov *et al.*, 2008). El saco anal, al constituirse por una invaginación o receso de la piel del ano, queda revestido por un epitelio similar al tejido cutáneo, es decir, estratificado escamoso queratinizado, similar al descrito en estudios previos (Montagna *et al.*, 1948; Stefanov *et al.*, 2008). Según los resultados obtenidos podemos afirmar que, acorde con lo publicado por otros autores, el saco anal es una estructura ubicada internamente, entre ambos esfínteres anales, que delimita un espacio o lumen que almacena un fluido y que comunica con el exterior a través de un ducto que se abre en la zona anocutánea del ano (Montagna *et al.*, 1948; Meyer *et al.*, 2001, Stefanov *et al.*, 2008).

En base a los resultados obtenidos, el contenido del lumen del saco anal esta predominantemente compuesto por queratina laminada, de forma similar a lo descrito previamente en otros estudios del contenido del saco anal de perros sanos (sin enfermedad del saco anal) mediante citología (Lake *et al.*, 2003; Robson *et al.*, 2003; James *et al.*, 2011). Según dichos autores, en el contenido del lumen se observan corneocitos, restos de descamación epitelial, algunos neutrófilos y diversos tipos de bacterias (Lake *et al.*, 2003; Robson *et al.*, 2003; James *et al.*, 2011). En algunas muestras de nuestro estudio se ha observado además de queratina, pigmento libre y fragmentos de pelo. A diferencia de lo descrito en los estudios citológicos (Lake *et al.*, 2003; Robson *et al.*, 2003; James *et al.*, 2011), el estudio histológico mediante la valoración de secciones teñidas con hematoxilina y eosina no permitió identificar con claridad la presencia de formas bacterianas en la luz del lumen, posiblemente debido al bajo número de las mismas y a la ausencia de colonias bacterianas de un tamaño suficiente para permitir su identificación mediante este tipo de tinción. Cabe señalar que en 6 de las 14 muestras examinadas el contenido del saco se perdió durante el procesado histológico de las muestras, por lo que esta

técnica no resulta completamente recomendable para realizar estudios del contenido.

En este estudio se han descrito por primera vez algunas características histopatológicas adicionales del epitelio y capa subepitelial del saco anal de perros control, como son la degeneración vacuolar e hiperpigmentación del estrato basal del epitelio, no asociada al color o capa del perro, y la presencia de inflamación subepitelial, más frecuentemente de tipo moderado, crónico y difuso, complementando así el estudio iniciado por Stefanov y colaboradores (Stefanov et al., 2008). Estos cambios epiteliales y subepiteliales son indicativos de un proceso inflamatorio leve, crónico y subclínico, posiblemente relacionado con procesos de impactación y saculitis anal puntuales a lo largo de la vida del animal. Así, estos resultados sugieren que los perros pueden padecer a lo largo de su vida saculitis subclínicas que pueden ocasionar cambios histopatológicos leves, como es la presencia de inflamación crónica leve subepitelial (Mauldin *et al.*, 2015). Monet, ya afirmó en 1933 que las afecciones de los sacos anales del perro se caracterizaban por su cronicidad (Monet 1933).

Se ha comprobado que obtener cortes histológicos longitudinales completos del ducto excretor, de su comunicación con el lumen del saco y de su abertura en la superficie anocutánea es una tarea de difícil realización, principalmente por el pequeño diámetro del ducto y su trayectoria variable. Dicho ducto fue observado únicamente en 2 de las 14 preparaciones estudiadas. El ducto excretor de cada saco anal desemboca en la región anocutánea del ano y se continúa con la piel, sin existir ningún tipo de esfínter. Como hemos explicado en el capítulo 1, el fluido queda almacenado en los sacos dependiendo del tono del esfínter anal interno. El epitelio que delimita el ducto excretor es el mismo que el del resto del saco anal, aunque el grosor del epitelio es mayor a nivel del ducto. A diferencia de la capa glandular de la pared del saco anal, compuesta por glándulas apocrinas, en la capa glandular de la pared del ducto se observan glándulas sebáceas, de forma similar a lo descrito previamente por Montagna y colaboradores en 1948 (Montagna *et al.*, 1948). Sin embargo, a diferencia de lo observado por estos autores (cita otra vez a montagna), en la pared del ducto de las muestras examinadas en este estudio las glándulas apocrinas se encontraban ausentes. Estas diferencias se explican

posiblemente por el bajo número de muestras en las que fue posible estudiar el ducto, y a la imposibilidad de examinarlo en toda su longitud.

En cuanto a la capa muscular se vio que estaba formada por células musculares estriadas pertenecientes al esfínter anal externo y apenas se observaron células musculares lisas pertenecientes al esfínter anal interno (Salazar *et al.*, 1996).

En relación al estudio micromorfométrico, los resultados obtenidos para el grosor de las distintas capas se aproximan a los descritos por otros autores (Stefanov 2012), especialmente a los valores publicados para los animales pertenecientes al intervalo de edad de 12 años, similar a la edad promedio de los individuos incluidos en este estudio (9,7 años). Comparando las medidas obtenidas para cada capa con las previamente publicadas, el grosor de la capa epitelial fue similar en ambos estudios, mientras que el grosor total de la pared del saco, así como del resto de capas, fue ligeramente menor en nuestro estudio (Stefanov 2012).

De acuerdo con nuestras observaciones podemos afirmar que las medidas micrométricas de las estructuras que componen el saco anal pueden variar según el grado de dilatación del saco en el momento de la toma de muestras y según la zona medida dentro de un mismo saco, lo que explica la elevada dispersión de los resultados obtenidos, de forma similar a lo observado en estudios previos (Stefanov 2012). En este sentido, los resultados del grosor de las distintas capas publicados anteriormente se aproximan más a los obtenidos en este estudio para el grupo de sacos menos dilatados (área $\leq 67,27\text{mm}^2$) (Stefanov 2012).

Este estudio describe por primera vez la correlación entre el área del lumen del saco anal y el grosor de la pared del saco (exceptuando la capa muscular), y sus respectivas capas. Así, según los resultados obtenidos, el grosor de la pared del saco es inversamente proporcional al área del lumen, la cual determina el grado de dilatación del saco anal ($p = -0,87$); es decir, a mayor grado de dilatación, menor grosor de la pared del saco. Ello se explica por el efecto compresivo que ejerce el material contenido en el lumen sobre la pared del saco, de forma similar a lo que sucede en cualquier estructura quística.

Además, se observó una correlación lineal significativa de manera directa o positiva entre el grosor de la pared del saco anal y la capa subepitelial ($p= 0,97$), así como con la capa subglandular ($p= 0,92$).

En relación a la comparación entre el valor del área y el perímetro del saco anal, se ha obtenido una correlación no significativa, con un coeficiente $\rho= -0,49$. Además, el valor del perímetro fue bastante similar en todas las muestras estudiadas, lo que sugiere pocas diferencias en el volumen de la luz del saco de los animales estudiados, en el caso de que todos ellos estuviesen dilatados de forma similar.

CAPÍTULO 3

ESTUDIO ORGANOLÉPTICO Y MICROBIOLÓGICO DEL FLUIDO ALMACENADO EN LOS SACOS ANALES

1. Introducción

A pesar de no haber demasiados estudios sobre el contenido de los sacos anales, la presencia de bacterias en estos sacos en el perro está ya documentada (Pappalardo et al., 2002; Lake et al., 2004), sin embargo, existe una gran discrepancia en cuanto al tipo de bacterias encontradas en dichos sacos (James et al., 2011), y si este crecimiento bacteriano ocurre de manera fisiológica o su presencia es la responsable de la insidiosa enfermedad del saco anal (ESA; Morgan et al., 2003; Nelson y Couto, 2010). Esta enfermedad es la patología más común de la región anal canina siendo los perros de razas pequeñas los que más predisposición presentan.

Aunque la bibliografía encontrada sobre la flora bacteriana presente en el saco anal es escasa, podemos resumir los datos encontrados en dichas publicaciones en las siguientes premisas:

- Algunos de los estudios que verifican la presencia de bacterias en el fluido de los sacos anales del perro, concluyen que la presencia de cocos y bacilos, Gram+ y Gram-. es normal (Lake et al. 2004), aunque aislándose hasta siete especies diferentes de estas bacterias (Pappalardo et al., 2002).
- La presencia de bacterias intracelulares en el fluido es mínima o nula (Lake et al. 2004; Robson et al. 2003) y las bacterias y levaduras encontradas en animales sanos, es similar a las cultivadas de los sacos de animales con ESA, aunque en este caso el recuento de bacterias fue mayor (James et al., 2011).
- Aunque no existen estudios exhaustivos sobre el contenido de los sacos anales, parece ser que, por proximidad de éstos al tracto digestivo, puede aparecer microorganismos potencialmente zoonóticos (Meeks 1978; Shirwin et al., 2018).

Aunque se han aislado bacterias en el fluido almacenado en los sacos anales, como queda reflejado en la bibliografía, cabe preguntarse, qué tipo de bacterias y qué número de colonias (UFC; unidad formadora de colonias) se consideran

suficientes para establecer una infección, y por tanto la enfermedad de saco anal (ESA). Esta enfermedad puede conllevar a una impactación de los sacos, en cuyo caso, la guía de medicina interna, de forma abreviada BSAVA (Murdoch et al., 2005), recomienda, además del drenaje terapéutico, el uso de corticoides, antibioterapia tópica y si fuera necesario antibioterapia sistémica, además de analgésicos. Es decir, que si ante la aparición de esta enfermedad, la BSAVA, recomienda el uso de antibioterapia, será que la presencia de bacterias dañinas en la misma es importante, y para eso un mayor conocimiento del tema es necesario. Por otra parte, y basándonos también en recomendaciones de la guía Gram de la BSAVA, que estudia el uso racional de antibióticos, existe una larga lista de afecciones en las que a menudo se usan antibióticos sistémicos, pero rara vez son necesarios, por lo que se refuerza la necesidad de ampliar los estudios sobre flora de saco anal tanto en situaciones fisiológicas como patológicas.

Según la flora bacteriana descrita en la bibliografía, en el contenido del saco anal, aparecen tanto bacterias Gram+ como Gram-. Entre las bacterias Gram+, más representativas, destacan las bacterias del género *Enterococcus* y como Gram-, los dos tipos más repetidos son *E. coli*, y *Proteus*. *Enterococcus* es un género de bacterias del ácido láctico de la división Firmicutes, y por tanto es también una bacteria de origen fecal, aunque en otros casos, puede aislarse también en infecciones de orina (Casal et al., 2012). *Escherichia coli* es una bacteria miembro de la familia de las enterobacterias y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal del perro y se cree que su presencia en el intestino puede estar relacionada con la absorción de vitamina K; puede aparecer también en otras localizaciones, principalmente en tracto urinario tal y como ocurría con *Enterococcus* (Sánchez et al., 2003). Por último, *Proteus* es un género de bacterias que incluye patógenos responsables, principalmente de muchas infecciones del tracto urinario, pero también forma parte del sistema gastrointestinal del hombre y algunos animales, como ocurre con *Enterococcus* y *E. coli* (Drzewiecka 2016).

Estos tres tipos de bacterias tienen en común ser anaerobios facultativos y crecer en temperaturas próximas a 37°C, si bien en el caso de *Enterococcus* su temperatura de crecimiento óptima es de 35°C y puede llegar a vivir en un pH

extremadamente alcalino (9.6) por lo que puede requerir de más de un medio para la identificación de género y especie, ya que son muy parecidos a *Streptococcus* (Díaz et al., 2013). En el caso de *Proteus* son bacterias oxidasa-negativas y ureasa-positivas y son positivos a la prueba de indol.

Así pues, para aislar e identificar este tipo de bacterias, los medios de cultivo habituales utilizados son aquellos que permiten el crecimiento de gran variedad de microorganismos como el Agar BHI (Brain Heart Infusion), o algunos que permiten crecimientos más especializados y que sirven para diferenciar poblaciones bacterianas que conviven en una misma muestra, como es el caso del contenido del saco anal. Entre estos medios que permiten esa diferenciación destacan el Agar MacConkey (medio de cultivo selectivo para bacterias Gram-entéricas), Agar Tergitol 7 (para la detección de coliformes), y el Agar sangre que permitirá detectar y diferenciar presencia de ciertos estreptococos (Goldman et al., 2015).

Con el fin de estudiar en profundidad y determinar posibles cambios en la población bacteriana del contenido de distintos sacos anales, es necesario el uso de más de un medio de cultivo y cultivar al menos dos muestras diferidas en un intervalo de tiempo determinado, en un mismo individuo. Tras la recogida de la muestra, debe de procederse primero a la homogenización y dilución seriada de la misma para realizar posteriormente una siembra y una identificación bacteriana; la siembra en la placa de Petri de cada medio elegido, debe de realizarse al menos por duplicado, para tener como mínimo dos recuentos en cada medio, pero si se puede, realizarlos al menos en dos diluciones contiguas que nos permitan contar adecuadamente las UFC (consiguiendo así un total de cuatro valores sobre los que realizar la media). De esta forma se sigue, el método del número más probable (NMP), un método de estimación microbiana utilizado para enumerar varios recuentos viables y minimizar así el error (Goldman et al., 2015).

Además, el proceso de siembra y recuento tal y como se ha comentado, deberá de realizarse en dos momentos temporales si se quieren ver diferencias de poblaciones bacterianas en un mismo individuo tras la realización de determinadas maniobras o tratamientos y comparar así el número de UFC de cada tipo de bacteria que aparezca en las dos muestras temporales; de esta

manera, se verá un posible incremento poblacional, igualdad o disminución del número de colonias, aunque a la hora de comparar las UFC de distintas bacterias no existe en la bibliografía ningún algoritmo que pueda comparar proporciones.

Otro valor importante del estudio microbiológico del contenido del saco anal, es conocer la población bacteriana (identificación y cuantificación), antes de prescribir un tratamiento antibiótico, siguiendo así las recomendaciones de la guía del uso de antibióticos (Gram, BSAVA); de esta manera se evitarían las temidas resistencias a los antibióticos. Sin embargo, este procedimiento diagnóstico no se realiza de forma rutinaria en la clínica, ya que un animal con síntomas de ESA es tratado médicamente por protocolo, vía tópica, mediante soluciones antisépticas y corticoides además de antibioterapia local, y/o general; la antibioterapia más usada comúnmente es la de amplio espectro y se suele administrar por vía parenteral. En animales con recurrencia en la aparición de ESA, sería muy interesante identificar qué bacterias están presentes en el fluido almacenado para aplicar correctamente el tipo de antibiótico y en la posología adecuada, así se evitarían las resistencias y el uso innecesario de la antibioterapia. Pero para actuar de manera adecuada ante estas situaciones, es necesario un mayor conocimiento sobre la flora bacteriana presente normalmente en los sacos anales del perro y compararla con la que está presente en los animales con ESA antes y después de haberles realizado algún tipo de tratamiento o maniobra. Este capítulo pretende por tanto arrojar luz sobre esta patología y la microbiota implicada, con datos cuantitativos sobre tipos y números de bacterias y sus relaciones con otras variables del animal que pudieran favorecer una disbiosis del contenido del saco anal y por tanto de la aparición de la enfermedad, tal y como se detalla en el siguiente apartado de objetivos. Tal vez el número de microorganismos presentes en los animales con enfermedad del saco anal esté alterado y cambien las proporciones entre las bacterias presentes en el lote con ESA respecto a los animales control (libres de enfermedad).

Otros aspectos que pueden ser interesantes y que pueden relacionarse con la flora del saco anal, son los organolépticos, como información sobre el color y la consistencia de la muestra extraída y su posible variación a lo largo de la evolución de la enfermedad del saco anal. Respecto al color, no existe una

clasificación normalizada aunque algún autor ha propuesto una posible guía, aunque resulta confusa por el elevado número de valores de color (Robson et al., 2003), por lo que sería interesante tener en cuenta esta característica, pero de una manera más simplificada. En cuanto a la consistencia, tampoco hay demasiada bibliografía al respecto y de nuevo Robson y colaboradores en 2003 plantearon una clasificación, esta vez mucho más simplificada que la del color, pero quizá peor interpretable por el veterinario clínico, por lo que también sería interesante hacer una clasificación sencilla de seguir y fácil de catalogar en la clínica.

En cuanto al valor de pH del fluido del saco, no existe ninguna referencia bibliográfica que oriente al respecto, ni sobre el pH de animales sanos (pH fisiológico), ni sobre el pH que aparece en el fluido de los animales con enfermedad del saco anal. Por ello, puede ser interesante valorarlo en este estudio, para ver si condiciona o no un determinado crecimiento bacteriano, como se ha visto en algún otro trabajo en perros, aunque sobre muestras de orina y en cultivo *in vitro*, donde un pH ácido y sobre todo neutro (pero no alcalino), favorecía el crecimiento de *E. coli* (Thornton et al., 2018).

Por último, también es posible que el prototipo/tamaño del animal pueda interferir en la forma de drenar el contenido del saco, y por tanto afecte al contenido del mismo y sus variaciones en el tiempo, como parece que afirma la escasa bibliografía existente al respecto, donde la enfermedad del saco anal parece ser más prevalente en perros de tamaño pequeño (Nelson y Couto 2010).

Por todo lo expuesto anteriormente se detallan a continuación los estudios realizados en este capítulo para aclarar algunos datos y arrojar algo de luz sobre las características del contenido de los sacos anales del perro, y para ello se proponen los objetivos que se relatan en el punto 2.

2. Objetivos

Los principales objetivos de este estudio fueron:

- Realizar un estudio organoléptico y microbiológico del contenido del fluido del saco anal en animales sanos para caracterizar cualitativa y cuantitativamente la flora bacteriana presente, y diferenciar si predominan bacterias propias de la piel y/o de origen fecal por proximidad.
- Realizar un estudio organoléptico y microbiológico del contenido del saco anal, en animales con ESA (enfermedad del saco anal) mediante cultivo del mismo en dos fechas separadas en el tiempo, una al diagnosticar la enfermedad (día 0 con vaciado completo del saco) y otra a los 21 días para observar una posible modificación de la flora bacteriana, tanto en el tipo de bacteria como en el número.

3. Material y métodos

3.1. Animales del estudio

Para este estudio se utilizaron un total de 47 perros, pacientes habituales de una clínica veterinaria (Clínica veterinaria Cifuentes, Fuentes de Ebro, Zaragoza), de los cuales 16 fueron animales sin problemas en los sacos anales, y que, por tanto, pertenecen al grupo Control y 31 perros con sintomatología de enfermedad del saco anal (grupo ESA); en ambos grupos, los propietarios de los animales quisieron participar de forma voluntaria en el estudio.

Todo el proceso de manipulación y manejo de los perros en la obtención del fluido almacenado en los sacos anales fue aprobado por la Comisión Ética asesora para la experimentación animal de la Universidad de Zaragoza, mediante el informe favorable con código PI 12/18 NE.

Todas las compresiones manuales realizadas en los sacos anales, para la obtención del fluido, se realizaron sin anestesia ni sedación alguna, respetando la Ley de Bienestar Animal, Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de

los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio (BOE-A-2007-19321), siempre con el consentimiento informado y la colaboración de los propietarios en la sujeción del animal.

Al ser los perros pacientes habituales de una clínica, no siempre pudieron seleccionarse de manera homogénea en cuanto a tamaño, predisposición racial o sexo, de manera que para manejar la muestra de una manera más real, los animales se clasificaron en cada uno de los grupos (Control y ESA) por dos categorías de peso, como queda reflejado en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de individuos en cada grupo según su tamaño y peso

Tamaño	Grupo control	Grupo ESA
Pequeño (P) Hasta 10 kilos	5	15
Grande (G) Más de 10 kilos	11	16

Para facilitar la nomenclatura en apartados posteriores, siempre que aparezcan datos sobre animales del grupo control, se denominarán como “C” y el número correspondiente y los pertenecientes al lote con enfermedad del saco anal, se denominarán con las siglas “ESA” y el número correspondiente.

3.2. Obtención de muestras y manipulación de los sacos

El contenido del saco anal fue extraído de cada animal mediante una maniobra clínica habitual de compresión manual en la zona perisacular (Fig.1), previa desinfección de la zona correspondiente con clorhexidina diluida al 2%. La muestra se depositó directamente en un bote estéril.



Figura 1. Maniobra habitual de drenaje para la extracción del contenido de los sacos anales

Con la presión digital ejercida en sentido lateral a medial, se aumentan gradualmente las fuerzas internas multidireccionales en el interior del saco, ya que un saco choca contra el opuesto, colaborando a su vez la capa muscular del recto. De este modo se consigue expulsar al exterior la totalidad del fluido almacenado. Al realizar esta maniobra, todos los sacos anales de todos los perros participantes en este estudio han podido ser drenados de forma satisfactoria, estéril y a la vez los de ambos lados. Algunos autores, aconsejan que los sacos anales deberían palparse por vía rectal, para valorar su tamaño y buscar indicios de cualquier masa o poder drenarlos (Murdoch et al., 2005), pero la maniobra aquí descrita funciona muy bien y además asegura que la muestra no se contamine con contenido rectal.

La mayoría de la muestra así obtenida se congeló a -20°C para su posterior siembra y recuento bacteriano. Tan sólo una pequeña parte de la muestra se utilizó para caracterizar organolépticamente el tipo de contenido de los sacos. En los animales del grupo Control, el vaciado del saco para la toma de la muestra se realizó sólo una vez; en el caso de los animales del grupo (ESA), se realizó en dos momentos, a Día 1 y a Día 21. El drenaje del día 1 fue especialmente meticuloso para lograr vaciar del todo el contenido, ya que además de servir para tomar la muestra a analizar, sirve como terapia efectiva para la mejora de la enfermedad; la muestra tomada a día 21 sirve para evaluar la sintomatología y

la esperada mejoría clínica y observar cualquier cambio en la flora bacteriana presente en el saco respecto del día 1 (día en el que el perro aparece en la clínica por una fuerte sintomatología, compatible con la enfermedad del saco anal).

3.3. Características organolépticas de la muestra

Las características físicas del contenido de los sacos anales pueden ser muy variables en cada animal, y por tanto, pueden arrojar algo de luz sobre su relación con la presencia de ESA.

Las características principales que se han analizado en este estudio sobre la muestra de todos los animales del estudio han sido su color, su consistencia y su valor de pH.

3.3.1. Color

El color se puede considerar como una variable subjetiva, dependiente de la interpretación y la capacidad sensorial de la persona que lo analiza, pero podemos establecer un patrón de colores tipo, fácilmente identificables y distinguibles entre sí.

Para evaluar de manera homogénea la escala de color del contenido del saco, se procedió a tomar una pequeña cantidad del mismo (1 ml aproximadamente), que se depositó sobre una plantilla realizada en una superficie plástica blanca y se fotografió para tener una referencia que pudiera relacionarse posteriormente con el crecimiento bacteriano. Las imágenes se tomaron siempre en el mismo lugar, con luz constante y desde un trípode para asegurar siempre la misma distancia del objetivo de la cámara a la muestra.

Atendiendo al color del contenido del saco, las muestras se clasificaron en 3 categorías: muestra de tonalidad clara, muestra de tonalidad media y muestra de tonalidad oscura (Fig. 2).

En el caso de los animales con ESA, se valoró el color en los dos tiempos en que fue tomada.

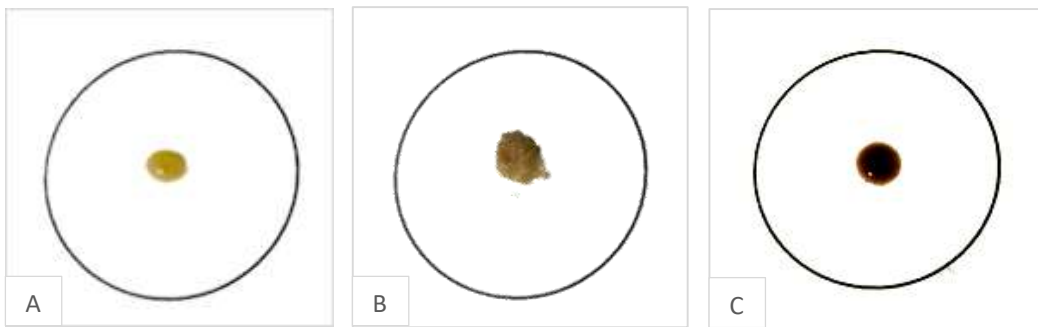


Figura 2. Clasificación de tonalidades encontradas en los sacos anales. A: claro; B: medio; C: oscuro

3.3.2. Consistencia

La consistencia del contenido de los sacos anales varía, siendo un parámetro físico fácil de valorar, aunque sería más apropiado utilizar el término viscosidad (oposición que muestra un fluido a ser deformado), y tener un valor de la misma. Este proceso de medición de la viscosidad no pudo llevarse a cabo, por lo que finalmente la consistencia se clasificó de manera subjetiva y visual.

Atendiendo al tipo de consistencia del contenido del saco, las muestras volvieron a clasificarse en otras tres categorías: muestras líquidas, muestras pastosas y muestras secas (Fig. 3).

En el caso de los animales con ESA, se valoró dicha consistencia en los dos tiempos en que fue tomada.

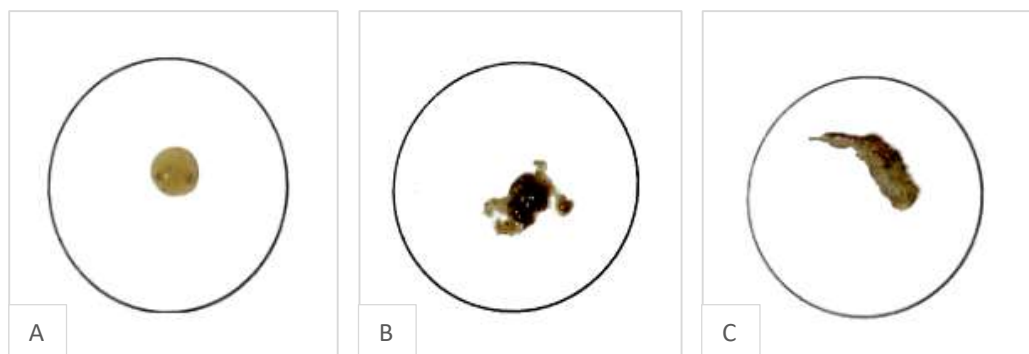


Figura 3. Clasificación según la consistencia encontrada en el contenido de los sacos anales. A: líquida; B: pastosa; C: sólida

3.3.3. pH

La medición del pH del contenido del saco se realizó mediante tiras reactivas usadas normalmente en clínica (Nahita®). Debido al escaso volumen del fluido

drenado se hizo imposible la medición mediante un peachímetro, por lo que la interpretación del valor obtenido no es tan exacta, aunque la lectura del color de la tira la realizó siempre la misma persona.

Para medir el pH en el fluido de consistencia seca, se procedió a hidratar mínimamente la muestra con suero salino.

3.4. Cultivo microbiológico

3.4.1. Diluciones y siembra

Para homogeneizar al máximo todas las preparaciones antes de su siembra y posterior recuento bacteriano, se procedió a tomar 1 gramo de cada una de las muestras (animales sanos control y animales con ESA), diluirla en 1 ml de PBS y agitarla en un vórtex. Esta primera dilución se consideró 10^{-1} y a partir de aquí se continuaron haciendo una serie de diluciones seriadas de cada muestra con PBS, en un rango de 10^{-2} hasta 10^{-9} (Fig. 4).

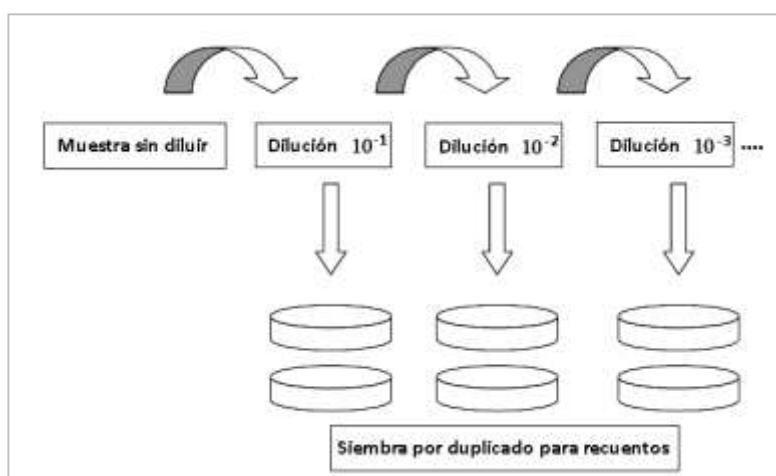


Figura 4. Esquema seguido para la realización de las diluciones seriadas y posterior siembra de las muestras para el recuento en placa (basado en Goldman 2015, cap. 2)

En cada placa de cultivo del medio elegido, se depositaron un total de $100 \mu\text{l}$ de muestra que se extendieron homogéneamente con una pipeta Pasteur estéril (de vidrio con una forma adecuada) para favorecer la extensión de las bacterias y el recuento posterior.

Las diluciones más usadas normalmente fueron 10^{-4} y 10^{-5} , y sólo en el caso en que esas diluciones no permitieron realizar adecuadamente la identificación de las diferentes colonias y su recuento, se repitió el proceso con otras dos diluciones más adecuadas según el caso. Para asegurar que el recuento fuera fiable, la siembra se realizó por duplicado y a partir de dos diluciones contiguas diferentes, obteniendo así al menos 4 recuentos de cada muestra para lograr obtener lo que se denomina el número más probable (MPN; Goldman et al., 2015).

3.4.2. Medios de cultivo empleados

Tal y como se comenta en la Introducción, para poder aislar e identificar diferentes tipos de bacterias, en una misma muestra, lo mejor es sembrar en diferentes medios de cultivo, algunos menos selectivos pero que permiten visualizar colonias aisladas y su recuento y otros más específicos para el aislamiento selectivo de algunas bacterias.

En este trabajo todas las incubaciones se realizaron en estufa con una media de temperatura de 35°C y la lectura se realizó a las 24 y 48 horas. Se emplearon los siguientes medios:

- Agar BHI (Panreac®): para el cultivo de una amplia variedad de microorganismos patógenos a partir de muestras clínicas.
- Agar Tergitol (Tergitol 7 agar Oxoid®, Fig. 5): para la detección y recuento de:
 - Bacterias coliformes y coliformes termotolerantes: crecen formando colonias de color amarillo-anaranjado
 - Enterococcus fecalis: no crece
 - Pseudomona aeruginosa: colonias rojas con centro azul.

Con estos dos medios se consiguió hacer un recuento de cada tipo morfológico de colonia que se encontró. A partir de aquí y con medios más específicos se procedió a realizar una nueva siembra de cada tipo de colonia en los medios específicos para su identificación.

- Medio comercial cromogénico, ChromID CPS Elite Agar/Columbia ANC + 5% sangre de cordero (BioMerieux®, Marcy-l'Étoile, France): permite el aislamiento, recuento e identificación directa de algunos gérmenes

normalmente presentes en el sistema urinario y la detección de hemólisis, permitiendo la identificación directa de *E. coli*, *Enterococcus*, grupo “KESC” (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*) ó *Proteus*, que son las bacterias más habituales descritas en el saco anal. Es un medio que presenta dos mitades de diferente color (Fig.5):

- Primera mitad: Color amarillo (Agar CPS®) para identificación directa de bacterias como
 - *E. coli*: colonias de color rojo o color rosa si son colonias desprovistas de una actividad enzimática β -GUR o β -GAL.
 - *Enterococcus spp*: colonias de color turquesa o azul pálido a verde.
 - Grupo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*): colonias de color azul o verde oscuro
 - *Proteus*: colonias de color marrón difuso o colonias con un halo marrón.
 - *Staphylococcus saprophyticus*: pequeñas colonias de color rosa claro.
 - *Streptococcus agalactiae*: colonias de color azul-violeta a violeta.
 - Otras especies: otros colores o colonias incoloras. La identificación del microorganismo en este caso se realiza por otras pruebas complementarias.
- Segunda mitad: Color rojo (agar sangre) para aislamiento selectivo de bacterias Gram+.
 - *E. coli*: no crece
 - *Enterococcus spp*: colonias blancas
 - Grupo KESC: no crece
 - *Proteus*: no crece
 - *Staphylococcus saprophyticus*: colonias blancas
 - *Streptococcus agalactiae*: colonias blancas

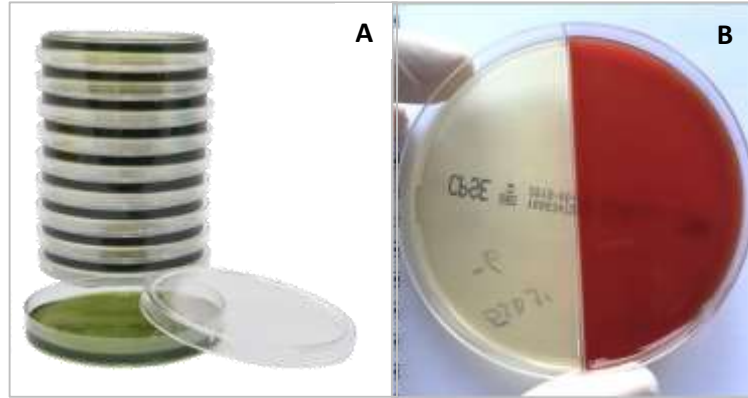


Figura 5. Algunos de los medios de cultivo usados para identificación bacteriana. **A.** Medio de cultivo Tergitol 7. **B.** Medio de cultivo cromogénico; Lado izquierdo: Agar ChromID CPS Elite/Columbia; Lado derecho: Agar sangre ANC + 5% sangre de cordero

3.4.3. Otros sistemas de identificación bacteriana

A pesar de que la identificación bacteriana se realizó con el Medio Cromogénico y el Agar sangre, con el fin de corroborar que la identificación bacteriana era correcta, en algunos animales se seleccionó una muestra para una identificación más exacta (incluso a nivel de especie) por el sistema Vitek®2.

Previamente a la identificación mediante este sistema, se sembraron algunas colonias aisladas individualizadas a partir del crecimiento en Agar BHI.

Concretamente se realizó en determinadas muestras donde se obtuvieron resultados de identificación dudosos en los medios cultivo citados anteriormente; así las muestras analizadas por este sistema fueron C13 y C14 en el caso del grupo Control y ESA 2, 7, 8 y 9 el día 1. Al ser una técnica realizada en otro laboratorio y que tiene un coste algo elevado, apenas se utilizó para los casos donde se generó alguna duda en el crecimiento en el resto de medios de cultivo. El sistema Vitek®2 Compact (Fig. 6), es un equipo automatizado para la identificación bacteriana (BioMerieux®, Marcy-l'Étoile, France) y se realizó en los Laboratorios Albeitar®, Zaragoza. La identificación consiste, en una serie de pruebas colorimétricas reactivo-sustrato sobre una tarjeta que identifican finalmente la bacteria. Se utilizan dos tipos de tarjetas, para la identificación de bacterias Gram- y Gram+ respectivamente.



Figura 6. Sistema automatizado Vitek 2[®] para identificación bacteriana.
Detalle recuadro derecha: Tarjetas de identificación bacteriana

3.5. Otras variables estudiadas

Con el fin de poder relacionar el contenido y características de los sacos anales y el crecimiento bacteriano en los mismos, con otros parámetros del animal, se realizará también un estudio estadístico atendiendo a datos obtenidos del animal tras la anamnesis, tanto en los animales Control como en los animales con ESA.

Así algunas de las variables con las que se cruzarán los datos obtenidos en el estudio microbiológico son:

a) Variables del animal

- Tamaño
- Sexo
- Edad
- Periné propenso
- Ejercicio realizado
- Dieta

b) Variables del fluido

- Color
- Consistencia del fluido
- pH

3.6. Análisis estadístico

En un estudio en el que se quiere evaluar la compleja flora bacteriana presente en una muestra, que puede tener que ver con la aparición de una enfermedad por la posible modificación de dicha flora, es muy necesaria la aplicación de diferentes test estadísticos que puedan relacionar y comparar los diferentes parámetros implicados. Así es esencial comparar entre cepas bacterianas encontradas en la muestra, entre grupos de animales, entre diferentes tiempos muestreados, pero también relacionar estos parámetros cuantitativos (recuento de UFC/ml) con otros parámetros y características de la vida de los animales estudiados. Entre estas nuevas variables a comparar se ha profundizado sobre aspectos relacionados con condiciones de vida, anatomía o manejo del animal, datos que se han registrado previamente en las fichas de anamnesis que se realizan a cada animal al llegar a la consulta; un ejemplo del modelo de ficha utilizada aparece en el Anexo 1.

Para este estudio, el programa utilizado fue el paquete estadístico SPSS versión 19 y se consideró significación estadística si $p < 0.05$.

Como los diferentes datos obtenidos han generado variables muy diferentes entre sí, se han tenido que emplear diferentes test estadísticos que se detallan a continuación, explicando para la comparación de qué variables se utilizaron.

Antes de aplicarlos, y para ver si las variables a analizar cumplían o no una distribución normal, se realizaron los test de Kolmogorov-Smirnov (utilizados para muestras mayores de 50 individuos o datos) y el test de Shapiro-Wilk (para muestras menores de 50 individuos o datos).

Si las variables estudiadas no seguían una distribución normal, se utilizaron diversos test no paramétricos

- Prueba de McNemar: para el análisis de las muestras pareadas como la presencia/ausencia de las tres bacterias estudiadas.
- Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon: para analizar si las bacterias existentes en el fluido de los animales con ESA (*E. coli*, *Enterococcus* y *Proteus*) a día 1 y a día 21 variaban de forma significativa.

- Coeficiente Rho de Spearman, para establecer el grado de correlación del grupo ESA los días 1 y 21 entre:
 - ausencia/presencia de cada bacteria, los días 1 y 21.
 - valor del pH y los tres tipos principales de bacterias encontradas en el grupo ESA (días 1 y 21)
- Prueba de U-Mann Whitney, para comparar la carga bacteriana entre *Enterococcus* y *Proteus* los días 1 y 21
- Prueba de Kruskal-Wallis, para correlacionar las siguientes variables en el grupo ESA, los días 1 y 21:
 - pH con “Color“
 - pH con “Consistencia“
 - Presencia de *Proteus* y “Color”

Si las variables a estudiar seguían una distribución normal, se utilizaron los siguientes test paramétricos:

- Prueba t de Student: para comparar la bacteria *E. coli* los días 1 y 21
- ANOVA de un factor, para correlacionar las siguientes variables tanto en el grupo Control como en el grupo ESA los días 1 y 21:
 - Presencia de *Enterococcus* y Color
 - Presencia de *Enterococcus* y Consistencia
 - Presencia de *E.coli* y Color
 - Presencia de *E.coli* y Consistencia
 - Presencia de *Proteus* y Consistencia

Además de las pruebas comentadas, se realizaron otras denominadas Pruebas de rango Post Hoc, que permiten determinar si las medias obtenidas previamente en el ANOVA, difieren. Se han aplicado las siguientes:

- Prueba del Rango Múltiple (Duncan), para correlacionar las siguientes variables tanto en el grupo Control como en el grupo ESA los días 1 y 21:
 - Presencia de *Enterococcus* y Color
 - Presencia de *Enterococcus* y Consistencia
 - Presencia de *E.coli* y Color
 - Presencia de *E.coli* y Consistencia

- Presencia de Proteus y Consistencia
- Tablas de contingencia y Chi cuadrado: para determinar la existencia o no de independencia entre dos variables, como ausencia o presencia en una determinada bacteria.

4. Resultados

4.1. Características de las muestras obtenidas

4.1.1. Color

El color encontrado más frecuentemente en el fluido del saco anal en el grupo Control fue el color claro (43,75%), seguido del color oscuro (37,5%) y en menor porcentaje del color medio (18,75), como se aprecia en las Tablas 6 y 7. Al comparar el parámetro color con otros datos y características de estos animales, se comprobó que no había diferencias significativas con ningún otro parámetro con el que se compararon como consistencia, sexo del animal, dieta, realización de ejercicio o pH de la muestra, excepto, la relación del color con el tamaño del animal, donde se vio relación estadísticamente significativa entre el color claro y los animales de tamaño grande y también se encontraron diferencias significativas entre color claro y periné propenso (Tabla 7).

Estos datos, encontrados en este grupo servirán de referencia para ver posibles cambios con los animales con enfermedad de saco anal (ESA).

Tabla 6. Porcentaje de animales con los diferentes tipos de Color tanto en el grupo Control como en el grupo ESA (días 1 y 21)

Color	Lote control	Lote ESA	
		<u>Día 1</u>	<u>Día 21</u>
Claro	43,8	22,6	22,6
Medio	18,7	22,6	45,2
Oscuro	37,5	54,8	32,2

Por otra parte, en el lote ESA y en la primera extracción, (día 1), el color más abundante fue el oscuro (54,84%), totalmente opuesto a lo que se aprecia en los animales Control, mientras que el día 21 el color que prevaleció fue el tono medio (45,16%; Tablas 6 y 8), en el caso de las muestras de color claro, se observó que de manera significativa el color inicial determina el color final.

En conjunto, no se encontraron diferencias significativas con los datos del color del fluido observado en los animales del grupo Control al compararlos con los animales del grupo ESA ni el día 1 ni el 21.

Pero al relacionar esta distribución de color de los animales del grupo ESA con otros parámetros del animal, se observó una relación significativa entre color oscuro y realización de ejercicio moderado y entre color de tonalidad media con animales que realizaban poco ejercicio tanto el día 1 como el 21; también se observó una relación entre las muestras de color oscuro con el consumo de pienso (dieta seca) a día 21.

Tanto el ejercicio como la dieta pueden influir en un mejor o peor tránsito intestinal, que como se ha hablado en un capítulo anterior, puede tener bastante importancia a la hora de drenar el contenido del saco y por tanto de evitar la enfermedad del saco anal y/o la impactación del mismo.

Tabla 7. Algunas de las características anatómicas, físicas y alimenticias de los animales Control junto con características organolépticas del líquido del saco anal

Animal	Tamaño*	Dieta	Sexo	Periné propenso	Color**	Consistencia‡
C3	P	Pienso	M	NO	M	S
C4	P	Pienso	M	NO	M	L
C6	P	Casera	M	NO	C	L
C8	P	Pienso	M	NO	O	P
C16	P	Pienso	M	NO	M	P
C1	G	Pienso	H	NO	O	L
C2	G	Pienso	H	SI	C	L
C5	G	Pienso	M	NO	O	P
C7	G	Pienso	H	NO	C	L
C9	G	Pienso	H	NO	O	P
C10	G	Pienso	M	SI	C	L
C11	G	Pienso	M	SI	C	L
C12	G	Pienso	M	SI	C	L
C13	G	Pienso	M	NO	O	P
C14	G	Pienso	H	NO	O	L
C15	G	Pienso	M	NO	C	L

* P: pequeño; G: Grande

**O: oscuro; M: Medio; C: Claro

‡ L: Líquida; P: Pastosa; S: Sólida

4.5.5. Consistencia

Como se aprecia en la Tabla 8, en casi dos tercios de los animales Control, predomina la consistencia líquida, en un tercio la pastosa y en un porcentaje

muy bajo la consistencia sólida (Tabla 8). Por el contrario, en los animales con ESA, al inicio de la patología (día 1), casi en la mitad de los mismos predominó la consistencia pastosa tanto el día 1 como 21; la consistencia líquida fue la menos frecuente al inicio de la enfermedad, pero tras el drenaje y recuperación (día 21), aumentó el porcentaje de animales con este tipo de consistencia, acercándose más al prototipo predominante en los animales Control sanos. El porcentaje de animales con consistencia sólida descendió de casi un tercio de los animales el día 1 (32,2%) a la mitad (16,1%) con la mejora de la patología el día 21.

Tras realizar el análisis estadístico correspondiente, se vieron diferencias significativas en lo que respecta a este parámetro de consistencia, entre el grupo Control y el grupo ESA el día 1 pero no el día 21, lo que parece indicar de nuevo que tras el drenaje del saco, y tras pasar un tiempo prudencial de recuperación, algunos parámetros se acercan de nuevo a los que aparecen en los animales sanos.

Tabla 8. Porcentaje de animales con los diferentes tipos de Consistencia tanto en el grupo Control como en los el grupo ESA (días 1 y 21)

Consistencia	Grupo Control	Grupo ESA	
		<u>Día1</u>	<u>Día21</u>
Líquida	62,5	22,6	35,5
Pastosa	31,3	45,2	48,4
Sólida	6,2	32,2	16,1

Cuando analizamos de forma individual los animales con ESA y los comparamos entre ellos entre el día 1 y el 21, observamos que, de forma significativa, se mantiene que la consistencia inicial determina la consistencia final en el caso de los animales con la muestra líquida y pastosa (líquida a día 1, líquida a 21; pastosa a día 1, pastosa a día 21). Curiosamente, en hembras con ESA la consistencia sólida aparece en mayor porcentaje que en machos (que es mayoritariamente pastosa), de forma significativa, tanto a día 1 como a 21. También se vio una relación estadísticamente significativa en animales con ESA a día 1, entre consistencia sólida y realización de ejercicio moderado, aunque esta diferencia ya no apareció a día 21. Otra relación, estadísticamente

significativa, el día 1 fue que entre los animales de tamaño más pequeño (menores de 10 kilos de peso), la muestra predominante fue la consistencia pastosa y entre los de tamaño grande, la consistencia líquida. Por último, también el tipo de dieta se relacionó de manera significativa con la consistencia pero sólo el día 21. Todos estos datos se detallan en la Tabla 9.

Tabla 9. Algunas de las características anatómicas, físicas o de estilo de vida de los animales del grupo ESA junto con características organolépticas del líquido del saco anal a día 1 y 21 respectivamente

Animal	Tamaño*	Dieta	Sexo	Ejercicio	Periné propenso	Color**		Consistencia‡		pH	
						1	21	1	21	1	21
ESA 1	P	Mixta	M	Moderado	No	O	O	S	P	6	6
ESA 3	P	Pienso	M	Moderado	No	O	O	P	P	6	6
ESA 5	P	Casera	H	Moderado	No	O	M	S	S	6	6
ESA 6	P	Pienso	M	Bajo	No	C	C	P	P	6	6
ESA 7	P	Pienso	M	Bajo	No	M	C	P	L	7	7
ESA 8	P	Mixta	H	Moderado	Sí	O	O	S	S	6	6
ESA 10	P	Pienso	M	Bajo	Sí	M	M	P	P	5	5
ESA 11	P	Pienso	H	Bajo	Sí	O	O	S	P	6	5
ESA 13	P	Pienso	M	Bajo	No	O	M	P	P	6	5
ESA 14	P	Pienso	H	Bajo	Sí	M	C	P	L	8	5
ESA 16	P	Casera	H	Bajo	No	C	C	L	L	6	5
ESA 22	P	Mixta	H	Bajo	No	M	M	P	P	6	6
ESA 23	P	Pienso	M	Bajo	No	O	M	P	P	6	5
ESA 25	P	Pienso	M	Bajo	No	C	M	P	P	6	6
ESA 27	P	Mixta	M	Bajo	No	M	M	P	P	5	6
ESA 2	G	Pienso	M	Bajo	No	C	C	P	P	6	8
ESA 4	G	Mixta	M	Moderado	No	O	O	P	P	6	6
ESA 9	G	Mixta	H	Bajo	No	O	O	L	L	5	5
ESA 12	G	Mixta	H	Moderado	No	O	O	S	S	5	5
ESA 15	G	Casera	M	Bajo	Sí	O	M	S	S	5	5
ESA 17	G	Pienso	M	Bajo	Sí	C	M	L	L	5	5
ESA 18	G	Pienso	H	Moderado	No	O	M	S	L	5	5
ESA 19	G	Pienso	H	Moderado	Sí	O	M	S	L	5	5
ESA 21	G	Pienso	M	Bajo	Sí	C	C	L	L	6	6
ESA 24	G	Pienso	M	Bajo	Sí	M	M	P	P	5	5
ESA 26	G	Casera	H	Bajo	No	O	M	S	S	6	6
ESA 28	G	Pienso	M	Moderado	No	O	M	P	P	5	5
ESA 29	G	Mixta	H	Bajo	No	M	O	L	L	5	6
ESA 30	G	Pienso	M	Moderado	Sí	O	O	L	L	5	6
ESA 31	G	Pienso	M	Moderado	No	O	O	S	P	6	5
ESA 32	G	Pienso	M	Moderado	Sí	C	C	L	L	5	5

* P: pequeño; G: Grande

** O: oscuro; M: Medio; C: Claro

‡ L: Líquida; P: Pastosa; S: Sólida

4.5.6. Relación “color” y “consistencia” conjuntamente

La relación de resultados entre color y consistencia (dos características fáciles de reconocer por el propietario y el veterinario), podría ser aclaratoria para ver si a través de estos parámetros podemos sospechar de la aparición temprana de ESA en un animal.

La primera aportación nos la daría conocer la relación de estos parámetros, primero, en los animales Control tal y como se refleja en la Tabla 10.

Tabla 10. Porcentaje de animales con determinado color y consistencia del fluido, en los animales del grupo Control

Consistencia → Color ↓	Líquida	Pastosa	Sólida
Claro	43,75	0	0
Medio	6,25	6,25	6,25
Oscuro	12,5	25	0

En los animales Control, se puede apreciar que la coloración más abundante es la tonalidad clara con consistencia líquida seguida de un tono oscuro, pero en ese caso la consistencia aumenta a pastosa. En general estos animales rara vez presentan una consistencia sólida.

En cambio, si nos fijamos ahora en la Tabla 11, donde se presentan los datos conjuntos de los porcentajes de estos parámetros en los animales con ESA, podemos destacar que a día 1 (día que el animal llega a la consulta con el problema), predomina la muestra sólida y de color oscuro (32,3%), mejorando esta condición el día 21 (tras el drenaje del día 1 y la regeneración del contenido del saco), donde sólo menos del 16% de la muestra presenta una consistencia sólida y sólo en el 6,5% sigue siendo sólida y oscura. Dentro de la categoría de aspecto líquido, en la mayoría de los animales predominaba el color claro a día 1 (12,9%), porcentaje que aumento hasta el 16,13 el día 21. Sin embargo estas diferencias aparentes no resultaron ser estadísticamente significativas

Tabla 11. Porcentaje de animales con determinado color y consistencia del fluido del saco, en animales del grupo ESA los días 1 y 21

Consistencia → Color ↓	Líquida		Pastosa		Sólida	
	Día 1	Día 21	Día 1	Día 21	Día 1	Día 21
Claro	12,9	16,2	9,7	6,4	0	0
Medio	3,2	9,7	19,4	25,8	0	9,7
Oscuro	6,4	9,7	16,2	16,2	32,3	6,4

Los parámetros color y consistencia, los volveremos a mencionar en siguientes párrafos para ver su posible correlación con los resultados obtenidos en el estudio microbiológico.

4.6. Crecimiento microbiológico

El crecimiento en los diferentes medios de cultivos utilizados, permitió realizar una correcta identificación y un conteo que permitieron abarcar todo el estudio propuesto con todas las muestras recogidas en todos los sacos anales de los animales estudiados, tanto los del grupo Control como los del grupo ESA.

Un ejemplo de este crecimiento, en una dilución adecuada de muestra para el recuento se puede observar en la Figura 7.

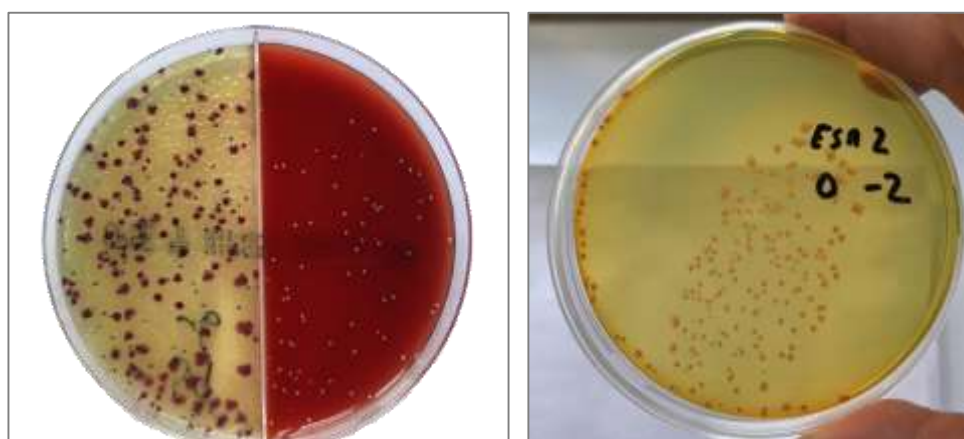


Figura 7. A: Medio cromogénico con crecimiento bacteriano a ambos lados; Lado izquierdo: Colonias de *E. coli* en color rojo; Lado derecho: Colonias de *Enterococcus spp* de color amarillento. **B:** medio Tergitol con crecimiento de *E. coli*

Las principales bacterias encontradas tanto en el grupo Control como en el grupo ESA fueron los géneros *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* mientras que no se

obtuvieron crecimientos de las bacterias del grupo KESC, que integra los géneros (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*).

4.2.1. Crecimiento bacteriano en el lote control

En este grupo de animales la bacteria más abundante fue el género *Enterococcus*, ya que se halló en el 100% de los animales con unos recuentos que oscilaron entre $1,8 \times 10^7$ y $9,4 \times 10^9$ UFC/ml (Tabla 12). La siguiente bacteria más abundante fue *E. coli* que apareció en el 75% de los animales en un rango entre 4×10^6 a $1,2 \times 10^9$ UFC/ml. En cambio la bacteria menos abundante fue la del género *Proteus* que sólo apareció en el 25% de los animales (todos ellos del grupo de tamaño grande) y siempre en la concentración de 5×10^9 . Pero además, es también interesante observar la coexistencia de alguno de estos géneros bacterianos dentro de una misma muestra de contenido del saco anal. Así, como podemos observar en la Tabla 13, en la mitad de los animales del grupo control, se observó, una coexistencia entre el género *Enterococcus* y la bacteria *E. coli* y no apareciendo ninguna muestra en la que sólo creciera *E. coli*, aunque sí que se observaron muestras en las que sólo creció el género *Enterococcus* (25% de los animales). En el 25% de los animales donde hubo presencia de *Proteus*, lo hizo en coexistencia tanto con *Enterococcus* como con *E. coli*.

Tabla 12. Media de los recuentos bacterianos (UFC/ml) de *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* de cada uno de los animales de los animales del grupo Control

Animal	Tamaño	Sexo	<i>Enterococcus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus</i>
C 3	P	H	5x10 ⁷	5x10 ⁷	---
C 4	P	M	1,8x10 ⁷	6x10 ⁶	---
C 6	P	H	1,3x10 ⁹	---	---
C 8	P	H	5,9x10 ⁸	---	---
C 16	P	M	9,4x10 ⁹	8,8x10 ⁹	---
C 1	G	M	8x10 ⁶	4,6x10 ⁶	---
C 2	G	M	5x10 ⁷	4x10 ⁶	---
C 5	G	M	1,8x10 ⁹	7,9x10 ⁸	---
C 7	G	M	1,2x10 ⁸	---	---
C 9	G	H	1,4x10 ⁸	2,7x10 ⁸	5x10 ⁹
C 10	G	H	7x10 ⁸	2x10 ⁶	5x10 ⁹
C 11	G	H	2,1x10 ⁸	2x10 ⁶	---
C 12	G	M	1,2x10 ⁹	1,2x10 ⁷	5x10 ⁹
C 13	G	M	4x10 ⁷	1,2x10 ⁹	---
C 14	G	M	4,1x10 ⁸	---	---
C 15	G	M	4,7x10 ⁸	1,2x10 ⁷	5x10 ⁹

Además, como se muestra en la Tabla 12 y en la Figura 8, la media del número de colonias encontradas fue variable entre los diferentes grupos bacterianos. Así observamos que el crecimiento de *Enterococcus* creció de manera variable oscilando entre 10⁶ y 10⁹, aunque en la mayoría de los animales la media estuvo en torno a 10⁸ (44% de los animales); *E. coli*, osciló entre 10⁶ (casi 42% de los animales) y 10⁹; por último *Proteus*, que en los animales que ha crecido lo ha hecho de una manera elevada y homogénea 5x10⁹, en todos ellos (Fig. 8).

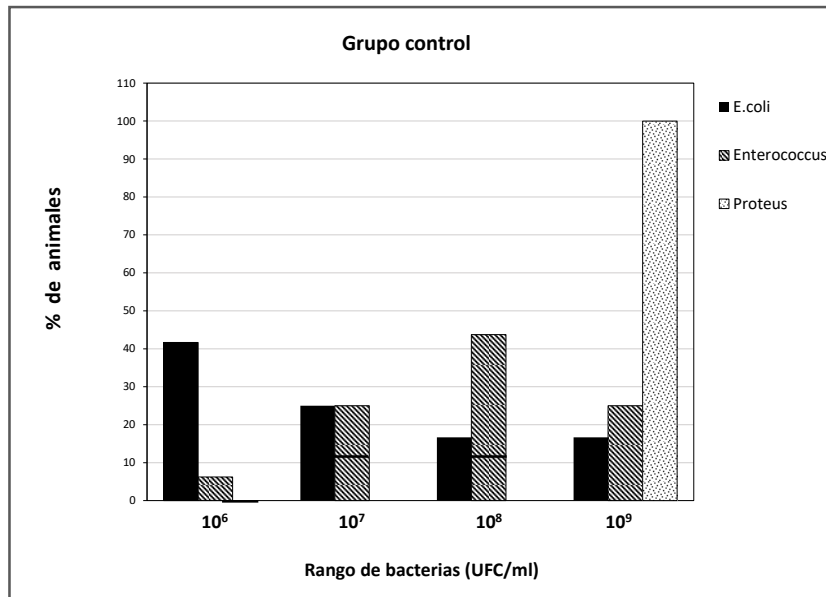


Figura 8. Porcentaje de animales con un determinado rango de colonias de *E. coli*, *Enterococcus spp* y *Proteus* encontradas en el grupo Control

Es decir que en los animales sanos (grupo Control) y sin enfermedad de saco anal la presencia de *Enterococcus* y *E. coli* parece ser algo normal, pero sobre todo de *Enterococcus*, ya que *E. coli* nunca crece como bacteria única mientras que sí lo hace *Enterococcus*. En el caso de *Proteus* vemos que tampoco crece como grupo bacteriano único y que cuando aparece (sólo en el 25% de los animales), lo hace en combinación con *E. coli* y *Enterococcus*. Es decir que aunque en estos animales sanos hay presencia de bacterias que podemos considerar patógenas como *E. coli* o *Proteus*, al estar siempre en coexistencia con *Enterococcus*, protegen al animal de una alteración del saco, de un drenaje anómalo y por tanto de la aparición de esta enfermedad.

Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este grupo control entre los diferentes grupos bacterianos analizados y tampoco se encontraron diferencias que pudieran asociar las bacterias encontradas con otras variables como el tamaño del animal (Tabla 14), a excepción de *Proteus* que sólo creció en animales de razas de tamaño grande, aunque este dato no fue estadísticamente significativo.

Tabla 13. Distribución del porcentaje de animales en los que se encontraron los principales tipos de bacterias, bien en crecimiento único o asociadas a otras bacterias en los animales del grupo Control, diferenciando según el tamaño del animal

Tamaño*	<i>Enterococcus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus E. coli</i>	<i>Proteus</i>	<i>Enterococcus E. coli Proteus</i>
P	12,5	0	18,75	0	0
G	12,5	0	31,25	0	25
Total	25	0	50	0	25

* P: Pequeño; G: Grande

4.2.2. Crecimiento bacteriano en el lote ESA

Entre la figura 9 y en las tablas 14, 15 y 16, podemos observar los resultados más relevantes del crecimiento bacteriano de los animales con enfermedad del saco anal (ESA) en los días 1 y 21.

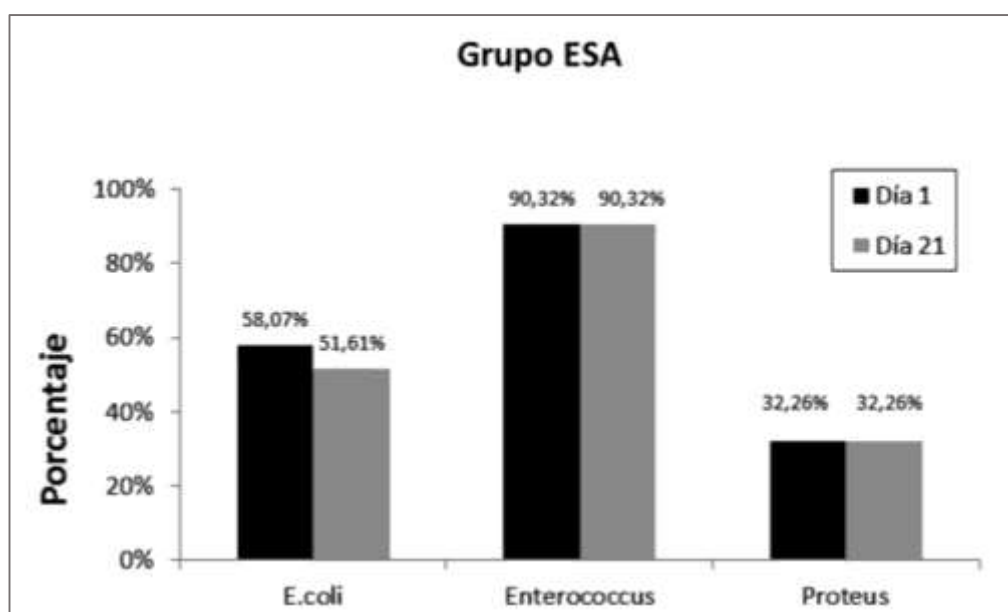


Figura 9. Porcentaje de animales del grupo ESA donde aparece un determinado tipo de bacteria los días 1 y 21

En general, se puede observar que el grupo bacteriano más abundante en los animales con ESA, en lo que consideramos día 1 (día del diagnóstico de la enfermedad y del drenaje del saco del animal), fue el género *Enterococcus*, ya que estuvo presente en el 90,3% de los animales, bien en aislamiento único (25,8%) o junto a *E. coli* (38,7%) o también en un 16,1% se encontró la confluencia de *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* conjuntamente, y, por último,

apareció junto con *Proteus* en 3 animales (9,7%). Sin embargo, en 3 animales (9,7%), no hubo crecimiento del género *Enterococcus* y en uno de esos animales, la ausencia de crecimiento se volvió a repetir el día 21 (Tablas 14 y 16). La bacteria *E. coli* fue la siguiente en aislarse de manera más frecuente, ya que el 58% de los animales la contenían en el líquido del saco analizado, de los cuales sólo un animal (3,2%) como crecimiento único, un 38,7% junto con *Enterococcus*, como se ha comentado y un 16,1% junto a *Enterococcus* y *Proteus*; en un 42% de los animales (n=13) no se aisló la bacteria *E. coli* el día 1 (en 11 de estos 13 animales, tampoco creció el día 21 como se verá más adelante; Tabla 16). Por último, el crecimiento de *Proteus* se observó sólo en el 32,3% de los animales (n=10), de los cuales en el 6,4% (n=2) como crecimiento único, en el 9,7% de los animales apareció junto con *Enterococcus* como se ha nombrado anteriormente y en el 16,1%, junto con *Enterococcus* y *E. coli*.

Analizando ahora el crecimiento de estas mismas bacterias el día 21 tras el drenaje (tiempo suficiente de regeneración del contenido del saco anal y su flora bacteriana), observamos que *Enterococcus* sigue siendo la bacteria más abundantemente encontrada, hallada de nuevo en el 90,3% de los animales (Figura 9 y Tablas 14 y 15); el porcentaje de animales en los que encontramos únicamente el crecimiento de esta bacteria, se mantiene constante respecto al día 1 (25,8%); en cambio, su coexistencia con *E. coli*, decrece aunque levemente en porcentaje respecto al día 1 (35,5% de los animales), pero se encuentra en mayor porcentaje junto a *Proteus*, que aumenta notablemente respecto al día 1 (19,3% vs 9,7% el día 1) mientras que decrece levemente el porcentaje de animales donde coexisten *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* a la vez de un 16,2% a un 9,7% (Tablas 15 y 16); analizando más en detalle la presencia de *E. coli*, podemos observar que el porcentaje de animales donde creció de forma única esta bacteria el día 21, fue el doble que el día 1, concretamente un 6,4% de las muestras (n=2), (Tabla 16); en cuanto al porcentaje de animales donde coexiste esta bacteria junto a *Enterococcus*, se observa que decrece levemente respecto al día 1, y decrece también el porcentaje de animales donde la encontramos en coexistencia con *Enterococcus* y *Proteus* como se ha dicho anteriormente (Tabla 15). En el caso del crecimiento de la bacteria *Proteus* el día 21, hay que destacar que al igual que en el día 1, existe un alto porcentaje de

animales donde no hubo crecimiento, concretamente 21 animales (67,7%), pero cambia ligeramente cómo aparece esta bacteria, tanto de forma individual como en conjunto con los otros grupos bacterianos; así, se observa que disminuye el porcentaje de animales en los que crece como grupo bacteriano único (de 6,4% a 3,2%), y, como ya se ha comentado, disminuye también el porcentaje donde coexiste conjuntamente con *Enterococcus* y *E. coli* (de 16,2 a 9,7%), sin embargo aumenta claramente el porcentaje de animales donde coexiste con *Enterococcus* pero sin *E. coli* (de 9,7% a 19,3%).

Otra diferencia respecto al grupo Control es que en los animales con ESA el día 1, también se encontró una asociación bacteriana que no apareció en los animales sanos, la de *Enterococcus* y *Proteus* (sin *E. coli*), asociación que se vio aumentada además el día 21 (posible reequilibrio de la flora bacteriana del saco). Otro dato importante es que el día 21 parece que existe un incremento general en la población de *Enterococcus spp.*, sobre todo junto a *Proteus* y, aunque se reduce algo, prácticamente se mantiene el porcentaje, ya de por sí elevado de la coexistencia *Enterococcus* y *E. coli*, dando a entender que ésta debería de ser la población normal dentro de los sacos anales de un perro, como ya se había comentado (Tabla 13; grupo Control), donde en todos los animales aparecen *Enterococcus spp.*, bien de forma libre o asociados a otras bacterias. Por tanto, el aumento de otras bacterias y combinaciones en los animales con ESA, que no están tan presentes en los animales Control, podría explicar la ruptura del equilibrio del Enterococo y la aceleración en la aparición de la enfermedad del saco anal.

Tabla 14. Media de los recuentos bacterianos de *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* de cada uno de los animales del grupo ESA los días 1 y 21

Día →	Animal	Tamaño	Sexo	<i>Enterococcus</i>		<i>E. coli</i>		<i>Proteus</i>	
				1	21	1	21	1	21
ESA 1	P	M	4,6x10 ⁷	4x10 ⁶	1,6x10 ⁸	2x10 ⁶	---	---	
ESA 3	P	M	1,8x10 ⁷	1,8x10 ⁷	---	---	4,2x10 ⁷	6x10 ⁸	
ESA 5	P	H	10 ⁶	3,6x10 ⁷	3,2x10 ⁹	3,3x10 ⁹	---	---	
ESA 6	P	M	1,7x10 ⁹	3,2x10 ⁹	5x10 ¹¹	2,3x10 ¹¹	---	---	
ESA 7	P	M	7,1x10 ¹⁰	4,8x10 ¹¹	2,1x10 ¹¹	1,8x10 ¹¹	---	---	
ESA 8	P	H	10 ⁹	2x10 ⁹	---	---	---	---	
ESA 10	P	M	2x10 ⁸	2,4x10 ⁸	9x10 ¹¹	6x10 ⁶	---	2,8x10 ⁷	
ESA 11	P	H	6,6x10 ⁹	2,6x10 ¹⁰	6x10 ⁸	---	---	5,3x10 ¹⁰	
ESA 13	P	M	2,4x10 ¹¹	4x10 ⁹	3x10 ¹¹	2x10 ⁹	---	---	
ESA 14	P	H	4,6x10 ¹¹	3,3x10 ¹¹	1,2x10 ¹²	2,2x10 ¹¹	---	---	
ESA 16	P	H	9,2x10 ¹⁰	3x10 ¹¹	---	---	1,2x10 ¹¹	1,3x10 ¹¹	
ESA 22	P	H	8x10 ¹¹	4x10 ⁹	3x10 ¹³	---	4,4x10 ¹³	3,8x10 ¹⁰	
ESA 23	P	M	3,4x10 ¹¹	6x10 ⁹	10 ¹²	2x10 ⁹	4,8x10 ¹¹	3,6x10 ¹⁰	
ESA 25	P	M	1,2x10 ¹⁰	6,8x10 ⁹	6x10 ⁹	2,4x10 ⁹	2x10 ⁹	---	
ESA 27	P	M	---	---	10 ¹⁰	3,7x10 ¹⁰	---	---	
ESA 2	G	M	3,6x10 ⁷	1,6x10 ⁷	2x10 ⁷	4,6x10 ⁷	1,2x10 ⁹	6,8x10 ⁷	
ESA 4	G	M	5x10 ¹¹	1,6x10 ⁹	5x10 ¹¹	1,4x10 ¹⁰	---	---	
ESA 9	G	H	1,3x10 ¹⁰	9,5x10 ¹⁰	---	---	---	---	
ESA 12	G	H	2x10 ⁹	---	---	2,6x10 ¹⁰	---	---	
ESA 15	G	M	2,6x10 ¹¹	2,1x10 ⁹	---	---	---	1,4x10 ¹⁰	
ESA 17	G	M	8x10 ¹⁰	10 ¹¹	---	---	2x10 ⁹	0	
ESA 18	G	H	1,4x10 ¹¹	---	---	---	---	4x10 ⁹	
ESA 19	G	H	3,9x10 ⁶	2x10 ⁴	2,9x10 ⁶	10 ⁵	---	---	
ESA 21	G	M	1,8x10 ¹¹	2x10 ⁹	4,1x10 ¹⁰	8,2x10 ¹⁰	---	---	
ESA 24	G	M	7,8x10 ⁶	2x10 ⁸	1,8x10 ⁶	---	7,4x10 ⁶	---	
ESA 26	G	H	---	1,6x10 ⁹	---	---	2x10 ⁹	1,9x10 ¹⁰	
ESA 28	G	M	---	2x10 ⁸	---	---	4x10 ⁹	---	
ESA 29	G	H	2,2x10 ⁹	1,2x10 ⁹	---	2x10 ⁸	---	---	
ESA 30	G	M	3,2x10 ¹⁰	10 ¹⁰	2x10 ¹⁰	---	---	---	
ESA 31	G	M	2,2x10 ⁶	1,8x10 ³	---	---	---	1,2x10 ⁵	
ESA 32	G	M	8x10 ⁹	2,6x10 ⁹	---	---	---	---	

Tabla 15. Porcentaje de animales en los que se encontraron los principales tipos de bacterias, bien en crecimiento único o asociadas a otras bacterias en los animales del grupo ESA, los días 1 y 21

Tamaño*	<i>Enterococcus</i>		<i>E.coli</i>		<i>Enterococcus E.coli</i>		<i>Proteus</i>		<i>Enterococcus Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>	
	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
Día →	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
P	3,2	6,4	3,2	3,2	25,8	22,6	0	0	6,4	9,7	9,7	6,4
G	22,6	19,3	0	3,2	12,9	12,9	6,4	3,2	3,2	9,7	6,4	3,2
Total	25,8	25,8	3,2	6,4	38,7	35,5	6,4	3,2	9,7	19,3	16,2	9,7

* **P:** Pequeño; **G:** Grande

Además de abordar conjuntamente los datos de los recuentos bacterianos de los animales con ESA como porcentaje de animales donde aparece un tipo u otro de bacteria, también se han comprobado de forma individual las modificaciones en el tipo de bacterias aisladas, según el momento del recuento bacteriano (día 1 o 21) para distinguir, además, si en un mismo animal las asociaciones con otras bacterias se mantenían, aumentaban o disminuían (Tabla 16). A modo de resumen podemos observar que para el caso de *Enterococcus* como crecimiento único, el día 1, crece (como se ha comentado anteriormente) en el 25,8% de los animales (n=8) y se mantiene el mismo porcentaje el día 21 pero de los 8, en 2 aumenta ligeramente el número de colonias (ESA 8 y 9), en 1 disminuye el número de colonias encontradas (ESA 32; Tablas 14 y 16) y en los otros 5 animales, no vuelve a crecer de modo individual el día 21, de hecho sólo en 3 vuelve a aparecer crecimiento, 2 junto con *Proteus* (ESA 15 y 31) y 1 junto con *E. coli* (ESA 29) y en los otros 2 no vuelve a crecer, de ninguna manera, en cambio crecen en su lugar y de forma única *E. coli* en uno (ESA 12) y *Proteus* en el otro (ESA 18). Por otra parte, en el caso de *Enterococcus* el día 21, en 5 nuevos animales se detectó esta bacteria como crecimiento único (ESA 17, 22, 24, 28 y 30), mientras que el día 1, en estos mismos animales, *Enterococcus* creció junto a otras bacterias como *E. coli* y *Proteus* (ESA 22, 24), junto a *E. coli* (ESA 30), junto a *Proteus* (ESA 17), o apareciendo en un animal sólo *Proteus*, que el día 21 ya no creció, en favor de *Enterococcus* (ESA 28).

En relación a la asociación de *Enterococcus* y *E. coli*, en el primer drenaje (día 1), se observó crecimiento conjunto de estas bacterias en 12 animales, de los cuales en 9 vuelve a aparecer esta asociación bacteriana el día 21, pero

aumentando en 3 animales el número de colonias de *Enterococcus* y manteniéndose *E. coli* (ESA 5, 6 y 7; Tablas 14 y 16); descendiendo en 4 de éstos animales las dos bacterias a la vez (ESA 1, 13, 19 y 4); manteniéndose *Enterococcus* y disminuyendo *E. coli* en un animal (ESA 15) y disminuyendo *Enterococcus* y aumentando ligeramente *E. coli* en otro animal (ESA 21). La asociación *Enterococcus* y *Proteus*, en el primer drenaje (día 1) apareció en 3 animales (ESA 3, 16 y 17), en 2 de ellos se mantuvo dicha asociación el día 21 (ESA 3 y 16), manteniéndose el recuento bacteriano para *Enterococcus* y aumentando el número de colonias de *Proteus* en uno de los animales (ESA 3) y aumentando el recuento de *Enterococcus* mientras se mantenía el de *Proteus* en el otro (ESA 16) pero en el tercer animal ya no volvió a aparecer esta asociación el día 21 aunque favoreció que creciera de forma única *Enterococcus* que no lo hizo el día 1 (ESA 17); curiosamente esta asociación de bacterias apareció el día 21 en 2 nuevos animales donde no lo hizo el día 1 (ESA 15 y 26).

En cuanto a la asociación *E.coli*, *Enterococcus*, *Proteus*, el día 1, se observó este crecimiento conjunto en 5 animales (ESA 22, 23, 25, 2 y 24), pero sólo en 2 se mantuvo dicha asociación de crecimiento bacteriano el día 21; en un animal disminuyendo el número de colonias de los tres grupos bacterianos (ESA 23) y en otro animal aumentando ligeramente *E. coli* pero disminuyendo muy ligeramente *Enterococcus* y en dos logaritmos *Proteus* (ESA 2).

En el caso de *E.coli*, el día 1 se observó solamente crecimiento único en un animal, que se repitió de nuevo en el mismo animal el día 21, aumentando ligeramente el número de colonias encontradas (ESA 27; Tablas 15 y 17); dicho animal requirió una monitorización clínica por la posible patogenicidad de esta bacteria.

En cuanto a *Proteus*, como crecimiento único el día 1 se observó tan sólo en 2 animales (ESA 26 y 28), sin embargo el día 21 ya no crecieron (sí lo hizo *Enterococcus* el día 21 en ESA 28) pero sorprendentemente, apareció en un nuevo animal con *Proteus* como crecimiento único (ESA 18), donde el día 1 crecía sólo *Enterococcus* y el día 21 ya no.

Se observa, por tanto, que en el caso de la asociación *Enterococcus-E.coli* y

Enterococcus-E.coli-Proteus el día 21, permitió disminuir el porcentaje del número total de animales donde se aislaron dichas bacterias; sin embargo, aunque en *Enterococcus* el porcentaje a día 21 disminuyó ligeramente, en la asociación *Enterococcus-Proteus*, dicho porcentaje aumentó (Tabla 15), reforzando la idea según los resultados obtenidos de una asociación potencialmente beneficiosa para el animal.

Tras este nuevo resumen de los resultados, podemos decir que a pesar de la heterogeneidad de los mismos, estas pequeñas variaciones en la población bacteriana, tras el segundo drenaje el día 21, favorecen ligeramente el aumento de la bacteria *Enterococcus*, considerada beneficiosa, (sigue estando presente en más de un 90% del total de las muestras), que respalda el hecho de que en algunos tratamientos sea administrada como probiótico (más ampliado en discusión).

Tabla 16. Crecimiento bacteriano (aumento o disminución), ausencia de crecimiento o coexistencia bacteriana en los animales del grupo ESA los días 1 y 21

Día →	<i>Enterococcus</i>		<i>E.coli</i>		<i>Enterococcus E.coli</i>		<i>Proteus</i>		<i>Enterococcus Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>	
	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
ESA 1	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 3	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	Si ↑	---	---
ESA 5	---	---	---	---	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---
ESA 6	---	---	---	---	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---
ESA 7	---	---	---	---	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---
ESA 8	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ESA 10	---	---	---	---	Si	---	---	---	---	---	---	Si
ESA 11	---	---	---	---	Si	---	---	---	---	Si	---	---
ESA 13	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 14	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 16	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	Si ↑	---	---
ESA 22	---	Si	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	---
ESA 23	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	Si ↓
ESA 25	---	---	---	---	---	Si	---	---	---	---	Si	---
ESA 27	---	---	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---	---	---
ESA 2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	Si ↑
ESA 4	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 9	Si	Si ↑	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
ESA 12	Si	---	---	Si	---	---	---	---	---	---	---	---
ESA 15	Si	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	---	---
ESA 17	---	Si	---	---	---	---	---	---	Si	---	---	---
ESA 18	Si	---	---	---	---	---	---	Si	---	---	---	---
ESA 19	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 21	---	---	---	---	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---
ESA 24	---	Si	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	---
ESA 26	---	---	---	---	---	---	Si	---	---	Si	---	---
ESA 28	---	Si	---	---	---	---	Si	---	---	---	---	---
ESA 29	Si	---	---	---	---	Si	---	---	---	---	---	---
ESA 30	---	Si	---	---	Si	---	---	---	---	---	---	---
ESA 31	Si	---	---	---	---	---	---	---	---	Si	---	---
ESA 32	Si	Si ↓	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Si: crecimiento bacteriano

---: Ausencia de crecimiento

↑: Aumento en el número de UFC/ml

↓: Disminución en el número de UFC/ml.

Hasta ahora, simplemente se ha comentado en cuántos animales hubo o no un tipo de crecimiento concreto de cada bacteria, bien de forma individual o en convivencia con los diferentes grupos bacterianos más abundantes y se ha representado la media del logaritmo de las UFC/ml encontradas en cada grupo y en cada fecha (Fig. 9). Sin embargo es importante también hacer hincapié en las diferencias en el número de UFC/ml observadas.

Así, atendiendo al número de UFC/ml encontradas vemos que la carga bacteriana es bastante heterogénea en general, tanto el día 1 como el 21 (Fig. 10). Analizando individualmente el crecimiento de cada una de las principales bacterias encontradas, observamos que la carga bacteriana en el grupo *Enterococcus*, el día 1 es la más homogénea, de todos los grupos observados, oscilando entre 10^6 y 10^{11} (Fig. 9), aunque en 3 animales (casi 10%) no hubo crecimiento (Tabla 13); analizando ahora los cambios en cuanto a crecimiento de esta bacteria el día 21, vemos que hay mucha heterogeneidad, tanto en los animales pequeños como grandes, así vemos que hay casi tantos animales que disminuyen ligeramente la carga bacteriana (38,7%), como aquellos en los que permanece casi igual (35,48%), o aquellos que incluso la aumentan (25,8%).

En el caso de *E. coli* en el día 1 (día del drenaje y vaciado del animal con ESA), el 58% de los animales tiene crecimiento de esta bacteria y la carga bacteriana oscila entre 10^6 y 10^{13} (superior a *Enterococcus*), aunque se aprecia que la mayoría de los animales tienen un crecimiento muy abundante, ya que más del 60% de los animales donde crece tiene un rango entre 10^{10} y 10^{12} UFC/ml y un 11% de estos animales superan la carga bacteriana en más de 10^{12} UFC/ml, sin embargo también hay un porcentaje no desdeñable de animales (42%) donde el crecimiento es 0 (Fig. 9). Para esta misma bacteria (*E. coli*), lo interesante es observar, sobre todo, cómo evoluciona el crecimiento bacteriano tras los 21 días de regeneración tras el drenaje, donde se sabe que el animal mejora considerablemente; en este caso, como se aprecia en la tabla 13, en los animales de tamaño pequeño o disminuye el crecimiento de *E. coli* (46,6%), o aparece en la misma cantidad que el día 1 (53,3%), sólo en un animal aparece una carga bacteriana de ligeramente aumentada (ESA 27; Tabla 14); en cuanto

a los animales de tamaño grande, la mayoría (62,5%), mantiene la misma carga bacteriana, el 25% la disminuye y tan sólo en el 12,5%, aparece más elevada (este aumento se debe a 2 animales donde el crecimiento para esta bacteria, curiosamente fue nulo para el día 1 pero fue superior a 10^{10} en uno de ellos, ESA 12 y algo superior a 10^8 en el otro, ESA 29); de los 13 animales (42)% donde no hubo crecimiento el día 1, sigue sin haberlo en 11 (Tabla 14).

Por último, analizando los recuentos del género *Proteus*, vemos que también hay mucha heterogeneidad en cuanto al número de bacterias encontradas, en el 32% de los animales en los que creció el día 1 (n=10), oscilando los recuentos entre valores de 10^6 y 10^{13} , aunque casi en la mitad predominó una cantidad en torno a 10^9 UFC/ml. En 4 de los 10 animales donde creció el día 1, volvió a haber crecimiento el día 21, pero en 3 de ellos disminuyó el número de colonias, en 2 se mantuvo prácticamente igual y sólo en un animal aumentó ligeramente aunque creció junto con *Enterococcus* tanto el día 1 como el 21 manteniendo ambas bacterias recuentos parecidos en las dos fechas (ESA 3); en los 6 animales donde ya no hubo crecimiento el día 21, destaca el hecho de que no superaran la carga bacteriana de 10^9 UFC/ml el día 1. Sin embargo destaca también que en 5 animales donde no hubo crecimiento el día 1, sí lo hubo el día 21 (ESA 10, 11, 15 y 18), oscilando el número de colonias entre 10^7 y 10^{10} UFC/ml. ESA 10, es el animal que tuvo un menor recuento bacteriano, en torno a 10^7 y en este animal creció junto con *Enterococcus* y *E. coli*, tanto el día 1 como el 21, pero a día 21, la carga bacteriana de *E. coli* bajó 3 logaritmos, por lo que puede ser que entonces permitiera crecer a *Proteus*, rompiendo el equilibrio en cuanto al número o tipo de bacteria predominante y aumentando la posibilidad aliviar dicha enfermedad; algo similar, incluso más remarcable ocurre en el animal ESA 11, donde esta vez *E. coli*, no es que disminuya el día 21, sino que desaparece, por lo que puede ser entonces que permita el crecimiento de *Proteus*; en el caso de ESA 15 y 18, parece que también se rompe algo el equilibrio, pero esta vez el desencadenante no es *E. coli* sino *Enterococcus*, que o bien disminuye el número de colonias el día 21 (ESA 15) o bien deja de crecer (ESA 18) y en este caso, también parece permitir el crecimiento de *Proteus*. El equilibrio *Enterococcus/Proteus* parece claro en la Figura 10, donde se observa que cuando una aumenta la otra disminuye y viceversa.

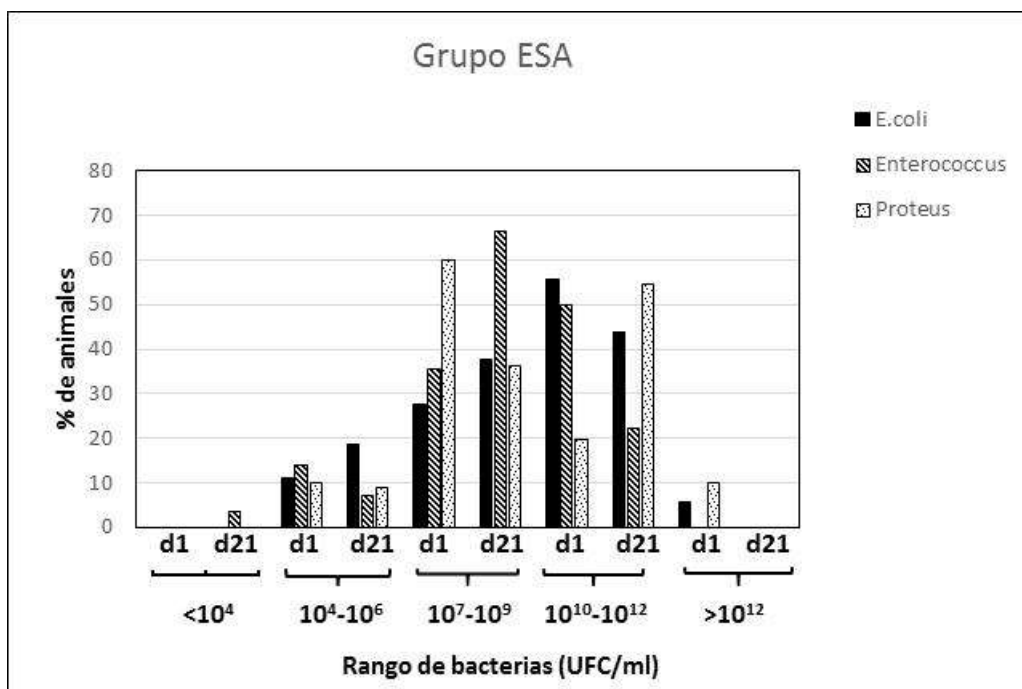


Figura 10. Porcentaje de animales con un determinado rango de recuento de colonias de *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* encontradas en el grupo ESA tanto el día 1 como 21

En general, como se aprecia en la Figura 10, parece ser que los recuentos menos elevados ($<10^4$) no se dan el día 1 (sintomatología evidente en animales con ESA). Los rangos más repetidos de crecimiento se dan en el intervalo 10^7-10^{12} donde de nuevo parece que el control de otras bacterias sobre *E. coli* es imprescindible para que el animal deje de mostrar sintomatología el día 21, que, aunque desciende respecto al día 1, aún sigue habiendo recuentos elevados de esta bacteria patógena. Por el contrario, los recuentos más extremos (superiores a 10^{12}), aparecen el día 1 y para las bacterias *E. coli* y *Proteus* y en ausencia de un crecimiento tan abundante de *Enterococcus*. Es cierto, que sólo ocurre en un número pequeño de animales, pero da una idea, de nuevo, de la ruptura de equilibrio bacteriano que probablemente es lo que propicia la aparición de la enfermedad y el empeoramiento del animal, de hecho ese número tan elevado de dichas bacterias desaparece el día 21 tras el vaciado.

Por tanto, podemos resumir que la tendencia en los individuos con enfermedad del saco anal el día 1 (momento del vaciado del saco), a diferencia de los animales Control, es tener en algunos individuos crecimiento único de patógenos

como *Proteus* (y en un animal *E. coli*). Sin embargo el estudio estadístico no mostró que estas diferencias fueran significativas, aunque para el caso de *E. coli*, sí que se muestra una tendencia a disminuir el día 21. Esta tendencia a la disminución ocurre tanto en el porcentaje de animales donde encontramos la bacteria ($p=0,687$; Fig. 9) como en la media de los recuentos de UFC/ml (Fig. 11 y Tabla 17).

Al comparar crecimiento bacteriano de los animales del grupo ESA con otros parámetros del animal, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de la bacteria *E. coli* el día 1 relacionada con los animales de tamaño pequeño.

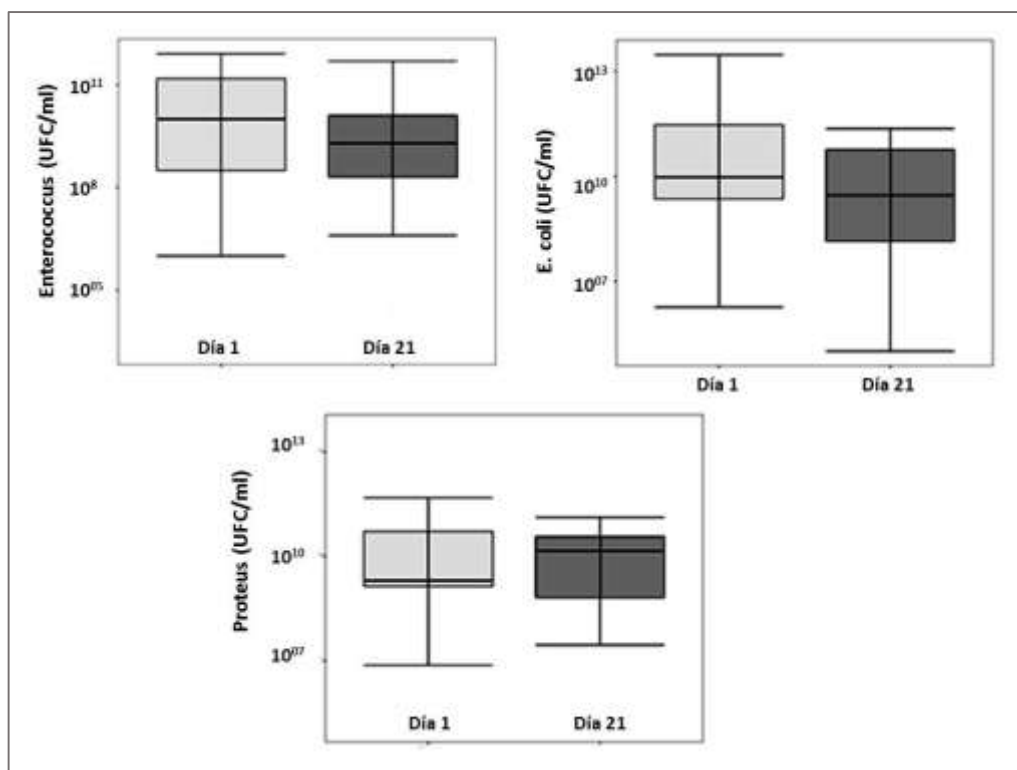


Figura 11. Representación gráfica de la media del \log^{10} de *Enterococcus*, *E.coli* y *Proteus* comparando la extracción entre el día 1 y 21

Estas diferencias entre grupos se complementan también cuando se comparan las medias de las UFC/ml entre el grupo Control (animal sano) y el grupo ESA el día 1 (animal con la enfermedad del saco anal) y cuando comparamos entre ESA el día 1 y ESA el día 21 (animal con mejora clínica en general), como se aprecia

en la tabla 17.

Tabla 17. Comparación de la media de los recuentos bacterianos en animales del grupo Control y del grupo ESA los días 1 y 21

Bacterias	Grupo Control		Grupo ESA		p-valor**b
	Media (DE) *	p-valor**a	Día 1	Día 21	
			Media (DE)		
Enterococcus	1,03 x 10 ⁹ (2,3)	0,028‡	1,19 x 10 ¹¹ (2)	5,41 x 10 ¹⁰ (1,2)	0,247
E.coli	1,03 x 10 ⁹ (2,5)	0,018‡	2,23 x 10 ¹² (7,7)	5,15 x 10 ¹⁰ (8,5)	0,069
Proteus	5,00 x 10 ⁹ (0)	0,096	7,43 x 10 ¹² (1,8)	3,74 x 10 ¹⁰ (4,8)	0,6

* DE: Desviación Estándar

^aComparación entre Control y ESA día 1

** Basada en la prueba de Wilcoxon

^bComparación entre ESA día 1 y ESA día 21

‡Diferencias significativas

4.2.3. Identificación bacteriana a nivel de especie (Sistema Vitek) 2®

Como se ha comentado en Material y Métodos, sólo unas pocas muestras se procesaron por este sistema de identificación para corroborar su identificación y además ver qué especie era dentro de ese género.

Los resultados obtenidos en estas muestras se resumen en la Tabla 18, y como podemos observar los géneros identificados fueron *Enterococcus* (especies *gallinarum* aunque sólo en muestra Control y *faecalis*, tanto en muestra control como en ESA), *Lactococcus garvieae* (en una muestra del grupo Control y en dos del grupo ESA), *Proteus mirabilis* en un animal del grupo ESA y un *Bacillus* de otro animal del mismo grupo.

En algunas muestras como en C13, ESA 2 y ESA 8, se identificaron más de un género (*Lactococcus garvieae* y *Enterococcus faecalis* en C13; *Lactococcus garvieae* y *Proteus mirabilis* en ESA 2; *Lactococcus garvieae* y *Bacillus* spp en ESA 8). En un animal del grupo control, C14, se identificó sólo *Enterococcus gallinarum* y en dos animales del grupo ESA (ESA 7 y ESA 9), también se identificó sólo la especie, en concreto *Enterococcus faecalis*.

Por su singularidad, destaca *Lactococcus garvieae*, que es un patógeno emergente en la acuicultura y *Enterococcus faecalis* por ser una bacteria potencialmente zoonótica, aunque realmente todas ellas pueden provocar infecciones en el hombre.

La presencia de *Enterococcus faecalis* en concreto, es preocupante y aunque aparece tanto en una muestra del grupo Control como en una del grupo ESA, al ser pocos los animales analizados, se plantea la necesidad de realizar más pruebas de este tipo ya que ayudaría a alertar a los dueños sobre la importancia de la vigilancia de esta zona del animal.

Tabla 18. Bacterias identificadas por el sistema Vitek2® de algunos de los animales del grupo Control y del grupo ESA el día 1

Animal	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Bacillus spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
C 13	---	Si	Si	---	---
C 14	Si	---	---	---	---
ESA 2	---	---	Si	---	Si
ESA 7	---	Si	---	---	---
ESA 8	---	---	Si	Si	---
ESA 9	---	Si	---	---	---

4.3. Relación del crecimiento bacteriano con algunas variables organolépticas

4.2.4. Relación entre el Color del fluido y el tipo de bacteria identificada

En las tablas 19 y 20 se muestran los resultados obtenidos en relación al “Color” del fluido extraído y al tipo de bacterias aisladas e identificadas en dicho fluido, tanto en el lote Control como en el grupo ESA los días 1 y 21.

En el caso del grupo Control (Tabla 19), se observa que en los animales con la muestra de color claro, algo menos de un tercio mostraron un crecimiento único del género *Enterococcus*, en casi otro tercio, se vio un crecimiento conjunto de *Enterococcus* y *Proteus* y en más del 40% crecen los tres géneros bacterianos a la vez (*Enterococcus* junto a *E. coli* y *Proteus*). En el caso de las muestras de color medio, el 100% mostraron únicamente crecimiento conjunto de *Enterococcus* y *E.coli*. Por último en las muestras de color oscuro, un tercio presentó crecimiento único de *Enterococcus*, la mitad crecimiento conjunto de *Enterococcus* y *E.coli* y apenas un 16% mostró la asociación *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus*.

Un dato curioso es que en el grupo Control, no hay crecimiento individualizado de las bacterias consideradas más patógenas como *Proteus* o *E. coli*, sino que

lo hacen en combinación, al menos con *Enterococcus* y tampoco aparece la combinación *Enterococcus* con *Proteus*, ya que cuando se da lo hace también junto a *E. coli* (Tablas 19 y 21).

Tabla 19. Relación porcentual entre el **Color** del fluido y el tipo de bacterias encontradas en el grupo Control. El paréntesis muestra el % aproximado dentro de cada Color

Color	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus E.coli</i>	<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>
Claro	12,5 (28)	12,5 (28)	18,75 (42)
Medio	---	18,75 (100)	---
Oscuro	12,5 (33)	18,75 (50)	6,25 (16)

En el caso del grupo ESA (Tabla 20), se observa en general más heterogeneidad en los resultados y en las posibles combinaciones entre color de la muestra y crecimiento bacteriano encontrando. En los animales con la muestra de color claro, no hay crecimiento ni de *E.coli* ni de *Proteus* de manera aislada, ni el día 1 ni el día 21; el resto de combinaciones bacterianas son en general bastante similares aunque en menor porcentaje el crecimiento de *Enterococcus* de manera aislada, tan sólo un animal tanto el día 1 como el 21; la combinación *Enterococcus* y *E coli*, se dio tan solo en 2 muestras el día 1 y aumentó a 4 muestras de las 31 analizadas el día 21 siendo ésta la única combinación en la que aumentó mientras que las combinaciones *Enterococcus* con *Proteus* y éstas dos bacterias junto a *E. coli* se dieron en 2 animales respectivamente el día 1 y bajó a un solo animal para cada combinación el día 21. En el caso de las muestras con una tonalidad media, el día 1 no mostraron presencia de la bacteria *Proteus*, ni de manera aislada (aunque sí que creció en un animal el día 21) ni en crecimiento junto con *Enterococcus*, (aunque sí que creció en dos animales el día 21) aunque sí que apareció el día 1 junto con *Enterococcus* y *E. coli* de manera conjunta en dos animales para hacerlo sólo en uno el día 2. Por último en el fluido de color oscuro la única bacteria que no creció de manera aislada el día 1 fue *E. coli* aunque sí lo hizo en un animal el día 21; no obstante *E. coli* apareció en este tipo de fluido junto con *Enterococcus* en un total de 7 animales el día 1 que bajaron a 3 animales el día 21 y también apareció en combinación

con *Enterococcus* y *Proteus* pero sólo en un animal el día 1 y de nuevo en ninguno el día 21. Curiosamente, en este tipo de muestra el día 1 creció *Enterococcus* de manera aislada en 6 animales que el día 21 bajó a 3, en cambio *Enterococcus* con *Proteus* sólo apareció en un animal el día 1 y en 2 el día 21. Por último el crecimiento de *Proteus* de manera aislada se dio en dos individuos el día 1 pero en ninguno el día 21 tras el drenaje. Como ya se ha comentado en el apartado 4.1.1, el color más abundante en el grupo ESA el día 1 fue el oscuro y el crecimiento bacteriano más abundante ha sido o *Enterococcus* sólo (19,4% el día 1) y la combinación *Enterococcus* y *E. coli* (22,6%), ambas bajan el día 21, donde el porcentaje disminuyó de forma notable, a un 9,7% en ésta última combinación. Sin embargo, ni en este cambio ni en ninguno de los resultados expuestos anteriormente, la relación entre las dos variables (color y crecimiento bacteriano encontrado) en los dos drenajes, resultó estadísticamente significativa. Tampoco hubo diferencias significativas al comparar los datos del grupo ESA con el grupo Control.

Tabla 20. Relación porcentual entre el **Color** del fluido y el tipo de bacterias encontradas en el grupo ESA los días 1 y 21. Entre paréntesis, número de muestras que lo presentan de las 31 totales

Día →	<i>Enterococcus</i>		<i>E.coli</i>		<i>Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli</i>		<i>Enterococcus Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>	
	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
Claro	3,2 (1)	3,2 (1)	---	---	---	---	6,4 (2)	12,9 (4)	6,4 (2)	3,2 (1)	6,4 (2)	3,2 (1)
Medio	3,2 (1)	12,9 (4)	3,2 (1)	3,2 (1)	---	3,2 (1)	9,7 (3)	12,9 (4)	---	6,4 (2)	6,4 (2)	6,4 (2)
Oscuro	19,4 (6)	9,7 (3)	---	3,2 (1)	6,4 (2)	---	22,6 (7)	9,7 (3)	3,2 (1)	9,7 (3)	3,2 (1)	---

4.2.5. Relación entre la Consistencia del fluido y el tipo de bacteria identificada

En las tablas 21 y 22 se muestran los resultados obtenidos en relación a la “Consistencia” del fluido extraído y al tipo de bacterias aisladas e identificadas en dicho fluido, tanto en el lote Control como en el grupo ESA los días 1 y 21.

En el caso del grupo Control (Tabla 21), se observa que en los animales con consistencia líquida el crecimiento más repetido fue el de la combinación

Enterococcus con *E. coli* (40% de los animales de consistencia líquida), mientras que *Enterococcus* como bacteria única lo hizo en el 30% de estos animales, mismo porcentaje que la combinación *Enterococcus* con *E. coli* y con *Proteus*. En cuanto a los animales con muestras de consistencia pastosa, la mayoría (75%) presentaban la combinación *Enterococcus* con *E. coli*, mientras que un 25% tenían como crecimiento único a *Enterococcus*. Por último en el caso de los animales con muestras de consistencia sólida (tan sólo 4 muestras), vemos que en ninguna aparece el crecimiento de *Enterococcus* como crecimiento único, y que se reparten al 50% las muestras en las que crece la combinación *Enterococcus* con *E. coli* y esta misma combinación junto con *Proteus*.

Tabla 21. Relación porcentual entre la **Consistencia** del fluido y el tipo de bacterias encontradas en el grupo **Control**. El paréntesis muestra el % aproximado dentro de cada tipo de Consistencia

Consistencia	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus E.coli</i>	<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>
Líquida	18,75 (30)	25 (40)	18,75 (30)
Pastosa	6,25 (25)	18,75 (75)	---
Sólida	---	6,25 (50)	6,25 (50)

En el caso del grupo ESA (Tabla 22), se observa que en los animales con consistencia líquida no hay crecimiento único de las bacterias *E. coli* o *Proteus* el día 1, aunque *Proteus* aparece en un único animal tras el drenaje del día 21; curiosamente en ninguno de los animales que presentan este tipo de consistencia, aparece la combinación *Enterococcus* con *E. coli* y con *Proteus* ni el día 1 ni el día 21. Sí que hay un porcentaje similar de animales donde crece de forma independiente sólo *Enterococcus* tanto el día 1 como el 21 y también aparece la combinación *Enterococcus* con *E. coli*, siendo un porcentaje bajo de animales los que lo presentan el día 1 (6,4%; n=2) y ascendiendo ligeramente el día 21 hasta un 16,1% (n=5). También podemos observar que para la consistencia pastosa (casi la mitad de los animales tienen consistencia pastosa el día 1; n=14), sólo crecen *E. coli* o *Proteus* de forma aislada en una animal cada una el día 1 pero tras el drenaje ya no lo vuelven a hacer en ningún animal el día 21; curiosamente *Enterococcus* tampoco crece de manera aislada el día

1 pero sí que lo vemos el día 21 en 3 de las muestras; en el resto de las muestras de tipo pastoso prevalecen las asociaciones de enterococos, sobre todo la asociación *Enterococcus* con *E. coli* que es bastante elevada el día 1 (n=6) y que sigue apareciendo en 5 animales el día 21 o la asociación de las tres bacterias de manera conjunta que aparecen en 5 animales el día 1 pero baja a 3 animales el día 21; menos relevante es la asociación *Enterococcus* con *Proteus* que apenas está presente en un animal el día 1 aumenta a 3 el día 21. Por último en el caso de las muestras de consistencia sólida (n=10 el día 1 y n=5 el día 21), vemos que la mitad de ellas presentan crecimiento aislado de *Enterococcus* el día 1 (bajando hasta a un único animal el día 21), y que en 4 aparece *Enterococcus* junto con *E. coli* (bajando también a un único animal el día 21), en la última muestra sólida del día 1 crece *Proteus* de manera aislada aunque desaparece dicho crecimiento el día 21. Todos estos datos respecto a la consistencia y el crecimiento bacteriano, parecen seguir una tendencia hacia la mejora el día 21 tras el drenaje, sin embargo, la relación entre las dos variables resultó no ser estadísticamente significativa para las bacterias *Enterococcus* y *Proteus* ni para sus combinaciones en ninguno de los dos drenajes pero sí lo fue para la relación consistencia y *E.coli* tanto en el muestreo del drenaje del día 1 como en el del 21.

Tabla 22. Relación porcentual entre la **Consistencia** del fluido y el tipo de bacterias encontradas en el grupo con ESA los días 1 y 21. Entre paréntesis, número de muestras que lo presentan de las 31 totales

Día →	<i>Enterococcus</i>		<i>E.coli</i>		<i>Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli</i>		<i>Enterococcus Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>	
	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
Líquida	9,7 (3)	12,9 (4)	---	---	---	3,2 (1)	6,4 (2)	16,1 (5)	6,4 (2)	3,2 (1)	---	---
Pastosa	---	9,7 (3)	3,2 (1)	---	3,2 (1)	---	19,4 (6)	16,2 (5)	3,2 (1)	9,7 (3)	16,1 (5)	9,7 (3)
Sólida	16,1 (5)	3,2 (1)	---	3,2 (1)	3,2 (1)	---	12,9 (4)	3,2 (1)	---	6,4 (2)	---	---

4.2.6. Relación entre el pH del fluido y el tipo de bacteria identificada

En la tabla 23, aparece resumido muy escuetamente qué porcentaje de las muestras de los animales con ESA, presentaban un determinado rango de pH tanto el día 1 como 21. Lamentablemente, no existe el valor de pH de las

muestras de los animales Control por lo que la comparación sólo pudo hacerse entre los valores de estas fechas.

Como resultados más relevantes, se observa que la mayoría de las muestras presentaban un pH idóneo para el crecimiento bacteriano (que oscila entre un rango de pH de 5 a 6,5, aumentando ligeramente el número de animales con rango 5-6 el día 21 respecto al día 1 y viceversa en el caso del rango de pH de 6-7.

Tabla 23. Porcentaje de animales donde apareció un determinado rango de pH del fluido del saco anal en el grupo con ESA los días 1 y 21

pH	Día1	Día21
5-6	41.9	51.6
6-7	51.6	41.9
7-8	3.2	3.2
>8	3.2	3.2

La relación pH de la muestra y crecimiento encontrado en la misma se resume en la Tabla 24 donde se pueden ver desglosados los resultados por rango del valor del pH de los animales con ESA tanto el día 1 como el 21 y su relación con las bacterias encontradas y sus asociaciones.

Como cabía esperar, en los valores más extremos de pH (>8), apenas observamos el crecimiento de bacterias en un animal el día 1 (asociación *Enterococcus* con *E. coli*), que no vuelve a darse el día 21, aunque curiosamente en un único animal también aparece una muestra el día 21 donde el pH es mayor de 8 y permite el crecimiento conjunto de las 3 bacterias.

Tabla 24. Porcentaje de animales del grupo ESA con un determinado rango de pH y su relación con el tipo de bacterias encontradas los días 1 y 21

Día →	<i>Enterococcus</i>		<i>E.coli</i>		<i>Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli</i>		<i>Enterococcus Proteus</i>		<i>Enterococcus E.coli Proteus</i>	
	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21	1	21
5-6	19,4	12,9	3,2	3,2	3,2	3,2	9,7	19,4	3,2	9,7	3,2	3,2
6-7	6,4	12,9	---	---	3,2	---	22,6	12,9	6,4	9,7	12,9	3,2
7-8	---	---	---	---	---	---	3,2	3,2	---	---	---	---
>8	---	---	---	---	---	---	3,2	---	---	---	---	3,2

Entrando ahora más en detalle en las muestras con pH más estable (rango 5-6), se observa, que en el caso del crecimiento único bacteriano del género *Enterococcus* a día 1, es el más abundante donde se observa la presencia de casi un 20% de los individuos (n=6), aunque la relación *Enterococcus* y pH no resultó estadísticamente significativa. En el caso de las bacterias *E.coli* y *Proteus* como crecimiento único, en este rango de pH, sólo aparecieron en un animal cada una, tanto a día 1 como a día 21.

La interacción *Enterococcus* con *E. coli*, en este rango de pH, aumentó de 3 animales el día 1 a 6 el día 21; también aumentó el número de muestras donde se aisló la asociación *Enterococcus* con *Proteus* hallándose en un único animal el día 1 pero en 3 el día 21, esta asociación no resultó ser estadísticamente significativa pero se comprobó que tenía una relación alta. En este mismo rango de pH la asociación de las tres bacterias se dio sólo en un animal tanto el día 1 como el 21.

Algo similar ocurre con el rango de pH 6-7, donde vemos que no crece de forma aislada *E. coli* ni el día 1 ni el 21 y *Proteus* de manera individual sólo lo hace en una animal el día 1 y en ninguno el día 21; *Enterococcus* de manera aislada, aumenta el día 21, pasando de 2 animales el día 1 a 4 el día 21; la asociación *Enterococcus + E.coli* se observa el día 1 en un 22,6% de las muestras (n=7) y baja ligeramente el día 21 (n=4); la asociación *Enterococcus* con *Proteus* sólo apareció en 2 animales tanto el día 1 aumentando a 3 el día 21; por último la asociación de las 3 bacterias se dio en 4 animales el día 1 y tan sólo en 1 el día 21.

El estudio estadístico entre el valor pH y otros parámetros del animal, sólo mostró una relación de dependencia entre la variable “Edad” y el pH el día 1, ya que conforme aumenta la edad del animal, el pH tiende a ser más elevado, aunque estas diferencias no fueron significativas.

5. Discusión

El objetivo principal del trabajo correspondiente a este capítulo fue verificar la presencia de bacterias en el fluido almacenado en los sacos anales de perros sanos y perros con enfermedad del saco anal (ESA) e identificar posteriormente dichas bacterias. Asimismo, este estudio también tuvo como objetivo conocer si determinadas variables intrínsecas al animal y a sus hábitos podían relacionarse con la presencia y variación de dichas bacterias en el fluido almacenado e incluso si éstas modificaban las características del mismo.

Además, fue la primera vez, de acuerdo con la bibliografía consultada, que se estudiaron y compararon determinadas variables que influyen o parecen influir en la aparición de la enfermedad del saco anal, con un respaldo estadístico. Entre las variables intrínsecas al individuo, se analizaron el tamaño, la edad y el sexo del perro así como determinados hábitos del animal como el ejercicio realizado o el tipo de alimentación y también se analizaron ciertas características organolépticas del fluido recolectado, como son el color, la consistencia o el valor pH.

Como se ha comentado, se establecieron dos grupos de animales, un grupo Control (animal sano, libre de ESA) y un grupo con ESA. Dentro del grupo ESA, se amplió el muestreo a dos intervalos concretos de tiempo, ya que las muestras del fluido se recogieron en dos fechas, denominadas días 1 y 21. De esta manera se consiguió identificar y contabilizar los distintos tipos de bacterias hallados, primero en un momento álgido de la enfermedad en el animal (día 1 tras el drenaje de todo el fluido almacenado), y segundo, tras dar un tiempo suficiente donde la población bacteriana residual se hubiera recuperado (día 21), comparando así si el número y tipo de bacterias, se equiparaba, disminuía o aumentaban respecto a las identificadas en el primer drenaje.

La posibilidad de identificar las principales bacterias encontradas fue gracias al uso de varios medios de cultivo usados simultáneamente que permitieron visibilizar claramente diferentes colonias que por sus características de crecimiento en los mismos no dejaban dudas a su identificación. Aun así en unas pocas muestras se corroboraron estos resultados con un sistema automatizado que permitía no sólo identificar el género bacteriano, sino incluso el tipo de especie; este estudio llevado a cabo con el sistema Vitek2[®], corroboró que, efectivamente, la identificación del género con los medios de cultivo elegidos era la adecuada, pero además se identificó alguna especie que otra especie patógena no esperada, como *Enterococcus faecalis*, que abrió las puertas a un tema controvertido de posibles zoonosis que se ampliará más adelante.

Además, mediante el estudio de las características organolépticas más aparentes del fluido almacenado en los sacos anales, como son el color y la consistencia se han obtenido datos importantes que pueden orientar en una sospecha temprana de la enfermedad del saco anal. En concreto, los resultados obtenidos con la variable color en cada grupo, son acordes a los obtenidos por James y colaboradores (2011) que tampoco vieron diferencias significativas entre el color del fluido entre perros sanos y perros con ESA; aunque en nuestro estudio se han tenido en cuenta dos intervalos de tiempo fijos en la toma de muestras, donde se observó que el color del fluido del día 21 está condicionado al observado en el día 1 de extracción. Aunque sobre el color se vio que pueden actuar otras variables como son el ejercicio realizado por el animal y el tipo de dieta que ha recibido, posiblemente dicha influencia podría deberse al efecto de estas variables sobre el tránsito intestinal, como se explica en un capítulo anterior de esta tesis doctoral. En cuanto a los datos obtenidos sobre la consistencia, sí se obtuvieron diferencias significativas entre el grupo Control, donde la consistencia líquida fue la más frecuente y el grupo ESA a día 1, donde predominó la consistencia pastosa por lo que se puede afirmar que esta consistencia es predominante en los individuos enfermos; sin embargo se sabe que en el caso de la impactación del saco es más influyente la consistencia sólida (ver capítulo 1), que afortunadamente descendió en los animales del estudio donde se presentaba, en el análisis del día 21. Pero estos aspectos

organolépticos de color y consistencia, al compararlos de manera conjunta, no mostraron conclusiones significativas.

El estudio microbiológico realizado, confirma la presencia de bacterias en el fluido tanto Gram+ como Gram-, como afirman estudios previos (Robson *et al.*, 2003; Lake *et al.*, 2004). De los resultados obtenidos podemos resumir, por una parte, que son necesarios varios medios de cultivo para la correcta identificación y recuento bacteriano a partir del fluido recolectado de los sacos anales, y por otra, que los géneros de bacterias encontrados fueron principalmente 3 (*Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus*), tanto en el grupo Control como en el grupo ESA. Estos 3 géneros bacterianos encontrados en ambos grupos, crecieron de forma única en algunos animales, pero generalmente casi siempre se encontraron asociaciones bacterianas. Así, en el grupo Control, se encontró el género *Enterococcus* en el 100% de los animales y además se vio que nunca crecieron de manera aislada ni *E. coli* ni *Proteus* (dos bacterias potencialmente patógenas) y siempre que aparecieron lo hicieron junto a *Enterococcus* (en el caso de *E. coli*) o incluso las tres juntas (en el caso de *Proteus*); no es así en el grupo ESA que en el drenaje del día 1 sí que apareció, en algunos animales, crecimiento aislado de *E. coli* y *Proteus*. Aún con todo, el género de microorganismos más abundante en el grupo ESA, fue también, *Enterococcus*, presente en más del 90% de las muestras tanto el día 1 como el 21; es decir, lejos de desaparecer, esta bacteria continúa presente tras el segundo muestreo pero algunas de sus combinaciones con otras bacterias sí que se ven modificadas, como su aumento cuando crece junto a *Proteus* el día 21, que parece explicar que es muy necesaria su presencia para mantener a raya las bacterias consideradas más patógenas. Por tanto, corregir la enfermedad del saco anal mediante terapia antibiótica, en algunos casos a dosis elevadas por la cantidad de resistencias de *Enterococcus* (Silva *et al.*, 2006), sería un error, porque en sí misma, la presencia de esta bacteria, cuando crece en un nuevo fluido regenerado tras un vaciado completo previo, puede ayudar a controlar a otros patógenos tras un equilibrio bacteriano necesario para mantener los sacos anales en condiciones óptimas y fisiológicas. Y es que con tan sólo un drenaje adecuado y completo del fluido de los animales con enfermedad del saco anal, se puede reducir el número de bacterias presentes

sin el uso de antibioterapia tópica ni sistémica, como se ha observado en este trabajo en un tiempo prudencial (21 días) y cambiar algunas proporciones entre los distintos tipos de bacterias. Concretamente en las muestras estudiadas en este capítulo se vio un descenso moderado de la asociación *Enterococcus* con *E.coli* el día 21 y en la asociación *Enterococcus* con *E.coli* y *Proteus*, este porcentaje disminuyó de forma notable, y es un buen dato que baje la carga bacteriana de la bacteria *E. coli*; Curiosamente en el caso de la asociación *Enterococcus* con *Proteus* este porcentaje aumentó considerablemente el día 21, favoreciendo también que este aumento de *Enterococcus* controle a *Proteus*.

En cuanto al número de microorganismos encontrados (carga bacteriana; UFC/ml) fue mayor en los animales del grupo ESA que en el grupo Control, confirmando el estudio de James y colaboradores de 2011. Pero además, dentro del grupo ESA, también se vio una mayor cantidad de bacterias en el fluido extraído el día 1 en comparación con el del día 21; concretamente en el género *Proteus*, el número de UFC/ml del día 1 apareció en un rango mayor que las medias de los animales del grupo Control, algo que refuta el estudio de Paterson y colaboradores (2016), donde mantiene que el género *Proteus*, concretamente *Proteus mirabilis*, aumenta en los perros con ESA donde además sería el causante del mal olor del fluido (en este estudio *P mirabilis* apareció en un animal del grupo ESA y como crecimiento único).

Y es que este hallazgo puntual pero relevante de *Proteus mirabilis* y otras especies menos comunes, se realizó gracias al uso de un procesador automatizado (Vitek 2®), para confirmar la identificación bacteriana realizada en los medios de cultivo, pero también sirvió, indirectamente para observar la presencia de varias especies, entre ellas algunas potencialmente zoonóticas, como *Enterococcus faecalis*. Este hallazgo puede repercutir en un futuro en la alerta hacia los propietarios sobre el manejo del animal para una convivencia segura con las mascotas desde un punto de vista higiénico-sanitario, para evitar infecciones potencialmente peligrosas y contaminaciones cruzadas como ya postularon Wang y colaboradores (2018).

Algunos datos que pueden dar una pista al propietario sobre el estado del saco anal (aparte del malestar del animal y el dolor en casos graves), es el aspecto y características del fluido almacenado; y es que poder relacionar por

ejemplo color y consistencia (dos características fáciles de identificar por el propietario) con el crecimiento bacteriano es interesante. En este estudio, se observó, que la variable “consistencia” y la presencia de la bacteria *E.coli* estaban relacionadas, siendo esta relación estadísticamente significativa en el grupo ESA tanto el día 1, como el 21. De esta manera se confirman los datos encontrados en la bibliografía respecto a la bacteria *E.coli* y la actividad de sus hemolisinas (encontradas en varias cepas) que podrían alterar la consistencia del fluido hacia una consistencia más pastosa o sólida, que a su vez dificultaría el drenaje natural y progresivo del animal favoreciendo de nuevo la actividad de proliferación de *E. coli*, a modo de retroalimentación (Bhakdi *et al.*, 1988).

Respecto al valor del pH del fluido y las bacterias encontradas se observan relaciones entre crecimiento de *E.coli* y crecimiento de *Proteus* el día 1 (grupo ESA) y pH más ácido, aunque no llegan a ser diferencias significativas. Y es que se ha confirmado que las bacterias estudiadas, procedentes del fluido almacenado en el saco anal, crecen mejor en rangos de pH ligeramente ácidos, y prácticamente no crecen cuando el medio era más alcalino (Tabla 24). Con el valor de pH el día 1, también se observó otra relación de dependencia con la edad del animal (a más edad, mayor valor de pH) aunque estas diferencias tampoco fueron significativas.

Otra relación estadísticamente significativa fue la que relacionó el tamaño del animal con la consistencia del fluido en los perros del grupo ESA el día 1 es decir, que tamaños pequeños del animal, como ocurre en muchas razas, puede ser un factor predisponente para tener un fluido de consistencia más densa que a su vez y por dificultad en su eliminación paulatina, predisponga a la enfermedad del saco anal; la relación sintomatología de ESA y tamaño pequeño del animal, ya fue observada por Nelson y Couto (2010). Además, en este estudio, aspectos como la dieta seca y o el ejercicio moderado realizado por el animal, pueden tener una base estadística, ya que se han encontrado varias dependencias entre dichas variables con el color y la consistencia del fluido. Como también se observó en nuestro estudio, en hembras, la consistencia fue mayoritariamente pastosa y la consistencia sólida se relacionaba con ejercicio moderado, por lo que habría que tener especial atención en observar cada cierto

tiempo el estado de los sacos anales de perras de tamaño pequeño y que lleven una vida más sedentaria.

Otra característica interesante del animal que se valoró fue el tipo o morfología del periné del animal, considerando si tenía un “periné propenso” a tener enfermedad del saco anal o no (explicado más detalladamente en otro capítulo de la tesis y fácilmente valorable por el veterinario) pero esta variable no arrojó ningún resultado estadísticamente significativo.

Por tanto, inspecciones periódicas de los sacos anales en la clínica, sería una maniobra interesante para prevenir la aparición de esta patología antes de esperar a que una sintomatología aguda acorde con ESA esté instaurada; si se efectúa un drenaje periódico en perros propensos o cuando los síntomas aparezcan de manera incipiente, se evitará la instauración de esta enfermedad. Una vez realizado el drenaje, se propone una clasificación del fluido para poder tipificarlo en clínica, estudiando la consistencia y el color, una clasificación simple y fácil de realizar por el veterinario que actuaría primero drenando completamente el fluido del saco y observando después determinadas variables organolépticas y físicas del animal que puedan predisponer a la enfermedad del saco anal. Sería también importante para el clínico conocer la repercusión y prevalencia de esta enfermedad no sólo para favorecer el bienestar del perro, sino también para evitar un uso indiscriminado de antibióticos cuando se instaura dicha patología, aplicando la terapia antibiótica sólo en casos que realmente la requieran. Y es que este posible abuso del uso de algunos medicamentos, a veces innecesarios y administrados de manera sistémica, pueden por una parte provocar resistencias antibióticas (Lozano *et al.*, 2017) y por otra parte, alterar a su vez otros parámetros del animal, como la flora intestinal.

Y es que la relación intestino y saco anal pueden tener más importancia de la que a priori cabría pensar ya que por la proximidad del final del tubo digestivo (ano) al saco anal, concretamente a los orificios de salida, hace pensar que las bacterias presentes en las heces puedan contaminar en algunos animales el contenido del saco del animal. Aunque hay numerosos estudios sobre la microbiota del perro a nivel digestivo, todavía se desconoce la asociación bacteriana ideal y más beneficiosa para el organismo del animal, además de que ésta puede ser cambiante en el tiempo, pero se asume que la

flora bacteriana más habitual del tracto intestinal es el filo *Firmicutes*, que engloba varios géneros, entre ellos al género *Enterococcus*. Un estudio metagenómico reciente, identificó a nivel genético y molecular las principales bacterias presentes en las heces de perros, sugiriendo que el grupo *Bacteroidetes*, *Chlorobi* y *Firmicutes* eran las bacterias dominantes, seguidos de *Proteobacterias* (de las que forman parte *E.coli* y *Proteus*) y *Fusobacterias* (Swanson *et al.*, 2011).

No obstante, más importante que el tipo o tipos de bacterias presentes normalmente en un animal sano, es la presentación puntual de patologías digestivas como son las diarreas, ya que pueden dar lugar a disbiosis intestinales que terminen ocasionando otros procesos inflamatorios (Hooda *et al.*, 2012); entendiendo el concepto de disbiosis intestinal como una alteración del equilibrio en la población habitual de la flora bacteriana (microbiota) intestinal que la integra. Otro argumento más para que el veterinario clínico contemple la inspección de los sacos anales tras haber sufrido el perro algún proceso de alteración intestinal. Y es que la proximidad de los sacos anales al tracto digestivo, puede afectar a la contaminación del fluido almacenado y que aparezcan microorganismos potencialmente zoonóticos (Shirwin *et al.*, 2018); esto ya se ha confirmado en algún estudio, concreto donde preocupaba la presencia de *Enterococcus faecalis* por ser una bacteria perjudicial para el hombre, que además muestra una alta resistencia a antibióticos (Jahansepa *et al.*, 2018). Atendiendo a los resultados de nuestro estudio, y debido a la proximidad del saco anal al intestino, no sorprenden los tipos de bacterias aislados, que se aproximan mucho a la flora bacteriana habitual del intestino y heces. Esto unido al concepto de que siempre se aíslan bacterias en el fluido almacenado, tanto en individuos sanos como con ESA (James *et al.*, 2011), induce a pensar en la idea de la existencia de interacciones e intermodulaciones entre las bacterias aisladas, rompiendo puntualmente el equilibrio en cuanto al número o tipo de bacteria predominante y aumentando la posibilidad de instaurar y desarrollar la enfermedad del saco anal. Además del tipo de bacterias, la cantidad de las mismas (UFC/ml) que se han contabilizado en este estudio, superaba en algunos momentos incluso las esperadas dentro del intestino (unas 10^{11} UFC/g; Hooda *et al.*, 2011)

Actualmente existen abundantes líneas de investigación sobre la influencia de la dieta y la suplementación con fibra en perros para en el crecimiento selectivo de determinadas bacterias y obtención de metabolitos beneficiosos para el intestino, (Panasevich *et al.*, 2015; de Souza *et al.*, 2019). Otra investigación, apunta hacia la administración directa de probióticos en el perro, con *Lactobacillus fermentum* junto al suplemento mineral alginita, que consigue modificar la flora intestinal de las heces, observándose una disminución en los coliformes fecales y clostridios y un aumento en los niveles de bacterias del ácido láctico, hemoglobina y magnesio (Strompfová *et al.*, 2018). Una tercera investigación relativamente reciente, también demostró en una muestra de perros con sobrepeso, que una dieta equilibrada, (baja en grasas y alta en fibra), logró modificar la microbiota intestinal, proporcionando mayor biodiversidad en dicha flora y menores concentraciones de bacterias consideradas no beneficiosas, como el género *Clostridium* (Salas *et al.*, 2018).

Por último, algunos estudios apuntan hacia el uso de especies de bacterias pertenecientes al género *Enterococcus*, para ser utilizadas como probióticos (Kubasova *et al.*, 2019), con la salvedad de que existen determinadas especies con potencial zoonótico, como la ya nombrada *Enterococcus faecalis* (Hasan *et al.*, 2018). Sin embargo, existe algo de controversia sobre el efecto positivo como probiótico de este género.

A pesar de todas las líneas de investigación abiertas aún se desconoce el efecto que el tipo de dieta y la suplementación puedan tener sobre la flora bacteriana que albergan los sacos anales del perro, no obstante, según los resultados obtenidos, se sugieren estos aspectos como líneas de investigación futuras que contemplen estos factores.

En conclusión, los resultados de este estudio permiten orientar sobre el tipo de bacteria más comúnmente encontrada en el fluido almacenado en los sacos anales del perro, su variación al ser drenado y la importancia de un buen drenaje periódico y sus relaciones con otros aspectos básicos como la conformación y la forma de vida del animal. Factores a tener en cuenta para evitar la aparición de ESA que en la mayoría de las veces llevan a establecer

una pauta de antibioterapia tópica o sistémica poco racional y evitar así posibles resistencias frente a los mismos en estos animales.

Conclusiones

1. Existe una morfología anatómica y un tamaño de perro determinados que puede promover la enfermedad del saco anal al no facilitar el drenaje correcto del fluido almacenado en su interior. Además, la salida del conducto excretor del saco no suele ser simétrica, cambiando ligeramente el ángulo en cada uno de los lados.
2. La evacuación del fluido almacenado en los sacos anales está determinada por varios factores: la consistencia del fluido, el tipo de heces del animal y el tono del esfínter anal interno que puede determinar el tamaño y posición de los poros de salida.
3. Determinados trastornos neurológicos que afecten a la inervación de estas estructuras pueden conllevar a la instauración de la enfermedad del saco anal (ESA).
4. Histológicamente, la pared del saco anal se organiza en 5 capas: capa epitelial, capa subepitelial, capa glandular, capa subglandular y capa muscular. La capa glandular de la pared del saco está compuesta únicamente por glándulas apocrinas, mientras que a nivel del ducto es frecuente observar glándulas sebáceas.
5. En la mayoría de los casos, los sacos anales de perros sanos de edad avanzada, sin historia de ESA, presentan inflamación crónica, leve y de distribución multifocal en la capa subepitelial, posiblemente relacionada con episodios previos de saculitis subclínica.
6. El grosor de la pared del saco es inversamente proporcional al área del lumen. La luz del saco se distiende proporcionalmente a la cantidad de contenido almacenado, produciendo un efecto compresivo sobre su pared.

7.

Las bacterias más abundantes en el fluido de los sacos anales del perro fueron *Enterococcus*, *E. coli* y *Proteus* y cuando el animal tiene la enfermedad instaurada contiene más carga bacteriana que la encontrada en animales sanos, mostrando dicha carga una relativa heterogeneidad en su composición.

8. El drenaje manual de vaciado completo llevado a cabo por el Veterinario cuando el animal padece la enfermedad del saco anal permite encontrar mejoras inmediatas en el perro, realizar un buen diagnóstico y permitir bajar la carga bacteriana del fluido y ayudando a regenerar la flora bacteriana en tres semanas.

9. La consistencia del fluido almacenado en los sacos anales es una variable significativa en relación a la carga bacteriana presente en el fluido del animal con ESA y también está relacionada con un correcto vaciado del saco de manera fisiológica.

Abreviaturas

A Arteria

BHI Brain Heart Infusion

β -GAL β - galactosidasa

β -GUR β - glucuronidasa

BSAVA British Small Animal Veterinary Association

CG Capa glandular

CG Capa glandular

CSG Capa subglandular

CSE Capa subepitelial

D Difusa

DE Ducto excretor

EAI Esfínter anal interno

EAE Esfínter anal externo

ESA Enfermedad del saco anal

F Focal

h Alzada a la cruz

KESC *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter*

Lig Ligamento

L Longitud

L Vértebra lumbar

MF Multifocal

MPN o NMP Número más probable

MNI Motoneurona inferior

MNS Motoneurona superior

N Nervio

P Pequeño

P Presión

ΔP Incremento de presión

Q Caudal

S Vértebra sacra

SA Saco anal

SNC Sistema nervioso central

SNS Sistema nervioso simpático

SNPS Sistema nervioso parasimpático

UFC Unidad formadora de colonias

V Vena

Bibliografía

- Aige Gil V, Gimeno Domínguez M. Neurología veterinaria en el perro y el gato. 1a ed. Barcelona: Pulso; 1998.
- Anderson NV, Sherding RG, Merritt AM, Whitlock RH. Veterinary gastroenterology. 2nd ed. Philadelphia etc.: Lea & Febiger; 1992.
- Bacha WJ, Bacha LM. Color atlas of veterinary histology.; 2000.
- Baker E. Diseases and therapy of the anal sacs of the dog. 1962 J Am Vet Med Assoc -; 141:1347.
- Beynen A. Diet and anal-sac impaction in dogs. 2019.
- Bhakdi S, Mackman N, Menestrina G, Gray L, Hugo F, Seeger W, et al. The hemolysin of escherichia coli. 1988 Eur J Epidemiol 4(2):135.
- Bonagura JD, Twedt DC. Kirk's current veterinary therapy XV.; 2014.
- Burrows CF, Kronfeld DS, Banta CA, Merritt AM. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. 1982 Journal of Nutrition. Sep ;112(9):1726.
- Casal MM, Causse M, Solís F, Rodríguez-López F, Casal M. [Investigation of antimicrobial resistance to Enterococcus faecium]. 2012 Revista española de quimioterapia: publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia 25 (3):180.
- Cafazzo S, Natoli E, Valsecchi P. Scent-Marking Behaviour in a Pack of Free-Ranging Domestic Dogs. 2012 Ethology -;118(10):955.
- Canfield MS. Chapter 13 - Diseases of Eyes, Claws, Anal Sacs, and Ear Canals. 2017 2017:413-447. In Small Animal Dermatology: A Color Atlas and Therapeutic Guide (4th edition). 2017 J Am Vet Med Assoc -;251(6):671.
- Carlotti DN, López Lapeyre C. Las dermatosis anales y perianales del perro. 1993 -.
- Castellanos I. GC, Rodríguez T. G y Iregui C. CA. Estructura histológica normal de la piel del perro (estado del arte). 2005 Rev Med Vet.:(10): 109-122.
- Chrisman CL. Manual de neurología práctica. San Cugat del Vallés, Barcelona: Multimèdica; 2003.
- Cunningham JG, Klein BG. Fisiología veterinaria.; 2014.
- Delgado JL, Aragón HJ, Pérez M. Diferencia en la Población de Células Cebadas de Glándulas Apocrinas de Sacos Anales de Perros Adultos y Seniles / Difference in the Population of Mast Cells of Anal Sac Apocrine

Glands of Adult and Senile Dogs. 2012 International Journal of Morphology - ;30(2):661.

- De Souza Nogueira JP, He F, Mangian HF, Oba PM, De Godoy MRC. Dietary supplementation of a fiber-prebiotic and saccharin-eugenol blend in extruded diets fed to dogs. 2019 J Anim Sci 97(11):4519.
- Díaz Pérez M, Rodríguez Martínez C, Zhurbenko R. Enterococcus, medios de cultivo convencionales y cromogénicos / Enterococcus, conventional and chromogenic culture media. 2013 Revista Cubana de Higiene y Epidemiología 51(1):97.
- Drzewiecka D. Significance and Roles of Proteus spp. Bacteria in Natural Environments. 2016 Microbial ecology -New York- 72(4):741.
- Doty RL, Dunbar I. Color, odor, consistency, and secretion rate of anal sac secretions from male, female, and early-androgenized female Beagles. 1974 Am J Vet Res -;35(5):729.
- Downs MO, Stampley AR. Use of a foley catheter to facilitate anal sac removal in the dog. 1998 American Animal Hospital Association (USA) -;34(5):395.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG, Aja Guardiola S, Palacios Martínez JR. Anatomía veterinaria. 4ª ed. México: Manual Moderno; 2012.
- Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat. 7th ed. St. Louis Missouri: Saunders Elsevier; 2010.
- Fawcett A. Clinical Medicine of the Dog and Cat: Second Edition - by Michael Schaefer. 2013 J Small Anim Pract-;54(10):560.
- Fossum TW, Pardi Duprey L, O'Connor D. Cirugía en pequeños animales. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
- Gázquez Ortiz A, Blanco Rodríguez A. Tratado de histología veterinaria. Barcelona: Masson; 2004.
- Giannuzzi AP, Gernone F, Ricciardi M, De Simone A, Mandara MT. Sacro-caudal spinal cord choroid plexus papilloma in a shar-pei dog. 2013 J Small Anim Pract -;54(10):551.
- Gibson JS. H. E. Evans, A. de Lahunta, Miller's Anatomy of the Dog, 4th edition, 2013, Elsevier, London, ISBN 978-143770812-7,850 pp. Veterinary Journal -London- 2013 -;195(1): e8.
- Goldman E, Green LH. Practical handbook of microbiology: Third edition 2015.
- Goldschmidt MH, Zoltowski C. Anal sac gland adenocarcinoma in the dog: 14 cases. 1981J Small Anim Pract -;22(3):119.

- Habel RE, Climent Peris S. Anatomía veterinaria aplicada. Zaragoza: Acribia; 1988.
- Hall EJ, Simpson JW, Williams DA, Sánchez Montoya C. Manual de gastroenterología en pequeños animales.; 2009.
- Halnan CR. The diagnosis of anal sacculitis in the dog. 1976 J Small Anim Pract -;17(8):527.
- Halnan CR. The frequency of occurrence of anal sacculitis in the dog. 1976 J Small Anim Pract -;17(8):537.
- Halnan CRE. The experimental reproduction of anal sacculitis dogs. 1976 Journal of Small Animal Practice (UK) -;17(10):693.
- Halnan CRE. Therapy of anal sacculitis in the dog. 1976 J Small Anim Pract - ;17(10):685.
- Hasan KA, Ali SA, Rehman M, Bin-Asif H, Zahid S. The unravelled Enterococcus faecalis zoonotic superbugs: Emerging multiple resistant and virulent lineages isolated from poultry environment. 2018 Zoonoses and Public Health -;65(8):921.
- Hooda S, Minamoto Y, Suchodolski JS, Swanson KS. Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. 2012 Animal Health Research Reviews -;13(1):78.
- Hutchinson T, Robinson K, British Small Animal Veterinary Association. Manual de medicina canina. L'Hospitalet de Llobregat: Ediciones S; 2016.
- Jahansepas A, Aghazadeh M, Rezaee MA, Hasani A, Sharifi Y, Aghazadeh T, et al. Occurrence of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium in Various Clinical Infections: Detection of Their Drug Resistance and Virulence Determinants. 2018 Microbial Drug Resistance: Mechanism, Epidemiology, & Disease 24(1):76.
- James DJ, Griffin CE, Polissar NL, Neradilek MB. Comparison of anal sac cytological findings and behaviour in clinically normal dogs and those affected with anal sac disease. 2011 Vet Dermatol -;22(1):80.
- Jeffery ND. Vertebral fracture and luxation in small animals. 2010 The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice -;40(5):809.
- Jones TC, Hunt RD, King NW. Veterinary pathology. 6th ed. Baltimore etc.: Williams & Wilkins; 1997.
- Jung Y, Jeong E, Park S, Jeong J, Choi US, Kim M et al. Diagnostic imaging features of normal anal sacs in dogs and cats. 2016 Journal of Veterinary Science -;17(3):331.
- Krokida M, Maroulis Z, Saravacos G. Rheological properties of fluid fruit and vegetable puree products: Compilation of literature data. 2001 -.

- Kubasova I, Laukova A, Hamarova A, Pristas P, Strompfova V. Evaluation of enterococci for potential probiotic utilization in dogs. 2019 Folia Microbiol (Praha) 64(2):177.
- Lake AM, Scott DW, Miller WH Jr, Erb HN. Gross and cytological characteristics of normal canine anal-sac secretions. 2004 Journal Of Veterinary Medicine.A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine -;51(5):249.
- Levenspiel O. Flujo de fluidos e intercambio de calor. Barcelona etc.: Reverté; 1993.
- Lewis LD, Magerkurth JH, Roudebush P, Morris Jr ML, Mitchell EE, Teeter SM. Stool characteristics, gastrointestinal transit time and nutrient digestibility in dogs fed different fiber sources. 1994 Journal of Nutrition.;124 (12 Suppl):2716S-S - 8S.
- Lozano C, Torres C. Actualización en la resistencia antibiótica en Gram positivos. 2017 Enferm Infecc Microbiol Clin 35(Supplem.1):2.
- Maina E, Galzerano M, Noli C. Perianal pruritus in dogs with skin disease. 2014 Vet Dermatol -;25(3):204.
-
- Matsufuji H, Yokoyama J. Neural Control of Internal Anal Sphincter Motility. 2003 Journal of Smooth Muscle Research -English edition- ;39(1/2):11.
- Mauldin EA, Peters-Kennedy J. Chapter 6 - Integumentary System. 2016 2016:509-736.e1.
- McCourt MR, Levine GM, Breshears MA, Wall CR, Meinkoth JH. Metastatic disease in a dog with a well-differentiated perianal gland tumor. Veterinary Clinical Pathology 2018 -.
- Meeks RA. Anal sac infection in a dog as the possible cause of chronic staphylococcal infection in a family. 1978 Veterinary Medicine, Small Animal Clinician: VM, SAC 73(5):580.
- Meyer W, Tsukise A, Neurand K, Hirabayashi Y. Cytological and lectin histochemical characterization of secretion production and secretion composition in the tubular glands of the canine anal sacs. 2001 Cells Tissues Organs (Print) -;168(3):203.
- Mínguez JJ. Manual práctico de neurología. Un paso más para el diagnóstico y tratamiento. Ed Asís: Zaragoza;2015.
- Mizutani M, Neyra T, Ono K, Yamasato T, Tokunaga A. Histochemical study of the lumbar colonic nerve supply to the internal anal sphincter and its physiological role in dogs. Brain Research 1992 11 December 1992;598(1):45-50.

- Monet JL. Les glandes anales du chien: anatomie, pathologie, chirurgie / Jean Louis Monet. [Paris]: Vigot; 1933.
- Montagna, W. and H. F. Parks "A histochemical study of the glands of the anal sac of the dog." 1948. The Anatomical Record 100(3): 297-317.
- Morgan RV, Bright RM, Swartout MS. Clínica de pequeños animales. 4a ed. Madrid etc.: Harcourt Elsevier; 2003.
- Murdoch DB. E.J. Hall J.W. Simpson D.A. Williams. BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology second ed. 2005 British Small Animal Veterinary Association p. 375. The Veterinary Journal 2006 -;172(1):193.
- Nara T, Yasui T, Fujimori O, Meyer W, Tsukise A. Histochemical properties of sialic acids and antimicrobial substances in canine anal glands. 2011 European Journal of Histochemistry: EJH -;55(3): e29.
- Nelson RW, Couto CG. Medicina interna de pequeños animales. 4ª ed. Amsterdam etc.: Elsevier; 2010.
- Ohama K, Asano S, Nanbu K, Kajimoto T. The internal anal sphincter in anorectal malformation. Zeitschrift fur Kinderchirurgie: 1990 organ der Deutschen, der Schweizerischen und der Osterreichischen Gesellschaft fur Kinderchirurgie = Surgery in infancy and childhood -;45(3):167.
- Panasevich MR, Kerr KR, Dilger RN, Fahey GC, Guerin-Deremaux L, Lynch GL, et al. Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. 2015 Br J Nutr 113(1):125.
- Pappalardo E, Martino PA, Noli C. Macroscopic, cytological and bacteriological evaluation of anal sac content in normal dogs and in dogs with selected dermatological diseases. 2002 Vet Dermatol -;13(6):315
- Paterson Sue. "Anal sacs: a new approach to an old problem?" (2016).
- Pawlina W, Ross MH, Arturo Mezano G. Histología: texto y atlas: correlación con biología celular y molecular. 8ª ed. Wolters Kluwer; 2019.
- Peters, R.P. & Mech, L.D., 1975. Scent-marking in Wolves. Amer. Scient., 63: 628-637
- Polton GA, Brearley MJ. Clinical Stage, Therapy, and Prognosis in Canine Anal Sac Gland Carcinoma. 2007 Journal of veterinary internal medicine -;21(2):274.
- Preti G, Muetterties EL, Furman JM, Kennelly JJ, Johns BE. Volatile constituents of dog (Canis familiaris) and coyote (Canis latrans) anal sacs. 1976 J Chem Ecol -;2(2):177.
- Pozrikidis C. Fluid dynamics: theory, computation, and numerical simulation: accompanied by the software library FDLIB.; 2001.

- Robson DC, Burton GG, Lorimer MF. Cytological examination and physical characteristics of the anal sacs in 17 clinically normal dogs. 2003 Aust Vet J - ;81(1-2):36.
- Rodríguez Gómez JB, Martínez MJ, Graus Morales J. La parte posterior: la cirugía en imágenes, paso a paso: cirugía en la clínica de pequeños animales. 2005 -.
- Rothman RJ, Mech LD. Scent-marking in lone wolves and newly formed pairs. 1979 Anim Behav -;27(Part 3):750.
- Salas-Mani A, Jeusette I, Iraculis N, Sanchez N, Vilaseca L, Torre C, et al. Fecal microbiota composition changes after a BW loss diet in Beagle dogs. 2018 Journal of Animal Science. 96(8):3102-11.
- Salazar I, Fernández de Troconiz P, Cifuentes MJ, Quintero PS. Anatomy and cholinergic innervation of the sinus paranasalis in dogs. 1996 Anat Histol Embryol -;25(1):49.
- Sánchez Merino JM, Guillán Maquieira C, Fuster Foz C, Madrid García FJ, Jiménez Rodríguez M, García Alonso J. Sensibilidad microbiana de escherichia coli en infecciones urinarias extrahospitalarias / Antimicrobial susceptibility of escherichia coli associated with community-acquired urinary tract infections. 2003 Actas Urológicas Españolas 27(10):783.
- Schwarz R. [The morphogenesis of the sinus paranasalis of cats]. 1987 Anat Histol Embryol ;16(4):325.
- Scott HW, McKee WM. Laminectomy for 34 dogs with thoracolumbar intervertebral disc disease and loss of deep pain perception. 1999 J Small Anim Pract -;40(9):417.
- Shafik A, Shafik AA, El-Sibai O, Ahmed A. Role of Sympathetic Innervation in the Defecation Mechanism: A Novel Concept of its Function. 2003 J Spinal Cord Med -;26(2):150.
- Sisson S, Grossman JD, Getty R, Ghoshal NG, Hillmann D, Ellenport Rosenbaum C. Anatomía de los animales domésticos.; 1998.
- Shirwin Pillay, Oliver T. Zishiri, Matthew A. Adeleke. Prevalence of virulence genes in Enterococcus species isolated from companion animals and livestock. 2018 Onderstepoort J Vet Res 85(1):e1.
- Silva A J, Asserella R L, Bolados G N, Herrera H N, Leyton O J. Resistencia a antimicrobianos en cepas de Enterococcus sp aisladas en hospitales del norte de Chile / Resistance to antimicrobial drugs in Enterococcus sp strains isolated in hospitals of Northern Chile. 2006 Revista chilena de infectología 23(3):226.
- Slatter DH. Textbook of small animal surgery.; 2003.

- Stefanov, I., Stara Zagora, Simeonov, R. Histochemical and morphometric studies of connective tissue fibres in canine paranal sinus. 2008 Bulgarian Journal of Veterinary Medicine (Bulgaria) -;11(3).
- Stefanov I. A study on paranal sinus micromorphometrical parameters in dogs of different ages. 2012 -.
- Stefanov I, Vodenicharov A. S-100 Protein-Positive Mast Cells in Canine Paranalis Sinus (Sinus paranalisis). 2014 Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C -;43(5):408.
- Stanley BJ, Hauptman JG. Long-term prospective evaluation of topically applied 0.1% tacrolimus ointment for treatment of perianal sinuses in dogs. 2009 J Am Vet Med Assoc -;235(4):397.
- Stropfová V, Kubašová I, Farbáková J, Maďari A, Gancarčíková S, Mudroňová D, et al. Evaluation of Probiotic *Lactobacillus fermentum* CCM 7421 Administration with Alginate in Dogs. 2018 Probiotics and Antimicrobial Proteins 10(3):577.
- Summers JF, O'Neill DG, Church DB, Thomson PC, McGreevy PD, Brodbelt DC. Prevalence of disorders recorded in Cavalier King Charles Spaniels attending primary-care veterinary practices in England. 2015 Canine Genetics and Epidemiology -;2.
- Swanson KS, Dowd SE, Suchodolski JS, Middelbos IS, Vester BM, Barry KA, et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. 2011 ISME Journal 5(4):639.
- Thornton LA, Burchell RK, Burton SE, Lopez-Villalobos N, Pereira D, MacEwan I, et al. The Effect of Urine Concentration and pH on the Growth of *Escherichia Coli* in Canine Urine In Vitro. 2018 Journal of Veterinary Internal Medicine 32(2):752.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Introducción a la microbiología. 12^a ed. Editorial Médica Panamericana; 2017.
- van Duijkeren E. Disease conditions of canine anal sacs. 1995 J Small Anim Pract -;36(1):12.
- Waibl H, Gasse H, Constantinescu G, Hashimoto Y, Simoens P. Nomina anatomica veterinaria.; 2012.
- Wang J, Huang X, Xia Y, Guo Z, Ma Z, Yi M, et al. Clonal Spread of *Escherichia coli* ST93 Carrying *mcr-1*-Harboring IncN1-IncHI2/ST3 Plasmid Among Companion Animals, China. Frontiers in Microbiology 2018.

- White FM. Mecánica de fluidos. 6, [reimp ed. Madrid: McGraw-Hill; 2010; 2008.
- Williams LE, Gliatto JM, Dodge RK, Johnson JL, Gamblin RM, Thamm DH, et al. Carcinoma of the apocrine glands of the anal sac in dogs: 113 cases (1985–1995). 2003 J Am Vet Med Assoc -;223(6):825.
- Zachary JF, Mac Gavin MD. Pathologic basis of veterinary disease. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2012.

Anexos

Anexo I



FICHA DE ANAMNESIS

1- Grupo Control

- Número microchip/ codificación muestra:
- Tamaño:
- Peso:
- Dieta:
- Sexo:
- Edad:
- Periné propenso:
- Color del fluido:
- Consistencia del fluido:
- Tipo o tipo de bacterias (observación tras siembra y cultivo microbiológico):

2- Grupo ESA

- Número microchip/ codificación muestra:
- Tamaño:
- Peso:
- Dieta:
- Sexo:
- Edad:
- Periné propenso:
- Ejercicio:

D1

- Color del fluido.

- Consistencia del fluido.
- pH.
- Tipo o tipo de bacterias (observación tras siembra y cultivo microbiológico).

D21

- Color del fluido.
- Consistencia del fluido.
- pH.
- Tipo o tipo de bacterias (observación tras siembra y cultivo microbiológico)

Anexo II



PROTOCOLO DE EXPLORACION CLINICA DE LOS PACIENTES CON SINTOMAS
NEUROLOGICOS

EXPLORACIÓN NEUROLÓGICA

PROPIETARIO: HISTORIAL Nº: FECHA:

PACIENTE: ESPECIE: RAZA: SEXO:

EDAD: VETERINARIO: MOTIVO CONSULTA:

GRADUACIÓN: 0: Ausente 1: Deprimido 2: Normal 3: Aumentado 4: Clonus

<p>1. OBSERVACIÓN:</p> <p>Estado mental: _____ (Alerta, deprimido, estuporoso, comatoso)</p> <p>Postura: _____ (Cabeza, tronco y extremidades)</p> <p>Movimiento: _____ (Propiocepción, paresia, parálisis, dismetría)</p>	<p>4. PARES CRANEALES:</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;"></th> <th style="width: 5%;"></th> <th style="width: 5%;">Izq.</th> <th style="width: 5%;">Dch.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Olfatorio (I)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Amenaza (II, VII)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Reflejos Pupilares (II, III)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Tamaño Pupilas (II. Simp. y Parasimp.):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Simetría Pupilas (Simpático y Parasimp.):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Estrabismo (III, IV, VI):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Nistagmo (III, IV, VI, VIII):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Sensación Facial (V):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Masticación (V):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Simetría Facial (VII):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Palpebral (V, VII):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Deglución (IX, X):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Trapezio, Braquiocef., Esternocefálico (XI):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Simetría y tono m. linguales (XII):</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>			Izq.	Dch.	Olfatorio (I)				Amenaza (II, VII)				Reflejos Pupilares (II, III)				Tamaño Pupilas (II. Simp. y Parasimp.):				Simetría Pupilas (Simpático y Parasimp.):				Estrabismo (III, IV, VI):				Nistagmo (III, IV, VI, VIII):				Sensación Facial (V):				Masticación (V):				Simetría Facial (VII):				Palpebral (V, VII):				Deglución (IX, X):				Trapezio, Braquiocef., Esternocefálico (XI):				Simetría y tono m. linguales (XII):			
		Izq.	Dch.																																																										
Olfatorio (I)																																																													
Amenaza (II, VII)																																																													
Reflejos Pupilares (II, III)																																																													
Tamaño Pupilas (II. Simp. y Parasimp.):																																																													
Simetría Pupilas (Simpático y Parasimp.):																																																													
Estrabismo (III, IV, VI):																																																													
Nistagmo (III, IV, VI, VIII):																																																													
Sensación Facial (V):																																																													
Masticación (V):																																																													
Simetría Facial (VII):																																																													
Palpebral (V, VII):																																																													
Deglución (IX, X):																																																													
Trapezio, Braquiocef., Esternocefálico (XI):																																																													
Simetría y tono m. linguales (XII):																																																													
<p>2. PALPACIÓN:</p> <p>Muscular: _____ (Tono, atrofia)</p> <p>Esquelética: _____</p>	<p>5. REFLEJOS ESPINALES:</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;"></th> <th style="width: 5%;"></th> <th style="width: 5%;">Izq.</th> <th style="width: 5%;">Dch.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Extensor Carpo Radial (C₇-T₁)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Tríceps (C₇-T₁):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Bíceps (C₆-C₈):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Flexor m. anteriores (C₆-T₁):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Patelar (L₄-L₆):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Tibial Craneal (L₆-L₇):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Gastrocnemio (L₇-S₁):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Flexor m. posteriores (L₄-S₁):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Extensor cruzado (craneal L₄):</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Perineal (S₁-S₂):</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>			Izq.	Dch.	Extensor Carpo Radial (C ₇ -T ₁)				Tríceps (C ₇ -T ₁):				Bíceps (C ₆ -C ₈):				Flexor m. anteriores (C ₆ -T ₁):				Patelar (L ₄ -L ₆):				Tibial Craneal (L ₆ -L ₇):				Gastrocnemio (L ₇ -S ₁):				Flexor m. posteriores (L ₄ -S ₁):				Extensor cruzado (craneal L ₄):				Perineal (S ₁ -S ₂):																			
		Izq.	Dch.																																																										
Extensor Carpo Radial (C ₇ -T ₁)																																																													
Tríceps (C ₇ -T ₁):																																																													
Bíceps (C ₆ -C ₈):																																																													
Flexor m. anteriores (C ₆ -T ₁):																																																													
Patelar (L ₄ -L ₆):																																																													
Tibial Craneal (L ₆ -L ₇):																																																													
Gastrocnemio (L ₇ -S ₁):																																																													
Flexor m. posteriores (L ₄ -S ₁):																																																													
Extensor cruzado (craneal L ₄):																																																													
Perineal (S ₁ -S ₂):																																																													
<p>3. REACCIONES POSTURALES:</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">Izq.</th> <th colspan="2">Dcha.</th> </tr> <tr> <th>Delante</th> <th>Detrás</th> <th>Delante</th> <th>Detrás</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Propiocepción:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Salto:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Emplazamiento táctil:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Emplazamiento visual:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Hemimarcha:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Carretilla:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Extensor postural:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Reacción tónica de la nuca:</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Izq.		Dcha.		Delante	Detrás	Delante	Detrás	Propiocepción:					Salto:					Emplazamiento táctil:					Emplazamiento visual:					Hemimarcha:					Carretilla:					Extensor postural:					Reacción tónica de la nuca:					<p>6. FUNCIÓN URINARIA:</p> <p style="text-align: center;">Voluntaria ? Vejiga distendida ? Vacía fácil por presión ?</p> <hr/> <p>7. SENSIBILIDAD:</p> <p style="text-align: center;">Superficial (Paniculo) Profunda Hiperestesia</p> <hr/>											
		Izq.		Dcha.																																																									
	Delante	Detrás	Delante	Detrás																																																									
Propiocepción:																																																													
Salto:																																																													
Emplazamiento táctil:																																																													
Emplazamiento visual:																																																													
Hemimarcha:																																																													
Carretilla:																																																													
Extensor postural:																																																													
Reacción tónica de la nuca:																																																													

<p style="text-align: center;">LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN</p> <p>1. Intracraneal: _____ (Cortical, Diencefalo, Mesencefalo, Puente/m. oblonga, Cerebelo, Vestibular central-perif.)</p> <p>2. Espinal: _____ (Segmento C₁-C₅, Segmento C₆-T₂, Segmento T₁-L₂, Segmento L₃-S₁)</p> <p>3. Periférico (nervio afectado): _____</p> <p>4. Neuromuscular generalizado: _____</p> <p>5. Normal: _____</p>	<p style="text-align: center;">D. DIFERENCIAL</p> <p><input type="checkbox"/> V: Vascular.</p> <p><input type="checkbox"/> I: Inflamatorio.</p> <p><input type="checkbox"/> T: Traumático.</p> <p><input type="checkbox"/> A: Anomalia congénita.</p> <p><input type="checkbox"/> M: Metabólico.</p> <p><input type="checkbox"/> I: Idiopático.</p> <p><input type="checkbox"/> N: Neoplásico.</p> <p><input type="checkbox"/> D: Degenerativo.</p>
<p>DIAGNOSTICO PRESUNTIVO: _____</p> <p>PRUEBAS COMPLEMENTARIAS: _____</p> <p>_____</p>	

Se describe un protocolo de examen (Modificado de J. Mínguez Molina, 2016).

Anexo III

Nota informativa: las imágenes que aparecen en el vídeo pueden ser desagradables y algo escatológicas.

1) En este vídeo se describe un caso de impactación en ambos sacos anales, con la consistencia tipificada como sólida. La fuerza de compresión manual es elevada para poder drenar el contenido.



2. En este vídeo se describe la eliminación involuntaria del fluido almacenado en la defecación, con un bolo fecal de gran volumen y deshidratado que no estimula de forma correcta el drenaje de dicho fluido.



3) En este vídeo se describe cómo en un perro con los esfínteres anales sin tono, se requirió de una menor fuerza manual por parte del veterinario para realizar el drenaje de los sacos.

